Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. H.-W. Denker - Institut für Anatomie - Universitätsklinikum Essen
Hufelandstr. 55, D-45122 Essen - Tel.: (0201) 723-4380 - E-Mail: denker@uni-essen.de

Diskussionsveranstaltung
Perspektiven der Stammzellenforschung
(CCD Düsseldorf, 30.8.2001)

Grundbegriffe
Welches naturwissenschaftliche Konzept liegt dem Begriff der Stammzelle zugrunde?

Als Stammzellen (SZ) werden Zellen bezeichnet, die zwei Eigenschaften in sich vereinen: Sie besitzen die Fähigkeit zu
A) der Erzeugung identischer Tochterzellen (Replikationsfähigkeit) und
B) zur Bildung differenter, spezialisierter (sich differenzierender) Tochterzellen.

Eine typische Strategie, wie diese duale Fähigkeit realisiert wird, ist der Weg der **differenziellen Zellteilung**, wobei aus einer Stammzelle während eines einzigen Mitosevorgangs diese genannten beiden Zelltypen (A und B) entstehen. Dabei sichert die Entstehung der einen Tochterzelle (Typ A) das Fortbestehen des Stammzellpools, während die andere Zelle (Typ B) für spezielle Aufgaben frei wird (Aufgaben im Rahmen der Entstehung von Geweben und Organen während der Embryonalentwicklung, ferner bei ausgewachsenen Lebewesen Aufrechterhaltung des Zellbestandes der sogenannten "Wechselgewebe" wie Haut- und Darmepithel, sowie Aufgaben bei der Reparatur von Gewebs- und Organschäden). Wenn die Zellen sich dagegen nicht differenziell teilen sondern sich differenzieren, ohne eine neue Stammzelle (Typ A) zu erzeugen, wird der Stammzellpool aufgebraucht und, etwas vereinfacht dargestellt, ein Fortgang der Entwicklung bzw. Zellersatz im Wechselgewebe oder die Reparatur von Schäden ist nicht mehr möglich*.

Ein wichtiges Konzept der Stammzellforschung ist das der **Stammzell-Nische** (Übersicht: Watt und Hogan, 2000). Damit werden die Umgebungseigenschaften (Hilfszellen, Zell-Zell-Interaktionen, Zell-Matrix-Interaktionen einschließlich lokal wirkender Wachstumsfaktoren und Zytokine) angesprochen, die für die basalen Eigenschaften der Stammzellen und ihre Funktionsfähigkeit (Erhaltung des Stammzellzustandes / -pools und Bildung sich differenzierender Tochterzellen) wesentlich sind. Trotz der zentralen Bedeutung, die dieses Konzept der Nische zuweist, sind deren zell- und entwicklungsbiologische Grundlagen noch kaum verstanden. Es wird vermutet, dass dies auch ein wesentlicher Grund dafür ist, dass die Stammzellkultur im Labor bisher noch wenig effizient ist. Für viele Stammzellen ist die Nische noch nicht einmal anatomisch (bezüglich der beteiligten Zellarten) klar definiert. Hier gibt es also noch erheblichen grundlegenden Forschungs- und Klärungsbedarf.

Dieses Konzept von der Stammzelle ist im wesentlichen anhand von Untersuchungen an somatischen ("adulten") Stammzellen (siehe unten) entwickelt worden. Erst in jüngster Zeit wird es (unter dem Eindruck der Entwicklung von Zelllinien von Stammzellcharakter aus frühen Säugetierembryonen) von manchen Autoren auch übertragen auf frühembryonale Zellen, z. B. Blastomeren von Furchungsstadien oder sogar die (befruchtete) Eizelle ("die ultimative Stammzelle"). Diese Übertragung stellt jedoch eine Vereinfachung dar, die den Gesichtspunkt ausblendet, dass embryonale Zellen wie z. B. Blastomeren sehr komplexe Aufgaben im Rahmen der Bildung z. B. der Achsensysteme des Körpers (und damit eines ganzen, harmonisch gestalteten und lebensfähigen Embryos, im Gegensatz zu einem Teratom, d. h. einem Tumor) haben, die sich mit dem Konzept der differenziellen Zellteilung und mit der Vorstellung von Stammzellpools nicht ausreichend beschreiben lassen. Problematisch ist dies vor allem im Hinblick auf eine Diskussion des Totipotenzproblems (siehe unten).

