ETH zürich

ETH Library

Stammzellen der Neuralleiste im Gastrointestinaltrakt

Ansatz zur kausalen Therapie des Morbus Hirschsprung?

Journal Article

Author(s):
Sommer, L.

Publication date:
2007

Permanent link:
https://doi.org/https://doi.org/10.3929/ethz-b-000008475

Rights / license:
In Copyright - Non-Commercial Use Permitted

Originally published in:
Der Pathologe 28(2), https://doi.org/10.1007/s00292-007-0891-0

This page was generated automatically upon download from the ETH Zurich Research Collection.
For more information, please consult the Terms of use.

Pathologe 2007 · 28:125–130
DOI 10.1007/s00292-007-0891-0
Online publiziert: 3. Februar 2007
© Springer Medizin Verlag 2007

L. Sommer
Abteilung für Biologie, Institut für Zellbiologie, ETH Zürich-Hönggerberg, Zürich, Schweiz

Stammzellen der Neuralleiste im Gastrointestinaltrakt

Ansatz zur kausalen Therapie des Morbus Hirschsprung?

Stammzellen sind ein Schwerpunktthema in der heutigen biomedizinischen Forschung, denn man erhofft sich, dass diese vielfältigen Zellen in der Zukunft für Zell- und Gewebeersatztherapien eingesetzt werden könnten [9]. Stammzellen sind Zellen, die sich selbst erneuern und sich in unterschiedliche Gewebezellen entwickeln können. Diese Fähigkeiten sind die Grundlage für 2 Therapieansätze, deren Umsetzung zurzeit untersucht wird (**Abb. 1**):

- Ein erster denkbarer Therapieansatz besteht darin, körpereigene Zellen im Patienten zur Teilung anzuregen und krankhaftes oder verletztes Gewebe zu ersetzen.
- Ein zweiter Therapieansatz beschäftigt sich damit, Stammzellen oder aus Stammzellen gewonnene Zelltypen in krankhaftes oder verletztes Gewebe zu transplantieren.

Beide Therapieansätze können aber nur dann zum Erfolg führen, wenn die Mechanismen bekannt sind, die Vermehrung und Differenzierung von Stammzellen steuern.

Potenzielle Anwendungsgebiete von Stammzellen

Mögliche Einsatzgebiete von Stammzellen sind die Behandlung von Krankheiten oder Verletzungen des Herzmuskels (wie z. B. nach einem Infarkt) oder des Nervensystems (wie z. B. bei M. Parkinson, M. Hirschsprung oder Rückenmarkverletzungen). Entsprechende Vorversuche, in denen das Potenzial embryonaler, fetaler und adulter Stammzellen vor allem in Tiermodellen untersucht wurde, sind vielversprechend. Um aber solche Vorkenntnisse für eine effiziente Zellersatztherapie nutzen zu können, müssen noch etliche offene Fragen geklärt werden.

