



Adulte Stammzellen:

Hoffnung für die regenerative Medizin

Dr. med. V. Mailänder *

Dr. rer. medic. M. Rojewski *

J. Burkhart **

Dr. med. S. Körper *

Prof. Dr. med. H. Schrezenmeier *

Einleitung

Adulte Stammzellen sind undifferenzierte Zellen, die in spezialisierten, ansonsten differenzierten Geweben vorkommen und die Aufgabe haben, diese Gewebe zu regenerieren. Sie sind dazu fähig, sich einerseits selbst ein Leben lang zu erneuern und andererseits zu spezialisierten Zellen des jeweiligen Gewebes zu differenzieren. Einige Arten adulter Stammzellen können dabei verschiedene differenzierte Zellarten innerhalb eines Organs hervorbringen (Multipotenz, siehe Tabelle 1). Adulte Stammzellen kommen in vielen Organen und Geweben vor, z. B. Knochenmark, Blut, Leber, Gehirn, Haut, Darm, Bauchspeicheldrüse, Skelettmuskel und Auge.

Während adulte Stammzellen hinsichtlich der Gewebe bzw. Zellen, die sie hervorbringen können, determiniert sind und in-vivo in der Regel nur ein Organ (Leber, Blut etc.) erhalten, können aus embryonalen Stammzellen (ESZ) alle Gewebetypen eines Organismus einschließlich Keimzellen entstehen. Embryonale Stammzellen werden aus Embryoblasten gewonnen. Die Entnahme der ES-Zellen zerstört den Embryoblasten. Eine hohe Tumorbildungsrate der ESZ könnte jedoch eine wesentliche Einschränkung ihrer Anwendung bedingen. Insgesamt ist die Forschung und Verwendung humaner ESZ wissenschaftlich, ethisch und juristisch problematisch.

Paradigmenwechsel in der Geweberegeneration

Bis Mitte der 1990er Jahre war die vorherrschende Lehrmeinung, dass das regenerative Potential verschiedener Gewebe im erwachsenen Säugetierorganismus in drei Gruppen einzuteilen ist:

1. Gewebe mit hohem Zellsatz und einer nahezu lebenslangen Fähigkeit Organdefekte zu regenerieren (mitotische Gewebe, z. B. Zellen der Hämatopoese, Darmepithelien, Hautepithelien).

2. Gewebe mit begrenzter Fähigkeit zur Geweberegeneration und zumeist ruhend (fakultativ mitotisch/reversibel postmitotisch z. B. Leber, Nierenepithelien).

3. Gewebe ohne die Fähigkeit zur Geweberegeneration, d. h. Organdefekte sind dauerhaft (postmitotische Gewebe, z. B. Herzmuskel und Neuronen).

Dann aber mehrten sich Befunde, dass adulte Stammzellen möglicherweise noch pluripotent sind, d. h. sich nicht nur in Zelltypen des Gewebes, in welchem sie sich normalerweise

* Institut für Klinische Transfusionsmedizin und Immunogenetik Ulm und Abteilung Transfusionsmedizin, Universitätsklinikum Ulm

** Institut für Transfusionsmedizin München; BRK-Blutspendedienst



befinden, entwickeln, sondern auch zu Zellen eines anderen Gewebes ausdifferenzieren können. So erschien die Umwandlung (**Transdifferenzierung, Definition siehe Tabelle 1**) von hämatopoetischen Stammzellen in neuronale Zellen möglich zu sein und viel versprechende, neue Wege der Gewebereparatur zu ermöglichen. Nach einer stürmischen Phase, in der neue Stammzelltypen definiert wurden und in der nahezu alle Gewebearten durch in-vitro und durch in-vivo Manipulation ineinander umwandelbar erschienen, wurden hierzu widersprüchliche Befunde publiziert (1-3).

Im Teil 1 dieser Serie („**hämotherapie**“ 03/2004) haben wir bereits den Einsatz der hämatopoetischen Stammzellen (HSZ) als Beispiel einer zumindest multipotenten Stammzelle im Rahmen der hämatopoetischen Stammzelltransplantation dargestellt. Auch wenn in der öffentlichen Wahrnehmung der letzten Jahre die Stammzelltherapie als eine sehr neue Therapie betrachtet wird, ist die hämatopoetische Stammzelltransplantation das Beispiel einer seit 40 Jahren praktizierten Therapieform, welche für viele Indikationen inzwischen als Routineverfahren

etabliert ist. In diesem Beitrag werden einige Beispiele adulter Stammzellen (hämatopoetische Stammzellen, mesenchymale Stammzellen, endotheliale Progenitorzellen) mit ihrer Plastizität dargestellt. Hierbei werden auch die daraus resultierenden Anwendungsmöglichkeiten und die Kontroverse über das Transdifferenzierungspotential dieser Zellen diskutiert.

Plastizität von Stammzellen aus dem Knochenmark

Das Konzept der oligopotenten Stammzelle sieht die Ausreifung einer Stammzelle in einige organspezifische reife Zellarten vor. Dies wird als Linienrestriktion („lineage restriction“) bezeichnet. Werden andere, nicht organspezifische Zellarten durch eine adulte Stammzelle hervorgebracht, so wird dies als Transdifferenzierung bezeichnet. Die Beobachtungen zur Transdifferenzierung beziehen sich hierbei sowohl auf in-vitro als auch auf in-vivo Ergebnisse.

Differenzierungspotential von Zellen: Definitionen

Omnipotenz

- Fähigkeit einer Zelle, sich zu einem vollständigen, lebensfähigen Organismus zu entwickeln.

Pluripotenz

- Fähigkeit einer Zelle, sich in viele Zelltypen zu entwickeln, welche Abkömmlinge aller drei Keimblätter darstellen.

Multipotenz

- Fähigkeit einer Zelle, sich in viele Zelltypen zu differenzieren, welche Abkömmlinge eines Keimblattes darstellen.

Oligopotenz

- Fähigkeit einer Zelle, sich in wenige Zelltypen zu differenzieren.

Transdifferenzierung

- Fähigkeit einer adulten Stammzelle, die sich in speziellen Nischen eines Organes befindet und differenzierte Funktionszellen desselben hervorbringt, in reife Zellen eines anderen Organs / Gewebes zu differenzieren.

Adulte Stammzelltypen im Knochenmark

- *Hämatopoetische Stammzellen (HSZ)*
- *Mesenchymale Stammzellen (MSZ)*
- *Endotheliale Progenitorzellen (EPZ)*
- *Multipotente, adulte Progenitorzellen (MAPZ)**

Diese Populationen sind möglicherweise überlappend, z. B. Entwicklung von EPZ aus HSZ mit funktionellen Eigenschaften eines „adulten Hämangioblasten“.

* Bisher nur tierexperimentell beschrieben (15)

Tabelle 2

Neben den HSZ ist die Plastizität und der mögliche therapeutische Einsatz für andere, im Knochenmark vorkommende adulte Stammzellen (*siehe Tabelle 2*) am besten untersucht. *Tabelle 3* fasst bisherige Beobachtungen zur Plastizität von Stammzellen aus dem Knochenmark zusammen.

Auslösend für das Konzept der Transdifferenzierung waren Experimente an Mausmodellen, in denen weibliche Empfängermäuse (XX) Knochenmarkzellen männlicher Spendermäuse (XY) erhalten hatten. In Gehirnschnitten konnte im Zellkern neuronaler Zellen nach einigen Wochen ein Y-Chromosom nachgewiesen werden, d. h. es hatten sich aus Knochenmarkzellen der Spendermäuse neuronale Zellen entwickelt. Mononukleäre Kno-

chenmarkzellen konnten auch unter speziellen Zellkulturbedingungen in Zellen mit neuronalem Charakter umgewandelt werden („Turning blood into brain“ (4)). Auch der umgekehrte Weg, d. h. die Umwandlung von neuronalen Zellen in hämatopoetische Zellen in Mäusen war möglich („Turning brain into blood“ (5)). Schließlich gelang im Mausmodell durch Transplantation von Knochenmark auch die Regeneration von Lebergewebe, welches durch einen genetisch bedingten Stoffwechseldefekt geschädigt war (6). Bei Mäusen mit einer Muskeldystrophie Duchenne konnte eine Regeneration von Skelettmuskel aus gesunden Knochenmarkstammzellen erfolgen („Turning blood into muscle“ (7)). Über die Ergebnisse zur Transdifferenzierung von Knochenmarkstammzellen in Kardiomyozyten wird nachfolgend ausführlich berichtet (8, 9).

Nach Transplantation mit markierten Zellen konnten bei Mäusen in den Empfängertieren einzelne markierte, d. h. vom Spender abgeleitete Zellen in den Nierentubuli nachgewiesen werden. Nach ischämischer Schädigung mit nachfolgender Tubulusnekrose kam es rasch zu einer Zunahme der vom Spender abgeleiteten Zellen im Tubulusepithel. Im Vergleich zu nicht-transplantier-

ten Kontrolltieren führte die Transplantation auch zu einem protektiven Effekt für die Ischämie-bedingte Funktionseinschränkung (10).