---

*Eine Bedeutung der differenziellen Zellteilung als elementarer Mechanismus ist nicht für alle Stammzellarten geklärt. Auch populationsdynamische Strategien sind denkbar (Expansion und Aufteilung von Pools proliferierender Zellen, die dann als ganze Subpopulationen unter Umständen ohne differenzielle Zellteilung in die Differenzierung gehen könnten) (Watt und Hogan, 2000)

Welche Arten von Stammzellen lassen sich bisher abgrenzen, und wie sind die qualitativen Unterschiede zwischen den verschiedenen Zellarten zu beschreiben?

Arten von Stammzellen

I. **Somatische Stammzellen (SSZ):**
SSZ sind vorhanden in und zu gewinnen aus Geweben, die nicht der Keimbahn angehören, im Gegensatz zu den embryonalen Stammzellen (siehe unten). Man sollte den Begriff SSZ anstelle des Begriffs **"adulte Stammzellen"** verwenden und diesen vorziehen, da sonst Verwirrung aufkommen kann, weil diese Zellen nicht unbedingt aus adulten Geweben (sondern auch aus embryonalen) gewonnen werden. Auch SZ aus Nabelschnurblut mag man zunächst hier einordnen, obwohl nicht ganz sicher ist, ob hier Keimbahnzellen vorkommen können.

Gelegentlich werden SSZ auch als **"gewebespezifische SZ"** angesprochen. Dies kann für bestimmte SSZ angebracht sein, wenn für diese ein eingeschränktes Bildungspotenzial im Sinn der gewebespezifischen Differenzierung nachgewiesen ist. Da aber in den letzten Jahren viele Untersuchungen überraschende und bisher völlig unerwartete Bildungsfähigkeiten für eine Reihe von SSZ gezeigt haben (siehe unten), sollte man mit der Bezeichnung "gewebespezifisch" zurückhaltend sein.

Beispiele für SSZ: SSZ der Darmepithel-Krypten, der Haarwurzeln, der subventrikulären Zone des zentralen Nervensystems, des Knochenmarks.

II. **Embryonale Stammzellen (ESZ):**
SZ, die den frühen embryonalen Vorläufern der Keimbahnzellen oder diesen selbst entstammen oder nahe stehen:

ESZ i.e.S.: aus frühembryonalen Zellen, noch vor Abspaltung der Keimbahn
EGZ: Embryonic Germ Cells, von Urkeimzellen hergeleitet

Als Progenitorzellen (Vorläuferzellen, transit amplifying cells) werden Zwischenstufen zwischen Stammzellen und ihren differenzierten Abkömmlingen bezeichnet. Sie sind (begrenzt) teilungsfähig, aber ihre Bildungspotenzen sind schon eingeschränkt.

Bildungspotenzen von Stammzellen:

ESZ: ESZ haben weitreichende Bildungspotenzen (pluri- oder totipotent), d.h. die Fähigkeit zur Bildung aller Zelltypen des Körpers (bei Primaten einschl. Mensch auch extraembryonaler Gewebe) oder sogar eines ganzen, normal strukturierten Embryos.

SSZ: Traditionelles Konzept:
SSZ haben nur eingeschränkte, begrenzte Bildungspotenzen (oligo-oder unipotent)

Neuere Befunde der letzten Jahre:
SSZ sind zum Teil auch pluripotent und fähig, (fast) alle Zelltypen des Körpers aus sich hervorgehen zu lassen (Stammzell-Plastizität) (Beispiele: Neuronale Stammzellen aus Hirnanlagen, siehe Clarke et al., 2000; Knochenmarks-SZ, siehe Krause et al., 2001)

Markermoleküle:

Charakterisierung von Stammzellen anhand von Markermolekülen (zusätzlich zu der Charakterisierung anhand der Bildungspotenzen) steckt noch in den Anfängen.

SSZ Allgemeine Stammzellmarker, die für alle SSZ gleichermaßen gelten, sind nicht mit ausreichender Sicherheit bekannt, dagegen Stammzellmarker, die organspezifisch (z. T. aber überlappend) auftreten (z. B. Nestin) (Terskikh et al., 2001; Zulewski et al., 2001)

ESZ Hier sind eine Reihe von hilfreichen Markern bekannt: SSEA-1/3/4, TRA-1-60 + TRA-1-81, Oct-4, alkalische Phosphatase, Telomeraseaktivität

Wie ist naturwissenschaftlich das Phänomen des "Embryonalen" zu beschreiben, und welche naturwissenschaftlichen Verständnis- und Experimentalkonzepte bestehen derzeit hinsichtlich des Phänomens der "Reprogrammierung" von Zellen?

