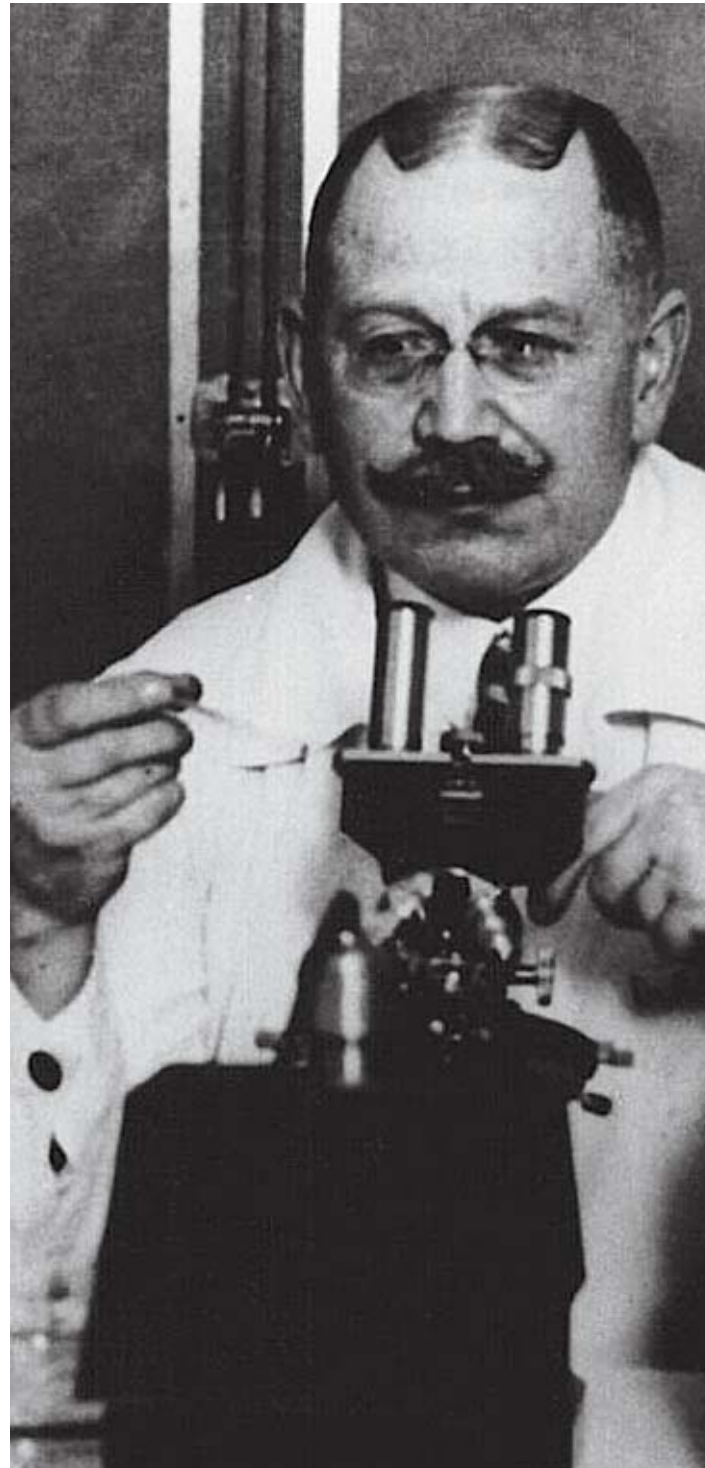


Adulte Stammzellen: Fakten und Visionen

Grundlagenforschung und Therapieansätze

von Hans Martin und Dieter Hoelzer

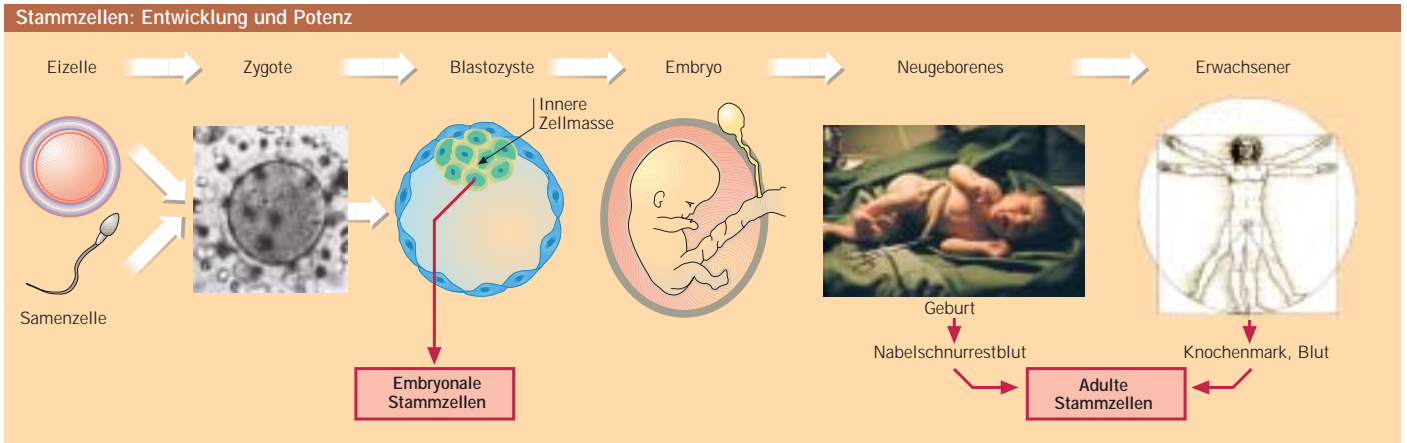
In der gegenwärtigen ethischen Debatte werden adulte Stammzellen als Alternative zu embryonalen Stammzellen »gehandelt«. Die Forschung an adulten Stammzellen und ihre therapeutische Verwendung gilt derzeit als ethisch unproblematisch. Außerdem hegen viele Wissenschaftler und Ärzte die Hoffnung, dass therapeutische Konzepte mit adulten Stammzellen genauso gut oder sogar besser zu verwirklichen sind. In diesem Beitrag werden die Merkmale von adulten Stammzellen, das heißt allen Klassen von Stammzellen, die nicht von Embryonen stammen, vorgestellt. Am besten erforscht und therapeutisch am längsten genutzt sind die blutbildenden oder hämatopoetischen Stammzellen. Deshalb lassen sich die wesentlichen Eigenschaften und die Bedeutung von Stammzellen für den Organismus am Beispiel der Blutbildung sehr gut erläutern.



1 Der russische Forscher Alexander Maximow hat Stammzellen im Jahr 1909 als erster beschrieben.

Die Existenz von Stammzellen wurde erstmals von dem russischen Histopathologen Alexander Maximow postuliert. Ausgehend von scharfsinnigen morphologischen Untersuchungen zur embryonalen Entwicklung des blutbildenden Systems entwarf er ein in den Grundzügen noch heute gültiges Konzept zur Rolle von Stammzellen bei proliferierenden und differenzierenden Zellsystemen. Er publizierte es im Jahr 1909 unter dem Titel

