

**Isolation und Kultivierung adulter Stammzellen der Nasopharynxregion zur Etablierung eines EBV-Transformationsmodells**

Dr. Wilhelm Ching, Prof. Dr. Thomas Dobner

Abteilung Virale Transformation, Heinrich-Pette-Institut, Leibniz-Institut für Experimentelle Virologie

Ca. 15% aller weltweiten Krebserkrankungen sind auf virale Infektionen zurückzuführen. Für den Menschen sind sieben Tumoviren bekannt, die eine Vielzahl an unterschiedlichen Krebserkrankungen verursachen. Das Epstein-Barr-Virus (EBV) gehört zu diesen tumor-induzierenden Viren und ist für verschiedene Krebserkrankungen im Nasopharynxbereich (Nasenrachenraum), von Blutzellen und im Magenbereich verantwortlich. Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler der Abteilung „Virale Transformation“ des Heinrich-Pette-Instituts, Leibniz-Institut für Experimentelle Virologie arbeiten eng mit Medizinern und Wissenschaftlern der Klinik und Poliklinik für Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (UKE) zusammen, um das Nasopharynxkarzinom besser zu verstehen und mögliche Schwachstellen dieser Krebsart zu entdecken, welche als Ansätze für neuartige Therapie- oder Krebsfrüherkennungsmöglichkeiten dienen können.

Hierbei wird ein neuer Ansatz gewählt, um die Entstehung dieser Krebsart besser untersuchen zu können. Wir verwenden das Nasopharynxgewebe, das von Patienten im Laufe einer Routineuntersuchung entnommen wurde, um sogenannte „adulte Stammzellen“ zu isolieren und in Gewebekultur wachsen zu lassen. Solche Zellen sind im ganzen Körper vorhanden und spielen z.B. für das Wachstum der Haare oder bei der Regeneration der Haut eine außerordentlich wichtige Rolle. Gewebe und Organe besitzen einzigartige adulte Stammzellen, welche für das jeweilige Gewebe oder das Organ spezifisch sind. Die Technologie zur Isolation und Kultivierung von adulten Stammzellen ist etabliert, hat aber noch keine Anwendung für das Nasopharynxgewebe gefunden. Diese Lücke wollen wir mit diesem Forschungsvorhaben schließen.

Weiterhin vermuten wir, dass diese besonderen Zellen im Nasopharynxgewebe vom Epstein-Barr-Virus infiziert werden und sich durch diese Infektion nach Jahrzehnten zu einem Tumor entwickeln können. Untersuchungen in Mausmodellen haben gezeigt, dass adulte Stammzellen in verschiedenen Geweben der Ausgangspunkt von gewebespezifischen Tumoren sind. Ob dies auch für das Nasopharynxkarzinom gilt, wird in diesem Projekt untersucht. Somit verfolgen wir zwei innovative Forschungsansätze:

- (I) Zum einen soll die erstmalige Isolation und Kultivierung adulter Stammzellen aus dem Nasopharynxgewebe etabliert werden,
- (II) zum anderen soll durch die direkte Untersuchung dieser Zellen geklärt werden, welche Rolle adulte Stammzellen bei der Entstehung des Nasopharynxkarzinoms spielen.

**Zu (I)** Die adulten Stammzellen aus dem Nasopharynxgewebe (NASCs) konnten aus verschiedenen Patienten isoliert und in Langzeitkultur gehalten werden. Eine Differenzierung in Nasopharynx-artiges Gewebe ist unter Zellkultur Bedingungen gelungen. Dies konnte per Gesamttranskriptomanalyse, Immunfärbungen und mit, zum Teil neuartigen, elektronenmikroskopischen Methoden gezeigt werden. Weiterhin war es möglich dieses in vitro generierte Gewebe mit unterschiedlichen respiratorischen Viren zu infizieren und Virusreplikation nachzuweisen. Ein Beweis, dass die isolierten adulten Stammzellen aus ihrem ursprünglichen Milieu genommen und zu einem späteren Zeitpunkt in Ursprungsgewebe differenziert werden können. Es bietet sich offenkundig an dieses Gewebe als humanes in vitro Modell für die Untersuchung respiratorischer Viren zu benutzen.

**Zu (II)** Die Experimente zur Transformation von NASCs mittels EBV-Onkogene wurden parallel zu Transformationsexperimenten mit adenoviralen Onkogenen geführt, da Adenoviren bekannterweise natürliche Pathogene im Nasopharynxbereich sind und das Labor von Prof. Thomas Dobner nachweislich, langjährige Erfahrung in Adenovirus-vermittelter Onkogenese besitzt.

Ziel war es mittels Virus-Onkogen-Überexpression die NASCs zu transformieren, so dass diese Krebszellcharakter einnehmen. Da sich aus experimentellen und personellen Gründen gegen Ende der Förderungsphase die Transformation der NASCs mittels EBV-Onkogene als zu Zeitaufwendig herausgestellt hat, wurde mit einer adenoviral-transformierten NASC-Zelllinie weitergearbeitet. Dies ist bemerkenswert, da dies die erste bekannte in vitro Transformation primärer, humaner adulter Stammzellen aus Epithelgewebe darstellt. Initiale Gesamttranskriptomanalysen deuten darauf hin, dass epitheliale-Mesenchymale Transition und eine verstärkte Expression von Stammzellgenen die virale Transformation in diesen Zellen vorantreibt. Es ist geplant diese Experimente auf die NASCs aus verschiedenen Patienten auszuweiten um so einen stichhaltigen Allgemeinmechanismus der virus-induzierten Karzinogenese in adulten Stammzellen des Nasopharynx zu identifizieren. Dies kann Rückschlüsse auf die Entstehung des Nasopharynxkarzinoms geben und so Angriffspunkte für die Bekämpfung dieses Karzinoms oder virus-induzierter Karzinome liefern.

Der erste Teil des von der Hamburger Krebsgesellschaft geförderten Projektes ist im Abschlussprozess und die Datenanalyse sowie Manuskriptanfertigung werden vorbereitet. Für die Finalisierung des zweiten Teils würden ist geplant zu gegebener Zeit einen Folgeantrag einzureichen.

27. Februar 2018  
Seite 2/2