

**Katrin Engelmann, Jürgen Bednarz, Monika Valtink,
Möglichkeiten der Zelltransplantation am Auge unter Berücksichtigung der Knochenmarkstammzellen**

aus:

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

S. 107–115

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

Möglichkeiten der Zelltransplantation am Auge unter Berücksichtigung der Knochenmarkstammzellen

Katrin Engelmann, Jürgen Bednarz, Monika Valtink

Inhaltsübersicht

- 1 Einleitung
- 2 Was ist eine Stammzelle und welche Möglichkeiten ergeben sich daraus, dass Stammzellen charakterisiert oder gar isoliert werden?
- 3 In welchen Geweben des Auges spielen Stammzellen wahrscheinlich eine Rolle?
- 4 Transplantation von Limbusstammzellen
- 5 Zelltransplantation zur Regeneration des kornealen Endothels
- 6 Woher stammt nun die Stammzellhypothese für das Hornhautendothel?
- 7 Zelltransplantation im Bereich der Netzhaut
- 8 Bedeutung der Forschung mit adulten mesenchymalen Stammzellen am Auge

1 Einleitung

Das Auge stellt ein hochkomplexes Organ dar, in dem verschiedenste Zelltypen in ihrer Funktion aufeinander abgestimmt sind. So finden sich epitheliale Zelltypen neben bindegewebigen Zellen und auch Nervenzellen, wie zum Beispiel in der Netzhaut. Viele dieser Zellen sind anscheinend nach Ausreifung des Auges nicht mehr teilungsfähig, zumindest weisen sie im Augengewebe keine Regeneration oder Selbsterneuerung auf. Bei verschiedenen degenerativen Erkrankungen oder auch durch Entzündungen oder Verletzungen kann es somit zu einer dauerhaften Schädigung kommen, die nicht repariert werden kann und die in der Folge auch zu einem Untergang benachbarter Zellen führt. Bisher gibt es keine Heilungsmöglichkeiten für derartige degenerative Erkrankungen des Auges. Allerdings ersieht man aus neueren Untersuchungen, dass in verschiedenen Augengeweben vermutlich doch Zellen vorhanden sind, die Stammzellcharakter besitzen, so genannte Progenitorzellen oder Vorläuferzellen. Bisher ist nur wenig

bekannt über diese Zellen, es gibt jedoch erste klinische Ansätze zum Einsatz von Stammzellen.

2 Was ist eine Stammzelle und welche Möglichkeiten ergeben sich daraus, dass Stammzellen charakterisiert oder gar isoliert werden?

Eine Stammzelle ist unreif, das heißt sie besitzt keine hoch ausgebildeten Eigenschaften wie Zellen spezifischer Gewebe. Sie ist teilungsfähig und damit selbsterneuernd. Ein wesentliches Charakteristikum der Stammzelle ist, dass sie gewebespezifisch ausdifferenzieren kann. Der Begriff „Stammzelle“ wird inzwischen stellvertretend für eine Reihe von Zellen verwendet, welche die vorgenannten Eigenschaften besitzen.

Zur Begriffsbestimmung seien hier noch einmal kurz die verschiedenen Stammzelltypen erwähnt: *Totipotente Stammzellen*, das heißt Zellen, die in der Lage sind, in alle Zelltypen eines Organismus zu differenzieren, können nur zu einem sehr frühen Zeitpunkt nach der Verschmelzung von Ei- und Samenzelle gewonnen werden. Diese isolierten Zellen sind zudem in der Lage, jeweils einen neuen, lebensfähigen Organismus zu bilden. Daher ist die Verwendung dieser Zellen in der Forschung nach dem Embryonenschutzgesetz nicht gestattet.

Zu einem etwas späteren Zeitpunkt, nach der Bildung des so genannten „embryonic body“, lassen sich die *embryonalen Stammzellen* gewinnen. Auch diese sind noch in der Lage, sich in alle körperspezifischen Zelltypen zu differenzieren, können aber keinen eigenständigen Organismus mehr bilden. Da für die Isolierung dieser Zellen ein lebensfähiger Embryo verbraucht wird, ist die Herstellung derartiger Stammzellkulturen in Deutschland verboten. Die Verwendung bereits im Ausland etablierter Kulturen ist zwar erlaubt, ethisch jedoch äußerst umstritten.