Vorbemerkung: Für die hier ins Visier genommenen Aspekte ist es unglücklich, dass ESZ als "embryonale" Stammzellen bezeichnet werden und oft "adulten" Stammzellen (die besser als somatische Stammzellen, SSZ, bezeichnet werden sollten) gegenübergestellt werden. "Embryonal" und "adult" bezieht sich dabei auf die Herkunft der Zellen, besagt aber wenig über ihre Eigenschaften und ist sogar irreleitend, da dadurch Unterschiede in den Bildungspotenzen suggeriert werden können, die infolge neuerer Ergebnisse als fraglich erscheinen müssen (Fuchs und Segre, 2000; Clarke et al., 2000; Terskikh et al., 2001; Krause et al., 2001).

In einem allgemeinbiologischen Sinn wird der **Begriff des "Embryonalen"** relativ unscharf verwendet:

- (relativ) undifferenzierte / nicht spezialisierte Zellen und Gewebe, in der Morphologie relativ rundliche Zellen, wenig spezialisierte Interzellularsubstanz, Genaktivierungsmuster und biochemische Marker der Zellen ähnlich dem Grundmuster aller Zellen und wenig spezialisiert;
- hohe Teilungsfähigkeit der Zellen;
- funktionell: Antworten der Zellen auf Reize sind vom allgemeinen, für alle Zellen schlechthin gültigen Typ, nicht spezialisiert;
- Differenzierungsfähigkeit (Entwicklungspotenzen) hoch.

Die Zelldifferenzierung geschieht in einem Wechselspiel zwischen Zellkern (mit dem Hauptteil der genetischen Information) und Zytoplasma, wobei das letztere wiederum über die Zellmembran im Wechselspiel mit der Zellumgebung (extrazelluläre Matrix) steht. In diesem Wechselspiel wird letztlich festgelegt, welche Genaktivierungsmuster resultieren, was wiederum die Differenzierungsrichtung der Zelle bestimmt. Verständlicherweise kann man demnach das Genaktivierungsmuster verändern, indem man Zellkerne in eine andere Zytoplasmaumgebung bringt. Bringt man Zellkerne aus hochdifferenzierten Zellen in ein frühembryonales Zytoplasma ein (Eizellen, Zygoten usw.), so kann man (wenn auch mit numerisch geringer Erfolgsquote) eine **Reprogrammierung** derart erreichen, dass das ursprüngliche Genaktivierungsmuster geändert und dem der frühembryonalen Zelle angeglichen wird (Schaf-Dolly-Verfahren). Bezüglich Umfang und Grenzen der Reprogrammierung in verschiedenen Zellsystemen ist die Forschung noch im Fluss. Grenzen, die dabei diskutiert werden, ergeben sich unter anderem aufgrund der noch sehr unvollständig verstandenen Muster des genetischen "Imprintings" (Methylierungsmuster) (Humpherys et al., 2001).

Besonders eindrucksvoll und unerwartet sind Ergebnisse der jüngsten Zeit über eine umfangreiche **Plastizität in den Bildungspotenzen von Stammzellen**, die sich zeigt, wenn man Stammzellen in eine frühembryonale Umgebung verpflanzt. So haben neuronale Vorläuferzellen (aus dem zentralen Nervensystem gewonnen) nach einer bestimmten Vorbehandlung (Vorkultur als "Neurosphären") die Fähigkeit demonstriert, z. B. Leber- und Nierenepithelzellen zu bilden, wenn man sie in Blastozysten einbringt und so eine Chimärenbildung herbeiführt, d. h. weit über die erwarteten Bildungsfähigkeiten (Nervenzellen und Nerven-Stützgewebszellen = Gliazellen) hinauszugehen und sogar Keimblattgrenzen zu überschreiten (Clarke et al., 2000). Bei solchen Phänomenen, die mehrfach beschrieben worden sind, scheint ein "Community-Effekt" eine Rolle zu spielen, dessen Natur bisher nicht geklärt ist. Ähnliche Bildungsfähigkeiten wie für neuronale Vorläuferzellen wurden in einem besonders eindrucksvollen Experiment für Knochenmarksstammzellen (sogar für einzelne Zellen) gezeigt (Krause et al., 2001). Diese Ergebnisse der letzten Jahre haben dazu geführt, die traditionellen embryologischen Keimblatt-Konzepte, nach denen man bei der Embryonalentwicklung eine relativ starre und frühe Determination der einzelnen Zellarten angenommen hatte, in Frage zu stellen. Hier ist erheblicher Forschungsbedarf gegeben.

