

## Künstliche Nierenzellen durch Reprogrammierung

**Einem Forscherteam aus Freiburg gelang es erstmals, mit Hilfe direkter Reprogrammierung in vitro Nierenzellen zu erzeugen, die natürlichen Nierentubuluszellen in Aussehen und Funktion in vielerlei Hinsicht ähneln. Damit bilden diese eine vielversprechende Alternative zu Nierenzellen, die aus Tieren isoliert oder aus embryonalen Stammzellen differenziert werden. Die reprogrammierten Nierenzellen können beispielsweise für pharmakologische und toxikologische Tests eingesetzt werden und ermöglichen neue Ansätze zur Erforschung genetischer Nierenkrankheiten.**



Dr. Soeren Lienkamp, Dr. Sebastian Arnold und Dr. Michael Kaminski (v.l.n.r.) ist es gemeinsam gelungen, künstliche Nierenzellen im Labor mittels Reprogrammierung zu erzeugen.

© privat

Die Erzeugung organspezifischer Zelltypen „im Reagenzglas“ kann bereits heute zu den routinemäßig genutzten Methoden von Zell- und Entwicklungsbiologen gezählt werden. Meist werden dazu embryonale Stammzellen oder sogenannte iPS-Zellen (induzierte pluripotente Zellen) eingesetzt. Diese pluripotenten Zellen haben das Potenzial, sich durch die richtige Kombination von Signalen zu allen Typen von Körperzellen zu entwickeln. Diese Differenzierung ahmt dabei die natürliche, schrittweise Entwicklung über Vorläuferzellen nach, wie sie während der Embryonalentwicklung stattfindet und ist daher oft zeitaufwendig. Einen unmittelbaren Weg erlaubt die sogenannte direkte Reprogrammierung. Dabei werden bestimmte Gene mithilfe von viralen Vektoren beispielsweise in Hautzellen eingeschleust und bewirken so deren direkte Umwandlung in

andere Körperzellen. Was für Nerven- und Herzmuskelzellen bereits seit ein paar Jahren möglich ist, gelang einer Gruppe von Forschern aus Freiburg nun erstmals auch für Nierenzellen. Den Teams um Dr. Soeren Lienkamp vom Universitätsklinikum Freiburg und Dr. Sebastian Arnold von der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg gelang es, aus Zellen von Mäusen und Menschen nierenähnliche Zellen zu erzeugen.

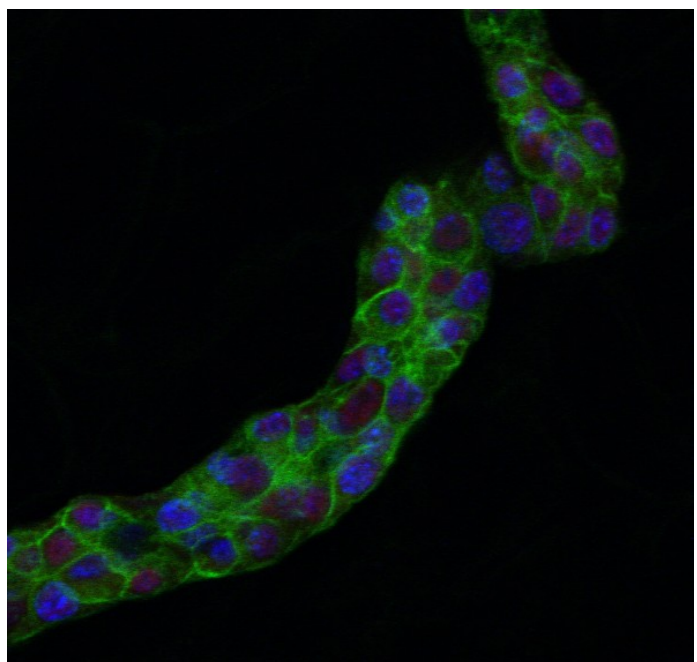
## Vier Gene bestimmen den Zelltyp

Für die Entwicklung dieser induzierten Nierentubulusepithelzellen (induced renal tubular epithelial cells, kurz iRECs) war es entscheidend, die passenden Kontrollgene zu identifizieren, die die Umwandlung des Zelltyps überhaupt ermöglichen. Die Forscher führten dazu eine systematische Analyse von möglichen Genen am Computer durch. „Wir haben zunächst Transkriptionsfaktoren mit hoher und spezifischer Expression in der Niere betrachtet und zusätzlich deren Expression und Funktion während der embryonalen Nierenentwicklung in Xenopus- (Krallenfrosch) und Mausembryonen analysiert“, erklärt Dr. Michael Kaminski, Erstautor der Studie und Arzt am Universitätsklinikum Freiburg. So konnten 13 Kandidatengene ausgewählt werden, aus denen anschließend experimentell vier essenzielle Faktoren für die Reprogrammierung validiert wurden. Bei den vier Genen – *Emx2*, *Hnf1b*, *Hnf4a* und *Pax8* – handelt es sich um genregulierende Transkriptionsfaktoren. Wenn sie in Fibroblasten eingeschleust werden, wandeln sie diese in Nierentubulus-ähnliche Zellen, also iRECs, um.

