

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

18. Theil D, Arbusow V, Derfuss T et al. Prevalence of HSV-1 LAT in human trigeminal, geniculate, and vestibular ganglia and its implication for cranial nerve syndromes. *Brain Pathol* 2001;11:408-13.
19. Nahmias AJ, Roizman B. Infection with herpes-simplex viruses 1 and 2. *N Engl J Med* 1973;289:719-25.
20. Theil D, Derfuss T, Paripovic I et al. Latent herpesvirus infection in human trigeminal ganglia causes chronic immune response. *Am J Pathol* 2003;163:2179-84.
21. Murakami S, Mizobuchi M, Nakashiro Y et al. Bell palsy and herpes simplex virus: identification of viral DNA in endoneurial fluid and muscle. *Ann Intern Med* 1996;124:27-30.
22. Büchele W, Brandt T. Vestibular neuritis, a horizontal semicircular canal paresis? *Adv Otorhinolaryngol* 1988;42:157-161.
23. Fetter M, Dichgans J. Vestibular neuritis spares the inferior division of the vestibular nerve. *Brain* 1996;119:755-63.
24. Zapala DA, Shapiro SA, Lundy LB et al. Simultaneous acute superior nerve neurolabyrinthitis and benign paroxysmal positional vertigo. *J Am Acad Audiol* 2006;17:481-6.
25. Murofushi T, Halmagyi GM, Yavor RA et al. Absent vestibular evoked myogenic potentials in vestibular neurolabyrinthitis. An indicator of inferior vestibular nerve involvement? *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1996;122:845-8.
26. Ochi K, Ohashi T, Watanabe S. Vestibular-evoked myogenic potential in patients with unilateral vestibular neuritis: abnormal VEMP and its recovery. *J Laryngol Otol* 2003;117:104-8.
27. Halmagyi GM, Aw ST, Karlberg M et al. Inferior vestibular neuritis. *Ann NY Acad Sci* 2002;956:306-313.
28. Brandt T. *Vertigo: its multisensory syndromes*. 2nd ed. London: Springer, 1999.
29. Smith PF, Curthoys IS. Mechanisms of recovery following unilateral labyrinthectomy. *Brain Res Rev* 1989;14:155-80.
30. Okinaka Y, Sekitani T, Okazaki H et al. Progress of caloric response of vestibular neuronitis. *Acta Otolaryngol Suppl* 1993;503:18-22.
31. Zee DS. Perspectives on the pharmacotherapy of vertigo. *Arch Otolaryngol* 1985;111:609-12.
32. Strupp M, Zingler VC, Arbusow V et al. Methylprednisolone, Valacyclovir, or the combination for vestibular neuritis. *N Engl J Med* 2004;351:354-61.
33. Yamanaka T, Dara M, Amano T et al. Role of glucocorticoids in vestibular compensation in relation to activation of vestibular nucleus neuron. *Acta Otolaryngol Suppl* 1995;519:68-72.
34. Ariyasu L, Byl FM, Sprague MS et al. The beneficial effect of methylprednisolone in acute vestibular vertigo. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1990;116:700-3.
35. Brandt T, Strupp M, Arbusow V et al. Plasticity of the vestibular system: central compensation and sensory substitution for vestibular deficits. *Adv Neurol* 1997;73:297-309.
36. Strupp M, Arbusow V, Maag KP et al. Vestibular exercises improve central vestibulo-spinal compensation after vestibular neuritis. *Neurology* 1998;51:838-44.
37. Cawthorne T. The physiological basis for head exercises. *J Chart Soc Physiother* 1944;30:106-7.
38. Herdman SJ. *Vestibular rehabilitation*, 2nd ed. Philadelphia: FA Davis Co, 2000.
39. Dieterich M, Büchele W. MRI findings in lesions at the entry zone of the eighth nerve. *Acta Otolaryngol Suppl* 1989;468:385-9.
40. Hopf HC. Vertigo and masseter paresis. A new local brainstem syndrome probably of vascular origin. *J Neurol* 1987;235:42-5.

Humane embryonale stamceller: potentiale og aktuelle udfordringer

Klinisk assistent Roberto S. Oliveri & adjungeret professor Claus Yding Andersen

Rigshospitalet, Reproduktionsbiologisk Laboratorium 5712

Resume

Humane embryonale stam (hES)-celler anses for at have stort potentiale inden for behandling af en lang række celledegenerative tilstande. hES-celler er karakteriseret ved at være pluripotente, dvs. at de under de rette betingelser kan give ophav til mange af celletyperne i menneskekroppen, som f.eks. insulinproducerende β -celler, kardiomyocytter og neuroner. Kliniske afprøvninger med transplantation til patienter af specialiserede celler deriveteret fra hES-celler er nært forestående. Ikke desto mindre skal en række problemstillinger af især immunologisk og sikkerhedsmæssig karakter løses, førend teknikken kan udbredes. Når og hvis dette lykkes, vil lægevidenskaben uden tvivl komme til at stå over for et betragteligt paradigmeskifte i behandlingen af en række sygdomme.