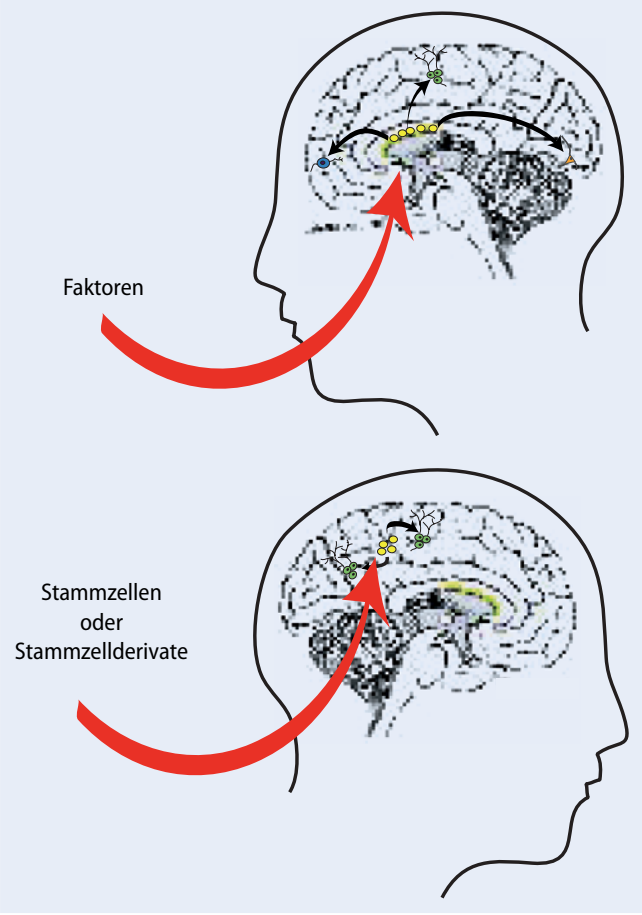
Insbesondere gilt es herauszufinden, wie Stammzellen undifferenziert expandiert werden können und wie sie dazu gebracht werden können, die diversen Zelltypen eines gewünschten Organs zu erzeugen. Ein sehr geeignetes Modellsystem, um diese Fragen anzugehen, sind die so genannten *Neuralleistenstammzellen*, die man nur in Wirbeltieren findet [8]. Während der Embryonalentwicklung entstehen Neuralleistenstammzellen am dorsalen Rande des Neuralrohrs (**Abb. 2**). Von dort wandern sie an verschiedene Orte des Embryos aus, um eine Vielfalt an Zelltypen auszubilden. Darunter fallen die sensorischen Neurone in Spinalganglien, sympathische und parasympathische Neurone des vegetativen Nervensystems, Schwann-Zellen und die Zellen des enterischen Nervensystems. Zudem entwickeln sich Neuralleistenstammzellen zu Gesichtsknorpel und Knochengewebe, Bindegewebe, bestimmten Zellen der glatten Muskulatur in den großen Blutgefäßen und zu Pigmentzellen.

Interessanterweise persistieren Stammzellen der Neuralleiste in Hautstrukturen sowie im Darm des Erwachsenen, ändern aber ihr Potenzial, ihre Fähigkeit sich zu erneuern und das Ansprechen auf Signale und Wachstumsfaktoren.

Entwicklungswege der Stammzellen

Während der Entwicklung werden Stammzellen auf ihrer Wanderung oder am Ort ihrer Differenzierung verschiedenen Signalfaktoren ausgesetzt. Diese Faktoren können als sezernierte extrazelluläre Moleküle vorliegen oder durch direkten Kontakt mit Nachbarzellen vermittelt werden. Neuere Daten zeigen, dass es die kombinatorische Wirkung multipler Signale ist, die den Entwicklungsweg einer Stammzelle bestimmt.

Ein experimenteller Weg, die Identität der beteiligten Faktoren zu bestimmen, besteht darin, Vermehrung und Differenzierung von Stammzellen in Zellkulturexperimenten zu untersuchen. Dies ermöglicht es, das Entwicklungspotenzial einzelner Stammzellen zu verfolgen. So konnte man nachweisen, dass viele Neuralleistenzellen sich selbst erneuern können und multipotent sind, d. h. dass aus einer einzigen Zelle verschiedenste Zelltypen gebildet werden (**Abb. 3**). Eben-