»Der Lymphozyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedenen Blutelemente in der embryonalen Entwicklung und im postfetalen Leben der Säugetiere« 1. Erst Anfang der 1960er Jahre wurden Kultursysteme entwickelt, die es erlaubten, die Bedeutung von Stammzellen in der Physiologie des blutbildenden Systems *in vitro* und tierexperimentell zu erforschen. Ein hierarchisch strukturiertes Differenzierungskonzept der Hä-



2 Herkunft von embryonalen und adulten Stammzellen. Embryonale Stammzellen werden aus der inneren Zellmasse einer Blastozyste gewonnen. Unter adulten Stammzellen versteht man alle Stammzellen, die aus Nabelschnurrestblut, Blut oder Knochenmark eines Neugeborenen, eines Kindes oder eines Erwachsenen gewonnen werden können.

matopoese entstand. Die verschiedenen ausdifferenzierten, aber nicht mehr teilungsfähigen Blutzellen entwickeln sich aus multipotenten Stamm- und Vorläuferzellen, die ihrerseits von pluripotenten Stammzellen abstammen. Für die Proliferation (Teilungsfähigkeit) und Differenzierung von Stammzellen sind eine Reihe von definierten hämatopoetischen Wachstumsfaktoren sowie das umgebende Stroma (nichtblutbildende Zellen) im Knochenmark essentiell, wie weitere Untersuchungen ergaben. Andere Gewebe und Organe mit selbsterneuernden Zellsystemen, die von organspezifischen Stammzellen ausgehen, sind zum Beispiel die Haut, die Schleimhäute und die Muskulatur. Im Gegensatz zu embryonalen Stammzellen leiten sich adulte Stammzellen von einem ausdifferenzierten Organismus her; dazu zählen nicht ausschließlich Erwachsene, wie das Wort »adult« zunächst impliziert, sondern auch Kinder und sogar Neugeborene (Stammzellen aus Nabelschnurrestblut) 2.