Ethisch völlig unbedenklich ist dagegen die Verwendung *adulter Stammzellen*. Wie ihr Name sagt, lassen sich diese Zellen aus dem Körper von Erwachsenen isolieren. So können zum Beispiel aus dem Knochenmark sowohl hämatopoetische als auch mesenchymale Stammzellen gewonnen werden. Hämatopoetische Stammzellen können sich noch in alle Zelltypen differenzieren, die im Blut vorkommen. Für mesenchymale Stammzellen konnte gezeigt werden, dass eine Differenzierung in Leber-, Knochen-, Knorpel-, Fett-, Nerven- und Muskelzellen möglich ist. Weitere beziehungsweise spezifischere Differenzierungsmöglichkeiten werden zurzeit untersucht.

Als *gewebespezifische Vorläuferzellen* oder *Progenitoren* bezeichnet man Zellen, die sich noch teilen können, aber deren Differenzierungsvermögen auf einen

bestimmten Zelltyp festgelegt ist. Diese Zellen können zur Regeneration spezifischer Zellschäden eingesetzt werden.

3 In welchen Geweben des Auges spielen Stammzellen wahrscheinlich eine Rolle?

Das menschliche Auge wird in den vorderen und hinteren Augenabschnitt eingeteilt. Der vordere Abschnitt des Auges umfasst die Hornhaut, Regenbogenhaut und Linse. Alle diese Strukturen haben an der Lichtbrechung einen wesentlichen Anteil. Der Lichtreiz wird dann in der Netzhaut des Auges, die den hinteren Augenabschnitt auskleidet, umgesetzt. Diese ist ummantelt vom retinalen Pigmentepithel, der Gefäß- und Lederhaut. Kommt es zu Störungen innerhalb der verschiedenen Gewebeschichten der Hornhaut, so kann diese eintrüben und es kommt zur Erblindung des Patienten, obwohl die inneren Gewebe unverändert und gesund sind. Andererseits können degenerative Erkrankungen der Netzhaut dazu führen, dass die Umsetzung des Lichtreizes nicht mehr möglich ist. Seit langer Zeit besteht daher der Wunsch, ausdifferenzierte, aber degenerierte Augenzellen durch in vitro angezüchtete Zellen zu ersetzen. Dies kann nach dem momentanen Stand der Medizin nur mit Zellen geschehen, die von Spendern entnommen werden. Schwierig wird diese Möglichkeit der Zellanzüchtung und -transplantation immer dann, wenn die zu ersetzende Zelle so stark ausdifferenziert ist, dass sie keine Teilungsfähigkeit mehr besitzt. Dieses trifft unter anderem für die Netzhautzellen, aber auch die innerste Schicht der Hornhaut, das Endothel, zu. Die Transplantation von Stammzellen, die eine große Teilungsfähigkeit besitzen und sich entsprechend ausdifferenzieren können, wäre daher eine nahe liegende Option.

Am Beispiel der Möglichkeiten der regenerativen Therapien an der Hornhaut sollen im Folgenden Aussichten zur Option Zell- und Stammzelltransplantation dargestellt werden.

4 Transplantation von Limbusstammzellen

Die klare, durchsichtige Hornhaut grenzt an ihren Randbereichen an die Lederhaut des Auges, die in der Innenseite des Auges in die Netzhaut übergeht. Der Randbereich der Hornhaut wird Limbus genannt. In dieser Region finden sich auf der Hornhautoberfläche nachweislich epitheliale Stammzellen, die inzwischen isoliert werden konnten. Man erhofft sich, dass diese Stammzellen durch Anzüchtung in der Zellkultur in absehbarer Zeit als Zellschicht transplantierbar sind, zum Beispiel bei Patienten mit oberflächlichen Störungen der Hornhaut, die entweder erblich oder durch Erkrankungen, nach Verbrennungen oder nach Ver-

ätzungen erworben sind. Bei Patienten mit derartigen Verletzungen kommt es häufig zu ausgeprägten Wundheilungsstörungen der Oberfläche mit nachfolgender Narbenbildung und schweren bindegewebigen Verwachsungen der Oberfläche. Um diese sekundären Veränderungen zu verhindern, werden in der Klinik die epithelialen Limbusstammzellen von Spenderhornhäuten gewonnen, in dem die Limbusregion lamellär ausgeschnitten wird und beim Patienten in die entsprechende Limbusregion transplantiert wird. Auf diesen Gewebestücken können dann die Stammzellen neue Epithelien regenerieren, welche die Patientenhornhaut überwachsen. Diese Therapie ist allerdings nur unter systemischer Immunsuppression möglich, um Abstoßungen zu vermeiden, die bei Fremdgewebeübertragung nicht auszuschließen sind. Diese „Stammzelltransplantation“ hat inzwischen Eingang in die Versorgung von Patienten in der Augenheilkunde gefunden.

