

Gesunde und leukämische Stammzellen

Projektleiter

Dr. Oliver Christ

Klinikum der Universität
München – Großhadern
Medizinische Klinik und
Poliklinik III

Das blutbildende System des Menschen hat eine enorme Leistungs- und Regenerationsfähigkeit. Aus den hämatopoetischen (also blutbildenden) Stammzellen entstehen die reifen Zellen des Blutes, die die Sauerstoffversorgung der Organe, die Abwehr von Infektionen, die Blutgerinnung und viele andere lebenswichtige Funktionen sicherstellen. Erkrankt ein Mensch an einer Leukämie, bedeutet dies eine Fehlfunktion der blutbildenden Stammzellen. Ihr Wachstum und ihre Reifung verlaufen nicht mehr geregelt, sondern entziehen sich der normalen Steuerung und führen zum Versagen der normalen Blutbildung. Eine Arbeitsgruppe an der Medizinischen Klinik III der Universität München – Campus Großhadern (Leitung: Prof. Dr. W. Hiddemann) untersucht in diesem von der Stiftung geförderten Projekt, ob man gesunde und kranke Stammzellen mit einem speziellen Messverfahren voneinander unterscheiden kann.



Diese Unterscheidung hat nicht nur eine theoretische, sondern auch eine direkte praktische Bedeutung, denn die Transplantation der gesunden blutbildenden Stammzellen ist in der Klinik heute ein Routineverfahren. Für viele Leukämiepatienten stellt diese Methode die einzige Aussicht auf eine dauerhafte Remission oder sogar eine Heilung ihrer Erkrankung dar. Dabei wird das erkrankte blutbildende System (und damit auch die erkrankten Stammzellen) mit einer hoch dosierten Chemo- und/oder Strahlentherapie vernichtet und durch gesunde Blutstammzellen wieder neu aufgebaut. Diese gesunden Stammzellen können von einem Fremdspender, von einem Familienspender, in manchen Fällen aber auch vom Patienten selbst stammen. Bis vor wenigen Jahren wurde das Gewebe für die Transplantation verwendet, welches bekanntermaßen die meisten Blutstammzellen enthält – das Knochenmark. In-

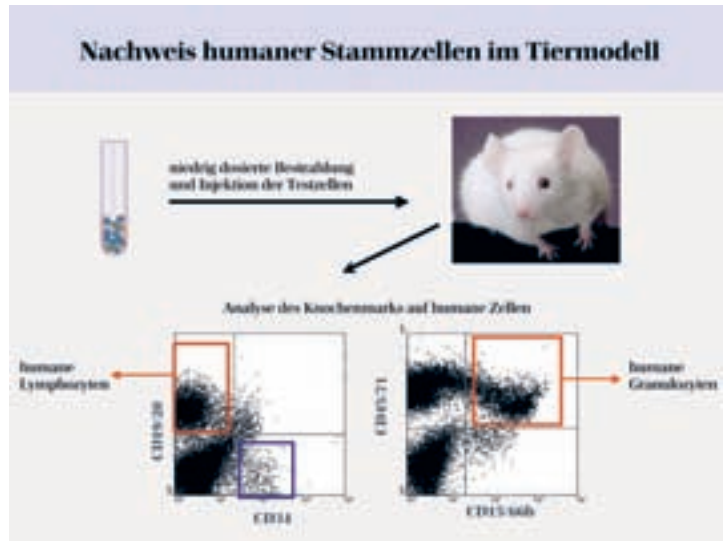


Abbildung 1: Nachweis humaner Stammzellen im Tiermodell: Schematische Darstellung des NOD/SCID-Transplantations-Assays, dem Standardverfahren zum Nachweis humaner hämatopoetischer Stammzellen. Hierbei werden einem Empfänger Tierzellen intravenös injiziert. Nach einer mehrwöchigen Beobachtungsphase lassen sich im positiven Falle (d. h. die Testzellen enthielten Stammzellen) mittels Durchflusszytometrie reife menschliche Blutzellen (Granulozyten und Lymphozyten, dargestellt sind Beispielplots eines Durchflusszytogramms) nachweisen.

zwischen kann mit moderneren Verfahren – schonend für den Spender – eine für die Transplantation ausreichende Menge an Stammzellen auch aus dem Blut isoliert werden.

Blutstammzellen haben jedoch eine Eigenschaft, die Klinikern und Wissenschaftlern die Arbeit erschwert: sie sind extrem selten und sehr gut versteckt. Nur eine von einhunderttausend Zellen im Knochenmark ist eine Stammzelle. Mit den üblichen mikroskopischen oder immunologischen Verfahren, die auf der Anfärbbarkeit und der Messung von Oberflächenproteinen beruhen, lassen sich Stammzellen lediglich anreichern, jedoch nicht eindeutig identifizieren.

