

• **Dr. med. Felix Wezel**

Fördernummer: WeF1/FE-13

Heimatklinik: Urologische Klinik, Universitätsmedizin Mannheim

Gastlabor: Abteilung Dermato-Onkologie, Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ), Heidelberg

Betreuer: Prof. Dr. med. Jochen Utikal

Projekt: „Gerichtete Differenzierung von Urothelzellen aus induzierten, pluripotenten Stammzellen für regenerative Therapien in der Urologie“

Projektbeschreibung (Zusammenfassung):

Im Jahr 2006 berichteten Takahashi und Kollegen die bahnbrechende Entdeckung der Reprogrammierung von murinen Fibroblasten zu pluripotenten Stammzellen durch Überexpression der vier ‚Schlüssel‘-Transkriptionsfaktoren Oct4, Sox2, c-myc und Klf4. Bereits ein Jahr später wurde dieses Verfahren erfolgreich an adulten humanen Zellen durchgeführt. Diese sogenannten induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS Zellen) sind embryonalen Stammzellen weitgehend ähnlich bezüglich Zellmorphologie, Genexpressionsprofil und Differenzierungspotenzial. Die robustere und einfachere Anwendbarkeit der Technik sowie fehlende ethische Konflikte gegenüber der Gewinnung embryonaler Stammzellen werden als wesentliche Vorteile der Zellreprogrammierung betrachtet. Mittlerweile wurden bereits verschiedenste adulte Zelltypen erfolgreich in pluripotente Stammzellen reprogrammiert, unter anderem nicht-invasiv aus Urin isolierten Zellen. Seit Einführung der Zellreprogrammierung humaner Zellen im Jahr 2007 konnte bereits eine gezielte Differenzierung von iPS Zellen in verschiedene Zelltypen gezeigt werden, darunter u.a. Leber-, Nerven- oder Herzmuskelzellen. Daher gilt die iPS Technologie aktuell als eine der vielversprechendsten Anwendungen, auch um den bestehenden Mangel an Spenderorganen für Gewebe- und Organersatz auszugleichen.

Mit dem Ziel, die perioperative Morbidität bei rekonstruktiven operativen Eingriffen des Harntrakts in der Urologie zu reduzieren, wurden Gewebeersatzmodelle durch sogenanntes ‚Tissue-Engineering‘ entwickelt, die zum Teil bereits zur klinischen Anwendung gebracht wurden. Die Verwendung von Urothelzellen zur Ausbildung einer funktionellen Barriere gegen Urin ist in solchen Modellen von zentraler Bedeutung für die Transplantatfunktion. Während bei Patienten mit gutartigen Erkrankungen des Harntrakts die Verwendung von autologen Urothelzellen für rekonstruktive Anwendungen zu bevorzugen ist, ist dies bei Patienten mit Urothelkarzinom kritisch zu sehen. iPS Zellen stellen hier eine mögliche alternative autologe Stammzellquelle dar, jedoch sind die spezifischen molekularen ‚Pfade‘ zur gezielten Differenzierung in Urothelzellen unbekannt. Die vollständige Re-Differenzierung der generierten induzierten pluripotenten Stammzellen gilt jedoch als eine entscheidende Voraussetzung für eine mögliche klinische Anwendung, zum einen, um die spezifische zelluläre Funktion des gewünschten Zielgewebes zu erhalten, zum anderen, um das Risiko einer Teratombildung durch nicht vollständig ausdifferenzierte iPS Zellen zu vermeiden.

Im aktuellen Projekt sollen daher Methoden zur gerichteten Differenzierung barrierebildender Urothelzellen aus iPS Zellen definiert und etabliert werden. Hierzu werden adulte humane Fibroblasten durch Überexpression der ‚Yamanaka-Faktoren‘ Oct4, Sox2, Klf4 und c-myc in

iPS Zellen reprogrammiert. Anschließend erfolgt die Induktion einer urothelialen Zytodifferenzierung der iPS Zellen mittels definierter Faktoren. Zu den möglichen Kandidaten zählen hierbei die pharmakologische PPAR γ -Aktivierung und/ oder Überexpression der Transkriptionsfaktoren FoxA1 und IRF-1, die bei der Differenzierung von normalen Urothelzellen bzw. murinen embryonalen Stammzellen eine Rolle spielen. Die generierten Zellen sollen bezüglich einer terminalen urothelialen Differenzierung charakterisiert werden, zum einen phänotypisch durch Expressionsanalysen von Keimbahn- und Urothel-spezifischen Markern, zum anderen funktionell durch Messung der transepithelialen elektrischen Resistenz als Surrogatmarker der Barrierefunktion.

Das Projekt soll wichtige Erkenntnisse über urotheliale Differenzierungsmechanismen liefern. Zudem kann es die Einführung von iPS Zellen für neue regenerative Anwendungen in der Urologie einen Schritt näher bringen.

Die Durchführung des Projekts soll in der Arbeitsgruppe von Prof. Utikal an der Klinischen Kooperationsseinheit (KKE) für Dermato-Onkologie des Deutschen Krebsforschungszentrum (DKFZ) in Heidelberg erfolgen. Die Generierung von iPS Zellen ist in der Arbeitsgruppe von Prof. Utikal ein etablierter Prozess. Zudem besteht eine Kooperation mit Prof. Southgate, Universität York, Großbritannien, die eine ausgewiesene Expertise auf dem Gebiet der urothelialen Zytodifferenzierung besitzt.