

Stammzellen des Nervensystems

Das Nervensystem ist das komplexeste Organ unseres Körpers. Bei seiner Entstehung müssen Milliarden von Zellen am rechten Ort, zur rechten Zeit und in der nötigen Anzahl gebildet werden. Wie können Stammzellen die verschiedensten Zelltypen des Nervensystems hervorbringen? Antworten darauf könnten helfen, Stammzellen in Zukunft auch für therapeutische Zwecke einzusetzen.

VON LUKAS SOMMER

Aufgrund ihres therapeutischen Potenzials bilden Stammzellen heute ein Schwerpunktthema biologischer und medizinischer Forschung. Stammzellen sind Zellen, die sich selbst erneuern und sich zudem auch zu unterschiedlichen Gewebezelltypen entwickeln können. Diese Fähigkeiten sind die Grundlage für zwei Therapieansätze, die zurzeit in Erwägung gezogen werden: erstens erforscht man, ob körpereigene Stammzellen dazu angeregt werden können, Zellen im krankhaften oder verletzten Gewebe zu ersetzen; zweitens untersucht man die Möglichkeit, Stammzellen in das geschädigte Gewebe zu transplantieren, um es auf diese Weise funktionell zu regenerieren. Beide Therapieansätze können aber nur dann zum Erfolg führen, wenn die Mechanismen bekannt sind, die das Verhalten von Stammzellen steuern.

Besondere Beachtung findet der mögliche Einsatz von Stammzellen zur Behandlung von Krankheiten oder Verletzungen des Gehirns, wie zum Beispiel von Morbus Parkinson oder von Rückenmarkverletzungen. Entsprechende Vorversuche, in denen das Potenzial embryonaler, fötaler und adulter Stammzellen v. a. in Tiermodellen untersucht wurde, sind vielversprechend. Um aber solche Vorkenntnisse in effiziente Zellersatztherapien umsetzen zu können, müssen noch etliche offene Fragen geklärt werden. Insbesondere gilt es herauszufinden, wie Stammzellen dazu gebracht werden können, die diversen Zelltypen des

Nervensystems zu erzeugen. Verschiedene Arten von Stammzellen des Nervensystems (so genannte neurale Stammzellen) werden benutzt, um diese Frage anzugehen.

Ein Modellsystem neuraler Stammzellen sind zum Beispiel die neuroepithelialen Zellen des Neuralrohrs, einer Struktur, die schon sehr früh im Embryo angelegt ist und aus der das gesamte Gehirn und das Rückenmark entsteht (vgl. Abbildung 1). Ein anderes sehr geeignetes Modellsystem für neurale Stammzellen sind die sogenannten Neuralleistenstammzellen. Diese Vorläuferzellen des peripheren Nervensystems findet man nur in Wirbeltieren. Sie bilden neurale Strukturen, die ausserhalb des Rückenmarks und des Gehirns liegen (deshalb der Name «peripher»). Während der Embryonalentwicklung entstehen Neuralleistenstammzellen am äusseren Rande des Neuralrohrs (vgl. Abbildung 1). Von dort wandern sie an verschiedene Orte des Embryos aus, um eine Vielfalt an Zelltypen auszubilden. Darunter fallen die sensorischen Neurone in Spinalganglien, mit denen wir u. a. Schmerz und Temperatur wahrnehmen, sympathische und parasympathische Neurone des vegetativen Nervensystems und auch die Zellen des so genannten enterischen Nervensystems, das die Darmtätigkeit reguliert. Das unglaubliche Potenzial dieser Stammzellen wird zudem durch die Tatsache veranschaulicht, dass sie nebst den genannten Zellen des Nervensystems auch noch andere Zellen hervorbringen können, wie zum Beispiel die Melanozyten, die für die Bräunung unserer Haut verantwortlich sind, oder bestimmte Zellen der glatten Muskulatur in den grossen Blutgefässen.