Die Ähnlichkeit der iRECs mit ihrem natürlichen Vorbild, den Nierentubulusepithelzellen, geht dabei über das bloße Aussehen hinaus. Auch ihr Verhalten und das Wachstum in Kultur sind durchaus vergleichbar. „Sie bilden in einer dreidimensionalen Matrix Spheroide, also polarisierte dreidimensionale kugelartige Gebilde, können aktiv endozytotisch Moleküle aufnehmen und sich auch in Nierenorganoide in vitro integrieren“, schildert Kaminski. Wenn sie in Nieren eingebracht werden, aus denen zuvor alle Zellen entfernt wurden, wachsen sie sogar zu langgestreckten Tubuli zusammen, wie es für diese Nierenzellen typisch ist. Auch die Genexpressionsprofile der iRECs zeigen viele Gemeinsamkeiten zu echten Nierentubuluszellen. Völlig identisch sind sie nicht, da teilweise zum Beispiel noch einige fibroblastentypische Gene aktiviert sind.

## Krankheitsmodelle statt Organersatz

Durch die Ähnlichkeit mit echten Nierenzellen bieten die iRECs vielfältige Anwendungsmöglichkeiten für pharmakologische und toxikologische Tests. „Wir wissen bereits, dass iRECs auf nephrotoxische Substanzen sensibel reagieren, die auch in Patienten zu akuten Tubulusschäden führen können“, schildert Lienkamp. Eine genaue Untersuchung, inwieweit sich auch neue Medikamente an diesen Zellen testen lassen, steht zwar noch aus. Der Einsatz der iRECs als neue In-vitro-Modelle zur Erforschung genetischer Nierenerkrankungen, die den Tubulus betreffen, ist aber zum jetzigen Zeitpunkt bereits möglich. „Darüber hinaus könnten die reprogrammierten Zellen eine zusätzliche



Möglichkeit der Untersuchung von Substanzen an Nierentubuluszellen bieten“, erläutert Arnold. Damit wären in Zukunft vielleicht auch einige tierexperimentelle Versuche erst zu einem späteren Zeitpunkt und bestenfalls auch in reduzierter Zahl nötig.

Die künstlichen Nierentubulusepithelzellen (iRECs) können in vitro zu lang gestreckten Tubuli zusammenwachsen, wie sie für ihre natürlichen Vorbilder typisch sind. Zu sehen sind in Grün die Zellgrenzen einzelner Zellen und in Blau die jeweiligen Zellkerne.

© Jelena Tasic

Einem Einsatz der nun gewonnenen Zellen als regenerativ-medizinischer Ansatz zur direkten Anwendung bei nierengeschädigten Patienten geben die Forscher aktuell noch keine großen Hoffnungen. „Möglicherweise könnten reprogrammierte Zellen in Zukunft hierfür verwendet werden. Aktuell sind dazu noch zu viele Hürden zu überwinden und Sicherheitsaspekte zu beachten“, gibt Lienkamp zu bedenken. Da in Patientenzellen nicht einfach ein genetischer Reporter verwendet werden kann, um erfolgreich reprogrammierte Zellen zu identifizieren, stellt schon allein die Gewinnung der gewünschten Zellen ein sehr großes Hindernis dar. Auch das kontinuierliche Wachstum der iRECs in Kultur ist zwar für viele In-vitro-Anwendungen von Vorteil, verbietet aber zugleich einen möglichen Einsatz im Patienten, da unter anderem die Gefahr besteht, dass aus den reprogrammierten Zellen Tumoren entstehen könnten. „Die Stärke der iRECs liegt klar in der Etablierung von Krankheitsmodellen, daneben tritt der Einsatz für regenerative Zwecke zuerst in den Hintergrund“, urteilt Lienkamp.

## Auf dem Weg zum besseren Verständnis der Zellidentität

Stattdessen arbeiten die Forscher aktuell an der Optimierung des Reprogrammierungsprozesses, um diesen präziser steuern zu können, sowie an besseren Test-Systemen, um die iRECs weiter zu charakterisieren. „Wir beginnen erst langsam zu verstehen, wie Zellen während der Entwicklung ihre lebenslange Identität erhalten“, erklärt Arnold. Der Entwicklungsbiologe erhofft sich deshalb ein besseres Verständnis darüber, wie die Etablierung der Zellidentität erfolgt. Neue, genomweite Untersuchungen von reprogrammierten Zellen und normalen Nierentubuluszellen sollen dazu beitragen. „Spannend wird es sein zu verstehen, wie es zur Reprogrammierung kommt, ohne dass Vorstadien der Nierenentwicklung durchlaufen werden“, schließt er.

---

### Fachbeitrag

26.01.2017

Bettina Baumann

© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

---

### Weitere Informationen

Dr. Soeren Lienkamp

Klinik für Innere Medizin IV

Universitätsklinikum Freiburg

E-Mail: soeren.lienkamp(at)uniklinik-freiburg.de

Dr. Sebastian Arnold

Institut für Pharmakologie

Albert-Ludwigs-Universität Freiburg

E-Mail: sebastian.arnold(at)uniklinik-freiburg.de

- ▶ NephroLAB
  - ▶ Arnold Laboratory
  - ▶ Universitätsklinikum Freiburg – Klinik für Innere Medizin IV
- 

## Der Fachbeitrag ist Teil folgender Dossiers



Adulte Stammzellen - Hoffnungsträger für regenerative Therapien

Gendiagnostik

Niere

Zellkultur

Zelldifferenzierung

Expressionsanalyse

Molekularbiologie

Grundlagenforschung

Genregulation