

Axel Rolf Zander, Norbert Stute, Boris Fehse, Claudia Lange
Adulte oder embryonale Stammzellen?

aus:

Stammzellforschung – Debatte zwischen Ethik, Politik und Geschäft
herausgegeben von Stephan Albrecht, Jörg Dierken, Harald Freese und
Corinna Hößle

S. 9–23

Impressum für die Gesamtausgabe

Bibliografische Information Der Deutschen Bibliothek

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

Diese Publikation ist außerdem auf der Website des Verlags Hamburg University Press *open access* verfügbar unter <http://hup.rrz.uni-hamburg.de>.

Die Deutsche Bibliothek hat die Netzpublikation archiviert. Diese ist dauerhaft auf dem Archivserver Der Deutschen Bibliothek verfügbar unter <http://deposit.ddb.de>.

ISBN 3-9808223-5-4 (Printausgabe)

© 2003 Hamburg University Press, Hamburg

<http://hup.rrz.uni-hamburg.de>

Rechtsträger: Universität Hamburg

Inhaltsübersicht

Vorwort	7
<i>Stephan Albrecht, Jörg Dierken, Harald Freese, Corinna Hößle</i>	
Adulte oder embryonale Stammzellen?	9
<i>Axel Rolf Zander, Norbert Stute, Boris Fehse, Claudia Lange</i>	
Die Würde des Menschen in bioethischen Konflikten	25
<i>Jörg Dierken</i>	
Der Embryo – Mensch von Anfang an?	
Schülervorstellungen zum Beginn menschlichen Lebens und zu dessen Schutzbedürftigkeit	43
<i>Corinna Hößle</i>	
Vom Sinn der Grenzen	
Dialektik in der Gentherapie und Stammzellforschung	77
<i>Christopher Baum</i>	
Die gentechnische Offensive	
Wie wissenschaftliche Visionen normative und empirische Diskurse über Behinderungen beeinflussen	97
<i>André Frank Zimpel</i>	
Möglichkeiten der Zelltransplantation am Auge unter Berücksichtigung der Knochenmarkstammzellen	107
<i>Katrin Engelmann, Jürgen Bednarz, Monika Valtink</i>	
Grenzüberschreitung und Transzendenz	
Zur Rolle der Religion im ethischen Diskurs	117
<i>Michael Moxter</i>	

Wie die Gene ins Feuilleton kommen	
Alltagsmythen und Metaphern im Gentechnikdiskurs	137
<i>Ulrich Gebhard</i>	
Diskurskultur und Moral	161
<i>Patricia Nevers</i>	
Referentinnen und Referenten	181

Adulte oder embryonale Stammzellen?

Axel Rolf Zander, Norbert Stute, Boris Fehse, Claudia Lange

Inhaltsübersicht

- 1 Einführung
- 2 Hämatopoetische Stammzellen
 - 2.1 Adulte Stammzellen anderer Gewebe
 - 2.2 Charakterisierung der adulten Stammzellen
 - 2.3 Potenzial adulter Stammzellen
 - 2.4 Ermutigende Beispiele aus Tierversuchen
 - 2.5 Embryonale Stammzellen
- 3 Entwicklung der Stammzelltherapie
- 4 Fazit
- 5 Adulte Stammzellen in Hamburg
 - 5.1 Mesenchymale Stammzellen (MSZ) zur Behandlung neurologischer Erkrankungen
 - 5.2 MSZ zur Behandlung von Netzhautdegenerationen
 - 5.3 MSZ zur Behandlung von Leberschäden
 - 5.4 MSZ zur Behandlung von koronaren Herzerkrankungen
 - 5.5 MSZ zur Behandlung von Knorpelschäden

Zusammenfassung

Die humane Nutzung adulter Stammzellen bildet eine ernst zu nehmende Alternative zur Verwendung humaner embryonaler Stammzellen. Adulte Stammzellen aus dem Knochenmark können in Knochen, Leber, Muskel, Herzmuskel und Zellen des Zentralen Nervensystems differenzieren. Der entscheidende Vorteil der adulten Stammzelle gegenüber der embryonalen Stammzelle ist die Möglichkeit, sie vom Patienten selbst zu gewinnen und nach erfolgter Expansion ohne Immunsuppression zurückzugeben. Im Gegensatz zu embryonalen Stammzellen gibt es keine ethischen Bedenken bei der Anwendung adulter Stammzellen. Angesichts des enormen Potenzials dieser Zellen ist eine Vervielfachung der Fördermittel für diese Zukunftstechnologie unabdingbar.