Hämatopoetische Stammzellen und Blutbildung

Die reifen Zellen des Blutes sind hochspezialisiert und haben eine begrenzte Lebensdauer von einigen Tagen bis Wochen. Sie müssen ständig in großer Zahl im Knochenmark neu gebildet werden. Dabei beträgt die tägli-

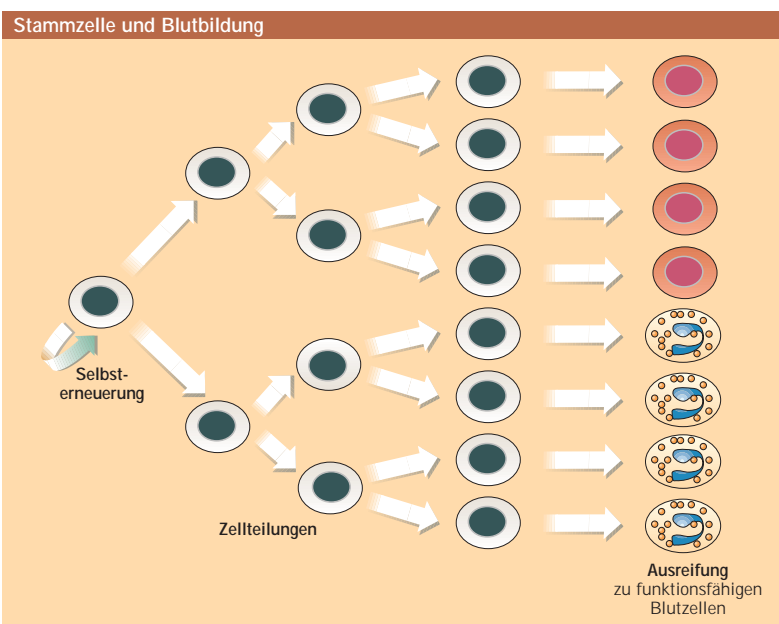
che Produktion bei einem erwachsenen Menschen etwa 200 Milliarden rote Blutkörperchen, 120 Milliarden weiße Blutkörperchen und 150 Milliarden Blutplättchen. Bei den meisten Zellen, die beim mikroskopischen Blick ins Knochenmark zu sehen sind, handelt es sich um unmittelbare Vorstufen von reifen Blutzellen, die selber nur sehr begrenzt oder nicht mehr teilungsfähig sind. »Quelle« der Zelle Neubildung sind die hämatopoetischen Stammzellen.

Nach einer (Hochdosis-)Chemotherapie sterben die meisten blutbildenden Zellen im Knochenmark. Das Knochenmark leert sich; übrig bleiben lediglich einige Bindegewebszellen. Nach ein bis drei Wochen regeneriert sich die Blutbildung vollständig aus den überlebenden hämatopoetischen Stammzellen. Wird die Chemotherapie oder Bestrahlung so intensiviert, dass auch diese zerstört werden, kann sich die Blutbildung im Knochenmark nur durch die Übertragung von hämatopoetischen Stammzellen eines passenden Spenders (Knochenmarkstransplantation) oder eigenen eingefrorenen Stammzellen »erholen«. Während der Regeneration entstehen aus einer übertragenen Zelle mehr als zehn tausend neue blutbildende Zellen.

Eigenschaften von Stammzellen: Selbsterneuerung, Proliferation und Ausreifung

Stammzellen eines Zellerneuerungssystems wie die Hämatopoese besitzen drei wesentliche Eigenschaften 3. Die Fähigkeit zur Selbsterneuerung (Selbstreplikation) bedeutet, dass nach der Teilung einer Stammzelle mindestens eine der beiden Tochterzellen die volle Stammzellpotenz der Mutterzelle behält, während die andere für die nachfolgende Teilung und Ausreifung zur Verfügung steht. Sie stellt sicher, dass sich Stammzellen nicht insgesamt verbrauchen, sondern – gemessen an der Lebenszeit eines Individuums – als unerschöpfliche Quelle für nachfolgende Zellteilungen erhalten bleiben. Die Fähigkeit zur Proliferation bedeutet, dass sich Stammzellen und deren Tochterzellen durch eine Vielzahl von aufeinanderfolgenden Teilungen umfangreich vermehren können. Die Fähigkeit zur Differenzierung stellt si-

3 Charakteristika von Stammzellen am Beispiel der Blutbildung. Die charakteristischen Eigenschaften von Stammzellen sind das Potenzial zur Selbsterneuerung, Proliferation und Differenzierung.