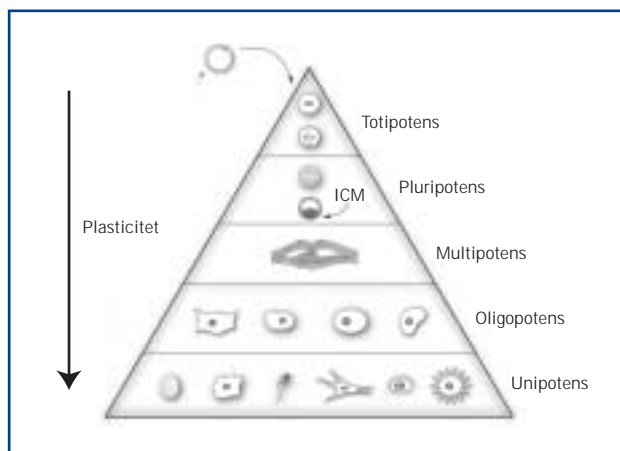
Det er i år ti år siden, at de første humane embryonale stam (hES)-cellelinjer blev beskrevet [1]. Siden da er der udviklet vellykkede differentieringsregimer af hES-celler in vitro, og

det har ledt til så forskellige specialiserede celletyper som neuroner, kardiomyocytter, pankreatiske β -celler, osteoblaster og hepatocytter [2-5]. hES-celler er derfor blevet spået et enormt terapeutisk potentiale for en lang række celledegenerative sygdomme såsom diabetes, læderet medulla spinalis, iskæmisk hjertesygdom, Parkinsons sygdom m.fl.; men nyere forskning indikerer endvidere, at også tilstande som blindhed (makulær degeneration) [6], dissemineret sklerose [7] og infertilitet (azoospermi) [8] vil kunne komme inden for terapeutisk rækkevidde. Cellebaseret sygdomsbehandling kan derfor betyde et paradigmeskifte inden for lægevidenskaben.

Scenarier som disse har forståeligt nok givet anledning til megen videnskabelig hype omkring hES-celler, og en litteratursøgning på PubMed viser da også en markant vækst i antallet af publikationer omhandlende disse celler de senere år. Parallelt hermed ses en stigende interesse blandt patienter verden over for den spirende sundhedsturisme, der især er fremherskende i Fjernøsten. Her tilbydes pakkeløsninger med kost, logi og stamcellebehandling af mere eller mindre tvivlsom evidens. Også danske patienter fatter naturligvis interesse for sådanne tilbud og søger eller vil søge råd og vejledning hos egen læge eller andre behandlere i sundhedsvæsenet.

Formålet med denne oversigtsartikel er at beskrive og disku-

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL



Figur 1. Stamcelle- eller plasticitetshierarkiet: Ved sammensmeltningen mellem metafase II-oocytten og spermatozoon dannes den totipotente encellede zygote. De første tidlige cellekløvningsstadier består af blastomerceller, som hver især også er totipotente, hvilket er forklaringen på den naturlige forekomst af homozygotiske tvillinger »fysiologisk embryo-splitting«. Efterfølgende kløvningsresultater i moruladannelse og blastocyststrukturen med den pluripotente indercellemasse (ICM). Ved gastrulation og dannelsen af de tre kimlag sker der en tiltagende celledifferentiering, som medfører nicher med multi- og oligopotente stamceller med stadig aftagende plasticitet, f.eks. den hæmatopoietiske stamcelle og den mesenkymale stamcelle. Nederst i plasticitetshierarkiet finder man det altovervejende flertal af kroppens celler bestående af fuldt differentierede, celletyper f.eks. erythrocytter spermatozoer, pigmentepitel mv.

tere den nyeste viden om hES-celler og deres anvendelsesmuligheder, men også forholde sig kritisk til en række udfordringer af især teknisk-eksperimentel karakter, som skal imødegås på tilfredsstillende vis, før udbredt brug af regenerativ celleterapi vil kunne implementeres på klinisk tilfredsstillende vis.

Metode

Litteraturen er fundet ved søgning efter studier på PubMed med søgetermerne human embryonic stem cells, hES cells, hESCs, epigenetics, nuclear reprogramming, somatic cell nuclear transfer, dedifferentiation, totipotency og pluripotency.