5 Zelltransplantation zur Regeneration des kornealen Endothels

Die nach innen gerichtete Schicht der Hornhaut, das so genannte Endothel, ist besonders wichtig, denn diese Zellschicht sorgt über ihre Pumpfunktion für die ständige Transparenz und regelmäßige Gewebedicke der Hornhaut. Nur so kann die Brechkraft des Auges erhalten bleiben. Die Endothelzelle der Hornhaut ist nicht teilungsfähig und damit ist das Hornhautendothel nach Verletzung nur bedingt regenerationsfähig. Bisher können Patienten mit endothelialen Degenerationen nur behandelt werden, in dem sie die gesamte Hornhaut durch eine Spenderhornhaut ersetzt bekommen. Wünschenswert wäre es, nur die degenerierte Zellschicht auszutauschen. Diese Versuche scheiterten bisher daran, dass das Hornhautendothel, vor allem das des Menschen, in der Zellkultur nicht anzüchtbar war. Der Arbeitsgruppe um Engelmann ist es jedoch vor einigen Jahren gelungen, diese Zellen zu isolieren, in die Langzeitkultur zu übernehmen und zu charakterisieren, welche Wachstumsfaktoren einen Einfluss auf die Zellen ausüben. Inzwischen konnte auch eine Methode zur Transplantation dieser Endothelzellen auf Spenderhornhäute, welche kein Endothel mehr besitzen und deshalb nicht für eine Hornhauttransplantation in Frage kommen, entwickelt werden. Diese Zellen bilden nach Transplantation einen einschichtigen Zellrasen aus und übernehmen auch die typischen Funktionen der verloren gegangenen Zellen, nämlich die oben erwähnte Pumpfunktion, die zur Aufrechterhaltung der Transparenz der Hornhaut wichtig ist. Damit ist ein wesentlicher Schritt zur Zelltransplantation im Bereich der inneren Schichten der Hornhaut vollzogen. Denkbar ist es nun, dass Spenderhornhäute von minderer Qualität, wie es bisher 40% aller Spenderhornhäute in den Hornhautbanken innerhalb Deutschlands sind, durch die Transplantation derartiger Zellen „aufgefrischt“, also verbessert, werden. Damit stünde mehr Spendergewebe für Patienten zur Verfügung und es

müssten keine Hornhäute zum Beispiel aus den USA importiert werden, wie es in Deutschland an einigen Orten Praxis ist. Die Transplantation von Zellen direkt ins Patientenaugap bleibt noch eine Zukunftsoption, da der Zugang zur Transplantationsstelle natürlich schwierig ist und hier zunächst geeignete chirurgische Methoden entwickelt werden müssen.

6 Woher stammt nun die Stammzellhypothese für das Hornhautendothel?

Während der Transplantationsversuche konnte die Arbeitsgruppe um Engelmann feststellen, dass sich die Endothelzellen je nach ihrer Lokalisation auf der Hornhaut unterschiedlich entwickeln. Während sich Zellen des Hornhautzentrums nicht teilen, fanden sich teilungsfähige Zellen in den Randbereichen, dem Limbus. Möglicherweise handelt es sich deshalb hier um Vorläuferzellen, wie sie bereits für das korneale Epithel (siehe oben) beschrieben wurden. Die Charakterisierung dieser endothelialen Progenitoren steht noch aus und ist Gegenstand der Forschung der Arbeitsgruppe Engelmann und Mitarbeiter.

7 Zelltransplantation im Bereich der Netzhaut

Genauso wie an der Hornhaut gibt es das Bestreben, innerhalb der Netzhaut degenerierte Zellschichten durch Zelltransplantation zu ersetzen. Nun ist es relativ schwierig, die einzelnen Zellschichten der hochdifferenzierten Netzhaut zu ersetzen. Eine der Schichten, nämlich das retinale Pigmentepithel, liegt zwischen der neurosensorischen Netzhaut, die aus verschiedenen neuronalen Zellen besteht, und der sogenannten Aderhaut (Gefäßhaut) des Auges. Diese Zellen sorgen durch ihren hohen Gehalt an Pigmenten für Lichtabsorption, um schädigende Lichteinflüsse auf die hinteren Augenstrukturen zu vermeiden. Des Weiteren sorgen sie für den Nährstofftransport zwischen den beiden Gewebsschichten.