Signalfaktoren der Stammzellentwicklung

Während ihrer Entwicklung werden Stammzellen etlichen Signalfaktoren ausgesetzt, die sie auf ihrer Wanderung oder am Ort ihrer Differenzierung antreffen. Diese Faktoren können als Moleküle vorliegen, die von anderen Zellen der Umgebung ausgeschieden werden, oder können durch direkten Kontakt mit Nachbarzellen vermittelt werden. Es ist letztlich die kombinatorische Wirkung all dieser Faktoren, die den Entwicklungsweg einer Stammzelle bestimmt. Die Umgebungssignale werden

Dr. Lukas Sommer ist Assistenzprofessor für Zell- und Entwicklungsbiologie an der ETH Zürich.

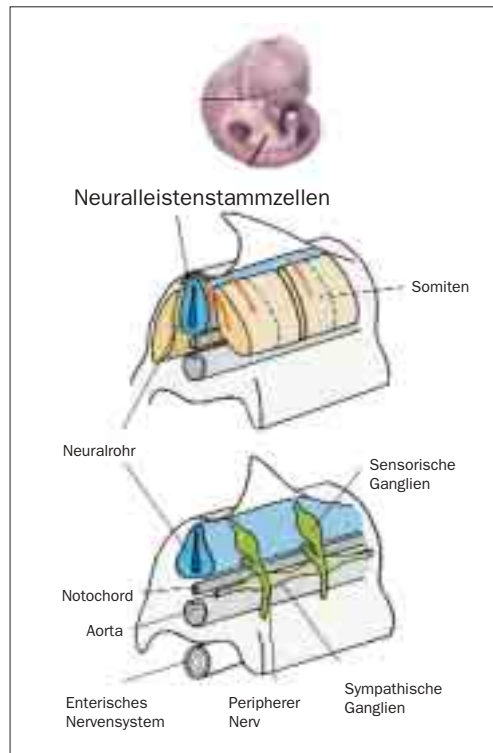
mittels entsprechender Rezeptoren von der Zelle aufgenommen und führen schliesslich zur Aktivierung von sogenannten Transkriptionsfaktoren. Diese regulieren ihrerseits das An- und Ausschalten von genetischen Programmen wie zum Beispiel eben

bestimmter Zelltypen aus neuronalen Stammzellen fördern und gleichzeitig andere Entwicklungswege hemmen. Eine isolierte Neuralleistenstammzelle zum Beispiel bildet unter dem Einfluss von TGF β (Transforming Growth Factor β) nur glatte Muskulatur aber keine neuronalen Zellen, in Gegenwart des Faktors Neuregulin werden nur Gliazellen gebildet, und schliesslich führt BMP2 (Bone Morphogenic Protein 2) zur Entstehung eines bestimmten neuronalen Zelltyps. Die Verwendung von Zellkultursystemen erlaubte aber auch den Nachweis, dass die Aktivität solcher Wachstumsfaktoren durch weitere Signale der Umgebung stark beeinflusst werden kann. Wenn statt einzelner Neuralleistenstammzellen Aggregate von Stammzellen der Wirkung von TGF β ausgesetzt werden, wird die Aktivität dieses Faktors von der Stammzelle völlig neu interpretiert. Je nach Konzentration des Faktors induziert TGF β dann entweder Neuronenbildung oder aber programmierten Zelltod (Abbildung 1). Zell-Zell-Interaktionen innerhalb des Stammzellaggregats haben also die biologische Funktion des Wachstumsfaktors TGF β drastisch verändert. Dieses Beispiel zeigt, 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 Vielfalt an Signalwegen zu entschlüsseln, bedienen wir uns einer Methode, die allgemein mit dem Begriff «Functional Genomics» umschrieben wird (eine genauere Beschreibung dieser modernen Technologie kann im ETH Bulletin Nr. 286, August 2002, nachgelesen werden). Dabei werden die genetischen Programme neuraler Stammzellen miteinander verglichen, die in unterschiedlicher Umgebung oder zu verschiedenen Zeitpunkten der Entwicklung aktiv sind. Welche Signalwege werden durch zelluläre Wechselwirkungen aktiviert? Wie unterscheiden sich Stammzellen des peripheren von denjenigen des zentralen Nervensystems, wie embryonale von adulten? Solche Fragen können mittels «Functional Genomics» angegangen werden.