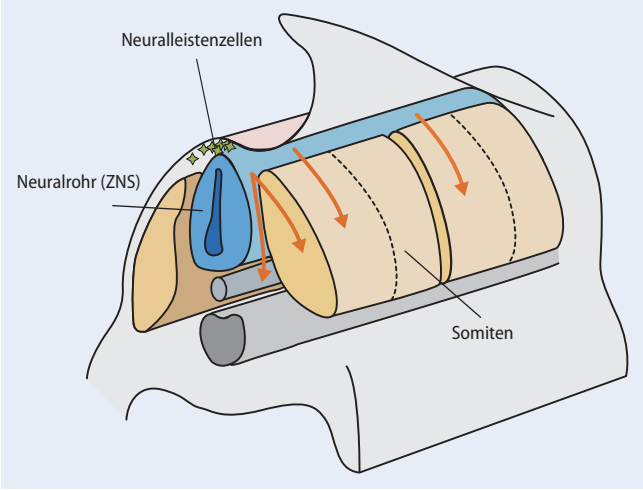


Abb. 2 ▲ Neuralleistenzellen entspringen während der Embryonalentwicklung von Vertebraten dem dorsalen Neuralrohr und wandern an verschiedene Orte des Embryos, um sich dort in Glia und Neurone des peripheren Nervensystems, aber auch in nichtneurale Zelltypen wie z. B. Pigmentzellen, bestimmte glatte Muskulaturzellen und kranialen Knorpel und Knochen zu entwickeln (Graphik Leimeroth und Sommer)

Abb. 1 ◀ Mögliche Therapieansätze zum Einsatz von Stammzellen als Zell- und Gewebeersatz. Beim 1. Therapieansatz werden körpereigene Stammzellen (in diesem Beispiel des Gehirns) angeregt, sich zu teilen und in die gewünschten Zelltypen zu differenzieren. Beim 2. möglichen Ansatz werden Stammzellen oder deren Derivate in das verletzte oder krankhafte Gewebe transplantiert. Für die Umsetzung beider Therapieansätze müssen Grundkenntnisse über die Faktoren erlangt werden, die die Stammzellvermehrung und Differenzierung steuern (Graphik Buchstaller, Bonneick und Sommer)

so konnte mit solchen Methoden gezeigt werden, dass es sowohl im zentralen wie auch im peripheren Nervensystem auch in späteren Entwicklungsstadien, ja sogar im adulten Organismus noch Zellen mit Stammzelleigenschaften gibt. Schließlich wurden so auch Wachstumsfaktoren identifiziert, welche die Entstehung bestimmter Zelltypen fördern (◘ **Abb. 3**; [7]).

Eine isolierte Neuralleistenstammzelle bildet unter dem Einfluss von TGF-β („transforming growth factor β“) glatte Muskulatur, aber keine neuralen Zellen. In Gegenwart der Faktoren Notch und Neuregulin werden nur Gliazellen gebildet. Die Behandlung der Zellen mit BMP2 („bone morphogenic protein 2“) führt zur Bildung autonomer Neuronen, während die Aktivität des Signalfaktors Wnt die sensorische Neurogenese fördert.

Die Verwendung von Zellkultursystemen erlaubte aber auch den Nachweis, dass die Aktivität solcher Wachstumsfaktoren durch weitere Signale der Umgebung stark beeinflusst werden kann. Zell-Zell-Interaktionen beeinflussen z. B. die Wirkung von TGF-β, sodass je nach Konzentration des Faktors entweder glatte Muskulatur oder Neuronen gebildet werden oder aber programmierter Zelltod induziert wird. Neueste Studien haben zudem gezeigt, dass BMP2 und Wnt als Einzelfaktoren die Entstehung bestimmter neuronaler Subtypen fördern, in der Kombination Wnt plus BMP2 aber jegliche Differenzierung unterdrückt und dafür die Beibehaltung von Stammzelleigenschaften ermöglicht wird [4].

Die Kenntnis, wie man Stammzellen undifferenziert vermehren kann, ist nicht nur von Interesse für die Grundlagenwissenschaft, sondern auch wichtig in Bezug auf eine mögliche Anwendung, wenn es darum geht, eine genügende Anzahl einer bestimmten Stammzelle herzustellen. Zudem zeigen diese Beispiele, dass Stammzellen fähig sind, verschiedene Umgebungssignale zu integrieren. Es ist leicht einzusehen, dass die Vielfalt der zu integrierenden Signale im lebenden Organismus noch viel höher ist als in der Zellkulturschale. Um diese Komplexität verstehen zu können, wird also noch bedeutende Forschungsarbeit geleistet werden müssen.