In ähnlicher Weise konnten auch von Spendern stammende Zellen in

Plastizität von Stammzellen aus Knochenmark

Entwicklung von Zellen in folgenden Organen:

Leber:

- *Hepatozyten*
- *Gallengangepithelien*

Herzmuskelzellen

Skelettmuskel

ZNS:

- *Neuronale Zellen*
- *Oligodendrozyten*

Niere:

- *Tubulus-Epithelzellen*
- *Glomeruläre Mesangiumzellen*

Pankreas:

- *β-Inseldzellen*

Lunge:

- *Bronchial-Epithelzellen*
- *Pneumozyten*

Haut:

- *Keratinozyten*

Gastrointestinaltrakt:

- *Epithelzellen in Ösophagus, Magen, Dünn- und Dickdarm*

Verschiedene Organe:

- *Endothelzellen*

Evidenz überwiegend aus tierexperimentellen Transplantationsstudien (Übersicht bei Herzog et al. (14)) Beschreibung einiger Beispiele für Plastizität im Text. Anwendungen beim Menschen siehe Tabelle 4 und Tabelle 6.

Tabelle 3

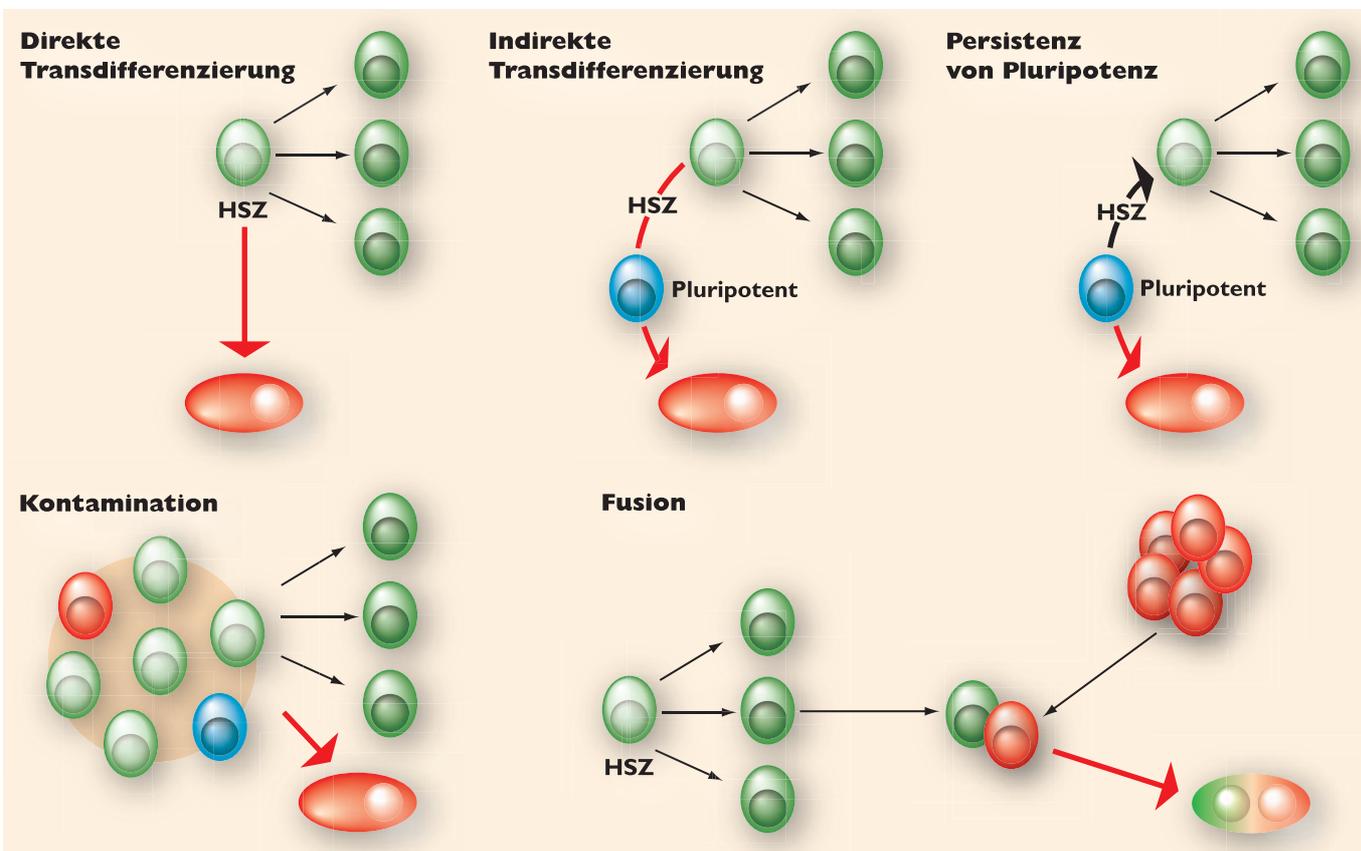


Abbildung 1 ^

Übersicht über Modelle zur Erklärung der experimentell beobachteten Plastizität adulter Stammzellen aus Knochenmark (modifiziert nach Herzog et al. (14)).

pankreatischen Inselzellen nachgewiesen werden, welche morphologisch und funktionell (Insulin-Sekretion nach Stimulation mit Glucose oder Glucagon-ähnlichem Peptid) von normalen Pankreas-β-Zellen nicht zu unterscheiden waren (11).

In diesen Tiermodellen konnten in den untersuchten Zielorganen differenzierte Zellen, welche sich offensichtlich aus den markierten, übertragenen Knochenmarkszellen ableiteten, erst nach einer Schädigung des Organs und entsprechen-

der Notwendigkeit von Reparaturmechanismen in höherer Zahl nachgewiesen werden (10, 12, 13)

Ursache der „Plastizität“ von Stammzellen: direkte Transdifferenzierung oder andere Mechanismen ?

Das in diesen Studien beobachtete Potential der adulten Stammzellpräparationen kann durch verschiedene Mechanismen, welche

sich nicht gegenseitig ausschließen, erklärt werden (Abbildung 1, Übersicht bei Herzog et al. (14)).

➤ Das Modell der direkten **Transdifferenzierung** geht davon aus, dass die bisher als gewebespezifisch angesehenen Stammzellen, z. B. die hämatopoetischen Stammzellen, welche die reifen Zellen der Hämatopoese hervorbringen, nach einem Gewebeuntergang in einem anderen Organ in der Lage sind, den Zellverlust dort durch eine Umprogram-

mierung ihrer Differenzierung zu ersetzen und andere Zellen, z. B. Kardiomyozyten, Hepatozyten o. ä., zu bilden (direkte Transdifferenzierung). Der Ersatz durch organständige (Stamm-) Zellen (z. B. „oval cells“ in der Leber) tritt hierbei in den Hintergrund.

- Eine Abwandlung dieses Modells sieht die Möglichkeit der **Dedifferenzierung** von gewebespezifischen multipotenten Stammzellen in pluripotente Stammzellen vor. Aus diesen entstehen dann wieder die gewebespezifischen Stammzellen (indirekte Transdifferenzierung). Insbesondere bei längerer Kultivierung von Stammzellen in-vitro – z. B. bei neuronalen Stammzellen oder mesenchymalen Stammzellen – ist dieser (Um-)weg diskutiert worden.
- Weiterhin könnte es auch in erwachsenen Organismen nicht-gewebespezifische, pluripotente Stammzellen geben, die in den Stammzellpräparationen, wenn auch nur in sehr geringer Anzahl, vorhanden waren (**Persistenz der pluripotenten Stammzellen** im erwachsenen Organismus). Die im Tiermodell beschriebenen multipotenten adulten Progenitorzellen (MAPZ) im Knochenmark, welche nach Injektion in Blastozysten zu fast allen Geweben beitragen kön-

nen, könnten einer Stammzellpopulation im Knochenmark angehören, welche die beobachtete Plastizität erklärt (15).

- In den Studien, die mit heterogenen Zellpopulationen arbeiten (z. B. Knochenmark), ist keine genaue Festlegung bezüglich der Zelle möglich, die zu dem Ereignis der Geweberegeneration geführt hat, da die Präparation zahlreiche Zelltypen enthält. Im Falle des Knochenmarks sind dies mindestens hämatopoetische Stammzellen, mesenchymale Stammzellen, endotheliale Progenitorzellen, multipotente adulte Progenitorzellen sowie weitere, die bisher möglicherweise noch nicht beschrieben worden sind. Daher kann eine auch nur geringfügige **Kontamination** einer Zellpräparation durch einen anderen Stammzelltyp zu dem beobachteten Ergebnis führen. Experimente, in denen eine einzelne hämatopoetische Stammzelle für die Regeneration in Mäusen benutzt wurde, konnten keine Transdifferenzierung nachweisen (1) (16).
- Als weitere Möglichkeit der beobachteten Ergebnisse ist die **Fusion** von adulten Stammzellen mit residuellen embryonalen Stammzellen oder Zellen des Zielgewebes als Basis der scheinbaren Trans-

differenzierung diskutiert worden. In einem Tiermodell zur Leberregeneration konnte der Gewebeuntergang durch die Transplantation von adulten, hämatopoetischen Stammzellen verhindert werden. Hierbei konnte man Fusionsereignisse von monozytären, reifen Zellen mit Hepatozyten nachweisen. Dass solche Zellfusionen stattfinden ist mittlerweile in mehreren Organen nachgewiesen (13, 17, 18). Unklar ist jedoch, ob diese Fusionen so häufig auftreten, dass sie wesentlich zur beobachteten Stammzellplastizität beitragen („cell fusion causes confusion“ (19)).

