

4. Doppelstunde 15.11.2021

ESF-I/10 WS2023/24

Wiederholung der 3. Doppelstunde

3.2.6. Verbindung der Signalübertragungswege... in Bezug auf die Regulierung von Core-Stemness TFs

- LIF –LIFR/gp130-JAK-STAT-cMyc / **Klf4 – Oct4 / Esrrb** Achse
- FGF/ FGFR - Ras Raf MEK **ERK Nanog** Achse
- Tgf β / Activin / Nodal / BMP - ALK /ActR-I/II– **Smad – Nanog – Brachyury** Achse
- Wnt - LRP6 - Freezed - GSK3a,b – β -Catenin- Tcf3- Tfc211-**Sall4 –Sox2** Achse
- IGF2/Insulin - IGF2R/InsulinR – PI3K – AKT – **Tbx3 – Nanog** Achse

Nanog , the Gatekeeper of pluripotency

Esrrb, ESRRB estrogen related receptor beta

3.2.8. Unterschiede zwischen murinen und humanen embryonalen Stammzellen

mESCs benötigen:

LIF + **STAT3**

Bmp2/4 + Smads

hESC benötigen:

FGF2 (MEK) + **STAT3**TGF β / Activin / Nodal, + SmadsNoggin (a Bmp and TGF β antagonist),

gemeinsam:

Wnt + **β -Catenin**

Insulin + AKT

Wnt + **β -Catenin**

Insulin + AKT

Warum dieser Unterschied?

Vielleicht, weil zwei verschiedene Spezies, die entwicklungsgeschichtlich zu weit weg sind?

Oder sind ESC überhaupt, durch die Isolierungsmethode bedingte Artefakte?

Allerdings haben doch alle Stammzellen die gleichen „stemness“ Transkriptionsfaktor Gene als Ziel-Gene dieser Signalübertragungswege.