Totipotenzproblem:

Ein besonderes Problem ergibt sich bei ESZ, da aufgrund experimenteller Befunde entgegen weit verbreiteter Annahmen nicht mit Sicherheit davon ausgegangen werden kann, dass diese keine totipotenten Eigenschaften besitzen; es gibt deutliche Hinweise auf Totipotenz dieser Zellen (diskutiert bei Denker, 1999, 2000). Mit dieser Möglichkeit muß schon aufgrund der Tatsache gerechnet werden, dass ESZ aus frühembryonalen Zellen (aus Furchungsstadien oder aus dem Embryoblasten von Blastozysten) gewonnen werden, also Entwicklungsstadien, aus denen noch eineiige Mehrlinge hervorgehen können (ein Totipotenzkriterium). Die Forschungsergebnisse, die auf ein über Pluripotenz hinausgehendes Entwicklungspotential von ESZ hinweisen, stammen aus zwei experimentellen Ansätzen:

- 1. Bildung einer vollständig aus ESZ hervorgegangenen, lebensfähigen (und fortpflanzungsfähigen) Maus durch Einbringen von ESZ in eine letal vorgeschädigte Wirtsblastozyste (Experiment nach Nagy et al., 1993);
- 2. Bildung von harmonischen Embryonalanlagen, die normal gestalteten Embryonen entsprechen, in der in-vitro-Kultur von ESZ von Weißbüscheläffchen (ohne Wirtsblastozysten) (Thomson et al, 1996).

Das Experiment (1) ist von vielen Labors bestätigt worden; das Experiment (2) bedarf der Überprüfung und Vertiefung durch andere Laboratorien. Es ist denkbar, dass die in Frage stehende Totipotenz von ESZ eine Besonderheit ist, die sie von SSZ unterscheidet. Biologische Gründe hierfür könnten darin liegen, dass frühembryonale Zellen Aufgaben besonderer Art besitzen, die über die von SSZ hinausgehen: So genügt für ihre Funktion in der normalen Embryonalentwicklung nicht die auch für SSZ geltende Fähigkeit zur Proliferation und zur differenziellen Zellteilung, sondern sie müssen auch noch ähnlich der befruchteten Eizelle (oder Blastomeren) die Fähigkeit der Ausbildung der Körperachsen besitzen (im Gegensatz zu einem Teratom, einem Tumor). Dieses angestammte Forschungsthema der Entwicklungsbiologie ist bisher noch wenig zum Gegenstand von Untersuchungen über ESZ gemacht worden, was vermutlich Grund für den Mangel an verfügbaren Informationen ist.

Forschungsbedarf / Klärungsbedarf

- Frage nach der Toti- oder Pluripotenz der Ausgangszellen für die Erzeugung von ESZ (Wann endet die Totipotenz in der Embryonalentwicklung? Zwillingsbildung ist noch nach der Implantation möglich!).

- Frage nach der eventuellen Totipotenz von ESZ; wegen der ethischen Problematik prinzipiell nur zu bearbeiten im Tiermodell, vorzugsweise dem Primatenmodell. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sollten wesentlich die Entscheidung beeinflussen, ob das Schwergewicht der Forschung im Hinblick auf Anwendungen beim Menschen auf ESZ oder SSZ gelegt werden sollte.

- Zellbiologische / entwicklungsbiologische Grundlagen des Nischen-Konzepts (s. Grundbegriffe). Dieses Konzept ist von größtem Interesse für die SSZ-Forschung; inwieweit Forschung an ESZ hier hilfreich sein kann, ist unklar, da für ESZ und ihre embryonalen Vorläuferzellen einerseits unklar ist, ob sich eine solche Nische morphologisch und funktionell definieren läßt, und da andererseits frühembryonale (totipotente?) Zellen wegen ihrer Aufgabe in der Achsenbildung Besonderheiten aufweisen (s. o.). Unklar ist, inwieweit der Prozess der Ausschleusung der Tochterzellen aus der Stammzellnische ursächlich verknüpft ist mit der Bestimmung ihrer Differenzierungsrichtung und inwieweit hier Manipulationsmöglichkeiten bestehen. Eröffnen Erkenntnisse über die Biologie der Stammzellnische bessere Zugriffmöglichkeiten zur Steuerung des Potenzstatus? Inwieweit muß man damit rechnen, dass Stammzellen nach einer Transplantation (eventuell auch nach lokaler Transplantation) in unkontrollierbarer Weise im Körper streuen und verschiedene Stammzellnischen einnehmen? Inwieweit ist eine eventuelle Tumorbildungstendenz hiervon abhängig und beeinflußbar?