1 Einführung

Stammzellen (SZ) sind unreife Vorläuferzellen eines Gewebes, die durch zwei besondere Eigenschaften charakterisiert sind: 1. die Fähigkeit, in reife Stadien und gegebenenfalls verschiedene Gewebe differenzieren zu können und 2. dem Vermögen, sich praktisch unbegrenzt selbst zu erneuern, ohne dabei an Differenzierungspotenzial einzubüßen. Das bekannteste Beispiel stellen totipotente embryonale Stammzellen beziehungsweise Zygoten dar, aus denen ganze Organismen heranwachsen können (in der Natur führt dieses Phänomen zum Beispiel zur Entstehung eineiiger Zwillinge). Adulte SZ (ASZ) sind postnatalen – also nicht embryonalen oder fetalen – Ursprungs und befinden sich durchweg in einem reifen Gewebe.

Die Existenz einer adulten, multipotenten Stammzelle für die Blutbildung wurde erstmals von Maximov 1906 (Maximov 1906: 609) postuliert. Dessen Konzept der Hämatopoese setzte sich im Laufe der Jahrzehnte aufgrund experimenteller Daten weitgehend durch. Die erfolgreiche Einführung der Knochenmarkstransplantation (KMT) in die klinische Praxis erbrachte letztlich den Beweis für die Existenz adulter hämatopoetischer Stammzellen (HSZ).

In den letzten Jahren wurden adulte Stammzellen auch in nicht-hämatopoetischen Geweben nachgewiesen, unter anderem als mesenchymale (MSZ) sowie neurale Stammzellen (NSZ). Eine Reihe dieser nicht hämatopoetischen ASZ findet sich ebenfalls im Knochenmark: Es enthält Stammzellen (SZ) für endotheliale, epitheliale und mesenchymale Gewebe wie Knochen, Knorpel und Fett sowie SZ für Muskel-, Leber- und Nervenzellen.

Bei der Fokussierung auf die Möglichkeiten der embryonalen Stammzellen (ESZ) des Menschen und die damit verbundenen ethischen Probleme scheinen die ASZ aus dem Blickfeld der Öffentlichkeit geraten zu sein. Dabei gibt es humane ASZ in viel mehr Geweben und Organen als man früher für möglich gehalten hätte, zum Beispiel in Muskel und ZNS. Und sie zeigen seit einigen Jahren zunehmend völlig unerwartete Eigenschaften und ihr großes Potenzial. Unter geeigneten Bedingungen differenzieren ASZ in reife Zellen über Gewebe- und sogar Keimblattgrenzen hinweg und stellen somit alte naturwissenschaftliche Dogmen in Frage. Dadurch hat sich für die Grundlagen- und anwendungsorientierte Forschung ein neues, weites Feld eröffnet, das Einblicke in die Mechanismen der Zellregeneration und -differenzierung ermöglicht sowie neue Möglichkeiten der Zelltherapie verspricht. Im Folgenden soll daher der Versuch gemacht werden, das Gebiet der ASZ aus wissenschaftlich-klinischer Sicht zu beleuchten und den ESZ gegenüberzustellen.

2 Hämatopoetische Stammzellen

Hämatopoetische Stammzellen (HSZ) aus dem Knochenmark sind die bekanntesten ASZ. Sie sorgen für die ständige Regeneration der verschiedenen Blutbestandteile und des Immunsystems. Die HSZ sind die am besten beforschten Stammzellen und dienen insofern als Prototyp für die ASZ. Sie sind bereits seit gut 25 Jahren im Rahmen der autologen wie allogenen Knochenmarktransplantation (KMT) klinisch etabliert.

Die blutbildenden Stammzellen zeigen, geeignete Bedingungen vorausgesetzt, ebenfalls einen beachtlichen Grad an unerwarteter Differenzierbarkeit (Weissmann 2000: 157; Kuehnle 2002: 372).

2.1 Adulte Stammzellen anderer Gewebe

Mittlerweile kennt man viele gewebespezifische, zumeist somatische Stammzellen beim Menschen. Bisher schon beschrieben sind neben den HSZ mehr oder weniger unreife und zum Teil multipotente adulte Stammzellen für Knochenmarkstroma, Fett, Muskel, Nerven/ZNS, Knochen, Knorpel, Gefäßendothel, Epithel von Haut und Magen-Darm-Trakt, Leber, Pankreas, Cornea, Retina und Dentin (Petersen 2001:1773; Stem Cells 2001).

2.2 Charakterisierung der adulten Stammzellen

In den letzten Jahren konnte gezeigt werden, dass humane adulte Stammzellen eine erstaunliche Plastizität der Differenzierung über Gewebegrenzen hinweg besitzen; dies setzt allerdings bestimmte Kulturbedingungen und spezifische Gewebemilieus voraus. Dieses auch als Transdifferenzierung bezeichnete Phänomen ist noch weitgehend unerforscht und könnte durch folgende Mechanismen erklärt werden (Blau 2001: 829): Genetische Reprogrammierung (Entdifferenzierung und Transformation in eine unreife Zelle), Transdifferenzierung (direkte Differenzierung ohne Reprogrammierung) oder durch eine sehr seltene, bisher noch nicht beschriebene gemeinsame Stammzelle, die sich in abgewandelter Form in vielen Geweben wieder findet. Es könnte aber auch sein, dass die beobachtete Plastizität ein Artefakt ist, der auf die bevorzugte Differenzierung eines Zelltyps aus einem Gemisch mehrerer Stamm- und Progenitorzellen zurückzuführen ist (Pseudoplastizität).