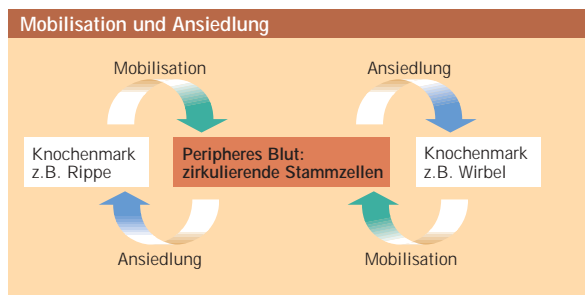
cher, dass Tochterzellen von Stammzellen zu funktionsfähigen Endzellen ausreifen können.

**Stammzellquellen:
Knochenmark und peripheres Blut**

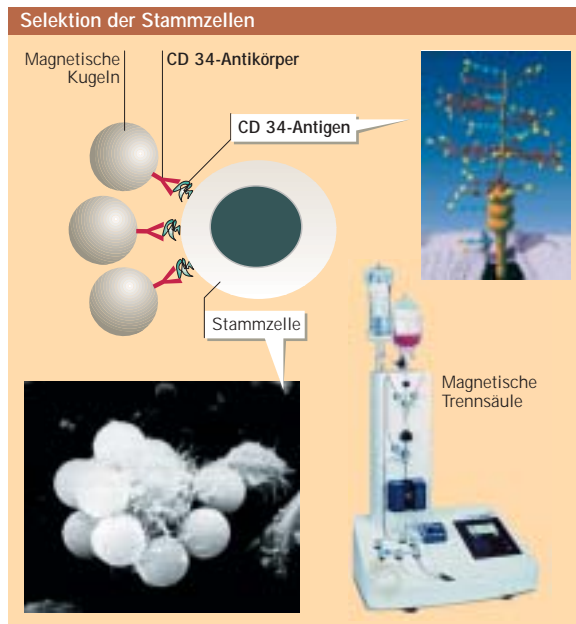
Hämatopoetische Stammzellen finden sich in erster Linie im Knochenmark. Sie können durch Knochenmarkpunktion für diagnostische oder therapeutische Zwecke gewonnen werden. Für eine Knochenmarkstransplantation wird unter Vollnarkose etwa ein Liter einer mit Blut vermischten Knochenmarkszellsuspension entnommen. Die Stammzellen machen dabei weniger als ein Prozent der gewonnenen Zellen aus. Unter natürlichen Bedingungen zirkuliert nur ein sehr kleiner Anteil der Stammzellen im peripheren Blut. Durch die Gabe von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren werden die Stammzellen aus dem Knochenmark ins Blut freigesetzt. Ihre Zahl im Blut erhöht sich dadurch um das Zehn- bis Hundertfache. Diesen Prozess nennt man Stammzell-Mobilisation **4** **5**.

Stammzellen im Nabelschnurrestblut

Die Konzentration von zirkulierenden Stammzellen ist im Blut von Neugeborenen viel höher als bei einem Erwachsenen. Bei jeder Geburt sind nach dem Abnabeln noch etwa 50 bis 100 Milliliter des Neugeborenenblutes in Nabelschnur und Plazenta vorhanden. Dieses Nabelschnurrestblut, das normalerweise verworfen wird, kann durch Auspressen unter sterilen Bedingungen gesammelt und als Stammzelltransplantat eingesetzt werden. Die Zahl der Stammzellen im Nabelschnurrestblut entspricht dem Bedarf eines Kindes, zum Beispiel wenn dessen eigene Stammzellpopulation auf Grund einer Chemotherapie oder einer Erkrankung zerstört ist. Deshalb werden Nabelschnurblutpräparate gesammelt und für Transplantationszwecke in speziellen Nabelschnurzellbanken aufbewahrt (<http://www.ma.uni-heidelberg.de/inst/iti/nsb.html> und <http://www.uni-duesseldorf.de/WWW/MedFak/KMSZ/>). Bisher wurden weltweit etwa 600 Nabelschnurblutpräparate in Patienten mit hämatologischen Erkrankungen transplantiert. In der Regel sind Empfänger und Spender nicht verwandt, sondern auf