- Natur des Community-Effekts (z. B. Beeinflussung des Stammzellstatus durch die Anwesenheit bereits differenzierter Zellen, wie aus ES-Zellkulturen bekannt; siehe Mountford et al., 1998).

- "Plastizität" der Stammzellen: Umdetermination über Reversion in den Zustand eines ESZ-Äquivalents oder direkte Transdetermination? Oder sind SSZ immer per se pluri- oder bipotent (vgl. Nischenkonzept s. o.)?

- Rolle der Telomerlängenregulation (Telomerasen) für die Regulation der Proliferation und Differenzierung der SZ.

Bioethische Kernfragen:

- Wie sollten wir damit umgehen, dass für die Herstellung von ESZ Embryonen vernichtet werden müssen? Wie stellt sich diese Frage vor dem Hintergrund eines Imports menschlicher ESZ dar?

- Gibt es aufgrund neuer ontogenetischer oder ontologischer Forschungsergebnisse Veranlassung, die Richtigkeit der ethischen Begründungen, auf denen das deutsche Embryonenschutzgesetz basiert, in Frage zu stellen (insbesondere: unbedingte Schutzwürdigkeit totipotenter Zellen)?

- Hinsichtlich einer evtl. Abwägung der Hochrangigkeit der Ziele (therapeutische Möglichkeiten vs. Embryonenschutz) im Fall von ESZ: Ist der naturwissenschaftliche Kenntnisstand im Hinblick auf die Erreichbarkeit der anvisierten therapeutischen Ziele

und im Hinblick auf die Beurteilung möglicher Totipotenz von ESZ ausreichend, um eine solche Abwägung zuzulassen? Diese Frage sollte insbesondere vor dem Hintergrund der existierenden Alternativen (SSZ für die Therapie, tierische SSZ für die Forschung) diskutiert werden.

- Welcher Grad von Sicherheit in der Beantwortung dieser Fragen ist erforderlich, um über den evtl. Import und die Verwendung menschlicher ESZ zu entscheiden?

Literatur:

Clarke, D. L., Johannsson, C. B., Wilbertz, J., Veress, B., Nilsson, E., Karlström, H., Lendahl, U., Frisén, J. (2000) Generalized potential of adult neural stem cells. Science 288: 1660-1663

Denker, H.-W. (1999) Embryonic Stem Cells: An Exciting Field for Basic Research and Tissue Engineering, but also an Ethical Dilemma? Cells Tissues Organs 165: 246-249

Denker, H.-W. (2000) Embryonale Stammzellen und ihre ethische Wertigkeit: Aspekte des Totipotenz-Problems. Jahrbuch für Wissenschaft und Ethik 5: 291-304

Fuchs, E., Segre J. A. (2000) Stem cells: a new lease on life. Cell 100: 143-155

Humpherys, D., Eggan, K., Akutsu, H., Hochedlinger, K., Rideout III, W. M., Biniszkiewicz, D., Yanagimachi, R., Jaenisch, R. (2001) Epigenetic Instability in ES Cells and Cloned Mice. Science 293: 95-97

Krause, D. S., Theise, N. D., Collector, M. I., Henegariu, O., Hwang, S., Gardner, R., Neutzel, S., Sharkis, S. J. (2001) Multi-Organ, Multi-Lineage Engraftment by a Single Bone Marrow-Derives Stem Cell. Cell 105: 369-377

Mountford, P., Nichols, J., Zevnik, B., O'Brien, C., Smith, A. (1998) Maintenance of pluripotential embryonic stem cells by stem cell selection. Reprod Fertil Dev 10: 527-533

Nagy A., Rossant, R., Nagy, R., Abramow-Newerly, W., Roder, J. C. (1993) Derivation of completely cell culture-derives mice from early-passage embryonic stem cells. Proc Natl Acad Sci USA 90: 8424-8428

Terskikh, A. V., Easterday, M. C., Li, L., Hood, L., Kornblum, H. I., Geschwind, D. H., Weissman, I. L. (2001) From hematopoiesis to neuropoiesis: Evidence of overlapping genetic programs. Proc Natl Acad Sci USA 98: 7934-7939