Modulierende Signalwege

Zellkulturexperimente liefern vor allem Hinweise darauf, welche Signalmoleküle die Entwicklung von Stammzellen steuern könnten. Die eigentliche biologische Funktion von *regulatorischen Faktoren* muss aber mit weiteren Analysen geprüft werden. Dazu sind auch Tiermodelle unerlässlich, um die Rolle von Genprodukten *in vivo* zu studieren. Insbesondere kann in gentechnologisch veränderten Mäusen die Aktivität bestimmter Faktoren ausgeschaltet oder umgekehrt auch überstimuliert werden.

Häufig steuern im Organismus bestimmte *Signalfaktoren* verschiedene Prozesse. Es stehen uns heute gentechnologische Verfahren zur Verfügung, die es erlauben, die Rolle von wichtigen Genen in spezifischen Geweben oder zu ganz bestimmten Zeitpunkten zu untersuchen, ohne Entwicklung und Funktion anderer Organe zu beeinträchtigen. So hat die Modulation bestimmter Faktoren spezifisch in neuralen Stammzellen zur Entdeckung einiger Schlüsselfaktoren der Stammzell-

biologie geführt. Darunter fallen *Signalmoleküle*, welche die Selbsterneuerung von Stammzellen oder deren Differenzierung steuern.

Stammzellen beim M. Hirschsprung

Mit den oben genannten Verfahren hat man u. a. den Transkriptionsfaktor Sox10 als Schlüsselfaktor in der Entwicklung von Neuralleistenstammzellen identifizieren können. Sox10 wird in allen Neuralleistenstammzellen und in Gliazellen des zentralen und des peripheren Nervensystems exprimiert. Zellkulturexperimente haben gezeigt, dass Sox10 vielfältige Funktionen im peripheren Nervensystem übernimmt. Sox10 reguliert in Neuralleistenstammzellen die Multipotenz, das Überleben und die Entwicklung in Gliazellen [1, 5]. Sox10 nimmt seine verschiedenen Funktionen offenbar aufgrund unterschiedlicher Interaktionen mit anderen Transkriptionsfaktoren wahr.

Von biomedizinischer Bedeutung ist die Tatsache, dass Mutationen im Gen, das für Sox10 kodiert, mit M. Hirschsprung in Verbindung gebracht worden sind. Der M. Hirschsprung ist definiert als kongenitale, selten vererbbare Fehlbildung mit fehlender Ausbildung des Plexus myentericus über ein distales Darmsegment variabler Länge. Die molekulare Genese ist im Mausmodell untersucht worden, und es sind nebst *SOX10*-Mutationen auch Mutationen in *RET*, *GDNF* und einer Reihe weiterer Gene identifiziert worden [2].

Die Ätiologie von M. Hirschsprung kann auf mehrere Faktoren zurückgeführt werden, und entsprechend komplex ist das Vererbungsmuster dieser Krankheit. Auch wenn gezeigt werden konnte, dass nebst *SOX10* noch weitere Gene beteiligt sind, war bis vor kurzem unklar, wie genau das Krankheitsbild zustande kommt. Die Möglichkeit, die Krankheit im Tiermodell zu studieren, hat aber wesentlich dazu beigetragen, die Krankheitsursache besser zu verstehen. Das enterische Nervensystem leitet sich von Stammzellen der Neuralleiste ab, die während der Embryonalentwicklung in den frühen Darm einwandern und fortschreitend in der Darmwand angelegt werden, bis sich schließlich auch im letzten Darmabschnitt, dem Mastdarm, multipotente Stammzellen finden (**Abb. 4**). Einmal angelegt, entwickeln sich diese neuralen Stammzellen zu den verschiedenen Nervenzellen des enterischen Nervensystems.