Stamcellebegrebet

En stamcelle defineres som en celle, der er i stand til at forny sig selv i udifferentieret form samtidig med at kunne give ophav til en eller flere mere differentierede datterceller [9]. Der kan herske nogen tvivl om antallet og karakteren af stamcelletyper, og det er derfor vigtigt at slå fast, at der findes flere typer af stamceller med hver deres karakteristika. Disse forskelle illustreres måske bedst ved at behandle den embryonale udvikling (**Figur 1**): Ved fusionen mellem den ovulerede metafase II (MII)-oocyt og spermatozoon dannes den encellede totipotente zygote. Zygoten indeholder dermed det komplette arvemateriale, som alle senere derivede celletyper (med få undtagelser) vil indeholde en identisk kopi af. Zygoten og cellerne i de meget tidlige cellekløvningsstadier (blastomerceller) betegnes som totipotente, idet de giver ophav til det egentlige foster såvel som de strikt ekstraføtale væv i placenta (ydre chorion). Efter en række yderligere celledelinger

har det tidlige embryon antaget karakter af en blastocyst. Denne væskefyldte struktur består af en ydre »skal« af differentierede trofoblastceller, der bliver til placenta, og en indre cellemasse (ICM) bestående af 100-200 embryoblastceller. Det er cellerne i ICM, som giver ophav til det egentlige foster med dets histo- og organogenese, dvs. at disse celler potentielt kan give ophav til samtlige celletyper i kroppen, såkaldt pluripotens. Efter begyndende celledifferentiering med dannelsen af de tre kimlag (ektoderm, mesoderm og endoderm) ved gastrulation accelererer den mere specialiserede celledifferentiering og egentlige organogenese. Efter fuldendt histo- og organogenese vil organismen dog indeholde nicher af såkaldte adulte stamceller, som fremover vil fungere som kroppens reservelager, og som i hver sin niche vil erstatte udtjente specialiserede celler. Differentieringsgraden af adulte stamceller er omdiskuteret, men konsensus synes at være, at de kun kan give ophav til et mindre antal af specialiserede celler inden for samme kimlag. Den hæmatopoietiske stamcelle (HSC), der giver ophav til såvel myeloide som lymfoide forstadier til blodets formede legemer, er det klassiske eksempel på en adult stamcelle. Der er dog også beskrevet adulte stamcellenicher i bl.a. huden, leveren og centralnervesystemet. Begrebet stamceller dækker således over en temmelig heterogen gruppe af celler, som er ordnet i et egentligt stamcellehierarki med fallende differentieringskapacitet (plasticitet) korreleret til tidspunktet for deres dannelse under embryogenesen (**Figur 1**).

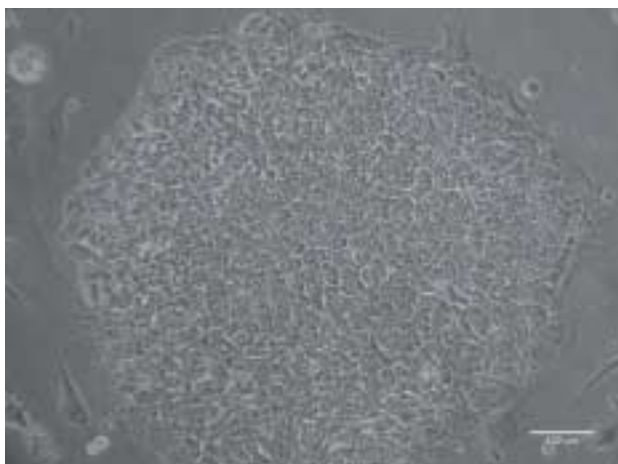
Tilvejebringelse, dyrkning og karakteristika af humane embryonale stamceller

hES-celler dannes fra blastocystens pluripotente ICM. Humane blastocyster udvikles i forbindelse med in vitro-fertilisation (IVF)-behandling, når det befrugtede æg dyrkes i 5-7 dage i laboratoriet. Tiloversblevne embryoner tilvejebringes ved donation efter informeret samtykke. Det er kun i specielle situationer, at infertile par har embryoner tilovers, og oftest er der tale om embryoner af så ringe kvalitet, at de er vurderet ikke at kunne resultere i en graviditet, hvorfor de alligevel ville blive destrueret.

Når embryonet er udviklet til en blastocyst, isoleres ICM enten mekanisk eller enzymatisk og anbringes i en dyrknings-skål beklædt med såkaldte feeder-celler. Disse er som regel dermale fibroblaster, som danner en matrice og afgiver ikke-karakteriserede vækstfaktorer, der understøtter væksten og anses for at holde hES-cellerne udifferentierede. I nogle tilfælde begynder ICM-cellerne at proliferere og vil da antage et karakteristisk udseende. Fortsætter proliferationen, vil cellerne kunne danne en egentlig hES-cellelinje (**Figur 2**).