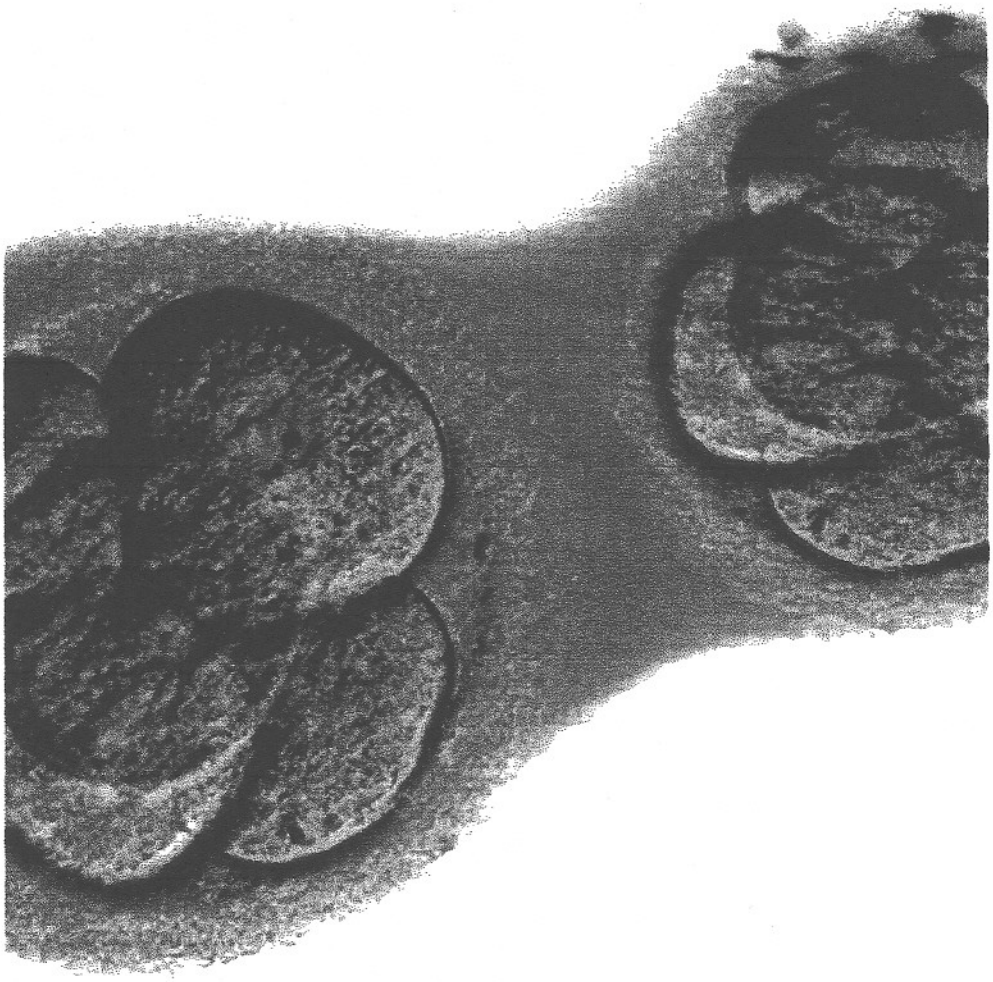
Thomson, J. A., Kalishman, J., Golos, T. G., Durning, M., Harris, C. P., Hearn, J. P. (1996) Pluripotent Cell Lines Derives from Common Marmoset (Callithrix jacchus) Blastocyst. Biology of Reproduction 55: 254-259

Watt, F. M., Hogan, B. L. M (2000) Out of Eden: Stem Cells and Their Niches. Science 287: 1427-1430

Zulewski, H., Abraham, E. J., Gerlach, M. J., Daniel, P. B., Moritz, W., Müller, B., Vallejo, M., Thomas, M. K., Habener, J. F. (2001) Multipotential Nestin-Positive Stem Cells Isolated From Adult Pancreatic Islets Differentiate Ex Vivo Into Pancreatic Endocrine, Exocrine, and Hepatic Phenotypes. Diabetes 50: 521-533

Ministerium für Schule, Wissenschaft und Forschung
des Landes Nordrhein-Westfalen

Wissenschaft und Forschung im Dialog



Perspektiven der Stammzellenforschung

Wissenschaft und Forschung im Dialog

Donnerstag, 30. August 2001,

Congress Center Düsseldorf - CCD Süd -

Stockumer Kirchstr. 61, 40474 Düsseldorf

Ministerium für Schule, Wissenschaft und Forschung des Landes Nordrhein-Westfalen

NRW.