Könnten der Grund in vielleicht unterschiedlichen Entwicklungsstadien liegen. →

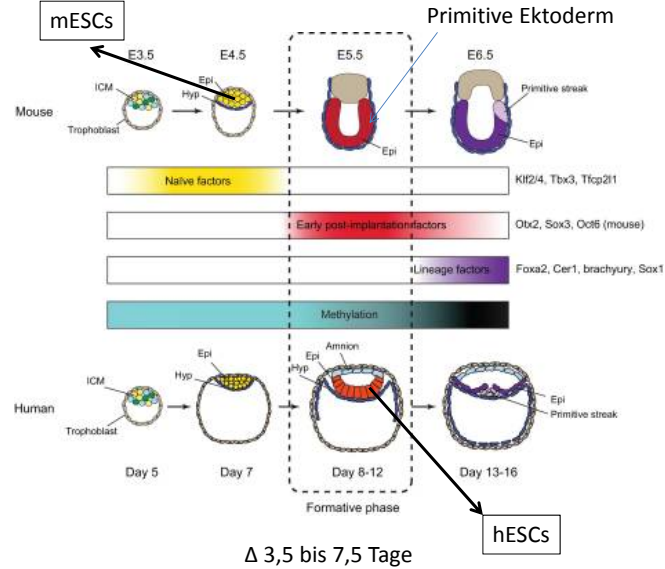
AKT, Proteinkinase B

Georg Weitzer

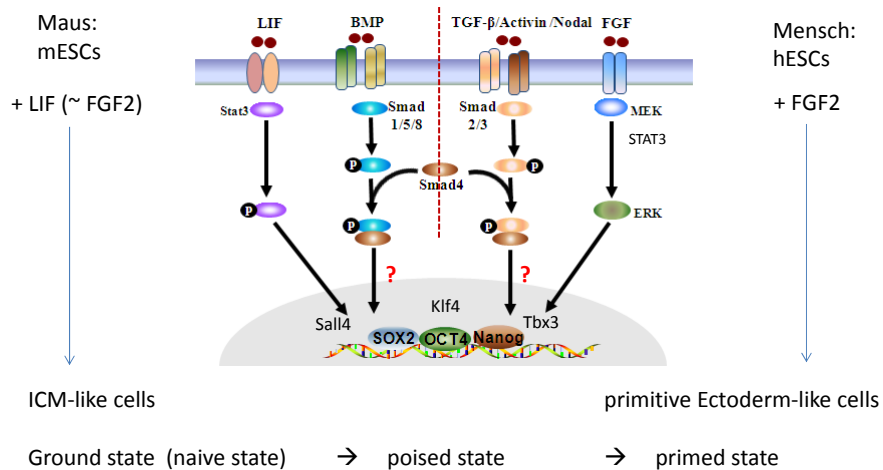


2

3.2.8. Unterschiedliche Entwicklungsstadien zwischen murinen und humanen embryonalen Stammzellen



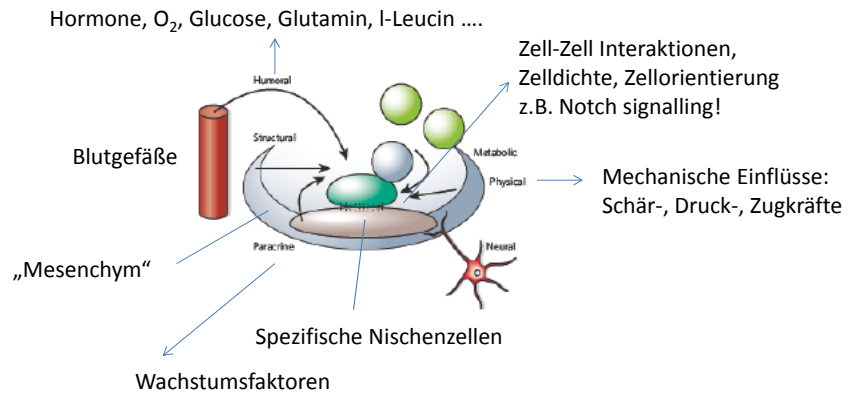
Zusammenfassung der Unterschiede zwischen mESCs und hESCs



3.3. Stammzellnischen

oder

Welche Umweltbedingungen erlaube das überleben von Stammzellen?



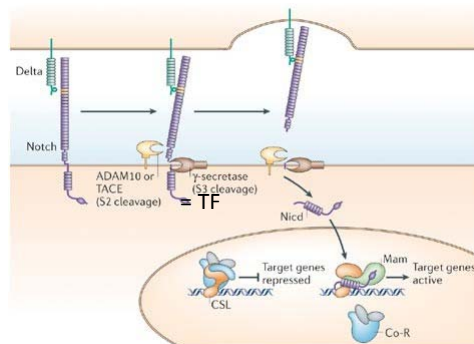
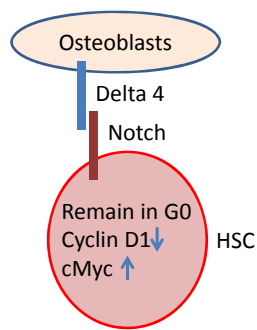
The stem-cell niche as an entity of action

David T. Scadden *Nature* volume 441, pages 1075–1079 (2006)