Adulte mesenchymale Stammzellen (MSZ) wurden erstmals von Friedenstein 1966 (Friedenstein 1966: 381) beschrieben und sind die multipotenten Stammzellen des Knochenmarkstromas. Die MSZ sind äußerst seltene Zellen aus dem

Knochenmark (CD34- und CD45-), die sich auch in anderen Geweben wiederfinden. Sie unterscheiden sich in erster Linie durch die verwendeten Isolierungsmethoden und Kulturbedingungen und sind sowohl beim Menschen als auch bei Maus und Ratte beschrieben. Humane MSZ können nicht nur aus Knochenmark, sondern auch aus Fett, peripherem Blut, Nabelschnurblut und Gelenksynovia gewonnen werden (Pittenger 2001: 349).

Eine weitere Gruppe bilden die adulten neuralen Stammzellen (NSZ) aus dem ZNS, aus denen Neurone, Oligodendrozyten und Astrozyten hervorgehen. NSZ sind seltene Zellen und finden sich beim Menschen überwiegend in der ventrikulären und subventrikulären Zone des Gehirns und in der subgranulären Zone des Gyrus dentatus im Hippocampus (McKay 1997: 66).

Neben den multipotenten ASZ aus dem Knochenmark und ZNS wurden multipotente ASZ aus Fett und Muskel sowie bipotente ASZ aus dem Pankreas bei Mensch und Tier beschrieben.

2.3 Potenzial adulter Stammzellen

Die überzeugendsten Beweise für die Multipotenz der adulten Stammzelle beim Menschen kommen aus der Knochenmark- und Organtransplantation. So fand man bei weiblichen Patienten nach Knochenmarktransplantation von einem männlichen Spender in der Leber einen hohen Prozentsatz von Leberparenchym und Gallengangszellen, die sich mit dem Spendermarker (Probe für Y-Chromosom) nachweisen ließen. Nach Lebertransplantation männlicher Patienten mit Lebern von weiblichen Spendern fanden sich ebenso eine Anzahl von Gallengangs- und Leberparenchymzellen, die den Empfängermarker aufwiesen (Alison 2000: 406).

Kinder mit der seltenen Glasknochenkrankheit (Osteogenesis imperfecta) zeigten nach einer normalen Knochenmarktransplantation (KMT) neben einer Zunahme der Knochenfestigkeit einen erstaunlichen Rückgang der Frakturrate, welche allerdings nur etwa ein Jahr Bestand hatte. Hier konnten Osteoblasten vom Spendertyp nachgewiesen werden (Horwitz 2001: 1227).

Über ASZ beim Menschen liegen im Gegensatz zu ESZ sogar bereits langjährige Verträglichkeitsuntersuchungen am Patienten vor. In klinischen Studien wird sowohl autolog, als auch allogene die Rolle von MSZ Ko-transplantationen neben der KMT am Patienten untersucht, mit dem Ziel der Verbesserung der hämatopoetischen Erholung und Verminderung der Spender-gegen-Wirt-Reaktion (Koc 2000: 307). Dabei kam es bisher zu keinen nennenswerten Problemen.

2.4 Ermutigende Beispiele aus Tierversuchen

Eine Reihe von Tierversuchen belegt das Potenzial der adulten Stammzellen eindrücklich. So konnten zum Beispiel Mäuse, die an einer tödlichen Form der Tyrosinämie (einer erblichen, metabolischen Lebererkrankung) litten, durch Transplantation von HSZ oder Pankreaszellen geheilt werden (Lagasse 2000: 1229). Außerdem konnten Leberzellen aus transplantiertem Knochenmark in Maus und Ratte gewonnen werden (Theise 2000: 235).

Ratten mit einem Herzinfarkt hatten eine merklich bessere Herzfunktion und zum Teil ein deutlich besseres Überleben, wenn sie Stammzellen aus dem Knochenmark in den Herzmuskel injiziert bekamen oder wenn durch Gabe von Zytokinen Stammzellen aus dem Knochenmark freigesetzt wurden (Orlic 2001: 10344).

2.5 Embryonale Stammzellen

Embryonale Stammzellen (ESZ) stammen aus der frühen Entwicklungsphase eines Embryos vor der Nidation, und zwar aus der sog. inneren Zellmasse der Blastozyste. ESZ sind unreif, schnell und nahezu beliebig vermehrbar und können sich auch beim Menschen in fast jede Zellart entwickeln.

