



Janina Burk

Individualität in der Zellkultur – ein neues LOEWE-Explorationsprojekt

Vielfalt gilt in der heutigen Zeit berechtigterweise als hohes Gut. Dies betrifft die Biodiversität in Lebensräumen ebenso wie die Vielfalt unter den Individuen unserer menschlichen Gesellschaft. In der biomedizinischen Forschung und in der Medizin ist sie jedoch eine Herausforderung in vielerlei Hinsicht, denn sie bedingt, dass nicht jeder Patient gleichermaßen auf eine bestimmte Therapie anspricht. Letzteres wird erfreulicherweise zunehmend thematisiert und es zeigen sich Fortschritte in der patientennahen Forschung im Sinne der personalisierten Medizin. In Bereichen der Grundlagen- und translationalen Forschung zur Entwicklung neuer Therapeutika bestehen jedoch weiterhin substantielle Defizite, was die Berücksichtigung der biologischen Vielfalt betrifft. Das hier thematisierte Dilemma betrifft das Studiendesign von Zellkulturexperimenten und damit in gleich zweifacher Weise die Entwicklung zellbasierter Therapien, da hierbei Zellen nicht nur als mögliches Testsystem, sondern auch als Therapeutikum selbst fungieren.

Multipotente mesenchymale Stromazellen beispielsweise gelten als Hoffnungsträger in der regenerativen Medizin, da sie aus adulten Geweben, demnach also auch vom Patienten selbst, gewonnen werden können und über vielfältige, heilungsfördernde Wirkungsweisen verfügen. Diese Zellen werden daher im Hinblick auf zahlreiche klinische Einsatzgebiete intensiv beforscht. Dem gegenüber stehen jedoch nur vergleichsweise wenige Zellprodukte, die Marktreife erlangen. Einerseits ist dies der Kostenintensität entsprechender klinischer Zulassungsstudien geschuldet, zumal die Entwicklung von Zelltherapeutika meist in den Händen von Forschungseinrichtungen und kleineren Start-up-Unternehmen liegt. Andererseits ist aber auch die Aussagekraft der vorangegangenen grundlegenden

und präklinischen Studien zu hinterfragen, zumal sich in den folgenden klinischen Studien die zuvor vielversprechenden Ergebnisse nicht immer bestätigen. Letzteres muss nicht nur den offensichtlichen Diskrepanzen zwischen Zellkultur- und Tiermodellen und Patienten mit natürlich aufgetretener Erkrankung geschuldet sein. Auch die zu wenig berücksichtigte Diversität der menschlichen Biologie könnte hier eine große Rolle spielen, da bei potentiellen Zelltherapeutika Qualität, Sicherheit und Wirksamkeit spenderbedingt stark variieren.

Möchte man Forschungsdaten publizieren, sind homogene Ergebnisse gern gesehen. Eine starke Streuung der Daten führt zu „unansehnlichen“ Fehlerbalken und verhindert häufig die „statistische Signifikanz“ von Ergebnissen, insbesondere, wenn die Gruppengröße bzw. die Anzahl an Versuchsreplikaten aus praktischen und finanziellen Gründen zunächst relativ klein gehalten werden muss. Sollte daher einer starken Streuung der Daten in der biomedizinischen Forschung entgegengewirkt werden? Weichen technische Wiederholungen des Versuchs stark voneinander ab, spricht dies für eine fehlerhafte Arbeitsweise, welcher selbstverständlich entgegengewirkt werden muss. Was aber, wenn die starke Streuung durch Unterschiede zwischen Zellen verschiedener Spender bedingt ist, also bei biologischen Replikaten des Versuchs auftritt? Es sollte eine Selbstverständlichkeit sein, dies als solches wahr- und ernst zu nehmen – was jedoch in der Praxis oftmals nicht so gehandhabt wird. Seziert man das Versuchsdesign von Studien verschiedenster Arbeitsgruppen am Beispiel der multipotenten mesenchymalen Stromazellen, stellt sich heraus, dass die Arbeit mit mehreren biologischen Replikaten leider nicht unbedingt üblich ist. Häufiger sind Versuchsdesigns mit unabhängigen tech-



PhD-Kandidatin Dea Kukaj und Projektleiterin Prof. Janina Burk im Zellkulturlabor.

