

Inhalt

Symbolverzeichnis.....	ixv
Zusammenfassung	1
1. Einleitung	3
1.1. Stammzellen.....	3
1.1.1. Mesenchymale Stammzellen.....	4
1.1.2. Weitere Stammzellklassen.....	8
1.1.3. Migration und Homing von MSC.....	13
1.1.4. Markierungsmethoden für Zellen und Bildgebungsverfahren.....	16
1.1.5. Klinische Anwendung	18
1.1.6. Immunregulatorische Eigenschaften mesenchymaler Stammzellen	19
1.1.7. MSC und Therapie von Autoimmunerkrankungen	23
1.2. Multiple Sklerose	27
1.2.1. Pathologie und Pathophysiologie	28
1.2.2. Experimentelle autoimmune Enzephalomyelitis (EAE).....	31
1.3. Vorgehensweise und Ziele der Arbeit	34
2. Material und Methoden.....	37
2.1. Chemikalien, Enzyme und Seren	37
2.2. Kits	39
2.3. Gebrauchswaren	40
2.4. Medien für die Zellkultur	41
2.5. Sonstige Lösungen	42
2.6. Geräte	43

2.7. MSC Charakterisierung	44
2.7.1. MSC Isolation und Klonierung	44
2.7.2. Kryokonservierung und Auftauen von Zellen	45
2.7.3. Differenzierung der MSC <i>in vitro</i>	45
2.7.4. Immunphänotypisierung mittels Durchflusszytometrie (FACS).....	48
2.7.5. Colony-forming Unit Assay (CFU) für humane MSC	52
2.7.6. Bestimmung der Migrationsrate	53
2.7.7. Differenzierungspotenzial Eisen-markierter MSC von DA Ratten.....	53
2.7.8. Eisen-Markierung von Ratten MSC mit Resovist mithilfe von jetPEI™	56
2.8. Markierung von MSC und Homing	58
2.8.1. Quantifizierung der totalen Eisenbeladung der Ratten MSC durch Photometrie	58
2.8.2. SPIO-Markierung humaner MSC	58
2.8.3. PKH26 Färbung von DA Ratten MSC	59
2.8.4. Injektion der SPIO in DA Ratten	60
2.9. Bildgebung der SPIO-markierten MSC durch Magnet-Resonanz-Imaging.....	60
2.9.1. Grundlagen	60
2.9.2. 7 und 3 Tesla-MRT von DA Ratten	65
2.10. Bestimmung von Blutgruppenantigenen auf humanen MSC	66
2.11. Induktion der Experimentellen Autoimmunen Enzephalomyelitis	69
2.12. Immunologische Methoden	70
2.12.1. Isolierung und Kultivierung mononukleärer Zellen aus der Milz	70
2.12.2. Assay der Antigen-induzierten Proliferation	70
2.12.3. Enzyme-linked immunospot (ELISPOT) für IFN- γ	71
2.12.4. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	72
2.13. Histologie	72
2.13.1. Gewebeeinbettung und histologische Schnitte	72
2.13.2. Eisenfärbung nach dem Prussian Blue Protokoll	74
2.13.3. Klüver-Barrera-Färbung	75
3. Ergebnisse	77
3.1. Differenzierung von Ratten MSC in Adipozyten, Osteoblasten und Chondrozyten	77

3.2. Immunphänotypisierung der Ratten MSC.....	81
3.3. Real-time PCR: Einfluss der Eisenmarkierung auf das Differenzierungspotenzial	85
3.4. Klinischer Verlauf der EAE	86
3.4.1. Immunologische Ergebnisse des 1. EAE Experimentes.....	88
3.4.2. FACS Analyse der Lymphknoten	90
3.5. Klinischer Verlauf des 2. EAE Experimentes	92
3.5.1. Immunologische Ergebnisse des 2. EAE Versuchs.....	98
3.6. Effekt von Resovist auf die EAE	101
3.7. Homing JPR-markierter und unmarkierter MSC während der EAE.....	103
3.8. Verhältnis der MRI Signalintensitäten am Tag 2 und 8	108
3.9. Einfluss der Zellmarkierungen auf die Differenzierungsfähigkeit: Trilineage Differenzierung humaner MSC.....	112
3.10. Expression des H-Antigens auf humanen GD2 ⁺ MSC.....	115
4. Diskussion.....	121
4.1. Pathologische Prozesse der EAE.....	121
4.2. Migration und Wirkung von MSC in der EAE	125
4.2.1. Migration von MSC.....	125
4.2.2. Reparaturmechanismen unmarkierter MSC	126
4.2.3. Kein positiver Effekt prophylaktisch applizierter MSC: mögliche Gründe	134
4.2.4. Auswirkungen der Transplantation 93 p.i. auf T-Zellen	135
4.2.5. Effekte SPIO-markierter MSC auf die EAE.....	136
4.3. SPIO-Markierung, Transfektionsagenzien und Auswirkungen auf MSC.....	142
4.4. Expression von Blutgruppengenen und Antigenen auf hMSC	144
4.5. Bewertung der Versuche und Ausblick.....	148
5. Literatur	151
6. Liste der Veröffentlichungen.....	173
7. Danksagung	175