4 Hämatopoetische Stammzellen befinden sich überwiegend im Knochenmark. Nur ein sehr kleiner Anteil zirkuliert auch im Blut. Zwischen den einzelnen Knochen werden sie über das zirkulierende Blut ausgetauscht. Durch die Gabe von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren werden Stammzellen aus dem Knochenmark ins Blut freigesetzt. Dadurch erhöht sich ihre Zahl auf das Zehn- bis Hundertfache. Diesen Vorgang nennt man Mobilisation. Umgekehrt finden hämatopoetische Stammzellen aus dem Blut ihren Weg zurück ins Knochenmark. Andere Stammzellen siedeln sich in ihre organspezifischen Umgebung an. Dies bezeichnet man als Homing.



5 Selektion von hämatopoetischen Stammzellen mit Hilfe von CD34-Antikörper und magnetischen Mikrokugeln. Es gibt verschiedene Techniken zur Reinigung von Stammzellen. Bei einer der Methoden wird die Ausprägung eines bestimmten Proteins auf der Oberfläche der Stammzellen ausgenutzt, das so genannte Oberflächen-Antigen CD34. Dieses Antigen wird nur auf Stammzellen und noch teilungsfähigen Progenitorzellen gebildet. Die Aufreinigung erfolgt entweder über einen an magnetische Mikrokugeln gekoppelten CD34-Antikörper oder über magnetische Trennsäulen.

Grund von Gewebemerkmalen (HLA-Antigen) als gut übereinstimmend ausgewählt. Daneben gibt es rein kommerziell organisierte Nabelschnurbanken, die werdenden Eltern anbieten, das Nabelschnurblut ihres Kindes nach der Geburt einzufrieren und für den »Fall der Fälle« aufzubewahren. Für welche »Fälle« ist nicht wirklich klar, da Stammzellen auch in späteren Lebensphasen aus dem Knochenmark oder Blut gewonnen werden könnten. Bei den Erkrankungen, bei denen eine Stammzelltransplantation nötig ist, ist es unter dem Kosten-Nutzen-Aspekt viel günstiger, erst bei Bedarf adulte Stammzellen vom Patienten selbst oder von einem passenden (allogenen) Spender zu gewinnen. Insofern ist das jahrzehntelange Aufbewahren von Nabelschnurrestblut eine reichlich spekulative Investition.

Quo vadis: das Differenzierungspotenzial von hämatopoetischen Stammzellen

Seit den 1960er Jahren ist aus Tierexperimenten bekannt, dass sich aus einer einzigen hämatopoetischen Stammzelle alle Zellreihen der Hämatopoese (Granulozyten, Monozyten und Makrophagen, Erythrozyten, Thrombozyten) und des Immunsystems (T-Lymphozyten und B-Lymphozyten) entwickeln können. Eine solche Stammzelle wird als pluripotente hämatopoetische Stammzelle bezeichnet. Die Tochterzellen von pluripotenten Stammzellen, die den Weg der Proliferation einschlagen, verlieren ihre Entwicklungspotenz wahrscheinlich schrittweise. Sie werden zunächst als determinierte Stammzellen und mit weiterer Einschränkung des Differenzierungspotenzials schließlich als hämatopoetische Progenitorzellen bezeichnet.

Bis vor kurzem glaubte man, dass die Differenzierungspotenz von hämatopoetischen Stammzellen auf Zellen des Blutes und Immunsystems beschränkt sei. In

den letzten Jahren wurde dieses Dogma sowohl durch Tierexperimente als auch durch Untersuchungen an transplantierten Patienten widerlegt. Bei Patienten, die wegen einer hämatologischen Erkrankung mit Knochenmark- oder peripheren Blutstammzellen von einem allogenen Spender transplantiert wurden, sind vom Spender abstammende, ausdifferenzierte Zellen bei sehr genauer Untersuchung auch in anderen Organen als dem blutbildenden System zu finden. Die Herkunft von ausdifferenzierten Zellen kann man anhand der Geschlechtschromosomen nachweisen, wenn sich Spender und Empfänger im Geschlecht unterscheiden. So wurden bei weiblichen Patienten sowohl in Leberzellen als auch in Epithelzellen der Haut und des Darms Y-Chromosomen gefunden, wenn die transplantierten Blutstammzellen von einem männlichen Spender stammten. Im Tierexperiment differenzieren sich Blutstammzellen darüber hinaus zu Herzmuskel- oder Muskelzellen.

Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen

Die Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen ist ein seit Jahrzehnten etabliertes Therapieverfahren bei ausgewählten Patienten, die an einer meist bösartigen Erkrankung des blutbildenden oder lymphatischen Systems leiden (Leukämie, Lymphom, Multiples Myelom). Dabei handelt es sich um eine sehr aufwändige, komplexe und auch nicht ganz ungefährliche Therapie, mit der die Heilungschancen für die genannten Patientengruppen wesentlich verbessert werden konnten. In der Therapie von bösartigen Erkrankungen geht der Transplantation immer eine sehr intensive Chemotherapie und/oder eine Ganzkörperbestrahlung voraus, mit der die Tumorzellen zerstört werden sollen. Die im Körper des Patienten verbliebenen hämatopoetischen Stammzellen gehen durch die intensive zytotoxische Therapie ebenfalls zugrunde und werden anschließend

durch transplantierte Stammzellen ersetzt. Diese können dem Patienten selbst vor der Behandlung vorsorglich aus dem Blut oder Knochenmark entnommen worden sein (autologe Transplantation), von einem HLA-identischen Geschwister (allogene Transplantation) oder von einem nicht verwandten HLA-identischen Fremdsender stammen. Die Stammzelltransplantate werden dem Patienten mit Hilfe eines intravenösen Katheters übertragen. Über den Blutkreislauf finden die Stammzellen ihren Weg ins Knochenmark, siedeln sich dort an und fangen an, sich zu teilen. Die selektive Ansiedelung wird über Adhäsionsmoleküle und Zytokine vermittelt und als »Homing« bezeichnet. Nur in der Knochenmarkmatrix können die hämatopoetischen Stammzellen proliferieren und zu blutbildenden Zellen ausdifferenzieren. Innerhalb von zwei bis drei Wochen vervielfältigen sich die transplantierten Stammzellen etwa zehntausendfach und regenerieren damit eine komplett neue Blutbildung.

In Europa wurden bereits über 120 000 und weltweit rund 250 000 Patienten mit einer Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen behandelt. Seit 1990 führt auch das Klinikum der Johann Wolfgang Goethe-Universität solche Transplantationen durch – an bisher etwa 500 Patienten.

Differenzierungsplastizität von Stammzellen

Transplantierte Knochenmarkszellen oder durch Zytokine mobilisierte hämatopoetische Stamm- und Progenitorzellen können sich zu Muskel-, Herzmuskel-, Leber-, Hirn-, verschiedenen Epithel- oder Endothelzellen entwickeln. Für die Potenz einer organspezifischen Stammzelle, sich je nach Umgebung zu Zellen eines anderen Organsystems zu entwickeln, wurde der Begriff Stammzell-Plastizität geprägt. Den Prozess der Differenzierung in ein anderes Zellsystem bezeichnet man als Transdifferenzierung. Eine elementare Rolle für die Differenzie-

Die Autoren



Prof. Dr. Dieter Hoelzer, 63, (rechts) begann mit seinen Forschungen an normalen und leukämischen hämatopoetischen Stammzellen bei Professor Dr. Theodor M. Fliedner

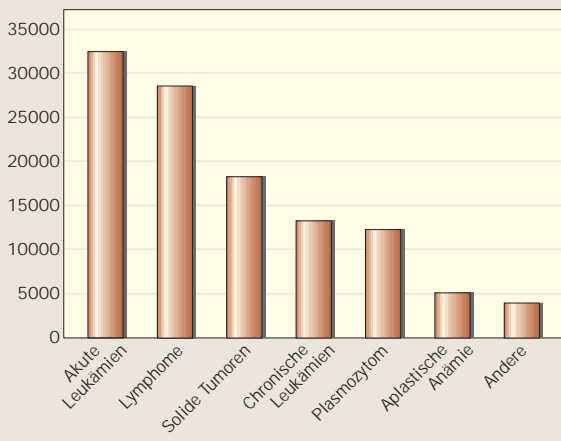
an der Universität Freiburg und führte seine wissenschaftliche Arbeit am Brookhaven National Laboratory und später am Kanematsu Memorial Institute in Sydney fort. Er habilitierte sich 1973 für Klinische Physiologie und 1978 für Innere Medizin. Seit 1984 ist er Direktor der Medizinischen Klinik III am Universitätsklinikum Frankfurt. Sein klinischer Forschungsschwerpunkt ist die Therapie der akuten lymphatischen Leukämie (ALL). Er leitet die deutsche multizentrischen Therapiestudie für die