ESZ sind pluripotent, das heißt in sämtliche Gewebe des menschlichen Organismus inklusive Trophoblast beziehungsweise Plazenta differenzierbar, aber anders als eine Zygote können sie sich nicht in komplette Embryos entwickeln. Von embryonalen Stammzellen des Menschen konnte zum Beispiel gezeigt werden, dass sie in Kardiomyozyten, insulinproduzierende Zellen und Neurone differenzieren können (Marshak 2001; Stem Cells 2001).

Die unten angeführte Tabelle gibt eine grobe Übersicht über das Pro und Contra in der Stammzelldebatte.

Das häufig vorgebrachte Argument, dass embryonale Stammzellen zum Studium der Mechanismen der Reprogrammierung und Transdifferenzierung notwendig seien, lässt sich dahingehend einschränken, dass diese Versuche auch mit adulten Zellen unternommen werden können. Es wird zudem oftmals behauptet, ASZ seien anders als ESZ nicht genügend schnell vermehrbar, schlecht zu transfizieren und nicht gezielt differenzierbar. Dieses Argument gilt in erster Linie für die HSZ und ist in dieser Form so nicht richtig: Es gibt sehr wohl ASZ, die hervorragend expandierbar (millionenfach in 3 Wochen) und transfizierbar (> 90 %) sind, wenige Milliliter Knochenmark genügen.

Tabelle: Embryonale versus adulte Stammzellen

	Embryonale Stammzellen	Adulte Stammzellen
Pro	<ul style="list-style-type: none"> • gut expandierbar • pluripotent 	<ul style="list-style-type: none"> • leicht gewinnbar • keine ethischen Bedenken • zum Teil gut expandierbar • multipotent • gut verträglich • autolog und allogene möglich
Contra	<ul style="list-style-type: none"> • ethische und rechtliche Bedenken • schwierige Gewinnbarkeit • Gefahr der Abstoßung • Immunsuppression notwendig • Gefahr eines Terato-Carcinoms • Mangel an spezifischen Markern 	<ul style="list-style-type: none"> • Mangel an spezifischen Markern

Probleme in der Anwendung von ESZ: Embryonale Stammzellen sind Fremdzellen und entwickeln bei der Differenzierung in reife Gewebe Histokompatibilitäts-Merkmale (HLA) des Spenders. Sie erfordern daher, ähnlich wie Organtransplantate, wahrscheinlich eine lebenslange und nebenwirkungsreiche Immunsuppression, um eine Abstoßungsreaktion beim Empfänger zu verhindern.

3 Entwicklung der Stammzelltherapie

Sowohl bei ESZ als auch ASZ sind sehr viele Mechanismen unverstanden und viele praktische Probleme noch ungelöst.

Für einen erfolgreichen Einsatz von ASZ oder ESZ müssen eine Reihe von Voraussetzungen erfüllt sein (Blau 2001: 829): Die Zahl der übertragenen Zellen muss ausreichend hoch sein und die Reinheit der Zellpräparation ist wichtig. Morphologie, Phänotyp und Genotyp sollten spätestens nach erfolgter Transplantation Merkmale des neuen Gewebes aufweisen und eine möglichst genaue Charakterisierung der Eigenschaften und Standardisierung sollten im Vorfeld erfolgen. Unverzichtbar ist die erfolgreiche Integration ins Zielgewebe nach der Transplantation (im Allgemeinen werden die Ergebnisse besser, wenn ein Zellschaden im Zielgewebe vorliegt) und der Nachweis der Funktion im Reagenzglas oder im Organismus.

So nützt es zum Beispiel nichts, wenn im Reagenzglas gezüchtete Zellen aussehen wie Nervenzellen, aber keine Aktionspotenziale aufweisen oder Synapsen ausbilden. Herzmuskelzellen müssen einen Kontakt zum umgebenden Muskelgewebe herstellen, um sich synchron kontrahieren zu können. Bauchspeicheldrüsenzellen sollten nicht nur Insulin produzieren, sondern dies wohl dosiert je nach Blutzuckerspiegel und auch dauerhaft tun. Weiterhin ist es wichtig, dass die integrierten Zellen nicht unbeschränkt weiterwachsen und so Tumore produzieren.

4 Fazit

Im Augenblick ist es viel zu früh, Hoffnungen auf einen unmittelbaren klinischen Einsatz von oben beschriebenen Stammzellen zu wecken. Für viele der im Zusammenhang mit der Stammzellforschung oft diskutierten Erkrankungen wie zum Beispiel Morbus Parkinson, Multiple Sklerose, Osteoporose, Herzinfarkt und Diabetes mellitus sind ernstzunehmende, konkrete Studien am Menschen frühestens in wenigen Jahren zu erwarten.