Anwendungsmöglichkeiten von „neuen Typen“ adulter Stammzellen

Die tierexperimentell dargestellte Plastizität adulter Stammzellen eröffnete neue, interessante Anwendungsgebiete. Aus den bisher dargestellten Forschungsergebnissen lassen sich grundsätzlich zwei Ansätze der regenerativen Therapie mit adulten Stammzellen ableiten. Der eine liegt in der linienspezifischen Verwendung der Stammzelltypen mit dem Ziel gewebegleiche Organdefekte zu kompensieren (z. B. bei Transplantation hämatopoetischer Stammzellen).



Der zweite Ansatz liegt in der Transdifferenzierung adulter Stammzellen mit anschließender Transplantation in andere Gewebe. Hierbei gibt es Versuche, die Transdifferenzierung ex-vivo zu induzieren. Andere Konzepte verfolgen die Applikation von Stammzellen in das zu reparierende Gewebe ohne vorherige Zellkultivierung (Transdifferenzierung durch die spezifischen Bedingungen im geschädigten Gewebe, z. B. beim Myokardinfarkt) (20-22).

Die Möglichkeiten die Regeneration mit gewebeähnlichen adulten Stammzellen herbeizuführen wird limitiert sein durch die Identifizierung solcher Stammzellen in den unterschiedlichen Geweben, die Gewinnung, Isolation und ex-vivo Manipulation dieser Zellen, sowie die Möglichkeit diese auch allo-gen zu transplantieren. Aufgrund der Problematik der Gewinnung von verschiedenen organständigen Stammzellen (z. B. neuronalen Stammzellen zur Anwendung in einem autologen Kontext) wird die Notwendigkeit deutlich, leicht zugängliche Stammzellquellen mit möglichst breitem Anwendungsspektrum zu erschließen. Mögliche autologe Applikationen adulter Stammzellpräparate sind Knorpelersatz, Knochenheilung, Sehnen-

ersatz, Ersatz glialer / neuronaler Zellen oder Myokardreparatur. Aber auch die Transplantation allogener adulter Stammzellen in diesen Anwendungsbereichen ist denkbar und wurde in einigen Fällen auch bereits klinisch durchgeführt, z. B. in einer Studie bei Kindern mit Osteogenesis imperfecta (23, 24).

Ein weiterer interessanter Aspekt ist die Möglichkeit adulte Stammzellen als Medium für gentherapeutische Ansätze zu nutzen. Dieses Konzept beruht auf der Entnahme von Stammzellen mit anschließender (ex-vivo) Korrektur eines Gendefektes und nachfolgender autologer Transplantation dieser Stammzellen. Es erscheint auch möglich Stammzellen ex-vivo so zu modifizieren, dass sie als Produktionsstätten von Medikamenten dienen, die dann in die Zielstrukturen transplantiert werden, um eine lokale Abgabe der Medikamente zu erreichen. Ein Beispiel für diesen Ansatz ist die Substitution von Dopamin bei der Parkinson-Erkrankung (25).

Neue Erkenntnisse über die Bedingungen der Proliferation und Differenzierung adulter Stammzellen in situ können in Zukunft dazu beitragen, adulte Stammzellen so zu beeinflussen, dass Sie regenera-

tive Funktionen in ihren Organen übernehmen.

Die adulten Stammzellen des Knochenmarks sind einfacher zugänglich und in höherer Zahl isolierbar als ortsständige Stammzellen in parenchymatösen Organen, so dass sowohl tierexperimentelle Untersuchungen als auch die ersten klinischen Anwendungen neuer adulter Stammzelltherapieansätze außerhalb der hämatopoetischen Stammzelltransplantation auf Zellen aus dem Knochenmark fokussieren. In den folgenden Abschnitten werden wir auf die Eigenschaften und das therapeutische Potential von mesenchymalen Stammzellen (MSZ) und endothelialen Progenitorzellen (EPZ) eingehen und bisherige Erfahrungen zur Stammzelltherapie bei ischämischen Herzerkrankungen zusammenfassen.

Mesenchymale Stammzellen: Eigenschaften und klinische Anwendungen

Mesenchymale Stammzellen (MSZ) sind zunächst als adhärenente Zellen mit Selbsterneuerungspotential, hoher proliferativer Kapazität und Differenzierungspotential zu Knochen-, Knorpel- und Fettzellen identifiziert worden. Inzwischen

wurde ein sehr viel breiteres Differenzierungspotential dieser Zellen nachgewiesen. Morphologisch fallen die Zellen in der Zellkultur durch ausgeprägte Pleomorphie auf (**Abbildung 2**). Immunphänotypisch lassen sie sich durch eine Kombination von Markern charakterisieren (u. a. Expression von CD9, CD73, CD105, CD146, CD166 und Abwesenheit von CD34 und linienspezifischer Antigene der Hämatopoese, **Abbildung 3**) (siehe auch **Titelbild**). Die Zellen können in-vitro in kurzer Zeit um mehrere Logstufen expandiert werden. **Abbildung 4** zeigt die Wachstumskurve einer ex-vivo Expansion von MSZ. Unter geeigneten Kulturbedingungen können MSZ in-vitro innerhalb von 7-10 Tagen um den Faktor 10^2 bis 10^3 expandiert werden. MSZ wurden zuerst im Knochenmark identifiziert. Sie kommen dort in einer Frequenz

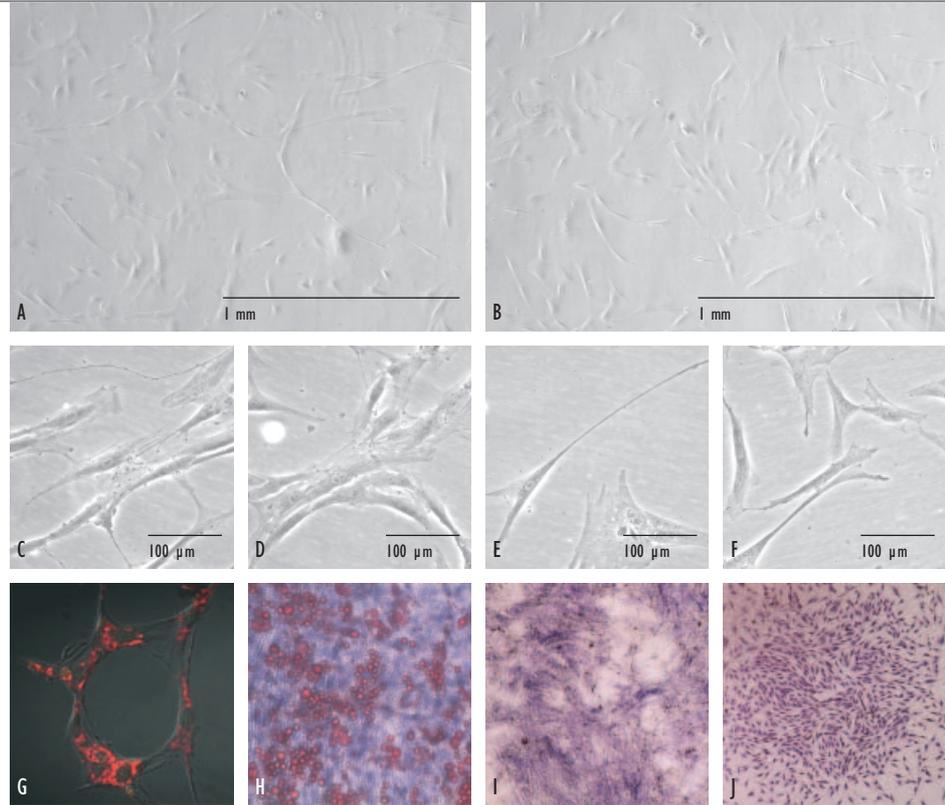


Abbildung 2 ^

Morphologie kultivierter mesenchymaler Stammzellen (MSZ) und Beispiele für deren in-vitro induzierte Differenzierung.

A und B: Übersicht über mesenchymale Stammzellen in Kultur

C-F: Detailansicht mesenchymaler Stammzellen bei stärkerer Vergrößerung

G: Konfokale Mikroskopie mesenchymaler Stammzellen

H: In der Zellkultur zu Fettzellen differenzierte mesenchymale Stammzellen (Red Oil O / Hämatoxylin-Färbung; Fett wird rot angefärbt)

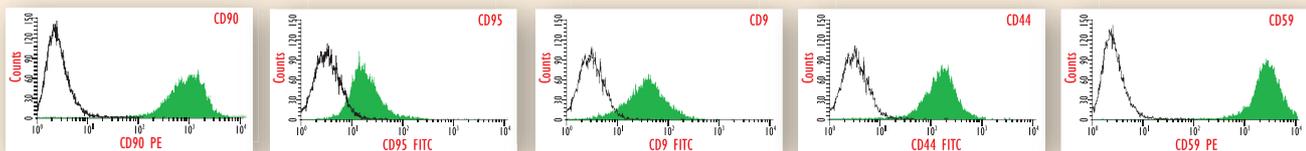
I: In der Zellkultur zu Osteoblasten differenzierte Stammzellen (Nachweis der Alkalischen Phosphatase)

J: In der Zellkultur zu Fibroblasten differenzierte Stammzellen (CFU-F-Assay, Hämatoxylin-Färbung)

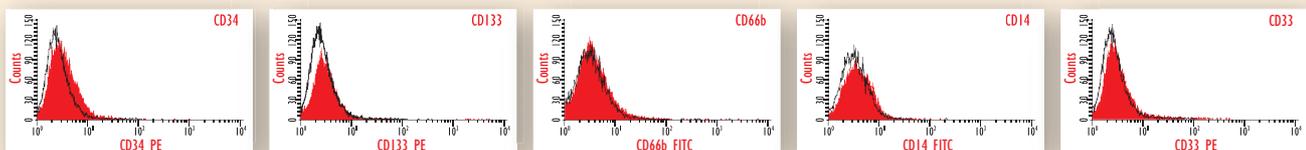
von etwa 1 MSZ pro 10^5 - 10^6 mononukleären Knochenmarkszellen vor. Daneben finden sich MSZ auch in

Nabelschnurblut, Fettgewebe und – in allerdings sehr geringer Konzentration – im peripheren Blut.