Das Fehlen des Nervensystems in bestimmten Darmabschnitten von Patienten mit Hirschsprung-Krankheit kann also mehrere Ursachen haben. Es könnte durch fehlerhaftes Wandern oder Absterben, aber auch durch missgeleitete Entwicklung der neuralen Stammzellen im Darm erklärt werden. Insbesondere könnte also M. Hirschsprung auf defekte Funktionen der Stammzellen der Neuralleiste zurückgeführt werden. In der Tat werden Gene, die mit M. Hirschsprung in Verbindung gebracht werden konnten, in Neuralleistenstammzellen des enterischen Nervensystems exprimiert. Es stellt sich daher die Frage, ob die Stammzellfunktion dieser Gene bei der Krankheitsentstehung wichtig ist.

In Versuchen mit Mäusen, denen eine Kopie des *Sox10*-Gens fehlt, konnte dieser Frage nachgegangen werden [6]. Das heterozygote *Sox10*$^{+/-}$-Mausmodell zeigt eine Aganglionose des enterischen Nervensystems. Es fehlen hierbei die Neurone des distalen Intestinaltrakts bereits im Embryonalstadium E17, und es kommt postnatal zur Ausbildung eines Megakolons, wie beim M. Hirschsprung.

Ist die Entwicklung von Neuralleistenstammzellen im *Sox10*$^{+/-}$-Tiermodell fehlerhaft? Bei *Sox10*$^{+/-}$-heterozygoten Mutanten ist die Anzahl der Neuralleistenstammzellen reduziert. Die Reduktion der Stammzellen in der Mutante beträgt zwischen 33 und 50% bei Zählung isolierter Stammzellen.

Wie kann diese Reduktion erklärt werden? Die Neuralleistenzellen verlieren zwar Stammzelleigenschaften, sind aber immer noch im Darm der *Sox10*$^{+/-}$-mutanten Tiere vorhanden. In der Expressionsanalyse für das neuronale Protein PGP9.5 konnte gezeigt werden, dass *Sox10*$^{+/-}$-Zellen im Darm verfrüht zu Neuronen ausdifferenzieren, also einen falschen Entwicklungsweg einschlagen, statt weitere Stammzellen zu bilden. Daraus lässt sich schließen, dass Sox10 die Erhaltung von Neuralleistenstammzellen reguliert. Es ist wahrscheinlich, dass die Reduktion des Stammzellpools zu einer Reduktion der Zellen führt, welche migrieren können. In der Folge kann der distale Gastrointestinaltrakt während der Entwicklung nicht vollständig mit enterischen Vorläuferzellen kolonisiert werden, und dies resultiert in einer Hypo- oder Aganglionose (**Abb. 4**).

Stimulation Sox10-positiver Stammzellen

Wie Sox10 die Selbsterneuerung von Neuralleistenstammzellen steuert, bleibt abzuklären. Die Erkenntnis, dass Neuralleistenstammzelldefekte zur Ausbildung der Krankheit beitragen können, hilft aber, mögliche Therapien anzudenken. Ein Therapieansatz könnte darin bestehen, endogene Sox10-positive Stammzellen des enterischen Nervensystems zu stimulieren. Wie oben besprochen, kontrolliert die Faktorkombination Wnt und BMP die Vermehrung von Neuralleisten-

Hier steht eine Anzeige.

Springer

Zusammenfassung · Abstract

Pathologe 2007 · 28:125–130
DOI 10.1007/s00292-007-0891-0
© Springer Medizin Verlag 2007

L. Sommer

Stammzellen der Neuralleiste im Gastrointestinaltrakt. Ansatz zur kausalen Therapie des Morbus Hirschsprung?

Zusammenfassung
Stammzellen sind selbsterneuernde Zellelemente mit dem Potenzial, verschiedene Zelltypen hervorzubringen. Der menschliche Körper benötigt Stammzellen zum Aufbau der Organe während der Embryonalentwicklung. Nach Abschluss der Organentwicklung sind Stammzellen auch zur Gewebeerhaltung („Homöostase") und zur Gewebeerneuerung notwendig. Angesichts der vielfältigen Funktionen von Stammzellen erstaunt es nicht, dass Stammzellfehlentwicklungen zu Krankheiten führen können, wie z. B. zu M. Hirschsprung, einer Krankheit des enterischen Nervensystems mit komplexer Ätiologie. Ob Stammzellen zur Regeneration von krankhaften Organen eingesetzt werden könnten, wie dem enterischen Nervensystem bei M. Hirschsprung, ist Gegenstand intensiver Forschung.