Die Standortfrage ist weniger, ob wir in Deutschland Forschung mit embryonalen Stammzellen machen oder nicht. Die eigentliche Standortfrage ist, ob die Bundesregierung, die Länder und die Wirtschaft bereit sind, neben der Biotechnologie verstärkt in die Stammzellforschung zu investieren. Aufgrund der experimentellen Datenlage, der fehlenden ethischen Problematik und der leichteren klinischen Umsetzbarkeit sollte den adulten Stammzellen dabei die Priorität gegenüber embryonalen Stammzellen gegeben werden.

Für notwendige, anders nicht realisierbare Grundlagenforschung sind embryonale Stammzelllinien verfügbar gemacht worden.

Nach einem angemessenen Zeitraum sollten die Fortschritte in der Forschung an ASZ und ESZ reevaluiert werden.

5 Adulte Stammzellen in Hamburg

In Hamburg arbeiten 5 Gruppen in einem lockeren Verbund an Projekten der Geweberegeneration mit adulten Stammzellen. Im Zentrum der Forschung stehen Stammzellen des Knochenmarks, die typische Charakteristika mesenchymaler Stammzellen aufweisen. Zurzeit wird an der Isolierung, Expansion und Charakterisierung mesenchymaler Stammzellen aus humanem, Ratten- und Maus-Knochenmark gearbeitet. Um ein schnelles Wachstum unter Beibehaltung des unreifen Phänotyps zu gewährleisten, wurden für jede Spezies Testungen unterschiedlicher Seren durchgeführt. Für humane sowie Ratten- und Maus-Stammzellen wurde jeweils ein Serum selektioniert, das ein maximales Wachs-

tum der Zellen erlaubt, gleichzeitig jedoch die Multipotenz der Zellen nicht beeinflusst. In-vitro-Differenzierungen dieser Zellen in die mesenchymalen Zelltypen Chondrozyten, Osteozyten und Adipozyten zeigten, dass expandierte mesenchymale Stammzellen in diese drei Zelltypen unter entsprechenden Bedingungen differenzieren können. Der Phänotyp der humanen MSZ entspricht dem von anderen Autoren publizierten. Zusammenfassend zeigen die bisher erhobenen Daten, dass die von uns generierten humanen MSZ multipotente Vorläuferzellen enthalten.

Die expandierten und charakterisierten Zellen werden in bereits laufenden Projekten als Stammzellen eingesetzt, um gewebsspezifische, differenzierte Zellen in vivo zu generieren, die in der Lage sein sollen, bestehende Defekte zu reparieren und die volle Funktionsfähigkeit des entsprechenden Organs wieder herzustellen. Folgende Themenbereiche werden bearbeitet:

5.1 Mesenchymale Stammzellen (MSZ) zur Behandlung neurologischer Erkrankungen

In bisherigen Arbeiten im Tiermodell konnte gezeigt werden, dass transplantierte neurale Stammzellen defekte oder degenerierte endogene Nervenzellen oder Gliazellen ersetzen können. In vitro differenzierten neurale Vorläuferzellen neben wenigen Nervenzellen und Oligodendrozyten überwiegend in Astrozyten aus. Nach Transplantation von neuronalen Vorläuferzellen ins Nervengewebe von dysmyelinisierten Maus- oder Ratten-Mutanten jedoch wurde gezeigt, dass eine Differenzierung dieser Zellen in Myelin bildende Oligodendrozyten erfolgte. Die Transplantation von EGFP-transgenen neuronalen Nervenzellen in die Retina junger Mäuse führte zu einer zeitabhängigen Myelinisierung der Nervenfasern. Durch Doppelfärbungen für EGFP und Myelin-Protein konnte die Spender-Herkunft gezeigt werden. Diese Ergebnisse zeigen, dass in vivo die Mikroumgebung eine wichtige Rolle im Differenzierungsverhalten transplanteder Zellen besitzt und nicht myelinisierte Zellen die multipotenten Zellen zur Differenzierung in den entsprechenden Nervenzelltyp „instruieren“ können. Dieser Einfluss der umgebenden Zellen auf die Differenzierung transplanteder Zellen wurde auch in anderen Knock-out-Modellen beobachtet, zum Beispiel in MAG(myelin-associated glycoprotein)-, fyn(tyrosin-kinase)- und MAG/fyn-defizienten Mäusen und ebenso in verletzungsbedingten Schäden des Hirns. Laufende und geplante Arbeiten untersuchen das Potenzial mesenchymaler Stammzellen zur Differenzierung in neuronale Zellen in vitro und ihre Integration und Funktion in vivo.