Auf MSZ typischerweise exprimierte Oberflächenantigene



Auf MSZ typischerweise nicht exprimierte Oberflächenantigene





Aufgrund des breiten Differenzierungspotentials – zumindest in vitro – und ihrer einfachen ex-vivo Expandierbarkeit sind die MSZ einer der Hoffnungsträger für die Anwendung in der regenerativen Medizin (**Abbildung 5**).

MSZ sind bereits in klinischen Studien für verschiedene Indikationen eingesetzt worden (**Tabelle 4**). Ein Beispiel für die Behandlung mesenchymaler Defekte ist die Defektreparatur bei Osteogenesis imperfecta durch MSZ (**23, 24**). Hierbei konnte bei drei behandelten Patienten eine verminderte Frakturhäufigkeit sowie eine höhere Knochendichte beobachtet werden.

MSZ besitzen immunsuppressive Eigenschaften, welche sowohl in vitro als auch in mehreren Tiermodellen gezeigt werden konnten

(**26-28**). MSZ sind in der Lage eine gemischte Lymphozytenreaktion bzw. die Stimulation von Lymphozyten mittels Phytohämagglutinin zu verhindern. Dies wird möglicherweise durch Prostaglandin E2 vermittelt (**29**). Daher wurden mesenchymale Stammzellen zur Prävention und Behandlung einer Transplantat-gegen-Wirt Erkrankung (GvHD) bei allogener Stammzelltransplantation eingesetzt. In einer Kasuistik konnte eine schwere GvHD nach Versagen einer intensiven Vortherapie erfolgreich durch Gabe von MSZ behandelt werden (**30**). In einer Studie der „European Group for Blood and Marrow Transplantation“ (EBMT) wurde durch Kotransplantation von ex-vivo expandierten MSZ bei hämatopoetischer Stammzelltransplantation im Vergleich zu historischen Kontrollen eine signifikante Reduktion der

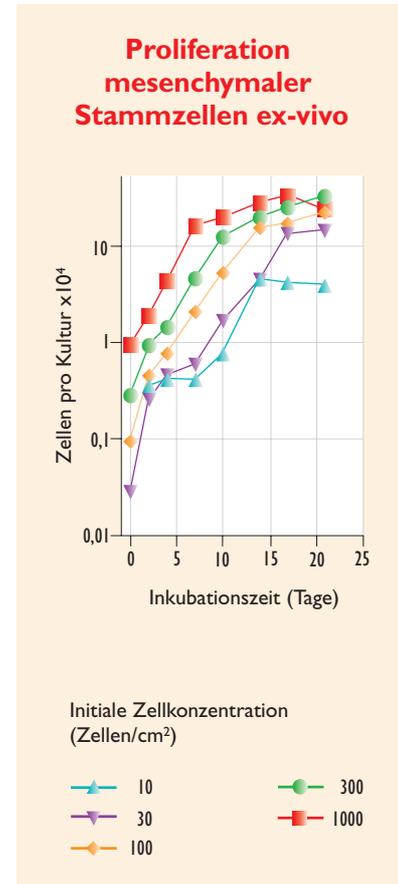


Abbildung 4

Die Kurven zeigen das Wachstum für unterschiedliche Ausgangszellkonzentrationen (von 10 bis 1000 Zellen/cm²).

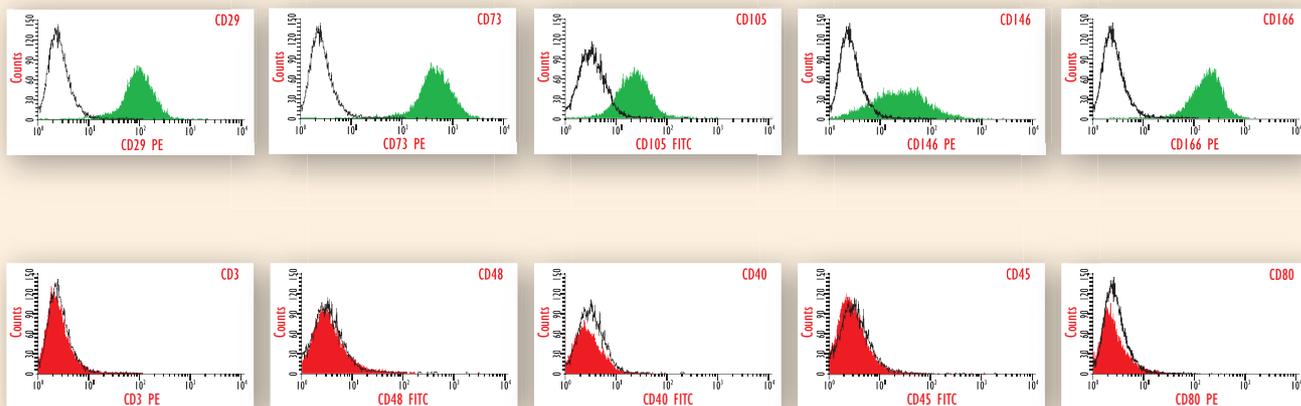


Abbildung 3

Immunphänotypisches Profil mesenchymaler Stammzellen (MSZ). Schwarze Linie: Isotypkontrolle; ausgefüllte Histogramme: spezifische Färbung (grün: exprimierte Antigene; rot: nicht-exprimierte Antigene).

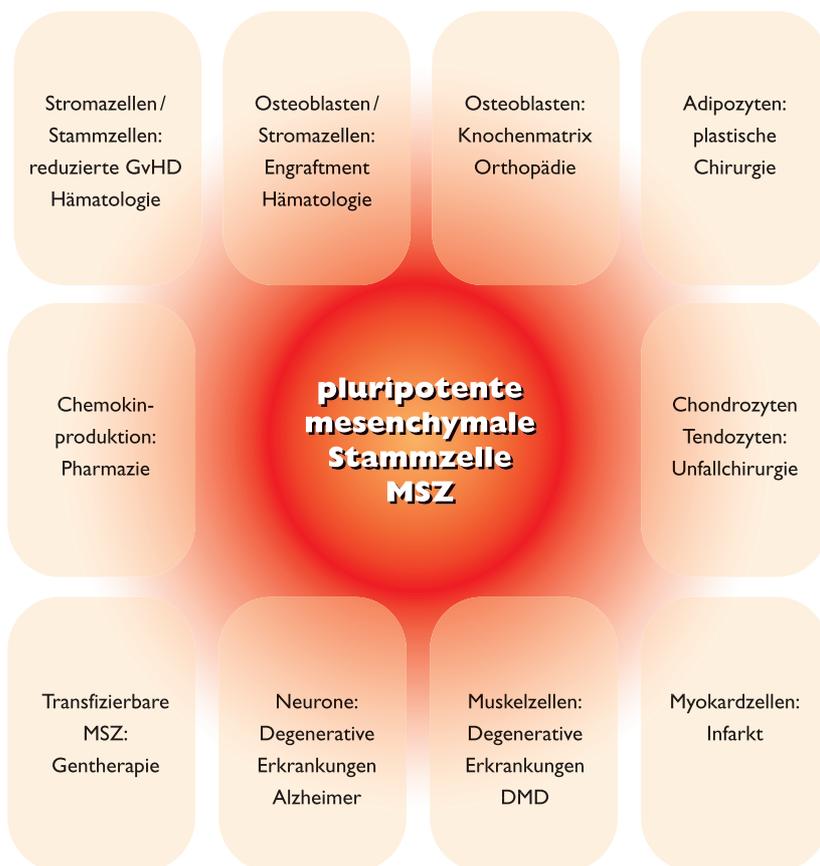


Abbildung 5 ▲

Mesenchymale Stammzellen: Differenzierungspotential und mögliche therapeutische Anwendungen.

akuten und chronischen Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion erreicht (Tabelle 5, (31)).

Ein mögliches zukünftiges Anwendungsgebiet ist die Kotransplantation mit hämatopoetischen Stammzellen zur Beschleunigung der hämopoetischen Regeneration (32, 33). Eine kasuistische Anwendung allogener MSZ bei therapierefraktärer aplastischer Anämie zeigte ein Anwachsen der MSZ im Knochenmarkstroma (34).