Schlüsselwörter
Stammzellen · M. Hirschsprung · Experimentelle Therapie · Enterales Nervensystem

Stem cells of the enteric nervous system: causal therapy for Hirschsprung's disease?

Abstract
Stem cells are self-renewing cells with the potential to generate different cell types. The human organism depends on stem cells for organ development during embryogenesis. Upon completion of organogenesis, stem cells are also necessary for organ maintenance ("homeostasis") and for tissue regeneration. In view of the manifold functions of stem cells, it is not surprising that their malfunction results in diseases like Hirschsprung's disease, a disorder of the enteric nervous system of complex etiology. Potential stem cell application for the regeneration of diseased organs, such as the enteric nervous system in Hirschsprung's disease, is currently a focus of intense research.

Keywords
Stem cells · Hirschsprung's disease · Experimental therapy · Enteric nervous system

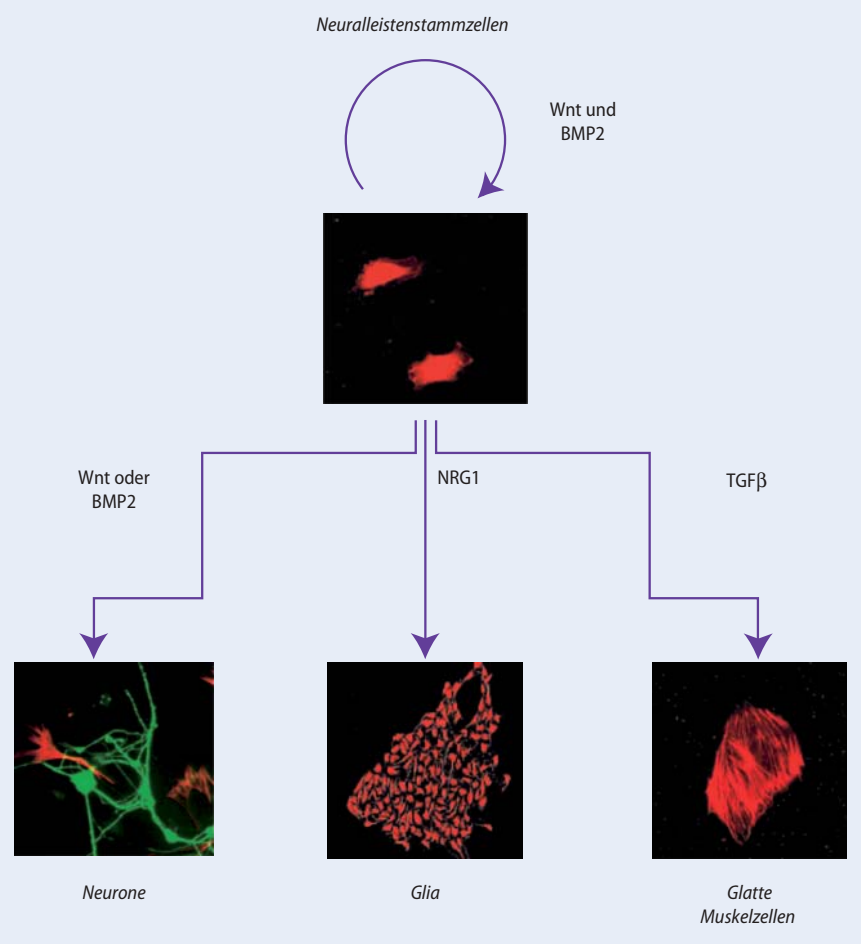


Abb. 3 ▲ Verschiedene Wachstumsfaktoren beeinflussen die Entwicklung von Neuralleistenstammzellen: Wnt unterstützt in Kombination mit BMP die Selbsterneuerung, während Wnt allein die sensorische und BMP allein die autonome Neurogenese induzieren. NRG1 fördert die Gliogenese und TGF-β die Entstehung glatter Muskulatur