Georg Weitzer

Haematopoietic stem cell niche

Ad Notch signaling and cell-cell interaction in the niche



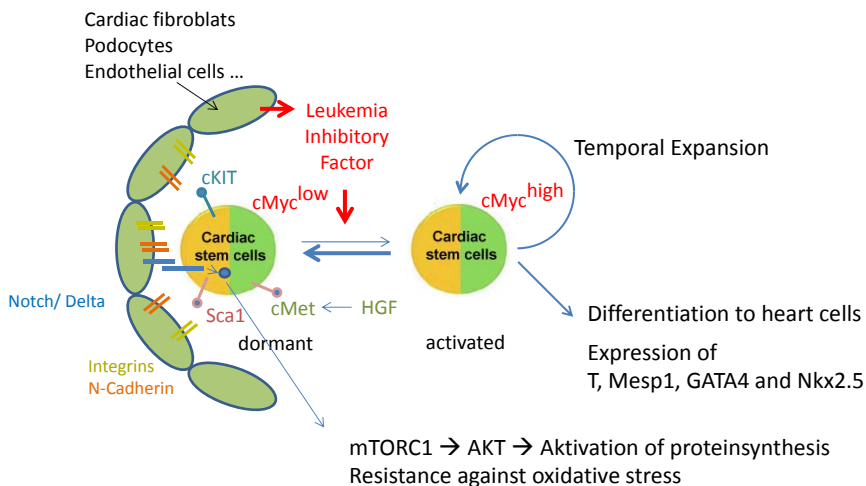
Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

→ Transcriptional activation /repression

Siehe auch
Yu and Scadden, 2016

Georg Weitzer

The still hypothetical cardiac stem cell niche

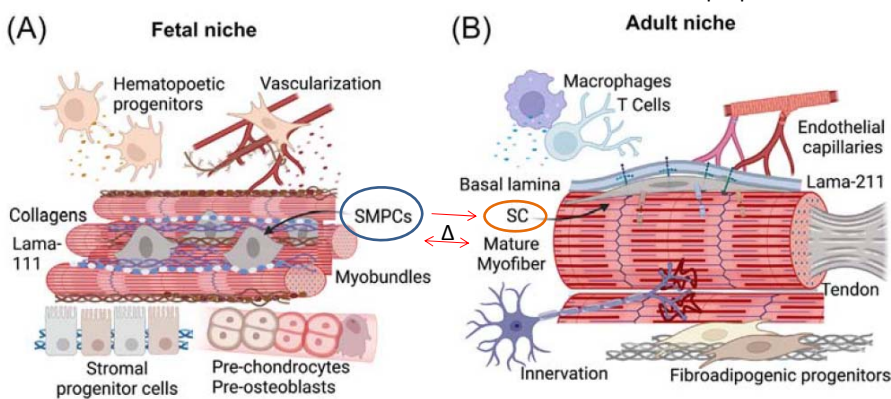


Department für Medizinische Biochemie

Georg Weitzer

7

Skeletal muscle stem cell niche: It is the environment which defines the properties of SCs!



Trends in Cell Biology

Figure 1. The emerging fetal and adult skeletal muscle niche. Shown is an example of differences between (A) fetal skeletal muscle precursor/progenitor cells (SMPCs) at the beginning of secondary myogenesis and (B) adult skeletal muscle satellite cells (SCs) within their niche and microenvironment [26]. Multiple SMPCs in the emerging niche illustrate increased number or set point. SMPCs adhere to clusters of small secondary myofibers termed 'myobundles', and SCs reside at the periphery of large adult myofibers with a laminin-rich basal lamina. In contrast, SMPCs produce high levels of extracellular matrix proteins and are in direct contact with multiple nonmyogenic cell types that are unique from the adult niche.

Michael R. Hicks¹ and Anril D. Pyle
Trends in Cell Biology, February 2023, Vol. 33, No. 2 <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2022.07.003>
Published by Elsevier Ltd. This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Georg Weitzer



8

Table 1. Supportive cell types in the emerging niche.^a

Cell populations in the emerging niche	Markers
Fetal myofibers	MYH8, ACTC1, spectrin
Prechondrocyte	SOX5, SOX6, SOX9
Preosteoblast	SHOX2
Limb mesenchyme	DUSP6
Tendon precursors	SOX9, TNMD, SCX
Dermal fibroblasts	TWIST2, KRT19
Stromal cells	CD73, PDGFR α
Neural crest	SOX10, Wnt1
Schwann cells	CDH19
Vascular and endothelial cells	ESAM, AP
Macrophages	SRGN, AIF1

Adult Satellite Cells
 Contacts only Myofibrilles and the Basal Lamina

^aAbbreviations: BMP, bone morphogenetic protein; ECM, extracellular matrix; SMPC, skeletal muscle precursor/progenitor cell.