Endotheliale Progenitorzellen: Eigenschaften und therapeutisches Potential

Man geht davon aus, dass in der embryonalen Entwicklung ein Hä-mangioblast existiert, aus welchem sich hämatopoetische Stammzellen und vaskuläre Stammzellen entwickeln. Auch im postnatalen Organismus konnte man vor einigen Jahren sowohl im Knochenmark als auch im peripheren Blut endotheliale Progenitorzellen (EPZ) nachweisen,

welche sich zu Endothelzellen entwickeln können und zur Neovaskularisation im postnatalen Organismus wesentlich beitragen (35, 36). Immunphänotypisch zeigen die EPZ überlappende Charakteristika mit hämatopoetischen Vorläuferzellen, z. B. Expression von CD34, CD133 und CD117. Die EPZ exprimieren auch KDR/flt-1, die Rezeptoren für VEGF („vascular endothelial growth factor“) sind. Die EPZ weisen eine hohe Proliferationsrate auf. In tierexperimentellen Transplantationsstudien konnte man zeigen, dass sich EPZ vor allem in ischämischen Bereichen mit aktiver Neovaskularisation ansiedeln (35). In Reaktion auf Ischämie in Geweben oder Stimulation mit Wachstumsfaktoren (z. B. GM-CSF, G-CSF, SDF-1 („stroma-derived factor-1“) oder VEGF) kommt es zur Mobilisierung von EPZ aus dem Knochenmark (36). Auch Statine, welche die HMG-CoA-Reduktase hemmen, können zu Mobilisierung von endothelialen Progenitorzellen führen und damit zur Neovaskularisation beitragen (37). Im klinischen Kontext wurde eine EPZ Mobilisierung beobachtet nach Verbrennung, akutem Myokardinfarkt oder bei koronarer Bypass-Operation (38, 39).

Diese Befunde legten nahe, ex-vivo expandierte EPZ auch zur gezielten Zelltherapie einzusetzen,



um in ischämischen Arealen eine Neovaskularisation zu induzieren. In einem Mausmodell konnte durch

Transplantation expandierter EPZ in ischämische Extremitäten die Kapillardichte und der Blutfluss

verbessert und ischämiebedingter Extremitätenverlust reduziert werden (40). Nach Applikation expan-

In klinischen Studien untersuchte Anwendungen von mesenchymalen Stammzellen (MSZ) beim Menschen

Anwendung	Ergebnis	Literatur
> Beschleunigung der hämatopoetischen Rekonstitution durch Kotransplantation von MSZ und HSZ	> Rasche hämatopoetische Rekonstitution nach autologer PBSZ-Transplantation (Neutrophilen-Erhölung: 8 Tage; Thrombozyten-Erhölung: 8,5 Tage)	(33)
> Behandlung von Mucopolysaccharidose und metachromatischer Leukodystrophie (MLD)	> Verbesserung der Nervenleitgeschwindigkeit (4/6 Patienten); leichte Verbesserung der Knochenmineralisation	(66)
> Reparatur mesenchymaler Defekte am Beispiel der Osteogenesis imperfecta	> Verminderte Frakturhäufigkeit bei Transplantation von MSZ (bisher nur Tierstudien) oder Knochenmark (beim Menschen)	(23, 24)
> Prävention bzw. Behandlung einer Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion (GvHD)	> signifikant niedrigere GvHD-Rate (31); s. Tabelle 4; erfolgreiche Therapie einer steroidrefraktären GvHD; Kasuistik (30)	(30, 31)
> Therapierefraktäre aplastische Anämie	> Anwachsen der MSZ im Knochenmarkstroma und hämatopoetische Rekonstitution bei allogener MSZ Transplantation; Kasuistik	(34)
> Behandlung des Myokardinfarkts	> Verbesserung der linksventrikulären Funktion in einer randomisierten Studie	(55)

Tabelle 4

Kotransplantation mesenchymaler Stammzellen zur Prävention einer Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion (GvHD) bei Transplantation hämatopoetischer Stammzellen von HLA-identischen Geschwistern [31]

	Kontrollen: nur HSZ* („matched pair“) n = 31**	HSZ + MSZ* n = 31**
Alter (Jahre)	48	43
Akute GvHD II-IV	15 Patienten	7 Patienten
Chronische GvHD (Inzidenz nach 6 Monaten)	67% ± 11%	32% ± 11%
Überleben (6 Monate)	68% ± 8%	96% ± 4%

* HSZ: hämatopoetische Stammzellen, MSZ: mesenchymale Stammzellen.

** Jeweils 14 Patienten erhielten als Stammzelltransplantat Knochenmark und 17 Patienten erhielten Blutstammzellen. Der Spender für hämatopoetische Stammzellen war in dieser Studie gleichzeitig auch Spender der mesenchymalen Stammzellen. Die Transplantation erfolgte in allen Fällen wegen maligner Erkrankungen der Hämatopoese.

Tabelle 5



dierter humaner EPZ in einem Rattenmodell mit Myokardischämie kam es zu einer Differenzierung der EPZ zu reifen Endothelzellen im ischämischen Myokard, Neovaskularisation und zu positiven Einflüssen auf kardiale Funktionsparameter (41).

In klinischen Studien werden EPZ bei Extremitätenischämie eingesetzt. In einer randomisierten Studie bei Patienten mit peripherer Verschlusskrankheit, die eine Injektion von Knochenmarkzellen in den M. gastrocnemius erhielten, konnte eine Verbesserung von Ruheschmerz, Gehstrecke und Sauerstoffpartialdruck erreicht werden (42). Da mononukleäre Zellen eingesetzt wurden, ist jedoch unklar, auf welche Komponente der signifikante therapeutische Effekt zurückzuführen ist.

In den oben schon dargestellten Zelltherapien des Myokardinfarktes wurden auch ex-vivo expandierte zirkulierende Progenitorzellen eingesetzt, welche den Phänotyp von EPZ aufwiesen (20). In den hierbei beobachteten positiven Effekten auf die Myokardfunktion bestand kein Unterschied zwischen der Anwendung von zirkulierenden Vorläuferzellen oder mononukleären Knochenmarkzellen.

In der weiteren Entwicklung EPZ basierter Therapien wird vor allem die Optimierung der Reinigung und Expansion von EPZ und Untersuchung ihres Transdifferenzierungspotentials eine Rolle spielen. Ein Problem könnte hierbei einerseits die verfügbare Zahl von EPZ darstellen sowie funktionelle Beeinträchtigung der autologen EPZ durch Alter, Diabetes mellitus oder Hypercholesterinämie. Eine Optimierung von EPZ Zelltherapien kann durch Gentransfer angiogenetischer Faktoren in die EPZ erfolgen. In einem Mausmodell mit experimentell induzierter Extremitätenischämie führte die Transplantation von EPZ, welche mittels eines adenoviralen Vektors mit VEGF transduziert waren, zu einer deutlichen Verbesserung des Blutflusses mit signifikanter Reduktion der Nekrose rate. Durch die Überexpression von VEGF in den EPZ konnte die Anzahl der transplantierten EPZ im Vergleich zur Transplantation unmodifizierter EPZ um etwa den Faktor 30 reduziert werden (43).

Ex-vivo expandierte endotheliale Progenitorzellen könnten in Zukunft auch als Zielzellen für gentherapeutische Ansätze benutzt werden. Es konnte gezeigt werden, dass EPZ nach lentiviraler Transduktion mit einem Faktor-VIII-kodierenden Vektor

eine stabile Faktor-VIII Expression aufweisen und sich ex-vivo gut expandieren lassen, so dass eine große Zahl transplantierbarer Zellen mit stabiler Expression des Transgens erreicht werden kann (44).

Stammzelltherapie bei Myokardinfarkt

In den letzten Jahren gehörte die Rekonstitution der myokardialen Funktionsfähigkeit nach Herzinfarkt durch Gabe von Stammzellen zu den am intensivsten untersuchten klinischen Anwendungen adulter Stammzellen in neuer Indikation. In den folgenden Abschnitten werden wir darstellen, welche Studien Ausgangspunkt für die Untersuchungen am Menschen waren.

Tierexperimentelle Daten

Für dieses Feld der Stammzelltherapie haben die Arbeiten von Orlic et al. im Mausmodell die wesentlichen Grundlagen für weitere Anwendungen im Menschen gelegt (9). Die Arbeitsgruppe von Orlic gewann aus männlichen Mäusen Knochenmarkzellen mit Expression des Stammzellmarkers c-kit (Rezeptor des Stammzellfaktors) und fehlender Expression von Markern der



reifen Hämatopoese. Diese wurden aus einer transgenen Maus gewonnen, die in allen Zellen ein grün fluoreszierendes Protein exprimiert (EGFP „enhanced green fluorescent protein“). Nach direkter Injektion in eine Infarktregion bei weiblichen Mäusen konnten nach 9 Tagen Myokardzellen, welche EGFP exprimierten und zudem ein Y-Chromosom trugen, im regenerierenden Herzgewebe identifiziert werden, so dass die Autoren von einer Transdifferenzierung der injizierten Zellen zu Myokardzellen ausgehen. Kardiale Funktionsparameter wie der linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVEDP) und der vom Myokard während der Systole aufgebaute Druck (LVDP) war bei den Mäusen durch die Injektion der Knochenmarkstammzellen verbessert worden.