ALL des Erwachsenen, an der etwa 100 Kliniken teilnehmen. Er wurde mit vielen Preisen ausgezeichnet, darunter dem Johann-Georg-Zimmermann-Preis für Krebsforschung 1997, dem Deutsche Krebshilfe Preis 1998 und dem Excellency Achievement Award 1999. Er hielt Gastprofessuren am Cedars Sinai Medical Center in Los Angeles sowie dem Johns Hopkins Hospital in Baltimore. Zur Zeit ist er Vize-Präsident der European School of Haematology und Präsident der European Haematology Association.

Privatdozent Dr. Hans Martin, 47, studierte Medizin an der Universität Ulm und promovierte dort bei Prof. Dr. Theodor M. Fliedner mit einer Arbeit über die Anreicherung hämatopoetischer Stammzellen aus dem peripheren Blut des Menschen. Von 1983 bis 1985

arbeitete er an der MRC Leukemia Unit der Royal Postgraduate Medical School in London. Von 1985 bis 1989 war er wissenschaftlicher Assistent in der Medizinischen Klinik V der Universität Heidelberg, wo er neben seiner Facharztweiterbildung in der Heidelberger Transplantationsgruppe arbeitete. Im April 1989 wechselte er zu Dieter Hoelzer an die Medizinische Klinik III der Johann Wolfgang Goethe-Universität. Hier baute er die Einheit für Knochenmark- und Stammzelltransplantation auf, die er als Oberarzt leitet. Sein wissenschaftlicher Schwerpunkt ist die Weiterentwicklung von Transplantationsverfahren bei Patienten mit akuten Leukämien. Für seine wissenschaftlichen Arbeiten zu hämatopoetischen Stammzellen wurde er 1984 mit dem Ludolf-Krehl-Preis und 1995 mit dem Fritz-Acker-Preis ausgezeichnet.

Erkrankungen, bei denen Stammzell-Transplantationen in Europa durchgeführt werden.



6 In Europa wurden bereits über 120 000 und weltweit rund 250 000 Patienten mit einer Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen behandelt. Seit 1990 führt auch das Universitätsklinikum Frankfurt solche Transplantationen durch – an bisher etwa 500 Patienten.

Die Stammzellforschung ist in ein aufregendes, neues Zeitalter gestartet. Die neu entdeckte Plastizität von adulten Stammzellen führt in der öffentlichen Wahrnehmung zu der Erwartung, dass hämatopoetische Stammzellen eines Tages für die Gewebezüchtung oder den Organersatz herangezogen werden können, ohne zu ethischen Konflikten zu führen, wie dies bei der Verwendung von embryonalen Stammzellen der Fall wäre. Bei Knochenmark, Blutbildung und Immunsystem ist der Organersatz durch Stammzellen seit Jahrzehnten schon klinische Realität, bei anderen Organen eine bisher nur durch Tierexperimente mehr oder weniger gestützte Vision. Viele grundlegende physiologische Fragen zu den Mechanismen der Transdifferenzierung von adulten Stammzellen sind noch offen. In der Kardiologie ist der Weg zu ersten klinischen Versuchen schon beschritten. Allerdings lässt sich noch nicht abschätzen, wie weit der Weg der Forschung sein wird, bis Patienten in der klinischen Routine davon profitieren.

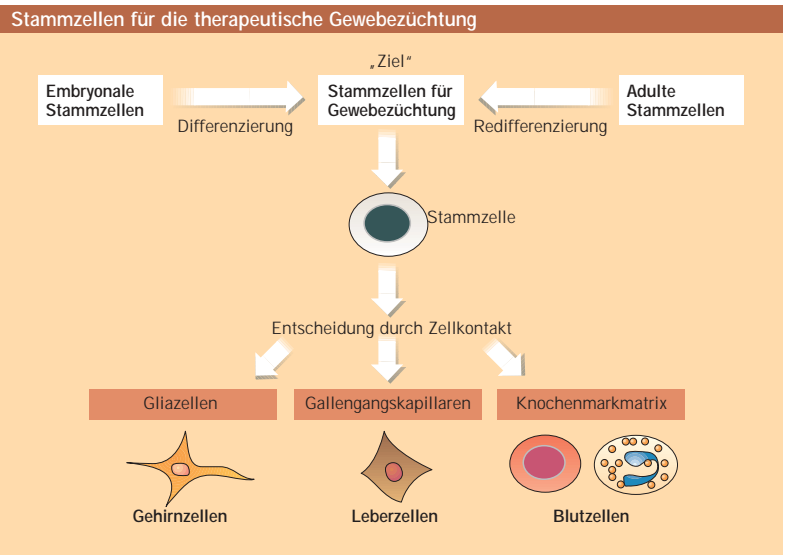
Bei der potenziellen Umsetzung von therapeutischen Visionen haben adulte Stammzellen gegenüber embry-