Natürlich liefert diese Methode v.a. Hinweise darauf, welche Signalmoleküle die

Abb. 1: Neuroepitheliale Zellen des Neuralrohrs und Neuralleistenstammzellen sind geeignete Modellsysteme für neurale Stammzellen. Die schematischen Darstellungen repräsentieren in etwa den im Mausembryo (oberstes Bild, frühes Entwicklungsstadium) eingezeichneten Abschnitt. Das Neuralrohr bildet das Gehirn und das Rückenmark. Neuralleistenstammzellen (mittleres Bild) wandern vom Neuralrohr aus (Pfeile) und bringen Strukturen des peripheren Nervensystems hervor (unteres Bild, späteres Entwicklungsstadium).



Grafik: Leimeroth und Sommer

demjenigen Programm, das für die Entstehung ganz bestimmter Neurone in einer spezifischen Region des Gehirns verantwortlich ist.

Ein experimenteller Weg, die Identität der beteiligten Faktoren zu bestimmen, besteht darin, die Stammzellen aus ihrer komplexen Umgebung des Organismus herauszulösen und in Kultur zu bringen. Auf diese Weise konnte man nachweisen, dass neurale Stammzellen sich selbst erneuern und multipotent sind, d. h., dass aus einer einzigen Zelle verschiedenste Zelltypen gebildet werden können (Abbildung 2). Ebenso 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 neurale Stammzellen gibt. Schliesslich wurden so auch Wachstumsfaktoren identifiziert, welche die Entstehung

Entwicklung von Stammzellen steuern könnten. Ihre eigentliche biologische Funktion muss aber mit weiteren Experimenten untersucht werden. Neben den oben beschriebenen Zellkulturen sind dazu auch Tiermodelle unerlässlich, um die Rolle von Faktoren *in vivo*, also im lebenden Organismus, zu studieren. Insbesondere kann in gentechnologisch veränderten Mäusen die Aktivität bestimmter Gene ausgeschaltet oder umgekehrt auch überstimuliert werden. Heutzutage sind gentechnologische Verfahren so weit gediehen, dass man die Rolle von wichtigen Genen und ihrer Produkte in spezifischen Geweben oder zu ganz bestimmten Zeitpunkten analysieren kann, ohne die Entwicklung und Funktion anderer Organe zu beeinträchtigen. Gerade die technische Errungenschaft, dass man Gene spezifisch in neuronalen Stammzellen inaktivieren kann, hat in jüngster Zeit zur Entdeckung einiger Schlüsselfaktoren der Stammzellbiologie geführt. Darunter fallen Signalfaktoren, die für das Erneuerungspotenzial von Stammzellen oder für deren Differenzierung in bestimmte Neurone verantwortlich sind. Ausserdem wird zurzeit eine neuartige Methode (die so genannte «RNS Interferenz»-Methode) bei neuronalen Stammzellen geprüft, mittels deren die Wirkungsweise mehrerer Faktoren gleichzeitig getestet werden kann. So versucht man herauszufinden, welche Signalfaktoren am Netzwerk der Stammzellregulatoren beteiligt sind und wie sie sich gegenseitig beeinflussen.

Hirschsprung-Krankheit

Was aber passiert, wenn eine neurale Stammzelle eine falsche Entscheidung trifft? Ein Beispiel: Sox10 ist ein Transkriptionsfaktor, der in allen Neuralleistenstammzellen, aber auch in Gliazellen des zentralen und des peripheren Nervensystems exprimiert wird. Zellkulturexperimente haben gezeigt, dass im peripheren Nervensystem Sox10 sowohl für das Überleben von Neuralleistenstammzellen wie auch für deren Entwicklung in gliale Zellen verantwortlich ist. Man nimmt an, dass Sox10 seine verschiedenen Funktionen durch unterschiedliche Wechselwirkungen mit anderen Transkriptionsfaktoren wahrnehmen kann. Be-

achtung hat Sox10 v.a. deshalb erfahren, weil Mutationen im Gen, das für Sox10 kodiert, mit der sogenannten Hirschsprung-Krankheit in Verbindung gebracht worden sind. Morbus Hirschsprung ist eine vererbare Krankheit, die bei etwa 1 von 5000