Allerdings haben andere Arbeitsgruppen eine solche Regeneration nach Stammzelltransplantation nicht nachweisen können. Hierbei sind Unterschiede im Vorgehen zu beachten, die möglicherweise zu den widersprüchlichen Ergebnissen geführt haben. Murry et al. (2) setzten Zellen transgener Mäuse ein, bei denen das Reporter-gen (EGFP oder auch X-Gal) nur unter der Kontrolle eines herzmuskelspezifischen Promotors angeschaltet wurde (2) wäh-

rend bei Orlic et al. (9) die Expression von EGFP konstitutiv in allen Zelltypen war (konstitutive Expression). In der Arbeit von Murry et al. (2) wurden in einer zweiten Versuchsreihe die Stammzellen zwei Monate vor der Ligation der Koronararterien in eine letal bestrahlte Maus transplantiert. Da zum Zeitpunkt der kardialen Schädigung zwei Monate nach der Transplantation keine weitere Stammzellgabe oder Stammzellmobilisation erfolgte, könnte die zirkulierende Anzahl an Stammzellen zu diesem Zeitpunkt für eine effektive Reparatur nicht ausreichend gewesen sein. Weiterhin wurden in einigen Versuchsreihen bei Murry et al. die Stammzellpräparationen ohne zeitlichen Abstand zum Auslösen des Myokardinfarkts appliziert. Diese Arbeit hat keine funktionellen kardialen Parameter untersucht. Andererseits könnte ein positives Ergebnis bei den Arbeiten von Orlic et al. auch dadurch erreicht worden sein, dass durch die Art der Stammzellaufbereitung ein zusätzlicher Stammzelltyp im Vergleich zu den Arbeiten von Murry et al. in den Präparationen vorhanden war.

Eine weitere Gruppe um Balsam et al. (3) arbeitete mit drei unterschiedlich aufgereinigten Stammzellpräparationen (c-kit^{Enrich}/Lin- c-kit+ / Lin- c-kit+ Thy1.1^{low} Sca-1+) und fand

die transplantierten, EGFP exprimierenden Zellen 10 Tage nach Transplantation zu einem erheblichen Anteil wieder im Myokard, allerdings nicht mehr nach 30 Tagen, wobei sogar bei der am höchsten aufgereinigten Zellpräparation (Lin- c-kit+ Thy1.1^{low} Sca-1+) nach 10 Tagen die Zellmenge vierfach über der applizierten Zellzahl lag, so dass eine Proliferation im Myokard anzunehmen ist. Keine dieser Zellen exprimierte allerdings myokardiale Marker. Einige Zellen exprimierten panhämatopoetische Marker (CD45⁺) oder auch granulozytäre Marker (Gr-1+) oder Marker von B-Lymphozyten (B220+). Unklar bleibt, ob es Zellen in diesen Schnitten gab, die weder einen hämatopoetischen noch einen myokardialen Marker trugen (z. B. endothelial differenzierte Zellen). Die erhobenen funktionellen Parameter waren unterschiedlich: das linksventrikuläre enddiastolische und endsystolische Volumen nach 6 Wochen war signifikant verbessert, während die Infarktgröße nicht signifikant verändert war.

Zusammenfassend lässt sich damit feststellen, dass verschiedene Arbeitsgruppen widersprüchliche Daten zur erfolgreichen Transdifferenzierung im Mausmodell bei allerdings deutlichen methodischen Unterschieden vorgelegt haben. Von

der Auswertung der unterschiedlichen Vorgehensweisen (z. B. Stammzellquelle, Aufreinigung, Applikationsweg und -zeitpunkt etc.) und der weiteren Untersuchung im Tiermodell könnten wesentliche Hinweise auf den genaueren Mechanismus der beobachteten Effekte, sowie die optimale Stammzellquelle, Zeitpunkt und Modus der Applikation gefunden werden.

Geweberegeneration aus Spender- oder Empfängerzellen bei hämatopoetischer Stammzelltransplantation oder Herztransplantation

In Untersuchungen von Myokardgewebe bei Patientinnen, denen von einem geschlechtsdifferenten Spender Knochenmark transplantiert worden waren, konnten Kardiomyozyten mit Y-Chromosomen nach allogener Knochenmarkstransplantation, also von männlichen Spendern nachgewiesen werden (45). Auch im Herzgewebe von männlichen Empfängern nach Herztransplantation von weiblichen Spenderherzen konnten Kardiomyozyten nachgewiesen werden, welche vom männlichen Empfänger abgeleitet waren (9% (+/-4%) der Kardiomyozyten) (46). Ebenso wurde nach Knochenmark- bzw. Blutstammzell-Transplantation bei

weiblichen Empfängern in einem Teil der Hepatozyten und epithelialen Zellen ein Y-Chromosome nachgewiesen (47). Unterschiedliche Arbeitsgruppe haben zwischen 0% und 43% an Hepatozyten mit spenderspezifischem Signal gefunden (47, 48). Neuronale Zellen finden sich dagegen deutlich weniger häufig (ca. 7 in 10.000 (49)).

Studien bei Patienten mit Myokardinfarkt

Die Daten zum regenerativen Potential für Myokard von adulten Stammzellen aus dem Knochenmark waren die Grundlage für klinische Studien. In diesen Studien wurden mit unterschiedlichen Stammzellpräparationen und unterschiedlicher Technik für die Applikation dieser Stammzellen gearbeitet (Tabelle 6). In der Studie von Strauer et al. (50) wurden mononukleäre Knochenmarkzellen intrakoronar mittels eines Ballonkatheters appliziert. Im Vergleich zu einer nicht-randomisierten Kontrollgruppe konnte bei der Gruppe mit Stammzellgabe eine Verkleinerung des hypokinetischen, akinetischen oder dyskinetischen Arealis gezeigt werden. Stamm et al. (51) gewannen AC133⁺ positive Stammzellen aus Knochenmark und injizierten diese direkt intramuskulär

während einer Bypass-Operation in den Randbereich des Infarktareals. AC133 (CD133) ist ein Antigen, welches sowohl auf hämatopoetischen Stammzellen als auch auf epithelialen Progenitorzellen (sowie auf weiteren Zelltypen) exprimiert ist (52). Hierbei konnte eine Verbesserung der Perfusion im Periinfarktbereich, sowie eine Verbesserung der Ejektionsfraktion bei 4 von 6 Patienten beobachtet werden.

Assmus et al. (20) haben sowohl mononukleäre Knochenmarkzellen als auch zirkulierende Progenitorzellen, welche nach drei Tagen unter Zellkulturbedingungen endotheliale Charakteristika aufwiesen, intrakoronar appliziert und hierbei im Vergleich zu einer historischen Kontrollgruppe eine Verbesserung mehrerer kardialer Parameter erreichen können (Ejektionsfraktion, endsystolisches Volumen, Viabilität im Infarktbereich). Für die Präparation der zirkulierenden Progenitorzellen wurden mononukleäre Zellen des peripheren Bluts in Medium mit Serum des Patienten und humanem rekombinantem vaskulärem endotheliale Wachstumsfaktor (VEGF) in Fibronectin-beschichteten Kulturgefäßen für drei Tage in Kultur gehalten. Beide Stammzellpräparationen (Knochenmarkzellen und ex-vivo expandierte endotheliale



Progenitorzellen) führten in gleichem Umfang zu einer Verbesserung der gemessenen Parameter. Alle bisher genannten Studien ver-

gingen die behandelten Patienten mit einer nicht randomisierten Vergleichsgruppe.

Kürzlich wurden randomisierte Studien zur Zelltherapie bei Patienten mit Herzinfarkt veröffentlicht, welche eine konventionell behan-

Klinische Studien: Stammzelltherapien bei Myokardinfarkt / ischämischer Herzerkrankung

Stammzellpräparation	Studien-design	Applikation	Anzahl Probanden	Untersuchte Parameter	Literatur
Mononukleäre Zellen des Knochenmarks	Nicht randomisiert	i. c.	KM n = 10 Kontrolle n = 10	Signifikante Verbesserung der Infarktregion in KM-Gruppe. LVEF und Kontraktionsindex waren nicht signifikant unterschiedlich.	(50)
AC 133 ⁺ Stammzellen	Nicht randomisiert	i. m.	n = 6	Verbesserung der Perfusion im Periinfarktbereich, Verbesserung der LVEF und der LVEDV bei 4 von 6 Patienten.	(51)
1. Mononukleäre Zellen des Knochenmarks 2. Zirkulierende Progenitorzellen (ZPZ)	Randomisiert; Kontrollgruppe („matched“)	i. c.	KM n = 9 ZPZ n = 10	Signifikante Verbesserung von LVEF, Wandbewegungsindex, LVESV, koronare Flussreserve nach 4 Monaten.	(20)
Mononukleäre Zellen des Knochenmarks	Randomisiert	i. c.	Kontrolle n = 30 KM n = 30	Signifikant nach 6 Monaten: LVEF, systolische Wandbewegung an der Infarktgrenze Nicht signifikant: LVESV, LVEDV, systolische Wandbewegung.	(53)
1. G-CSF mobilisierte PBSC 2. G-CSF Mobilisation alleine (10 µg/kgKG)	Randomisiert, 3-armig	In der PBSC-Gruppe: i. c.	Kontrolle n = 1 G-CSF n = 3 PBSC n = 7	PBSC Gruppe: signifikante Verbesserung von LVEF, LVESV; Reduktion der Hypoperfusion; 6 Monate nach Therapie. G-CSF Gruppe: kein signifikanter Unterschied in allen Parametern. Bem.: Abbruch der Studie bei hoher Rate an Restenosen innerhalb von 6 Monaten (Restenoserate: PBSC: 5/7, nur G-CSF: 2/3)	(54)
MSZ	Randomisiert	i. c.	n = 69	Signifikante Verbesserung 3 Monate nach Therapie von LVES, LVED und Perfusionsdefekt	(55)
Mononukleäre Zellen des Knochenmarks	Nicht randomisiert	i. m.	n = 8	Signifikante Verbesserung 3 Monate nach Therapie: Wanddicke, Wandbewegung, Hypoperfusion; Nicht signifikant: LVEF	(59)
Mononukleäre Zellen des Knochenmarks	Nicht randomisiert	i. m.	Kontrolle n = 7 KM n = 14	Signifikante Verbesserung: NYHA-Klasse, LVESV, LVEF; Perfusionsdefekt Nicht signifikant: LVEDV, Laufbandtest	(60)