Ähnlich wie das korneale Endothel besitzt auch das retinale Pigmentepithel eine Pumpfunktion. Weltweit haben bereits einige Arbeitsgruppen in Tierversuchen, aber auch schon beim Menschen, diese Zellen in den subretinalen Raum, also unter die Netzhaut, transplantiert. Dieses führte im Tiermodell dazu, dass erfolgreich degenerative Veränderungen im Bereich der Netzhaut aufgehalten werden konnten. Beim Menschen waren die Bemühungen bisher zwar methodisch von Erfolg, jedoch war keinerlei Sehverbesserung bei den Patienten zu verzeichnen. Dies kann daran liegen, dass der geeignete Operationszeitpunkt derzeit bei den degenerativen Netzhauterkrankungen noch nicht bekannt ist. Eine weitere Möglichkeit ist die ungenügende Untersuchung der Funktion dieser Zellen vor der

Transplantation. So ist bekannt, dass typische Eigenschaften dieser Zellen unmittelbar nach der Isolierung aus dem Gewebe in der Zellkultur verloren gehen. Dieser Verlust von Differenzierung ist für viele hoch spezialisierte Zellen typisch, wird aber besonders ausgeprägt beim retinalen Pigmentepithel gefunden und mag mit der im Vergleich zum kornealen Endothel deutlich höheren Teilungsaktivität dieser Zelle begründet liegen.

Aus den bisherigen Ergebnissen der Zelltransplantation lässt sich ableiten, dass die Therapie mit ausdifferenzierten Zellen bisher zwar chirurgisch durchführbar ist, aber hinsichtlich der Zelle selbst noch ungelöste Probleme birgt. Vor allem der Verlust der Differenzierung ist problematisch. Wünschenswert wäre es daher, dass sich undifferenzierte oder unreife Zellen am Transplantationsort differenzieren können, zum Beispiel Stammzellen. Dass es eine Netzhautstammzelle gibt, wurde bisher nur in einem Mausmodell nachgewiesen. Auch hier konnte in der Nähe des Limbus im Bereich der Netzhaut eine Vorläuferzelle gefunden werden. Für den Menschen sind diese Zellen allerdings noch nicht charakterisiert. Der Vorteil wäre auch hier, dass diese Zellen vermutlich über eine höhere Proliferationsaktivität verfügen und wahrscheinlich ein hohes Differenzierungspotenzial aufweisen. Die Forschung hierzu steht jedoch erst an ihrem Beginn.

8 Bedeutung der Forschung mit adulten mesenchymalen Stammzellen am Auge

Die bisherige klinische Forschung hat gezeigt, dass gewebeständige Stammzellen tatsächlich bereits Einzug in die klinische Versorgung gefunden haben, nämlich beim kornealen Epithel. Hervorgehoben werden sollte jedoch, dass diese Zellschicht am Auge auch am leichtesten zugänglich ist, während alle anderen Strukturen sehr schwierig erreichbar sind oder sich die Zellen dieser Gewebeschichten in einem postmitotischen, also nicht-teilungsaktiven, Zustand befinden und keinerlei Regenerationstendenz aufweisen. Dadurch ist der Umgang mit diesen Zellen erschwert. Die Charakterisierung von gewebsständigen Stammzellen ist zudem sehr schwierig, da es sich um einen prozentual sehr geringen Anteil von Zellen handelt, die isoliert werden müssten.

Eine sehr wertvolle alternative Therapieoption bietet möglicherweise die Verwendung von adulten mesenchymalen Knochenmarkstammzellen. Diese Zellen sind direkt vom Patienten verfügbar und anzüchtbar. Das Differenzierungspotenzial dieser Zellen ist, wie oben bereits beschrieben, sehr vielfältig. Es gilt nun, zunächst ein Weg zu finden, diese Zellen in Richtung Augenzellen differenzieren zu lassen. Es ist jedoch noch ungewiss, ob dieses *in vitro* möglich ist oder ob auch eine Behandlung des Patienten mit den undifferenzierten Zellen zu einer Ausdifferenzierung der Zellen am Auge führt. Die Arbeitsgruppe um Engelmann

