

1. Teil: Herzstammzellen und Therapie von Herzerkrankungen

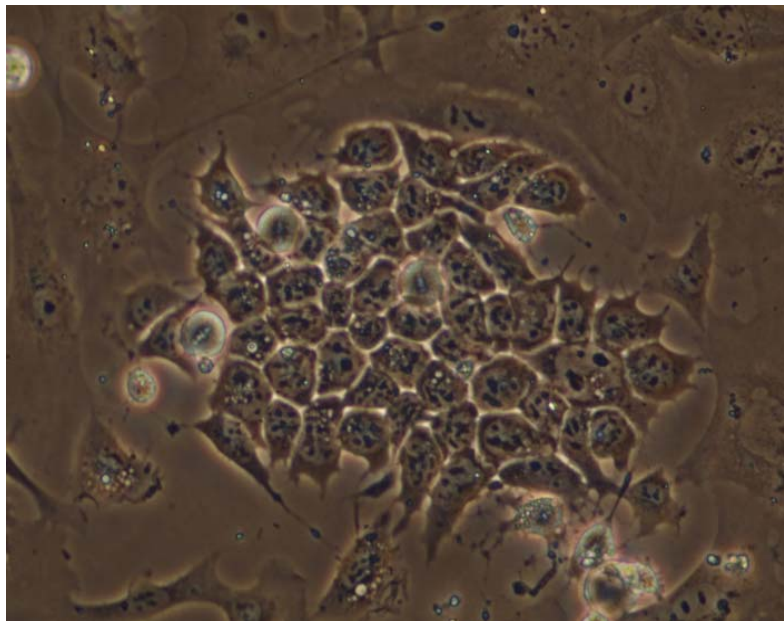
1. Grundlagen der Stammzellbiologie

1.1. Was ist eine Stammzelle?

Morphologie:

Undifferenzierte selbsterneuernde embryonale Stammzellen der Maus

(Klon W4 auf SNL76/7 Fibroblasten)



©31.3.2016 GW

Zu sehen sind ca. 65 ESCs, 1 Metaphase, 2 Anaphasen, 2 apoptotische Zellen, ca. 6 auswandernd-differenzierende Zellen. Die ESCs wachsen auf mitotisch inaktivierten Fibroblasten, die die Funktion der Nische teilweise übernehmen.

Wir werden im folgendem nun die 5 Eigenschaften von Stammzellen betrachten, die diese von somatischen Zellen (allen anderen Zelltypen) unterscheiden.

Hypothese 1:

Eine Stammzelle hat in geeigneter Umgebung die unbegrenzte und gleichbleibende Möglichkeit sich selbst und somatische Zellen hervorzubringen.

Eine Stammzelle hat in geeigneter Umgebung die unbegrenzte und gleichbleibende Möglichkeit sich selbst und somatische Zellen hervorzubringen.

1.1.1. Was heißt das „sich selbst“? → Begriff: Selbsterneuerung

Stammzellen haben die unbegrenzte Fähigkeit zur Selbsterneuerung. = Zellteilung:

Diese Selbsterneuerung kann durch symmetrische oder asymmetrische Zellteilung gewährleistet werden.

Bei der symmetrischen Zellteilung haben beide Tochterzellen die identischen Eigenschaften wie ihre Mutterzelle.

Bei der asymmetrischen Zellteilung behält eine Tochterzelle die identischen Eigenschaften, wie ihre Mutterzelle, die andere Tochterzelle entwickelt sich zu einer Vorläuferzelle oder eine somatischen Zelle.

Eine Vorläuferzelle ist ein Zwischenstadium in Laufe eines Entwicklungsprozesses.

Z.B.: bei neuronalen Stammzellen, sogenannten NSCs in der Sub-ventrikulär Zone des Hirns: horizontal – symmetrische Zellteilung \leftrightarrow vertikal-asymmetrische Teilung zu einer Vorläuferzelle, neural progenitor cells (NPCs) und einer basal verweilenden Stammzelle.

Antwort 1.1.1.

Diese erste Eigenschaft der Stammzellen wird **Selbsterneuerungsfähigkeit** (self-renewal (SR) potential) genannt.