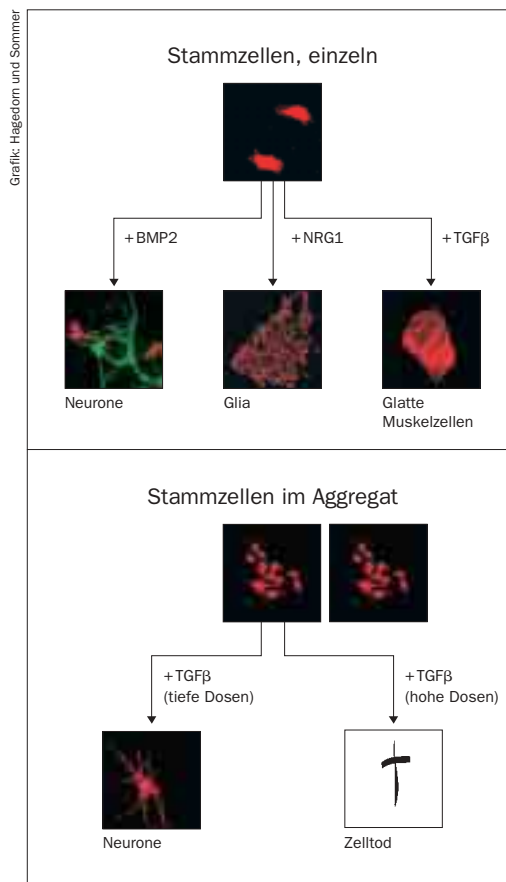


Abb. 2: Die Entwicklung neuraler Stammzellen in bestimmte Zelltypen wird durch Wachstumsfaktoren reguliert. Deren Wirkung kann durch weitere Signale (wie sie z. B. durch Zell-Zell-Interaktionen vermittelt werden) moduliert werden.

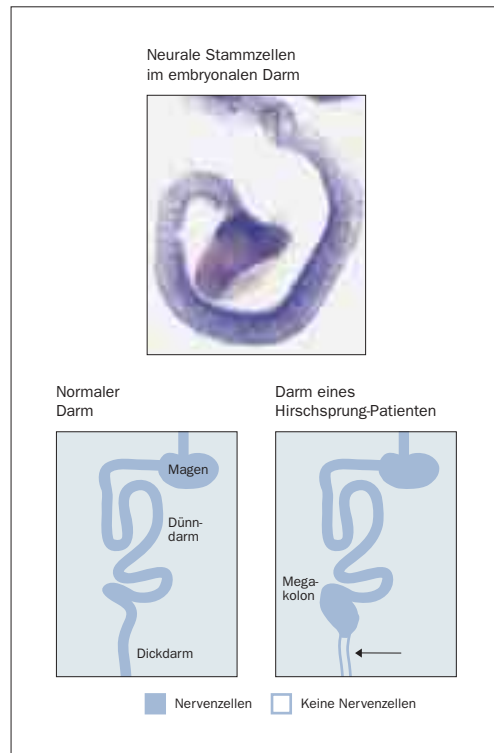
Kindern auftritt, also verhältnismässig häufig ist. Bei Patienten mit Morbus Hirschsprung fehlt bereits bei der Geburt das enterische Nervensystem in einem bestimmten Darmabschnitt, wobei meistens der Mastdarm betroffen ist (Abbildung 3). Das Fehlen der Nervenzellen in der Darmwand verhindert eine geregelte Darmentleerung, und es kommt zu einer schweren chronischen Verstopfung. Die Beschwerden treten normalerweise innerhalb weniger Tage nach der Geburt auf und können nur durch operative Entfernung des betroffenen Darmabschnitts behoben werden.