konnte zusammen mit der Arbeitsgruppe um Zander (Einrichtung für Knochenmarkstransplantation am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf) allerdings zeigen, dass die adulte Knochenmarkstammzelle unter speziellen Kulturbedingungen Veränderungen in ihrem Erscheinungsbild zeigt, die sowohl dem retinalen Pigmentepithel als auch Nervenzellen zugesprochen werden können. Weitere Charakterisierungen liegen bislang noch nicht vor. Eine australische Arbeitsgruppe konnte vor kurzem zeigen, dass diese Knochenmarkstammzellen bei direkter Injektion in die Netzhaut zu einer Umwandlung in netzhautspezifische Zellen in der Lage sind. Es gab einen Hinweis darauf, dass diese Zellen zu Photorezeptoren differenzieren können. Hier ist allerdings bisher weder eine morphologische Bewertung noch eine ausreichende grundlegende Beurteilung erfolgt.

Die Vorteile der Behandlung mit Knochenmarkstammzellen sind allerdings so bedeutend, dass die Forschung mit diesen Zellen stark unterstützt werden sollte. Als ein wesentlicher Vorteil ist hier zu nennen, dass die Zellen vom Patienten selbst gewonnen werden können, dass heißt Abstoßungen müssen nicht befürchtet werden. Wie jedoch die Differenzierung in spezifische Zelltypen reproduzierbar gesteuert werden kann, ist bislang noch nicht vorhersagbar.

Curriculum Vitae Katrin Engelmann

1977-1979	Studium der Chemie in Hamburg, Vordiplom
1979-1985	Studium der Medizin in Hamburg, Approbation
1986	Erdhalt der Doktorwürde zum Dr. med.
1986-1989	Postdoc an der GBF (Gesellschaft für Biotechnologische Forschung), Braunschweig, Abtlg. Cytogenetik
seit Nov. 1989	Wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Augen- und Poliklinik im UKE (Universitätskrankenhaus Eppendorf)
seit 1990	Leiterin der Hornhautbank Hamburg
1993	Anerkennung als Fachärztin für Augenheilkunde
1993-1998	Wissenschaftliche Assistentin, Augen- und Poliklinik des UKE
1995	Habilitation, Erhalt der Venia Legendi als Privatdozentin für das Fach Augenheilkunde „Humanes adultes korneales Endothel in der Zellkultur: Methoden zur Isolierung, Charakterisierung und Züchtung der Zellen von Spenderhornhäuten Erwachsener und anschließende Erprobung der Endothelzelltransplantation in einem In-vitro-Modell“
seit 1996	Oberärztin, Augen- und Poliklinik des UKE
seit 1998	Universitätsprofessorin (C3), Augen- und Poliklinik UKE
seit 2001	Leitende Oberärztin und Stellvertretende Geschäftsführende Direktorin, Augen- und Poliklinik des UKE

Curriculum Vitae Jürgen Bednarz

Dr. Jürgen Bednarz wurde am 16.03.1958 in Meppen geboren. 1979 begann er sein Studium der Biologie an der Universität Bielefeld. Im Rahmen dieses Studiums absolvierte er zwei Auslandssemester an der Universität Aix-Marseille (Frankreich). Nach Abschluss des Studiums und anschließender Promotion in Bielefeld wechselte er im Jahre 1992 zur Durchführung eines Forschungsprojektes an das Universitätsklinikum Hamburg. Seit 1997 ist er wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf.

Curriculum Vitae Monika Valtink

- 1988 Abitur am Gymnasium Ulricianum in Aurich
- 1990-1996 Studium Chemieingenieurwesen / Biotechnologie an der FH Oldenburg / Ostfriesland / Wilhelmshaven
- 1994 Forschungssemester „The Biodegradation of Atrazine by the White-Rot *Fungus Pleurotus pulmonarius*“ am MIGAL Galilee Technological Center, Kiryat Shmona 10200, Israel
- 1996 Diplomarbeit: Optimierung eines Verfahrens zur Herstellung von L-Phenylalanin. Dehydrogenase aus *Phodococcus* spec M4 bei der Pharma Biotechnologie Hannover (Heute Strathmann Biotec AG)
- 1996 Abschluss Dipl.-Ing. (FH)
- seit 1997 Wissenschaftliche Mitarbeiterin Hornhautbank / Transplantationslabor der Augenklinik und Poliklinik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf. Verantwortlichkeit: Aufbau und Pflege einer Zellbank mit retinalem Pigmentepithel; Forschung mit Zellen der Netzhaut und Aderhaut des Auges sowie mesenchymalen Stammzellen des Knochenmarks