In Parenthese:

*Die Eigenschaft **der Selbsterneuerungsfähigkeit** unterscheidet Stammzellen von somatischen Zellen, die sich, wenn überhaupt nur sehr begrenzt teilen können.*

Ad Hypothese 1:

Eine Stammzelle hat in geeigneter Umgebung die unbegrenzte und gleichbleibende Möglichkeit sich selbst und somatische Zellen hervorzubringen.

1.1.2. Was heißt hier „geeignete Umgebung“? → Begriff dafür: Nische

Geeignete Umgebung = Nische (in vivo)

Nische (in vivo) = Umwelt = Nachbarzellen + humorale Faktoren

Stammzellen benötigen in vivo und in vitro zelluläre und humorale Nischenkomponenten, um ihre Eigenschaften erhalten zu können.

Daraus ergibt sich auch: → Stammzellen sind also nicht autonom!

Ausnahme: mESCs können unter geeigneten Kulturbedingungen ex vivo ihre eigenen Nischenzellen bilden. – und auch mit ausschließlich humoralen Faktoren im Zustand der Selbsterneuerung gehalten werden. → N2B27 Medium +2i+LIF

Beobachtung:

In einer geeigneten Umgebung kann sich eine Stammzelle unbegrenzt teilen oder auch ohne Teilung am Leben bleiben.

Was heißt ohne Teilung am Leben zu bleiben?

Stammzellen haben die Fähigkeit in einen **Ruhezustand** über zu gehen; *Alternative Bezeichnungen:* Dormancy oder Hybernation.

z.B.: Diapause bei der Embryonalentwicklung des Rehs

Hypothese 2: Nischen ermöglichen den Ruhezustand.

Antwort 1.1.2.

Die geeignete Umgebung ist die Nische der Stammzellen, die es auch erlaubt, dass Stammzellen in einem Ruhezustand übergehen und verweilen können.

Die zweite Eigenschaft ist ihr Bedarf an einer **Nische** und die dritte Eigenschaft von Stammzellen ist ihr Vermögen in einem temporären **Ruhezustand** überzugehen.

Ad Hypothese 1:

Eine Stammzelle hat in geeigneter Umgebung die unbegrenzte und gleichbleibende Möglichkeit sich selbst und somatische Zellen hervorzubringen.

1.1.3. Was heißt das „somatisch“?

→ *Oder anders formuliert:* Was ist eine somatische Zelle?

Definition: Somatische Zellen sind alle **Körperzellen**, außer den männlichen und weiblichen Keimbahnzellen (Gameten: ♂ ≠ ♀!) - und eben den Stammzellen im Soma (*griechisch = Körper*).

Die ersten, seit ca. 1950 bekannte Stammzellen: Knochenmarksstammzellen [BMSCs].

Körperzellen sind „post-mitotische“ oder **begrenz teilungsfähige** Zellen die eine bestimmte und unveränderliche Funktion in einem Gewebe erfüllen. Diese Zellen weisen ein starres, unveränderliches Expressionsmuster der Gene auf.

„post-mitotische“ Zellen = teilungsunfähige Zellen

Nur bedingt gültig; es gibt Situationen, in denen sie mitotisch reaktiviert werden können.

Somatische Zellen unterliegen den Hayflick Limit und können in der Regel ihre Eigenschaften / Funktion nicht verändern.

Hayflick Limit = Begrenzte Anzahl der Teilungen in vitro. _ *Danach werden die Zellen seneszent oder sterben.*

(Hayflick, 1965 kontra Alexis Carrel, 1912); senescere = „alt werden, altern“

Ausnahme zu „eine bestimmte und unveränderliche Funktion“:

- Myofibroblasten → Phänomen der **Plastizität und Transdifferenzierung** von somatischen Zellen! (*siehe auch epigenetisches Gedächtnis der iPSCs*)

Somatische Zellen entstehen aus Vorläuferzellen oder Stammzellen.

(T) Stammzellen (SCs) → Transient amplifying cells (TAC) → Vorläuferzellen oder Progenitor Cells (PCs) → x-blast → X-cyte

X = z.B.: Cardio-cyt, Hepato-cyt ; aber Myo-blast und Fibro-blast weil noch plastisch.

Antwort 1.1.3.

Somatische Zellen sind nicht veränderbare und nicht unbegrenzt teilungsfähige Zellen mit festgelegter Funktion, die durch Differenzierung aus Vorläuferzellen und Stammzellen entstehen.

Ad Hypothese 1:

Eine Stammzelle hat die unbegrenzte und gleichbleibende Möglichkeit sich selbst und somatische Zellen hervorzubringen.