5.2 MSZ zur Behandlung von Netzhautdegenerationen

Viele degenerative Netzhauterkrankungen haben ihren Ursprung im retinalen Pigmentepithel (RPE). Dysfunktionen des RPE führen zu Degenerationen der benachbarten Photorezeptoren und der unterliegenden Aderhaut und somit zum irreversiblen Verlust des zentralen Sehvermögens. Ein neuartiger Therapieansatz für die Behandlung dieser Erkrankung könnte der Ersatz des erkrankten RPE durch funktionstüchtige Spenderzellen sein.

Die Arbeitsgruppe beschäftigt sich seit Jahren mit der In-vitro-Kultivierung von Zellen aus dem adulten Auge. Neben der Optimierung der Kultivierungsbedingungen für korneale Endothelzellen und RPE wurden Transplantationsmodelle dieser Zellen etabliert. In einem In-vivo-Modell wurde die Transplantation von RPE in ein netzhautdystrophisches Tiermodell (RCS-Ratte) untersucht und ebenso ist dieses Modell für die Transplantation mesenchymaler Stammzellen vorgesehen. In vitro zeigten humane MSZ bei Kultivierung auf natürlicher extrazellulärer Matrix von kornealen Endothelzellen keine Substratspezifität und waren, typisch für undifferenzierte Zellen, unbeeinflusst in ihrem Wachstumsverhalten. Wurde jedoch Chorioidea-konditioniertes Medium während der Kultur eingesetzt, verlangsamten die MSZ ihr Wachstum, veränderten die Morphologie mit Anzeichen neuronaler Differenzierung und dendritischen Ausläufern und zeigten nach L-DOPA-Zugabe eine positive Pigmentreaktion als Nachweis der für die Melanogenese notwendigen Tyrosinase. Ob und welches Differenzierungsstadium der MSZ für die Transplantation als Zellersatz in der RCS-Ratte notwendig ist, um funktionelle Regeneration der Netzhaut zu erreichen, ist Anliegen der weiteren Untersuchungen.

5.3 MSZ zur Behandlung von Leberschäden

Metabolische Lebererkrankungen führen im Endstadium zur Leberzirrhose und können zurzeit nur durch Organtransplantation geheilt werden. Bei lokalen Defekten konnte in experimentellen Systemen eine Leberregeneration durch ruhende adulte Leberzellen, aber auch durch Rekrutierung pluripotenter Stammzellen aus dem Knochenmark beobachtet werden. Ebenso wurde gezeigt, dass mesenchymale Stammzellen der Ursprung der Leberstammzellen (Oval-Cells) sein können.

Die Arbeitsgruppe beschäftigt sich mit der Isolation und Charakterisierung hepatischer Zellen als auch der Generierung und Proliferation von Leberzellen aus dem Knochenmark in vitro. Zur Evaluierung der Stimulationsmöglichkeit hepatozytärer Stammzellen wurden Pankreaszellen als Ursprungsort hepatotropher Substanzen mit Hepatozyten kokultiviert und die Proliferation und Vitalität untersucht. Die Ergebnisse zeigten einen entscheidenden Einfluss der Pankreaszel-

len (Insulin- und Glucagon-Produktion) auf die Zellzahl und Albuminsekretion, die durch zusätzliche Hormone nicht weiter gesteigert werden konnte. In Transplantationsexperimenten von Hepatozyten \pm Pankreasinseln auf polymeren Matrices wurden diese Ergebnisse *in vivo* bestätigt. Zurzeit wird an der Generierung von extrahepatischen Stammzellen aus CD34-positiven Knochenmarkszellen und deren Charakterisierung unter hepatodifferenzierenden Bedingungen *in vitro* gearbeitet. Der nächste Schritt wird die Differenzierung mesenchymaler Stammzellen in Albumin-exprimierende Hepatozyten *in vitro* beinhalten.

5.4 MSZ zur Behandlung von koronaren Herzerkrankungen

Eine neue vielversprechende Strategie zur Verbesserung der Herzfunktion von Patienten mit koronarer Herzkrankheit ist die Transplantation von Knochenmarkstammzellen in das ischämische Myokard.

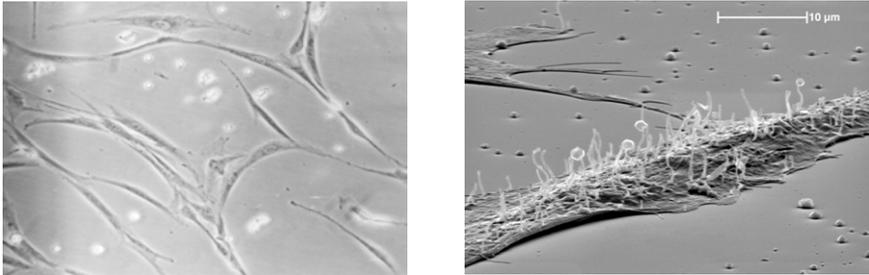
Die Arbeitsgruppe sucht nach neuen Wegen, ischämisches Herzgewebe nach Infarkten zu regenerieren. Humane MSZ wurden *in vitro* mit Azacytidin stimuliert. 80 % der stimulierten Zellen exprimierten „smooth muscle actin“ (SMA), nicht jedoch Herzmuskel- und Fibroblasten-spezifische Antigene und zeigten einen myogenen Phänotyp. Nach anschließender endokardialer Injektion in das Myokard von Schweinen wurden bis zu 10% der Zellen in den Injektionskanälen detektiert. MSZ stellen somit eine vielversprechende Alternative für neue Behandlungsstrategien nach Herzinfarkt dar.