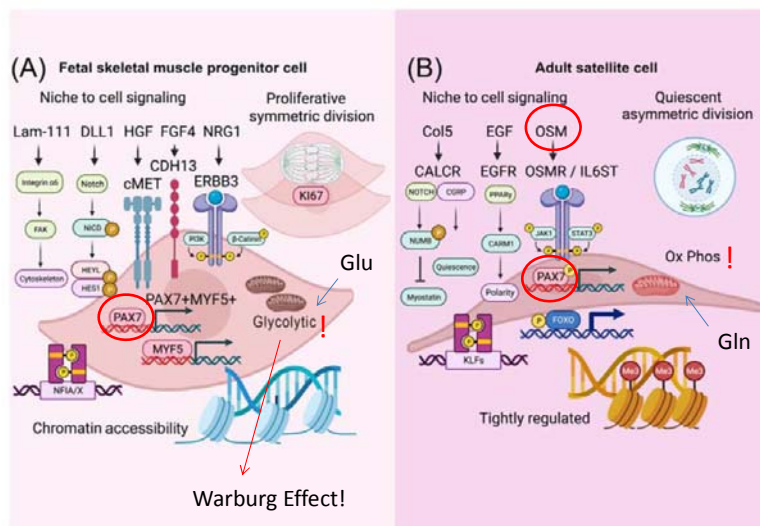


Figure 2. Intrinsic differences in skeletal muscle precursor/progenitor cells (SMPCs) and satellite cells (SCs). Cartoon depicts key differences in niche-derived signaling pathways identified between (A) SMPCs and (B) SCs. These ligands and receptors present on stem cells, or their niche cells, may influence cell behavior that includes proliferation, maturation, and quiescence.

Ein Plädoyer für Interdisziplinarität!

4. **Entstehung der Stammzellforschung** - Historischer Überblick

4.1. Welche Befunde und Überlegungen führten zur Entdeckung der Stammzellen?

4.2. Welche Arten von Stammzellen gibt es?

Die Geschichte der Stammzellenforschung ist eng verbunden mit der Geschichte der **Embryonenforschung**.

Und

Inter-disziplinäre Forschung war entscheidend für deren Erfolge.

4.1. Welche Befunden und Überlegungen führten zur Entdeckung der Stammzellen?

4.1.1. **Anatomie und Gynäkologie** → **Cancer stem cells**

Ende 19 Jhdt. ca. 1890 Beschreibung von Stammzelltumoren in den Gonaden als embryonen-ähnliche Körperchen, s.g. „Embryoid bodies“ durch

[Heinrich W.G. von Waldeyer-Hartz](#) 1836–1921, Anatom und
[Hans H.J. Pfannenstiel](#) 1862-1909, Gynäkologe.

ca. 1930 Terato-Carcinoma Cells (TCCs) von embryonalen Keimbahnstammzellen ausgehend

1972 **Embyonia Carcinoma Cells** (ECCs) erste Zelllinien. [Gail Martin](#) und [Martin Evans](#);
F9 Zellen benötigen STO Fibroblasten (fbs)

1997 [Dominique Bonnet](#) und [John Dick](#) Cancer stem cells (CSCs) als Hypothese bei allen Krebsarten;
bis heute nicht beweisbar, weil nicht isolierbar.

Ankündigung von 7. Oktober 2017

Prostatakarzinomstammzellen, [Tarik Regad](#); Nottingham, 2017
Lungenkarzinomzelllinie, [Yasunori Okada](#); Tokyo , 2017
Eierstockkarzinom (?) [Virginia Tirino](#); Neapel , 2017
Osteosarcoma Cancer Stem Cell Line, [Maria Luisa Brandi](#), 2016
Pancreatic Cancer Stem Cell Line, [Kenichiro Hasumi](#), 2016
Lung cancer stem cell line BKZ1 , [Morris Beshay](#), 2019

bis 2023 nix
bis 2023 nix
bis 2023 nix
bis 2023 nix
bis 2023 nix
Apr 27. 2021; Cells10(5):1024. doi: 10.3390/cells10051024.

