



# Auswirkungen einer dezellularisierten extrazellulären Knorpelmatrix auf die Differenzierung und Polarisierung von primären Monozyten und Makrophagen

Huber L, Kern J, Gvaramia D, Tritschler H, Jakob Y, Körber L, Breiter R, Brenner RE, Rotter N  
Klinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Kopf- und Halschirurgie

## Einleitung

Über Interaktionen der dezellularisierten extrazellulären Knorpelmatrix (DECM) aus porcinem Nasenknorpel mit Monozyten und Makrophagen (M0), die in M1- (proinflammatorisch) oder M2-Makrophagen (antiinflammatorisch) polarisieren können, ist noch wenig bekannt. Eine vorangegangene Arbeit verglich die Effekte der DECM auf die Monozytenzelllinie THP-1 mit denen anderer Transplantatmaterialien (Parietex) [1]. In dieser Arbeit wurde untersucht, ob die erzielten Ergebnisse auch bei primären Zellen zu beobachten sind.

## Methoden

Primäre Monozyten (CD14+,  $5 \times 10^5$  Zellen/DECM) wurden aus fünf gesunden Blutspendeproben isoliert. Eine Differenzierung zu Makrophagen (M0) erfolgte durch Inkubation der Zellen mit PMA (24h). Die Monozyten/Makrophagen wurden mit der DECM je für 48, 96 und 120 Stunden inkubiert. Um die Polarisierungsfähigkeit der Zellen zu zeigen, wurden die M0-Makrophagen mit LPS und IFN- $\gamma$  zu M1-, und mit IL-4 und IL-13 zu M2-Makrophagen polarisiert. Diese Zellen dienten auch als Positivkontrolle für M1- und M2-Marker, die durch immunologische und molekular-biologische Methoden analysiert wurden.

## Ergebnisse

Wie bereits bei den THP-1 Zellen [1], induzierte die DECM bei primären Monozyten keine Differenzierung zu Makrophagen. Bei der Inkubation der DECM mit M0-Makrophagen wurden Zellen des Phänotyps M2, aber auch des Phänotyps M1 detektiert, ähnlich den Ergebnissen mit den THP-1 Zellen.

## Diskussion

Wir konnten zeigen, dass die DECM keine Differenzierung von primären Monozyten zu Makrophagen induziert. Dies deutet auf eine geringe Immunogenität hin. Da aber bei der Inkubation der DECM mit M0-Zellen auch M1-Makrophagen detektiert wurden, ist eine abschließende Beurteilung bezüglich DECM und Entzündungsreaktionen erst nach tierexperimentellen Untersuchungen möglich.