5.5 MSZ zur Behandlung von Knorpelschäden

Oberflächendefekte des Gelenkknorpels heilen nicht spontan. Herkömmliche Methoden zur Behandlung solcher Defekte nutzen gesunden Knorpel aus nicht belasteten Arealen des Gelenkes, die als Stenzen oder Zylinder in die defekten Stellen eingesetzt werden. Neuere Ansätze nutzen autologe Chondrozyten, die nach *In-vitro*-Expansion als Zellsuspension oder auf Matrices in die defekte Stellen unter einen Periostlappen transplantiert werden.

Die Arbeitsgruppe arbeitet seit Jahren an der *In-vitro*-Chondrogenese, um geeignete Methoden der Expansion *in vitro* und abbaubare Biomaterialien als Grundlage für die Chondrozytentransplantation zu etablieren. Dabei dürfen die expandierten Chondrozyten nicht das Potenzial zur Matrixproduktion verlieren beziehungsweise sollten nach der *In-vitro*-Dedifferenzierung die Möglichkeit zur Redifferenzierung in matrixbildende Chondrozyten beibehalten. Die wichtigen Matrixkomponenten Glucosaminproteoglykane (GAG) und Collagen II sind essenziell für eine Neubildung von belastungsfähigem hyalinen Knorpel. Diese

Matrixkomponenten werden von mesenchymalen Stammzellen auch *in vitro* gebildet und eine Differenzierung in Chondrozyten findet unter geeigneten Bedingungen statt. Daher sollen in zukünftige Untersuchung zur Chondrozytentransplantation auch MSZ in die Ausarbeitungen einbezogen und geeignete Bedingungen für eine transplantationsfähige Applikationsform ausgearbeitet werden.



Abbildungen: Humane mesenchymale Stammzellen in Kultur, dargestellt mit Phasenkontrast- (A, x100) und Rasterelektronenmikroskopie (B, x4000).

© Axel Rolf Zander, Hamburg.

Literatur

- Alison, M.R. / Poulson, R. / Jeffery, R. / Dhillon, A.P. et al. (2000): Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells, in: *Nature* 406, 257.
- Blau, H.M. / Brazelton, T.R. / Weimann, J.M. (2001): The evolving concept of a stem cell: entity of function? in: *Cell* 105, 829-841.
- Friedenstein, A.J. / Piatetzky-Shapiro, I.I. / Petrakova, K.V. (1966): Osteogenesis in transplants of bone marrow cells, in: *J Embryol Exp Morphol* 16, 381-290.
- Horwitz, E.M. / Prockop, D.J. / Gordon, P.L. / Koo, W.W. et al. (2001): Clinical responses to bone marrow transplantation in children with severe osteogenesis imperfecta, in: *Blood* 97, 1227-1231.
- Koc, O.N. / Gerson, S.L. / Cooper, B.W. / Dyhouse, S.M. et al. (2000): Rapid hematopoietic recovery after coinfusion of autologous-blood stem cells and culture-expanded marrow mesenchymal stem cells in advanced breast cancer patients receiving high-dose chemotherapy, in: *J Clin Oncol* 18, 307-316.
- Kuehnle, I. / Goodell, M.A. (2002): The therapeutic potential of stem cells from adults, in: *BMJ* 325, 372-376.

- Lagasse, E. / Connors, H. / Al Dhalimy, M. / Reitsma, M. et al. (2000): Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo, in: *Nat Med* 6, 1229-1234.
- Marshak, D.R. / Gottlieb, D. / Kiger, A.A. / Fuller, M.T. et al. (2001): *Stem cell biology*. Marshak, D.R. / Gardner R.L. / Gottlieb D. eds. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Maximov, A. (1906): Über experimentelle Erzeugung von Knochenmarkgewebe. *Anat Anz* 28, 607-612.
- McKay R. (1997): Stem cells in the central nervous system, in: *Science* 276, 66-71.
- Orlic, D. / Kajstura, J. / Chimenti, S. / Limana, F. et al. (2001): Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival, in: *Proc Natl Acad Sci USA* 98, 10344-10349.
- Petersen, B.E. / Terada, N. (2002): Stem cells: a journey into a new frontier, in: *J Am Soc Nephrol* 12, 1773-1780.
- Pittenger, M.F. / Marshak, D.R. (2001): Mesenchymal stem cells of human adult bone marrow. Marshak D.R. / Gardner D.K. / Gottlieb D eds. 2001. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 349-374.
- Stem Cells: Scientific progress and future research directions. Department of Health and Human Services. June 2001.
<http://www.nih.gov/news/stemcell/scireport.htm>
- Theise, N.D. / Badve, S. / Saxena, R. / Henegariu, O. et al. (2000): Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation, in: *Hepatology* 31, 235-240.
- Weissmann, I.L. (2000): Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution, in: *Cell* 100, 157-168.