4.1.2. Hämatologie: **Blutstammzellen (HSCs)** und Knochenmarks-transplantationen

- 1956 1. Blut Transplantation zur Heilung von speziellen Formen der Leukämie; **Edward Donnell Thomas**, USA; **1990 Nobelpreis**
- Seit ca. 1960 Allogene Transplantation bei Zwillinge und Geschwister erfolgreich
- 1968 Erste allogene Knochenmarkstranplantration von fremden Spender
- ~1990 Entdeckung der Nabelschnurblut-Stammzellen → Entstehung der Stammzellbanken
- ~2001 Hämatopoetische- und mesenchymale Stammzellen des Knochenmarks (autolog gewonnen durch Stammzellapherese) für die Therapie des Herzinfarktes, bis heute nicht erfolgreich.
- 2007 Erste Behandlung von Leukämie des Kindes mit autologen Nabelschnurblutzellen.
- 2023 HSC erstmals ex vivo für **30 Tage als selbst-erneuernde Stammzellen erhalten** publiziert. (Sakurai et al., 2023; Nature, 615)

4.1.3. Biologische Embryonenforschung als Vorarbeiten für die humane IVF

- 1939 1. Explantation von Hasen Blastozysten
- 1958 Induzierte Teratocarcinomas durch ektopische Blastozysten Implnation durch **Roy Stevens** und **Barry Pierce**
- 1951 - 1960 Klonen des Frosches; **John Gurdon**; Beweis das die gesamte Erbinformation während der Entwicklung eines Organismus erhalten bleibt. **Nobelpreis 2012**
- 1965 Erste Experimente mit der Inneren Zellmasse (ICM) der Maus, Implantationsversuche
- 1967 Erste **Präimplantationsdiagnostik (PID)** am Hasen; **Robert Edwards** and **David Gardner**

4.1.4. Reproduktionsmedizin / In vitro Fertilisation (IVF)

- (1960 – 1978) Vergebliche Versuche der In vitro Fertilisation und Einnistung beim Menschen
- 1978 England 1. Baby: Louise Brown, nach IVF geboren; **Robert Edwards** und **Patrick Steptoe 2010 Nobelpreis**
- 1982 in Österreich 1. erfolgreiche IVF nach **680** Fehlversuchen **Wilfried Feichtinger**
Heute Erfolgsrate ca. 16-25% der Einnistungsversuche. Aber nur 3,5% der Zygoten werden auch ein Mensch!
- 1990 Erste Präimplantations-Diagnostik (PID) Houston, Texas; [N. Engl. J Med. 1992, 327, 905-909.]
- Ab 2005 Präimplantations-Diagnostik in Österreich: <http://www.wunschbaby.at>

Georg Weitzer



15

4.1.5. Embryonale Stammzellforschung ... unter Einbeziehung der Ergebnisse der Embryonenforschung

- 1981 Maus 1. Embryonale Stammzelllinie (mESCs); **Martin Evans** und **Matthew Kaufman**
benötigen STO Fibroblasten und Leukämie Inhibitions Faktor (LIF)
- 1984 Erste Transgene Maus mit Stammzellengenom. **Allan Bradley** → Reverse Genetics;
2007 Nobelpreis für Physiologie und Medizin: Transgene Maus; **Mario Capecchi**, **Oliver Smithies**, **Martin Evans Knock-out (KO) Mäuse**
- 1995 ESCs des Rhesus Affen (1. Primat); **James A. Thomson**
- 1998 hESCs des Menschen; **James A. Thomson**
- 2004 ESC des Hundes
- 2013 nt-hESC aus geklonten menschlichen Blastozysten, **Shukrat Mitalipov**
→ Mitochondrial-replacement therapy