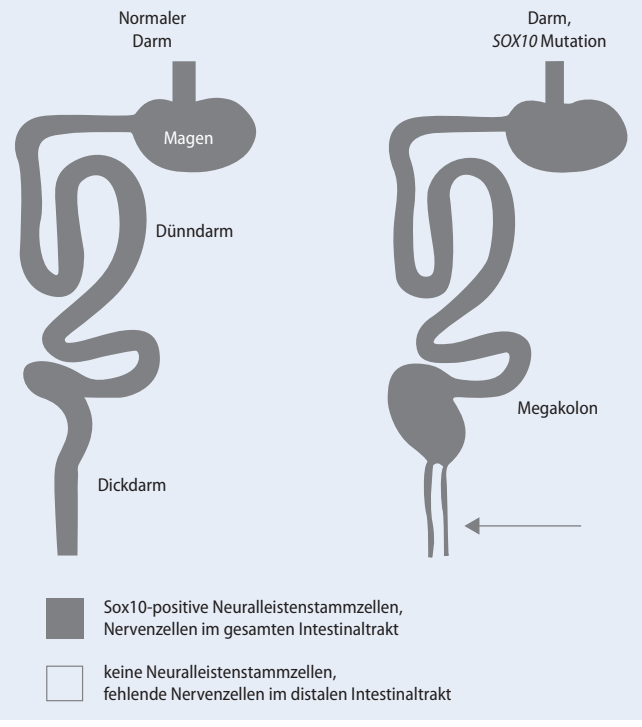


Abb. 4 ◀ Neuralleistenstammzellen des enterischen Nervensystems exprimieren den Transkriptionsfaktor Sox10. Im gesunden Darm sind genügend Sox10-positive Neuralleistenstammzellen vorhanden, sodass Nervenzellen über die gesamte Darmlänge angelegt werden können. Im *Sox10*$^{+/-}$-heterozygoten Tiermodell und bei Patienten mit einer Mutation in *SOX10* verringert sich die Anzahl an Neuralleistenstammzellen, und der distale Darmabschnitt bleibt ohne Nervenzellen (*Pfeil*). (Graphik nach Paratore, Eichenberger und Sommer, Bulletin ETHZ)

stammzellen (■ **Abb. 3**). Eine Beeinflussung dieser Signalwege bei M. Hirschsprung könnte also dazu beitragen, den Stammzellpool im enterischen Nervensystem zu vergrößern, wodurch der gesamte Gastrointestinaltrakt mit enterischen Vorläuferzellen kolonisiert werden könnte.

Ein zweiter denkbarer Therapieansatz bestünde in der Transplantation von gesunden Stammzellen in den krankhaften Darm. Welche Stammzellen könnten hierzu geeignet sein? Die transplantierten Zellelemente müssen bestimmten Anforderungen genügen: Es müssen ausreichend viele Zellen überleben. Die Zellen müssen die richtigen und *nur* die richtigen Zelltypen hervorbringen, und diese Zelltypen müssen sich funktionell in das Gewebe integrieren.

Als Quelle für zu transplantierende Stammzellen kommen zunächst embryonale Stammzellen infrage. Sie besitzen das größte erreichbare Entwicklungspotenzial, und es gibt erste Hinweise, dass auch Neuralleistenzellen aus embryonalen Stammzellen gewonnen werden können. Embryonale Stammzellen sind aber körperfremde Zellen und ihre Gewinnung muss strengen ethischen Richtlinien folgen. Stammzellen des erwachsenen Organismus besitzen zwar ein geringeres Entwicklungs- und Differenzierungspotenzial, ihre Gewinnung unterliegt jedoch keinen ethischen Einschränkungen, und sie werden nicht als körperfremd abgestoßen.