Erklärungen:

i. c. = intrakoronar i. m. = intramyokardial LVEF = linksventrikuläre Ejektionsfraktion LVESV = linksventrikuläres endsystolisches Volumen
 LVEDV = linksventrikuläres enddiastolisches Volumen KM = Knochenmarkzellen EPZ = endotheliale Progenitorzellen MSZ = mesenchymale Stammzellen
 ZPZ = zirkulierende Progenitorzellen PBSC = periphere Blutstammzellen



delte Gruppe mit einer zelltherapeutisch behandelten Gruppe prospektiv randomisiert verglichen (53-55). In einer dieser Studien erhielten die Patienten in der Behandlungsgruppe (n = 30) mononukleäre Knochenmarkszellen und zeigten nach 6 Monaten im Vergleich zur Kontrollgruppe (n = 30) eine bessere linksventrikuläre Ejektionsfraktion (53). In einer weiteren randomisierten Studie berichten Chen et al. (55) über eine signifikante Verbesserung der linksventrikulären Funktion bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt durch intrakoronare Gabe von autologen MSZ aus dem Knochenmark.

Es gibt Hinweise, dass auch die Mobilisation von hämatopoetischen Stammzellen mittels G-CSF nach einem Myokardinfarkt aus dem Knochenmark ins periphere Blut alleine, d. h. ohne Aufreinigung, Manipulation und intrakoronarer Applikation eine Verbesserung der kardialen Leistungsfähigkeit bewirken könnte. Die Befunde in Tiermodellen zu dieser Frage sind jedoch widersprüchlich (8, 56). Eine entsprechende klinische Studie mit Gabe von G-CSF zur Mobilisierung endogener Stammzellen kann bei geringer Fallzahl nicht im Hinblick auf Effektivität bewertet werden (54). Diese Studie von Kang et al. (54) ist auch die ein-

zige, die über einen negativen Effekt im Sinne einer hohen Restenoserate bei den Patienten mit G-CSF-Gabe berichtet, wobei die Kontrollgruppe für einen statistischen Vergleich zu klein ist (n = 1). Maligne Herzrhythmusstörungen, eine limitierende Nebenwirkung in einer Studie, die mit Myoblasten von Skelettmuskeln arbeitete (57, 58), wurden von keiner der oben genannten Studien berichtet.

Nicht nur im Falle eines vorhergehenden Myokardinfarkts ist eine Verbesserung der kardialen Leistungsfähigkeit durch Zelltherapie berichtet worden, sondern auch bei ischämischen Herzerkrankungen ohne akuten Myokardinfarkt, wobei eine intramyokardiale Applikation mittels eines in den linken Ventrikel vorgeschobenen Katheters mit endständiger Nadel erfolgte (59, 60).

Zusammenfassend berichten alle klinischen Studien über eine Verbesserung der myokardialen Funktion, wobei bisher erst zwei randomisierte Studien veröffentlicht wurden, welche allerdings nicht doppelt-blind durchgeführt wurden. Weitere klinische Studien mit hoher Fallzahl, doppelt-blindem Studiendesign, Auswertung funktioneller und morphologischer Endpunkte und sorgfältiger Untersuchung von

Migration und Ansiedelung der Stammzellen sind erforderlich, um eine endgültige Beurteilung der Effekte der Stammzelltherapie bei myokardialen Erkrankungen vornehmen zu können. Wesentliche Bedeutung für die weitere klinische Praxis werden auch Grundlagenuntersuchungen zu den möglichen Mechanismen eines therapeutischen Effektes der applizierten Stammzellpräparationen haben. Die klinischen Studien berichten über eine Verbesserung kardialer Leistungsparameter bei einer breiten Palette an eingesetzten Stammzellpräparationen und Applikationswegen.

Neben einer Transdifferenzierung von Knochenmarkstammzellen in Kardiomyozyten, welche aufgrund der tierexperimentellen Untersuchungsergebnisse von Murry et al. (2) und Balsam et al. (3) wieder in Frage gestellt wurde, könnten auch parakrine Effekte, Induktion von Gefäßneubildung und Fusionsereignisse zwischen Myokardzellen und Zellen der applizierten Zellpräparationen zu den beobachteten Effekten beitragen.

Migration von Stammzellen im Organismus

Für die weitere Entwicklung der Stammzelltherapie außerhalb der hämatopoetischen Stammzelltransplantation sind detaillierte Informationen zu Migration und Homing, Proliferation und Differenzierung der transplantierten Stammzellen essentiell.

Insbesondere wenn Zellen nicht direkt ins Gewebe injiziert werden, sondern systemisch oder intravasal, z. B. intrakoronar, appliziert werden, ist der Verbleib der Zellen ein wichtiger Teilaspekt. Ein wesentlicher Mechanismus bei systemischer oder auch intraarterieller Applikation stellen Homing und Transmigration im Bereich des Gewebeuntergangs dar. Diese Vorgänge könnten durch die Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen zellspezifisch begünstigt oder auch verhindert werden (61). Auch bei direkter Applikation ins Gewebe können die Zellen migrieren und sich über den ursprünglichen Applikationsort hinaus ausbreiten. Zur Untersuchung der Migration und des „Homing“-Verhaltens von Stammzellen stehen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung, u. a. Gentransfer eines in Stammzellen nicht exprimierten Markergens,

radioaktive Markierung oder – da Herzinfarktareale sich in der Kernspintomographie (MRT) gut darstellen lassen – die Markierung mit Magnetitpartikeln und Detektion der Stammzellen durch MRT (62).

Während bei Tierstudien Zellmarkierungen mit verschiedenen Reportern (Zellmembranfarbstoffe, EGFP, X-Gal-Markierung etc.) möglich sind, ist die Auswahl bei Anwendung am Menschen deutlich eingeschränkter. Eine stabile Integration des Markergens durch z. B. retrovirale Vektoren steht wegen des Risikos einer Insertionsmutagenese (63) für diese diagnostische Anwendung nicht zur Verfügung. Transiente Transfektion ist mit dem Nachteil verbunden, dass die markierten Zellen nur kurze Zeit und nur durch invasive Methoden (Gewebsbiopsien) nachweisbar sind.

Die Markierung der Stammzellen mit Magnetitpartikeln und Detektion mittels Kernspintomographie ist eine vielversprechende Alternative. Sie ermöglicht eine nicht-toxische Markierung der Zellen (Abbildung 6 und 7), die Detektion in einem größeren Gewebevolumen und die nicht-invasive Messung (Abbildung 8) zu wiederholten Zeitpunkten, um die

Kinetik von Migration / Homing darzustellen. Die Kernspintomographie ist zudem für die Darstellung von Gewebedefekten besonders geeignet und liefert im Falle des Herzinfarktes die objektivsten Daten zu kardialen Funktionsparametern und des Infarkt Volumens. Mit eisenhaltigen Nanopartikeln beladene Zellen lassen sich vor allem in

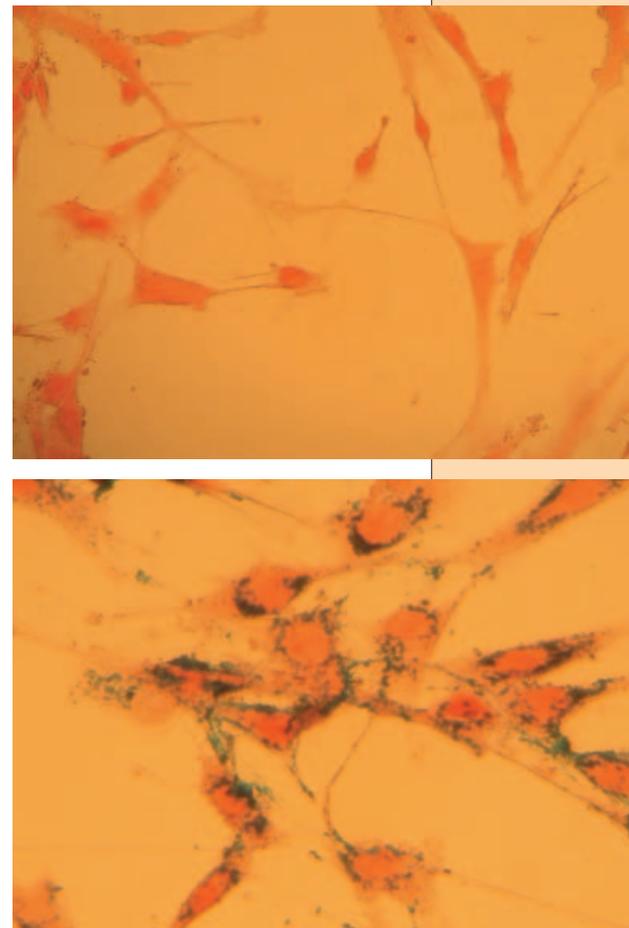


Abbildung 6 ^

Markierung mesenchymaler Stammzellen mit eisenhaltigen MRT-Kontrastmitteln (Resovist®). Oben sind MSZ ohne Exposition zu eisenhaltigen MRT-Kontrastmitteln dargestellt, unten nach 24h Inkubation mit Resovist und Anfärbung mittels Berliner-Blau-Reaktion.