Georg Weitzer



16

4.1.6. Stammzelltherapie

- ab 1968 Transplantation von Hämatopoetische Stammzellen-enthaltende Zellpopulationen
- ab 2001 Autologe Knochenmarkzellmischungen zur Linderung des Herzinfarktes
> 1000 Versuche alleine in Deutschland: LVEF+3.5% = keine Verbesserung, ca.2015 abgebrochen.
- ab 2009 Oligodendrozyten aus hESCs für die Heilung des Rückenmarks nach Querschnittlähmung Geron, USA; 2011 kommentarlos abgebrochen
<http://www.geron.com/> (12.10.2011) und → 10.10.2017 „Cancer therapy company“
- ab 2011 Retinazellen aus hESCs gegen Maculadegeneration, 2017 alle 3 Opfer vollkommen erblindet (FL, USA) - Von FDA alles eingestellt. Siehe Therapie der Stargardt Erkrankung <http://www.advancedcell.com/> (12.10.2011) → www.Advancell.com (10.10.2017). → 15.11.2023 nur mehr Radiotherapeutikaentwicklung
- ab 2014 Retinazellen aus hiPSCs, Tokyo, bis 2023, kein Erfolg!
- ab 2014 Mesenchymale Stammzellen aus dem Knochenmark für die Kniescheibenregeneration
2023 erste publizierte Erfolge mit sehr geringen Patientenzahlen

Georg Weitzer



17

4.1.7. Somatic cell nuclear transfer (SCNT) = Klonen

- 1981 Somatic cell nuclear transfer (SCNT) bei der Maus durch [Karl Illmensee](#); Genf (war nicht reproduzierbar)
- 1996/7 1. Schaf; Dolly [Ian Wilmut](#) aber: [Keith Campbell](#); Roslin Institute, Edinburgh, Scotland (Dolly lebte nur 7 Jahre, Lebenserwartung bei Schafen 12 Jahre)
- 1998: 8 Kühe, [Yukio Tsunoda](#), Nara Japan
- 1997-1998 1. Maus; Cumulina; [R. Yanagimachi](#), Hawaii, USA (1991 aus Blastomerenkerne)
- 2000 1. Schwein [H. S. Campbell](#), UK Effizienz < 5%
- 2001-2002 1. Katze, CC (Carbon copy), College Station Texas
- 2004 /5 Erste humane Klone bis zum Blastozystenstadium [Hwang Woo-suk](#), Südkorea
(Sehr wahrscheinlich Betrug, aber Partenogenese dürfte erstmals bei menschlichen Eiern ex vivo funktioniert haben.)
- 2013 1. Somatic cell nuclear transfer (SCNT) beim Menschen (Kerne aus Kinderzellen)
[Shoukhrat Mitalipov](#) Oregon, USA Effizienz < 1%
- 2014 Erstmals erfolgreich ein SCNT mit humanen Zellkernen von Erwachsenen von [Dieter Egli](#), NY und bestätigt durch [Dong Ryul Lee](#), Südkorea
- 2014 [Robert Lanza](#) reproduktives Klonen von Menschen (nicht erfolgreich) Advanced Cell Technology (ACT) near Boston
- 2015 mntESCs werden wegen fremder Mitochondrien abgestossen; [Sonja Schrepfer](#); Hamburg
- 2017 Nachweis, dass SCNT mit Zelltherapie kombinierbar ist. Mensch (Diabetiker) nt-hESC → diabetische Maus + nt-hESC → nicht mehr Insulinpflichtig von [Dieter Egli](#) → STOPPED
- 2023 **Entwicklung geht derzeit in Richtung Mitochondrienersatztherapie**