Curriculum Vitae Axel Rolf Zander

1970	ECFMG
1970-1977	Residency and Fellowship in Hematology / Oncology, University of Illinois, Chicago
1977	Assistant Professor of Medicine, University of Illinois Assistant Internist, Dept. of Developmental Therapeutics
1977-1985	Assistant and Associate Professor, MD Anderson Hospital and Tumor Institute, Houston, Texas
1985-1989	Chief, Section of Bone Marrow Transplantation, Department of Medicine, Pacific Presbyterian Medical Center, San Francisco
seit 1990	Leitender Arzt des Zentrums für Knochenmarktransplantation, Universität Hamburg

Positionen:

1987-1989	Mitglied „Joint Council of Research“
1989	Chairman „Joint Council of Research“ (Ethik-Kommission)
1992	Vorsitzender des Preiskomitees der Erich und Gertrud Roggenbuck-Stiftung für hervorragende Leistung in der Knochenmarktransplantation
1997	Dr. h.c. Pavlov State Medical University St. Petersburg
2001	Mitglied des IBMTR (International Bone Marrow Transplantation Registry) – Board of Director (Vorstand)
2001	Treasurer (Schatzmeister) der International Society for Experimental Hematology (ISEH)

Curriculum Vitae Norbert Stute

1978-1981	Studium der Medizin an der Universität Aachen
1981-1985	Fortsetzung des Studiums an der Universität Würzburg
1982	Doktorarbeit am Institut für Pharmakologie, Prof. Dr. U. Trendelenburg, Untersuchungen zum Verhältnis von intraneuronalem Na ⁺ -Spiegel und Auswärtstransport von axoplasmatischem Noradrenalin

22	Axel Rolf Zander, Norbert Stute, Boris Fehse, Claudia Lange
1985	Staatsexamen und Approbation an der Universität Würzburg
1986-1987	Assistenzarzt an der Universität Marburg, Promotion
1988	FMGEMS – ECFMG-Zertifikat (USA), Assistent in der Allgemeinmedizin (Herdecke)
1989	Assistent in der Allgemeinen Chirurgie in Hagen
1990-1992	Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Abteilung für Pharmazie am St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, USA
1992-1994	Wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Kinderklinik der Universität Münster
1994-1998	Wissenschaftlicher Assistent an der Medizinischen Klinik I der Universität Dresden
seit 1999	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Zentrum für Knochenmarkstransplantation der Universität Hamburg

Curriculum Vitae Boris Fehse

1986-1992	Studium der Biochemie mit Abschluss Diplom 1992 an der Russischen Medizinischen Universität in Moskau
1992-1996	Doktorand am Fachbereich Biologie der Universität Hamburg, Abschluss der Doktorarbeit 1996, seitdem Dr. rer. nat.
1997-1999	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Zentrum für Knochenmarkstransplantation, Universität Hamburg
seit 1999	Leiter des Labors für Zell- und Gentherapie am Universitäts-Krankenhaus Hamburg-Eppendorf
2002	Privatdozent für Molekularmedizin am Fachbereich Medizin der Universität Hamburg

Curriculum Vitae Claudia Lange

1971-1976	Studium der Biochemie mit Abschluss Diplom an der staatlichen Universität Donezk, UdSSR
1976-1984	Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Pflanzenschutzforschung in Kleinmachnow

- 1981 Doktorarbeit „Trichlorfon-metabolism and -resistance in insects“
- 1985-1992 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Zentralinstitut für Molekularbiologie, Ost-Berlin
- 1992-1993 Forschungsaufenthalt am Paterson Institut for Cancer Research in Manchester, England
- 1993 MDC Berlin-Buch, AG Drug Targeting
- 1994-1997 Max-Delbück-Zentrum für Molekularmedizin (MDC), Berlin-Buch, Arbeitsgruppe Gentherapie, Gentransfer in Hämatopoetischen Stammzellen
- 1997-1998 GSF-Institut für Immunologie, München
- 1998-2001 Kontrollleiterin bei der CellTec GmbH Biotechnologie in Hamburg
- seit Mai 2001 Universitätskrankenhaus Hamburg-Eppendorf, Abteilung für Knochenmarkstransplantation. Forschungsgebiet: Mesenchymale Stammzellen