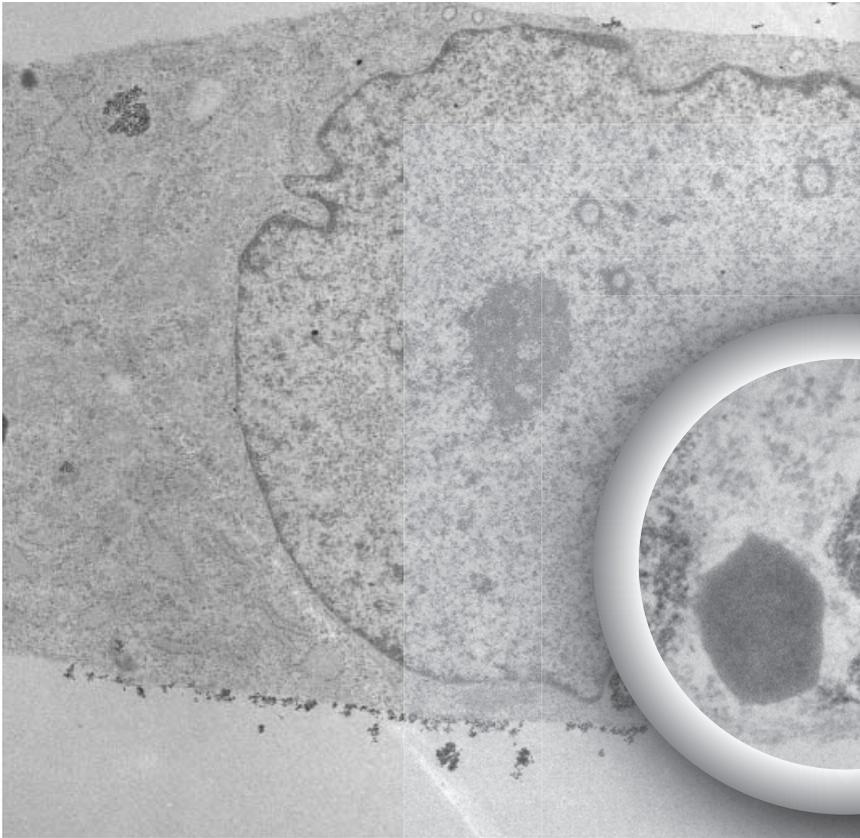

 <

 Abbildung 7

Nachweis der intrazellulären Aufnahme von eisenhaltigen Kontrastmitteln (Resovist®), siehe Abbildung 6) in mesenchymale Stammzellen mittels Transmissionselektronenmikroskopie.

den T2-gewichteten Bildern darstellen (**Abbildung 8**). In Schweinemodellen konnten eisenmarkierte mesenchymale Stammzellen in einem Herzinfarkt bis zu 3 Wochen detektiert und die Ausbreitung dieser Zellen verfolgt werden (**62**). Auch die Migration von neuronalen Stammzellen entlang der betroffenen Bahnen nach zerebraler Ischämie konnte so verfolgt werden (**64**). Spezifische Subfraktionen von Stammzellpräparationen können mit Magnetitpartikeln markiert und in-vivo, nicht invasiv und sequentiell untersucht werden, wodurch die weitere Entwicklung von

Zelltherapeutika wesentlich beschleunigt werden könnte. Sollen die zu verfolgenden Zellen eine Verstärkung im MRT-Signal bei einer signalarmen Umgebung liefern, so können die Zellen mittels gadoliniumhaltiger Kontrastmittel markiert werden (**65**).

Adulte versus embryonale Stammzellen:

Ein Merkmal von ESZ ist ihre Pluripotenz. Im Gegensatz zu adulten Stammzellen lassen sie sich in jedes Gewebe differenzieren. Sie

werden des Weiteren als uneingeschränkt vermehrungsfähig betrachtet. Die ESZ gewinnt man in einem frühen Embryonalstadium zwischen Tag 4 und Tag 7 nach Befruchtung aus dem Inneren der Blastozyste. Von so gewonnenen Zellen konnten mittlerweile mehrere Zelllinien angelegt werden, die sich unbegrenzt vermehren lassen. Jedoch können diese Zellen nicht mehr zu einem ganzen Organismus heranwachsen (Totipotenz). Die Eigenschaft der anscheinend unbegrenzten Vermehrbarkeit und ihre Pluripotenz lassen die ESZ als eine ideale Stammzellresource für die

regenerative Medizin erscheinen. Eine weitere viel versprechende Möglichkeit besteht im („autologen“) Kerntransfer in eine ESZ. Diese Technik erlaubt es die Pluripotenz und das hohe proliferative Potential einer ESZ mit dem Fehlen der Abstoßungsreaktion zu vereinen. Ein wichtiges Problem bei der Transplantation solcher ESZ ist jedoch ihre Tendenz, im Empfänger Teratome zu generieren. Doch selbst wenn man alle stammzellbiologischen Probleme bezüglich ihrer Verwendung als unerschöpfliches Organreservoir lösen sollte, bleibt ihre Anwendung aus ethischen Gründen umstritten. Zudem unterliegt die Verwendung von ESZ in der Bundesrepublik seit dem Jahr 2002 starken gesetzlichen Einschränkungen und

ist nur unter bestimmten Bedingungen erlaubt. Der leichten Verfügbarkeit und moralischen Unbedenklichkeit von adulten Stammzellen steht ihre im Vergleich zu ESZ geringere Differenzierungsfähigkeit und ihre geringere Expandierbarkeit entgegen. Insgesamt sind die Vor- und Nachteile embryonaler und adulter Stammzellen im Hinblick auf einen klinischen Einsatz in der Gewebe- und Organregeneration noch nicht ausreichend exploriert. Unabhängig von der kontroversen ethischen Betrachtung dieser unterschiedlichen Stammzelltypen lässt der aktuelle Erkenntnisstand noch keine definitive Präferenz eines Stammzelltyps zu.

Ausblick

Plastizität, Verfügbarkeit und ihre ethische Unbedenklichkeit machen die adulten Stammzellen berechtigterweise zu einem Hoffnungsträger der regenerativen Medizin. Bis zum Einsatz von adulten Stammzellpräparaten als Routineverfahren bei Gewebeschädigung, wie dies heute bei der hämatopoietischen Stammzelltransplantation der Fall ist, sind noch viele Probleme zu lösen. Die in-vitro demonstrierte Plastizität im Sinne von Transdifferenzierung wurde in letzter Zeit für viele adulte

Stammzelltypen wieder in Frage gestellt. Anwendungen in klinischen Therapiestudien sind bisher sehr limitiert und lassen noch keine endgültige Beurteilung eines klinischen Nutzens zu. Die erforderliche Zellzahl für die klinische Anwendung ist für die meisten Therapieformen noch unklar. Entsprechend kann noch nicht beurteilt werden, ob ausreichende Zellzahlen für den klinischen Einsatz gewonnen werden können. Dies gilt insbesondere für autologe Zelltherapien mit Gewinnung der Zellen bei einem älteren und kranken Menschen. Dagegen besteht für die allogene Transplantation das Problem der immunologischen Unverträglichkeit. Betrachtet man die Erkenntnisse zur Stammzellbiologie in den letzten 5 Jahren darf man jedoch trotz dieses „Caveat“ berechtigte Erwartungen in eine weitere rasche Entwicklung der Zelltherapie setzen. Die Entwicklung, Herstellung und Prüfung neuer Zelltherapeutika wird in den nächsten Jahren eine wichtige Aufgabe der Transfusionsmedizin sein.

T2-gewichtete MRT Untersuchung

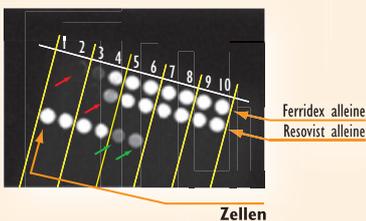


Abbildung 8

Detektion eisenmarkierter Zellen im MRT. Die beiden ersten Reihen zeigen Verdünnungsreihen mit eisenhaltigen Kontrastmitteln alleine (Ferridex® und Resovist®). Die dritte Reihe zeigt MRT-Signale von HeLa-Zellen, welche in semisolidem Medium aufgenommen waren: Spalten 1-4 Kontrollen, Spalte 5 Ferridex-markierte Zellen, Spalte 6 Resovist-markierte Zellen. Die hier eingesetzte Zellzahl von $1,2 \times 10^5/\text{ml}$ führte zu einer deutlichen Signalabschwächung durch die eisenmarkierten Zellen (grüne Pfeile).