1.1.4. Was heißt hier „unbegrenzt und gleichbleibend“?

Die Selbsterneuerungsfähigkeit impliziert, dass in vivo Stammzellen unverändert („gleichbleibend“) während des Lebens eines Organismus bestehen bleiben.

In Parenthese: Das heißt nicht, dass Stammzellen unsterblich sind!

Die Selbsterneuerungsfähigkeit ist die Grundlage dafür, dass Stammzelllinien aus Organen isoliert, und in vitro unbegrenzt kultiviert werden können.

1.1.4.1. Was ist eine Stammzelllinie?

Antwort 1.1.4.1.

Aus einer Zelle gewonnene stabile klonale Zellpopulation mit identischen Eigenschaften.

Oder

Eine Stammzelllinie ist eine klonale Zellpopulation deren Genotyp und Phänotyp unter geeigneten Nischenbedingungen gleich bleibt.

1.1.4.2. Was heißt klonal?

Klonal = von einer Zelle abstammend oder negativ formuliert: „keine Population nicht-identer Zellen“

Klonalität /Clonality = unbegrenzt phenotypisch **gleich bleibend**

Stammzellen müssen **Klonalität** aufweisen ~ d.h. über alle Generationen phänotypisch und genotypisch stabil sein.

Voraussetzung:

In vitro müssen die geeigneten Nischenbedingungen nachgestellt werden, um eine Stammzelllinie etablieren und erhalten zu können.

Antwort 1.1.4.2

Eine klonale Zellpopulation (Stammzelllinie) stammt von einer Zelle ab und alle Tochterzellen haben gleichen Genotyp und Phänotyp* wie diese Mutterzelle.

** Unaufgelöster Widerspruch: Ident und doch extreme Fluktuationen in der Genexpression innerhalb eines Klons → VO ESF-I: Lösungsvorschlag von Austin Smith: mESC in N2B27+2i+LIF fluktuieren (fast) nicht mehr. → Fluktuation im Genexpressionsmuster ist ein Zeichen dafür, dass noch nicht die optimalen in vitro Nischenbedingungen gefunden wurden.*

Antwort 1.1.4.

„Unbegrenzt und gleichbleibend“ heißt, dass Stammzellen die Eigenschaft der Klonalität haben.

Die vierte Eigenschaft von Stammzellen ist ihre **Identität** oder **Klonalität** (das Gleichbleiben ihrer Eigenschaften) und ihre **genotypische und phänotypische Stabilität**.

Ad Hypothese 1:

Eine Stammzelle hat in geeigneter Umgebung die unbegrenzte und gleichbleibende Möglichkeit sich selbst und somatische Zellen hervorzubringen.

1.1.5. Was heißt hervorbringen?

Das heißt:

Aus Stammzellen entstehen somatische Zellen durch Zelldifferenzierung.

Dieses Potenzial, sich zu entwickeln, unterscheidet die verschiedenen Stammzellarten. – oder - Verschieden Stammzellarten haben unterschiedliche Potentiale (Potenz / engl. Potency) somatischen Zellen hervorzubringen.

Abstufungen der Potenz von Stammzellen:

Zygote und 2-8 Blastomere → sind autogen im Muttertier, gesamter Organismus + Teile der Plazenta werden gebildet.

ICM (~ mESC) → bilden den Embryo + extraembryonale Zellen; alle Zellen eines Organismus + Teile der Plazenta; kommen nur im Blastozysten vor (=Nische) und Uterus. In Parenthese: bilden auch Teratokarzinomzellen.

Epiblast / (primitive Ektoderm (~hESC) → bilden den Embryo bzw. alle Zelltypen des Körpers. ←→(Hypoblast = „Eihäute“) → *Tafelbild E4,5 Blastozyst*

Keimbahnzellen → bilden nur Oozyten bzw. Spermien

Somatische Stammzellen → bilden nur Zellen des entsprechenden Organs, wenn in geeigneter Umgebung (Nische) vorhanden.

Antwort 1.1.5.

Die fünfte Eigenschaft von Stammzellen ist ihr **Entwicklungspotential** / (differentiation potential).

(Grammatikalisch falsch auch Differenzierungspotenzial bezeichnet. Es können nur Objekte differenziert werden, ein Subjekt kann das nicht an sich selbst vollziehen.)