Georg Weitzer



18

4.1.8. Induzierte pluripotente Stammzellen (iPSCs)

- 2006 iPSCs [Shin'ya Yamanaka](#) und [Rudolf Jänisch](#), ... ESC-ähnliche Stammzellen aus Fibroblasten, Magenzellen, Fettzellen, etc. mit Oct4, Sox2, Klf4 und c-Myc transfiziert. Effizienz bis heute! < 0,1%. **Nobelpreis 2012.**
- ab 2007 laufender Ersatz einzelner Transkriptionsfaktoren durch kleine synthetische Moleküle die verschiedenste Signalübertragungswege inhibieren und epigenetische Modifikationen der DNA rückgängig machen. Z.B. RepSox für Sox2
- 2013 Pure chemical induced pluripotent stem cells (ciPSCs); [Hongkui Deng](#), Peking
- 2015 Naive iPSCs erlauben die Herstellung von Mäusen durch Tetraploidaggregation
- 6/ 2011 Selbst isogene hiPSCs haben deutlich unterschiedliche Eigenschaften (S. Yamanaka)
- 10/2021 hiPSCs haben im Vergleich zu hESCs deutliche quantitative Unterschiede im Proteom
- Derzeit hauptsächlich zur Erforschung **polygenetisch bedingter Erkrankungen** verwendet.

Georg Weitzer



19

4.1.9. Somatische (adulte) Stammzellen

- 1956 Blutbildende Stammzellen HSCs
- 1998 Hirnstammzellen; [Sally Temple](#)
- 1998 Herzstammzellen; [Piero Anversa](#), Boston
- 2000 Stammzellen in den Gonaden der Fruchtfliege
- 2006 Darmstammzellen, [Hans Clevers](#), Utrecht
- Ab dann, laufend Stammzellen in, Haarwurzeln, Fett, Milchdrüse, Augenlinsen, ... Aufgefunden.
- 2015 Leber
- Heute „überall“ auffindbar, aber derzeit keine Stammzelllinien (weil Nischen nicht bekannt)
- 2013 **Herzstammzelllinien** aus Mäusen (Höbaus et al., 2013),
- aber leider von anderen Labors nie reproduziert.
- 2023 HSC erstmals ex vivo für **30 Tage als selbst-erneuernde Stammzellen erhalten** publiziert. (Sakurai et al., 2023; Nature, 615)

Georg Weitzer



20

4.1.10. Entwicklungsdauer der Methoden die zur Etablierung von Stammzelllinien führten

1876	ECCs		1970	
Entdeckung	94 Jahre		Erste Zelllinie	
	1961	SCNT	2013	
	Frosch	52 Jahre	Mensch	
	1932	ICM	1981	ESCs
	Hase	49 J.	Maus	17 J.
			Mensch	1998
		1989*	iPSCs	2006
			17 J.	
		1996	NT-ESCs	2013
		Maus	17 J.	Mensch
		1998	Heart SCs	2013
			15 J.	
			2006 iPSCs → ciPSCs	2013

* Harold Weintraub 10T1/2 + MyoD = Myoblasts



21

Georg Weitzer

4.2. Klassifikation der Stammzellen und Stammzelllinien

- Embryonale Stammzellen ESCs
 - Primäre Keimbahnzellen PGCs
 - Embryonale Keimzellen EGCs
 - Embryonale Teratokarzinomzellen ETCs
 - Somatische Stammzellen SSCs
 - Kardiovaskuläre Vorläuferzellen CVPCs
 - Adipose tissue derived SCs ADSCs
 - Knochenmarkstammzellen HSCs
 - Hämatopoetische Stammzellen HSCs
 - Mesenchymale Stammzellen MSCs
 - Induzierte pluripotente Stammzellen iPSCs
 - Chemisch induzierte Stammzellen ciPSCs
 - Geklonte embryonale Stammzellen ntESCs
 - Krebsstammzellen CSCs
- Präfix m, murine (mouse); h, human, r, rat, i, induced



22

Georg Weitzer