(Foto: Privat)

nischen Experimentwiederholungen. Diese werden in der Regel entweder mit kommerziell erhältlichen Zellen oder mit gepoolten Zellkulturen durchgeführt.

Bei kommerziell erhältlichen Zellen ist davon auszugehen, dass als Primärzellen nur diejenigen junger, gesunder Spender auf den Markt kommen. Dies ist zwar scheinbar vorteilhaft für den Ausgang der Experimente, jedoch nicht repräsentativ für die Entwicklung von Zelltherapien, die auf patienteneigenen Zellen

basieren sollen. Repräsentativer erscheinen zunächst die unabhängigen Experimentwiederholungen mit gepoolten Zellen mehrerer Spenderindividuen, zumal die hierbei verwendeten Primärzellen typischerweise von weniger selektierten Spendern im eigenen Labor isoliert werden. Das Pooling beinhaltet, die Zellen der verschiedenen Spender zu gleichen Anteilen zu mischen und diese gepoolten Zellen im Anschluss weiter zu kultivieren, um sie dann in den Experimenten zu verwenden.

Hiermit werden demnach verschiedene Zellspender in den Versuchsansatz integriert, die Experimentwiederholungen sind aber dennoch technischer Natur. Dieser Versuchsaufbau erfreut sich großer Beliebtheit, weil durch das wiederholte Arbeiten mit derselben Zellkultur aus gepoolten Zellen die Streuung der Daten geringgehalten wird und dennoch (vermeintlich) die Zelleigenschaften verschiedener Individuen in die Ergebnisse einfließen. Findet jedoch im Verlauf der gemeinsamen Kultivierung gepoolter Zellen ein "Survival of the fittest" statt, bleibt dies unbemerkt. Dabei ist weithin bekannt, dass Primärzellen wie die multipotenten mesenchymalen Stromazellen in Abhängigkeit von Spendercharakteristika unterschiedlich schnell proliferieren. Setzt man also einen Pool aus Zellen verschiedener Spender zusammen, so ist es äußerst unwahrscheinlich, dass die Zellen all dieser Spender die gleichen Generationszeiten aufweisen und sich demnach exakt gleich schnell vermehren. Vielmehr ist zu erwarten, dass schon nach relativ kurzer Kultivierungszeit diejenigen Zellen mit der kürzesten Generationszeit, möglicherweise die des jüngsten gesunden Spenderindividuums, den Hauptanteil der gepoolten Zellkultur darstellen. Dies würde aber wieder dazu führen, dass die Ergebnisse lediglich für die fittesten Zellen repräsentativ sind und demnach deutlich vorteilhafter ausfallen könnten, als wenn alle Spender gleichermaßen berücksichtigt blieben. Somit wären in beiden Fällen

keine repräsentativen Ergebnisse zu erwarten, obwohl zumindest im Falle der gepoolten Zellkulturen davon ausgegangen wird, mit potentiell weitreichenden Konsequenzen für den Erfolg von Folgestudien.

In einem vom Hessischen Ministerium für Wissenschaft und Kunst seit Ende letzten Jahres geförderten LOEWE-Explorationsprojekt gehen wir nun der hier vermuteten Problematik auf den Grund. Hierfür untersuchen wir, das sind in diesem Projekt die Biologin Dr. Sabine Niebert, die PhD-Kandidatin und Medizinerin Dea Kukaj und ich, Prof. Dr. vet. med. habil. Janina Burk, humane mesenchymale Stromazellen verschiedener Spenderindividuen sowie ihr Verhalten in gepoolten Zellkulturen. Dabei werden wir die Zusammensetzung der Zellpools nachverfolgen und quantifizieren und uns zudem auf die Funktionalität der Zellen und Zellpools fokussieren. Sollte sich die Hypothese bestätigen, dass Zellpools je nach Zusammensetzung und Kultivierungszeit keineswegs repräsentativ für alle enthaltenen Zellspender sind, wird dies etablierte Vorgehensweisen in der präklinischen Forschung grundlegend und mit großer Tragweite in Frage stellen. Daher ist es dringend an der Zeit, diese Hypothese ergebnisoffen zu untersuchen, um die Aussagekraft präklinischer Zellkulturstudien zu sichern.

Kontakt:

janina.burk@vetmed.uni-giessen.de