DFG Förderkennzeichen: Ro2207/5-1

## Morphologie von Monozyten nach Inkubation mit PMA bzw. DECM

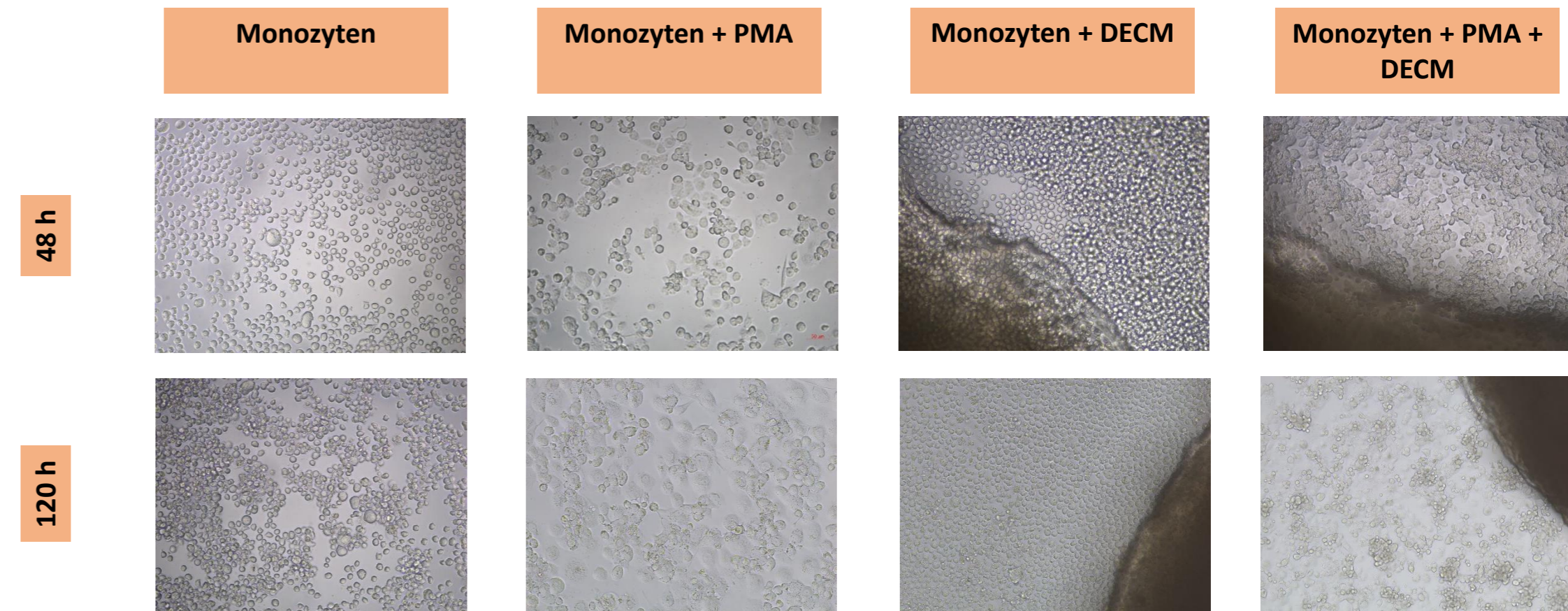


Abb. 1: mikroskopische Analyse der morphologischen Veränderung von Monozyten durch Inkubation mit PMA oder DECM bzw. mit PMA und DECM nach einer Inkubationszeit von 48 bzw. 120 h. Es ist zu erkennen, dass die Inkubation mit PMA eine Differenzierung zu Makrophagen bewirkt (Adhäsion der Zellen), während die DECM keinen Einfluss auf Morphologie und Wachstumseigenschaften der Monozyten zeigt. (Maßstab Balken: 50  $\mu$ m)

## Analyse eines M1 (CD38) bzw. M2 (CD209) Markers

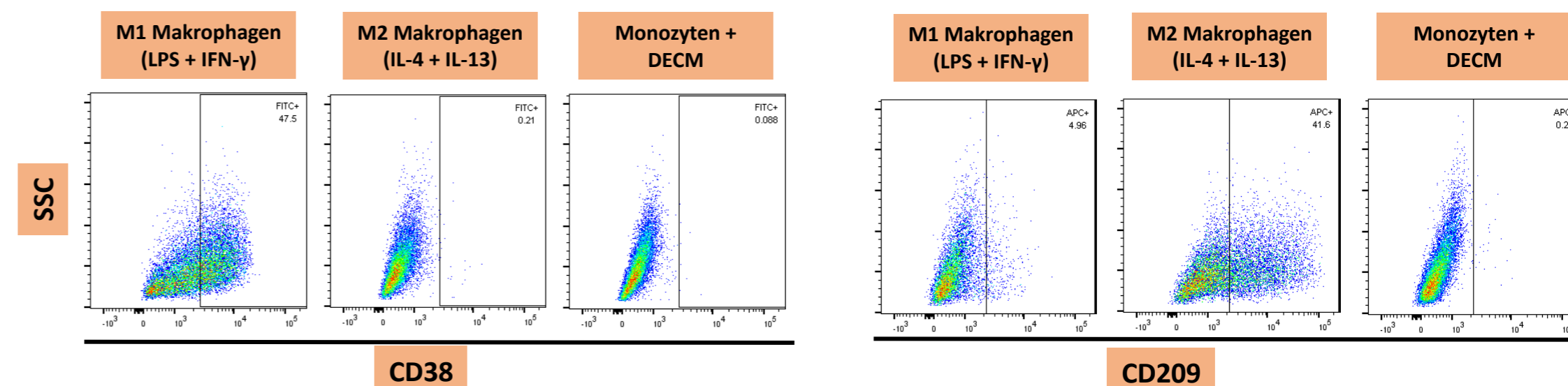


Abb. 2: Bestimmung des M1 Markers CD38 bzw. des M2 Markers CD209 auf mit DECM inkubierten Monozyten nach 120 h mittels Durchflusszytometrie. Diese konnten erwartungsgemäß nicht nachgewiesen werden. Als Positiv- bzw. Negativkontrolle wurden M0-Makrophagen zu M1-Makrophagen (LPS+IFN- $\gamma$ ) bzw. M2-Makrophagen (IL-4 + IL-13) polarisiert.