Resumée zu [Frage 1.1. Was ist eine Stammzelle?](#)

Antwort 1.1.

Eine Stammzelle hat in geeigneter Umgebung das unbegrenzte Potenzial zur phänotypisch stabilen Selbsterneuerung, zum Ruhen, und zur Hervorbringung von somatischen Zellen.

Das Anfangsstatement, die Hypothese lautete:

Eine Stammzelle hat in geeigneter Umgebung die unbegrenzte Möglichkeit sich selbst und somatische Zellen hervorzubringen.

Alternative Antwort:

Die **Attribute der Stammzellen** sind:

- | | |
|-----------------------|--------------------------------------------------------------------------------|
| 1. selbsterneuernd; | unbegrenzte Zellteilung |
| 2. umweltabhängig; | Abhängigkeit von einer Nische |
| 3. ruhefähig; | Befähigung zu Ruhen |
| 4. klonal; | ident, geno- und phänotypisch stabil [$SC_1 \equiv SC_2, \dots \equiv SC_n$] |
| 5. entwicklungsfähig; | definiertes Entwicklungspotenzial |

Diese soeben festgestellten Charakteristika von Stammzellen und somatischen Zellen werden durch die drei Phänomene **Plastizität**, **Transdifferenzierung** und **stochastische Genexpression** von und in Zellen aufgeweicht.

Siehe auch →

<https://www.nih.gov/about-nih/what-we-do/nih-turning-discovery-into-health/stem-cells>,
<https://stemcells.nih.gov/info/basics/1.htm> und <http://www.eurostemcell.org/de/glossar>

1.1.6. Wie beweise ich, dass eine Zelle eine Stammzelle ist?

oder

Welche Experimente erlauben es mir, die vorgestellten Hypothesen zu belegen oder zu widerlegen?

Attribute 1 und 2 bedingen sich gegenseitig:

Selbsterneuernd (unbegrenzte Zellteilung) und umweltabhängig (Abhängigkeit von einer Nische)

1. Durch Definition geeigneter in vitro Kulturbedingungen (Nischen) und Langzeitkulturen.
2. Durch die Charakterisierung von Nischen und das Auffinden von Stammzellen in adulten Lebewesen in vivo.

Attribut 3:

Ruhefähig (Befähigung zu Ruhen)

1. Phänomen: Diapause der Blastozysten beim Reh.
2. Diapause bei Mäusen experimentell induzierbar.
3. Mittel pulse-chase Experimente: in vivo BrdU-labeling und Auffinden von BrdU-positiven Stammzellen in Nischen. Problem: kein sicherer Nachweis von Stammzellen möglich.

Attribut 4:

klonal (ident, geno- und phänotypisch stabil)

1. Durch Langzeitkulturen, gefolgt von laufen durchgeführten genotypisch und phenotypischer Charakterisierung (z.B.: RNA-Seq, RT-qPCR von einzelnen Zellen, Testen von Atribut 5 in Zellpopulationen)

Attribut 5:

entwicklungsfähig (definiertes Entwicklungspotenzial)

1. Durch Herstellung transgener Mäuse
 2. Entwicklung von Teratomen in Mäusen
 3. In vitro Differenzierungsexperimente. (siehe ESF-I, Embryoid bodies und Organoide)
-
-

1.2. Was ist eine adulte Stammzelle?

Häufig auch als **somatische** Stammzelle bezeichnet.

Die Bezeichnung ist eigentlich ein Widerspruch: Soma \neq Stammzelle

deshalb adulte Stammzelle, weil im adulten Organismus vorkommend oder wenn schon somatisch dann: „ sich im Soma aufhaltende“ oder „im Soma befindliche“ Stammzelle.

Hier: somatische (= im Soma vorkommende, nicht aber Soma seiend!)

Weitere Umschreibungen:

- Eine Stammzelle, die in einem adulten Organismus in einem aus somatischen Zellen gebildeten Gewebe gefunden wird.
- Eine Stammzelle, die von somatischen Zellen umgeben ist.
- Ein Zelle, die zur Homöostase des Gewebes /Organs beiträgt.

1.2.1. Wo befinden sich somatische Stammzellen im adulten Organismus?

Adulte Stammzellen (aSCs) residieren in geeigneter Umgebung, in Nischen, die aus somatischen Zellen gebildet werden.