Vielältige Faktoren tragen zur Ausbildung von Morbus Hirschsprung bei, und entsprechend komplex ist das Vererbungs-

muster 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

der neuralen Stammzellen im Darm mutanter Tiere. Was aber ist mit den mutanten Stammzellen geschehen? Durch einen genetischen Trick war es möglich, das Schicksal aller Stammzellen im Nervensystem des Darmes zu verfolgen: Zellen, die von Neuralleistenstammzellen abstammen, wurden durch die Expression eines Markergens gekennzeichnet, dessen Produkt nur in Neuralleistenstammzellen und deren Abkömmlingen vorhanden ist. So fand man, dass mutante Stammzellen nicht etwa einfach absterben. Vielmehr schlagen sie einen falschen Entwicklungsweg ein und bringen vermehrt neuronale Zellen hervor, statt weitere Stammzellen zu bilden. Sox10 steuert also die Fähigkeit von Neuralleistenstammzellen, sich selbst zu erneuern. Bei Tieren, aber auch bei Patienten, die eine Mutation im Sox10-Gen aufweisen, stehen deswegen weniger neuronale Stammzellen zur Verfügung, die den Darm über seine gesamte Länge bevölkern könnten. Die Konsequenz ist eine verminderte Anzahl neuraler Stammzellen und somit auch von differenzierten Nervenzellen in den letzten Abschnitten des Darms, v. a. also des Mastdarms. Wie genau Sox10 die Selbsterneuerung von Neuralleistenstammzellen reguliert, bleibt abzuklären. Ebenso spannend wird es sein herauszufinden, ob ähnliche Mechanismen auch die Erneuerung neuraler Stammzellen des zentralen Nervensystems steuern.

Abb. 3: Neurale Stammzellen des enterischen Nervensystems exprimieren den Transkriptionsfaktor Sox10 (dargestellt durch blaue Färbung in einem Darmabschnitt eines Mausembryos). Bei Patienten, die Träger einer Mutation im Sox10 Gen sind, verringert sich die Menge neuraler Stammzellen, und der letzte Darmabschnitt bleibt ohne Nervenzellen (Pfeil). Dies führt zu starker Verstopfung und Ausdehnung des Darmes (Megakolon).



Grafik: Paratore, Eichenberger und Sommer

wesentlich dazu beigetragen, die Krankheitsursache besser zu verstehen. Die Nervenzellen, die die Darmtätigkeit kontrollieren, werden normalerweise schon während der Embryonalentwicklung gebildet. Dabei wandern Neuralleistenstammzellen in den frühen Darm ein und werden fortschreitend in der Darmwand angelegt, bis sich schliesslich auch im letzten Darmabschnitt, dem Mastdarm, multipotente Stammzellen finden (Abbildung 3). Einmal angelegt, entwickeln sich diese neuralen Stammzellen zu den verschiedenen Nervenzellen des enterischen Nervensystems. In Versuchen mit Mäusen, denen eine Kopie des Sox10 Gens fehlt, ging man den Ursachen der Krankheit genauer nach. Es zeigte sich, dass mutante Neuralleistenstammzellen anfangs normal in den embryonalen Darm einwandern können. Danach aber vermindert sich im Gegensatz zum normalen Darm die Menge

LITERATUR

- Sommer L. and Rao M. (2002). Neural Stem Cells and Regulation of Cell Number. *Progress in Neurobiology*, 66: 1–18.
- Paratore C., Eichenberger C., Suter U., and Sommer L. (2002). Sox10 Haploinsufficiency Affects Maintenance of Progenitor Cells in a Mouse Model of Hirschsprung Disease. *Human Molecular Genetics*, 11: 3075–3085.
- Paratore C., Goerich D.E., Suter U., Wegner M., and Sommer L. (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.
- Hari L., Brault V., Kléber M., Lee H.Y., Ille F., Leimeiroth R., Paratore C., Suter U., Kemler R., and Sommer L. (2002). Lineage-Specific Requirements of β -catenin in Neural Crest Development. *The Journal of Cell Biology*, 159: 867–880.