rung und Transdifferenzierung spielt das jeweils umgebende organspezifische Stroma 7: Im Knochenmark entwickeln sich die hämatopoetischen Stammzellen immer zu blutbildenden Zellen; ihre Transdifferenzierung zu Leberzellen wurde bisher nur in Lebergewebe, aber nicht im Knochenmark oder anderen Geweben beobachtet, die Entwicklung zu Herzmuskelzellen nur im Herzmuskelgewebe.

Interessanterweise entwickeln sich Spenderstammzellen in einem Tiermodell mit einem künstlich erzeugten Herzinfarkt fast ausschließlich im Infarktbereich zu Herzmuskelzellen und nicht im intakten Herzmuskelgewebe. Bislang ist die Wechselwirkung zwischen Stroma und Differenzierung für die Hämatopoese am besten erforscht. Für bestimmte Regulationsschritte ist ein direkter Zellkontakt der Stammzellen zu umgebenden Stromazellen erforderlich. Andererseits sind eine ganze Reihe von stimulierenden oder hemmenden Zytokinen beziehungsweise hämatopoetischen Wachstumsfaktoren bekannt, die in einem komplexen Regulationsnetzwerk zusammenwirken. Über das Netzwerk von Faktoren, die zur Transdifferenzierung von hämatopoetischen Stammzellen in nicht-hämatopoetischem Gewebe führt, ist nur wenig bekannt. Sie wird durch jüngste Befunde allerdings immer mehr untermauert. Umgekehrt werden Berichte mehr und mehr angezweifelt, wonach sich nicht-hämatopoetische Stammzellen zu blutbildenden Zellen entwickeln können.

Beginn eines neuen Zeitalters

In den letzten zwei bis drei Jahren haben sich überraschende Ansätze zur therapeutischen Anwendung von Stammzellen in anderen Organen als der Hämatopoese entwickelt, die sich zuvor noch niemand so vorstellen konnte. Insgesamt befinden sich alle Therapieansätze in einer frühen Phase. Am weitesten fortgeschritten in Tiermodellen und in ersten klinischen Versuchen ist die Entwicklung von Vorläuferzellen und Stammzellen zu Endothel- und Herzmuskelzellen (siehe Beitrag »Stammzellen in der Kardiologie« von Stefanie Dimmeler und Andreas Zeiher, Seite 51).



7 Stammzellen und die Bedeutung des Stromas für die therapeutische Gewebezüchtung. Stammzellen können sich je nach Umgebung in unterschiedliche Richtungen entwickeln. Eine elementare Rolle spielt das organspezifische Stroma. Im Knochenmark entwickeln sich die hämatopoetischen Stammzellen immer zu blutbildenden Zellen, während sie im Stroma von anderen Organen zum Beispiel zu Leber- oder Muskelzellen differenzieren können.

nalen Stammzellen neben dem ethischen Aspekt noch zwei weitere Vorteile. Zum einen können sie in relativ großer Zahl aus Knochenmark und peripherem Blut gesammelt werden, während embryonale Stammzellen jeweils nur in sehr begrenzter Zahl zu gewinnen wären. Für die »Züchtung« zu einem ganzen Organ – die vollständige Hämatopoese besteht zum Beispiel aus rund 10^{11} bis 10^{12} Zellen – könnte dies einen entscheidenden Zeitvorteil bedeuten.

Der zweite Vorteil liegt im Überwinden von immunologischen Barrieren. Deswegen sollte sowohl die Grundlagenforschung als auch die angewandte Forschung an adulten Stammzellen gefördert und die Entwicklung der nächsten Jahre kritisch und gespannt verfolgt werden. ◆