Idealerweise sollten defekte Neuralleistenstammzellen des enterischen Nervensystems wiederum durch Neuralleistenstammzellen ersetzt werden. Womöglich sind hierzu adulte, von der Neuralleiste abstammende Stammzellen aus muriner und menschlicher Haut geeignet. Solche Zellen wurden kürzlich entdeckt, isoliert und charakterisiert [3, 10]. Sie sind leicht zugänglich, und es gelten für ihre Verwendung keine ethischen Bedenken. Die Potenzialanalyse dieser kutanen adulten Stammzellen ergibt zumindest in der Kultur ein großes Vermehrungs- und Entwicklungspotenzial. Ob diese Zellen mit Eigenschaften von Neuralleistenstammzellen allerdings auch enterische Neurone produzieren und vor allem *in vivo* in einem Krankheitsmodell ein enterisches Nervensystem funktionell ausbilden können, muss noch untersucht werden.

Fazit für die Praxis

Multipotente Stammzellen sind wesentlich an Organogenese und Organerhaltung beteiligt. Stammzellfehlfunktionen können zu Erkrankungen, wie z. B. M. Hirschsprung, führen. Die Erforschung der Signalwege, welche Wanderungsfähigkeit, Überleben und neuronale Differenzierung von Stammzellen der Neuralleiste steuern, könnte zukünftige therapeutische Einsatzmöglichkeiten von Stammzellen auch bei M. Hirschsprung eröffnen.

Korrespondierender Autor

Prof. Dr. L. Sommer
Abteilung für Biologie, Institut für Zellbiologie, ETH Zürich-Hönggerberg
Schafmattstr. 18, 8093 Zürich, Schweiz
sommer@cell.biol.ethz.ch

Interessenkonflikt. Es besteht kein Interessenkonflikt. Der korrespondierende Autor versichert, dass keine Verbindungen mit einer Firma, deren Produkt in dem Artikel genannt ist, oder einer Firma, die ein Konkurrenzprodukt vertreibt, bestehen. Die Präsentation des Themas ist unabhängig und die Darstellung der Inhalte produktneutral.

Literatur

1. Britsch S, Goerich DE, Riethmacher D et al. (2001) The transcription factor Sox10 is a key regulator of peripheral glial development. Genes Dev 15: 66–78
2. Chakravarti A, Lyonnet S (2002) Hirschsprung disease. In: Scriver CR et al. (eds) The metabolic and molecular bases of inherited disease. McGraw-Hill, New York, pp 6231–6255
3. Fernandes KJ, McKenzie IA, Mill P et al. (2004) A dermal niche for multipotent adult skin-derived precursor cells. Nat Cell Biol 6: 1082–1093
4. Kléber M, Lee HY, Wurdak H et al. (2005) Neural crest stem cell maintenance by combinatorial Wnt and Bmp signaling. J Cell Biol 169: 309–320
5. Paratore C, Goerich DE, Suter U et al. (2001) Survival and glial fate acquisition of neural crest cells are regulated by an interplay between the transcription factor Sox10 and extrinsic combinatorial signaling. Development 128: 3949–3961
6. Paratore C, Eichenberger C, Suter U, Sommer L (2002) Sox10 Haploinsufficiency affects maintenance of progenitor cells in a mouse model of Hirschsprung disease. Hum Mol Genet 11: 3075–3085
7. Paratore C, Sommer L.(2005) Stem cells. In: Unsicker K, Krieglstein K (eds) Cell signaling and growth factors in development. Wiley-VCH, Weinheim, pp 3–37
8. Sommer L (2005) Growth factors regulating neural crest cell fate decisions. In: Saint-Jeannet JP (ed) Neural crest induction and differentiation. Landes Bioscience, Austin, Chapter 12
9. Weissman IL, Melton DA, Verfaillie CM et al. (eds) (2004) Adult and fetal stem cells. Handbook of stem cells, vol 2. Academic Press, London
10. Wong CE, Paratore C, Dours-Zimmermann MT et al. (2006) Neural crest-derived cells with stem cell features can be traced back to multiple lineages in the adult skin. J Cell Biol 175: 1005–1015

Hier steht eine Anzeige.

Springer