Wie diese aSCs dort hinkommen ist noch vollkommen ungeklärt. Sie könnten,

1. schon seit der embryonalen Entstehung des Organs sich dort befinden,
2. nachträglich in dieses Organ eingewandert sein (z.B.: Hämatopoetische extra-embryonale Zellen und Vorläufer der Keimzellen wandern entlang der Allantois in den Mäuseembryo zur Leber bzw. zur aorta-gonad-mesonephros (AGM) Region), oder
3. im adulten Organismus aus somatischen Zellen durch De-Differenzierung entstanden sein. Letzteres ist sehr unwahrscheinlich, wir können dies jedoch wegen des Transdifferenzierungsphänomens nicht ausschließen.

Antwort 1.2.1.

Somatische Stammzellen befinden sich in Gewebe-Nischen der **Organen**.

1.2.2. Haben alle Organe somatische Stammzellen?

Beispiele:

Innenseite der Röhrenknochen (~1950)	BMCSs / HSCs	Anthony Ho
Subventrikulärzone des Großhirns (1989)	NSCs	Sally Temple
Grübchen zwischen den Darmzotten	Gut SCs	Hans Clevers
Haarwurzeln in der Haut (1989)	Skin SCs	Fional Watt
Zellen seitlich der Skelettmuskelfasern	Satellitenzellen	Helen Blau
Perizentrale Leberstammzellen (2015)*	LSCs	Roel Nusse
Augenlinse (2016) Lens epithelial stem cells (LECs)		Yizhi Liu
„Interstitial space“ im Herzen (1998)	CSCs	Piero Anverso

(Lange Zeit glaubte man, dass die Leber keine Stammzellen habe, weil alle Zellen vermehrungsfähig sind → Sage vom Prometheus)

Antwort 1.2.2.

Man hat bis jetzt in allen Organen, wo man gesucht hat, auch somatische Stammzellen gefunden.

→ *Wenn nun alle Organe somatische Stammzellen haben, haben diese auch organ-spezifische Eigenschaften?*

1.2.3. Was sind die Eigenschaften von somatischen Stammzellen?

In vivo:

Sie können bis ins hohe Alter in den Organen gefunden werden → Sie haben ein **Selbsterneuerungspotential** und sind **klonal**.

Sie **ruhen** in Nischen. → Sie bilden im Normalfall keine Tumore.

Es ist auch evident, dass somatische Stammzellen zur Erneuerung der Haut, der Darmes und kleinen Teilen des Gehirns beitragen. → Sie haben ein **Differenzierungspotenzial** und dieses ist **umweltabhängig**.

In vitro:

Die Nischenbedingungen sind entscheidend für ihre Kultivierbarkeit und entscheiden über ihre Möglichkeit zu differenzieren. z.B.:

NSC → Neurosphären enthalten Neuronen und verschiedene Glia Zellen.

CSC → Cardiosphären enthalten Kardiomyozyten, Endothel- und glatte Muskelzellen.

→ Das Entwicklungspotential adulter Stammzellen ist auf wenige Zelltypen des Organs, wo sie residieren beschränkt. m.a.W. Ihr Selbsterneuerungs- und Entwicklungspotential ist stark eingeschränkt.

Ausnahmen:

Adipose tissue-derived stem cells (ADSC) und Mesenchymal stem cells (MSCs) können dazu gebracht werden sich zu CMCs etc. zu entwickeln. (→?)

→ Das Phänomen der artifiziellen Plastizität oder Transdifferenzierbarkeit ist wahrscheinlich unter suboptimalen Nischenbedingungen bei allen somatischen Stammzellarten zu beobachten. (siehe auch iPSCs und induced somatic cells)

Antwort 1.2.3.

Somatische Stammzellen haben Organ- / Gewebe-spezifische Eigenschaften.

Zusammenfassende Antwort 1.2.

Somatische Stammzellen befinden sich in Nischen der Organe adulter Tiere und haben alle, wenn auch quantitativ unterscheidbare Attribute der embryonalen Stammzellen. m.a.W. Sie haben ein stark gedämpftes Selbsterneuerungs- und ein stark eingeschränktes Entwicklungspotenzial.

oder

Zygote, Blastomere, ESCs und Stammzellen der Invertebraten* haben „größeres“ Potenziale als adulte Stammzellen.

* Hydra sp., Ciona intestinalis und Chaenorhabditis elegans