Eine andere Eigenschaft der blutbildenden Stammzellen ist ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber Zellgiften (Zytostatika), die in der medikamentösen Tumorbehandlung eingesetzt werden. An dieser Widerstandsfähigkeit sind verschiedene »Entgifter« beteiligt: biologische Systeme, die Zellgifte entweder neutralisieren oder aus der Zelle hinauspumpen. Vor einigen Jahren wurde eine Messmethode eingeführt, mit der eines dieser neutralisierenden Enzyme, die Aldehyddehydrogenase (ALDH) mit einem einfachen Färbeverfahren nachgewiesen werden kann. Dr. Oliver Christ von der Münchener Arbeitsgruppe hat erste Ergebnisse mit diesem Verfahren bereits 2007 in dem

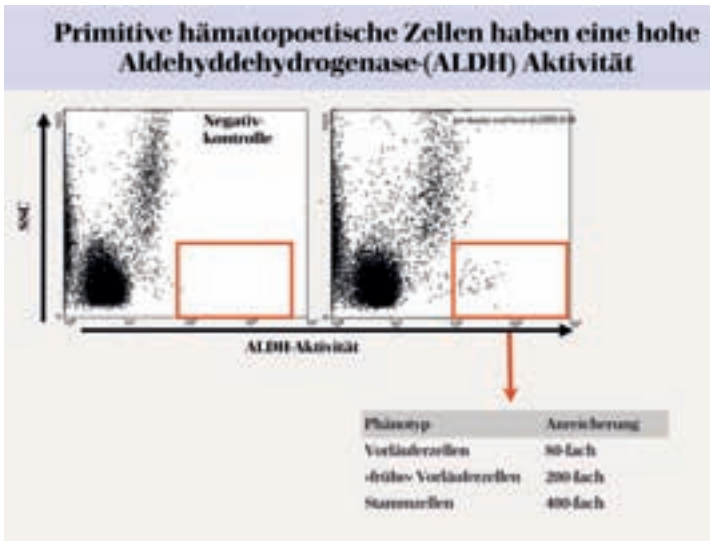


Abbildung 2: Primitive hämatopoetische Zellen haben eine hohe ALDH-Aktivität. Die beiden Plots zeigen beispielhaft eine kleine Population von Zellen mit hoher ALDH-Aktivität (rechter Plot, roter Kasten). Der linke Plot zeigt die Negativkontrolle. Untersucht man die kleine (ALDH-positive) Population im Tr ansplantationsassay (s. Abb. 1), so findet man im Vergleich urGe samtpopulation einen vielfach höheren Anteil an Stamm- und Vorläuferzellen.

renommierten Fachjournal »Haematologica« veröffentlicht. Hier wurde gezeigt, dass die ALDH in Blutstammzellen tatsächlich in hoher Aktivität nachzuweisen ist. Weiter differenzierte Zellen, also Vorläufer- und schließlich reife Blutzellen, scheinen auf die Aktivität der ALDH nicht mehr angewiesen zu sein.

Bei einer Leukämie-Erkrankung geht die normale Steuerung von Wachstum und Entwicklung des blutbildenden Systems verloren; dennoch bleiben dem gesunden und dem leukämischen System viele Gemeinsamkeiten. Auch Leukämien haben gewissermaßen einen hierarchischen Aufbau, an dessen Spitze die leukämische Stammzelle steht und die Neubildung des erkrankten blutbildenden Systems unterhält.

Im aktuellen Projekt wird nun untersucht, ob die Weiterentwicklung der Stammzelle, sei es zur gesunden reifen oder zur kranken leukämischen Blutzelle, mit messbaren Änderungen in der Aktivität der ALDH einhergeht.

Im gesunden blutbildenden System erwies sich die Korrelation zwischen ALDH-Aktivität und Reifegrad als recht einfach: je höher die Potenz zur Regeneration bzw. zur Produktion reifer Blutzellen, desto höher ist die ALDH-Aktivität. Ebenso wie in gesunden Blut- bzw. Knochenmarkpräparaten fanden sich auch in leukämischen Proben Zellen mit hoher ALDH-Aktivität. Diese Zellen

wurden isoliert und auf verschiedene biologische Eigenschaften untersucht. Hierbei fanden sich interessante Parallelen zwischen normaler und erkrankter Blutbildung: Zellen mit hoher ALDH-Aktivität weisen hinsichtlich ihres Profils an Oberflächenproteinen besonders primitive Eigenschaften auf. Außerdem sind sie in der Lage, in der Zellkultur wesentlich mehr »Nachkommen« (also ausgereifte Blutzellen) zu produzieren als Zellen, die weniger oder keine ALDH-Aktivität haben. Es ist also durchaus vorstellbar, dass auch die leukämische Stammzelle eine hohe ALDH-Aktivität hat und sich so identifizieren lässt.

Um diese Stammzellaktivität zu messen, sind die Forscher jedoch auf ein aufwändiges tierexperimentelles Verfahren angewiesen. Hierbei werden menschliche Blut- oder Knochenmarkszellen in Mäusen, die einen Immundefekt aufweisen und Fremdgewebe nicht abstoßen können, transferiert. Enthält das Transplantat Blutstammzellen, so bilden sich nach einer bis zu 20-wöchigen Beobachtungsphase reife menschliche Blutzellen im Empfängertier, die sich mit speziellen immunologischen Verfahren von den eigenen Blutzellen der Maus unterscheiden lassen. Nur so kann man (rückwirkend) das Vorhandensein von Stammzellen im ursprünglichen Testgewebe belegen. Auch der Nachweis von leukämischen Stammzellen ist nur in diesem komplexen Tiermodell möglich. Die Tierversuchsreihen konnten im November 2008 begonnen werden; erste Ergebnisse werden für Mai 2009 erwartet.