Ud over deres karakteristiske udseende og behov for særlige vækstbetingelser, vil hES-celler som regel blive karakteriseret ved immunologisk detektion af visse stamcellemarkører som bl.a. OCT4-, SSEA- og TRA-overfladeantigener (**Figur 3**). Især transkriptionsfaktoren OCT4 menes at spille en helt afgørende rolle for, at hES-cellerne forbliver i udifferen-

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL



Figur 2. Fasekontrastbillede af enkelt koloni fra humane embryonale stam-(hES)-celler-cellelinje (LRB03) etableret på Reproduktionsbiologisk Laboratorium, Rigshospitalet. Kolonien udviser karakteristisk morfologi bestående af små kompakte hES-celler med sparsomt cytoplasma og tydelige nucleoli. I periferien anes langstrakte fibroblaster, der fungerer som støttende *feeder*-celler.

tieret tilstand. Dette afspejles også af, at OCT4-proteinet kun udtrykkes funktionelt i celler tilhørende den reproduktive søjle som f.eks. blastomerceller, primordiale kimeceller og oocytter. Før en cellelinje dog definitivt kan betegnes som en hES-cellelinje, er det dog et krav, at der kan påvises genuin pluripotens ved dens evne til at kunne differentiere til celle-

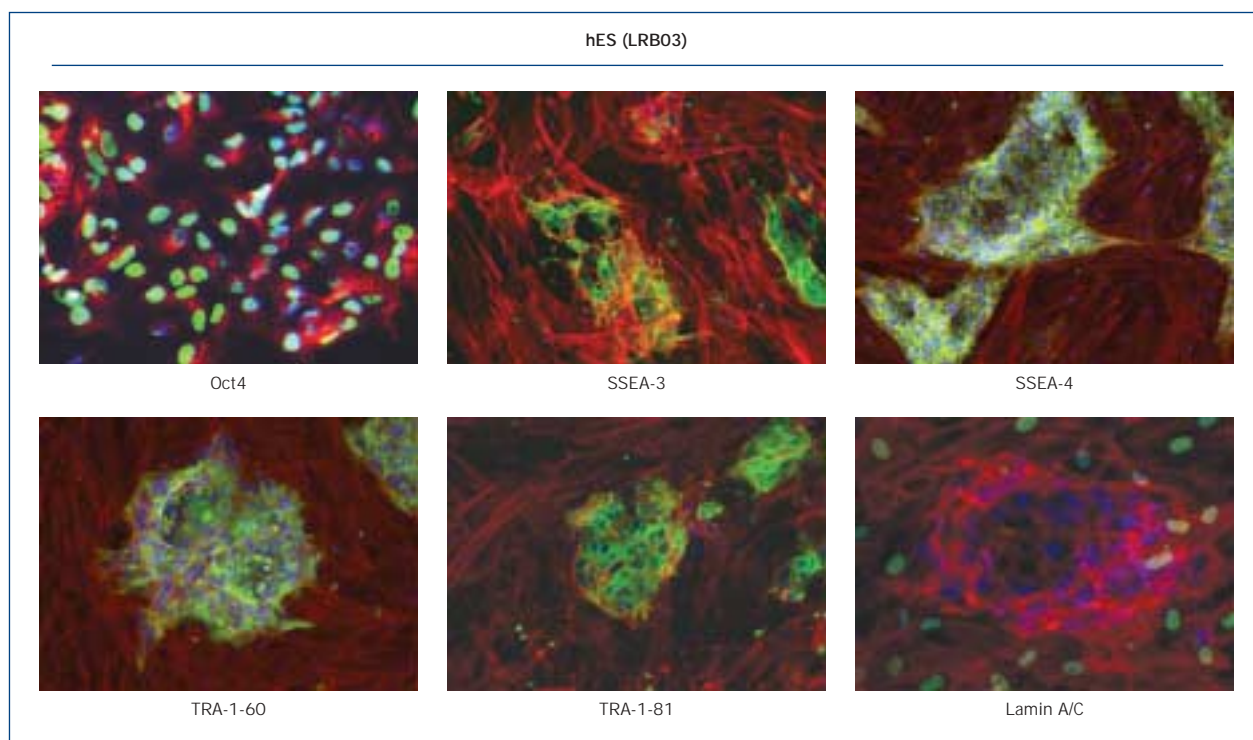
typer fra alle tre kimplag. Den hyppigst anvendte metode hertil er at transplantere et stort antal celler ind i såkaldte *severe combined immuno-deficiency* (SCID)-mus, som grundet thymus-aplasi ikke vil afstøde de xenogene celler. Efter nogle uger kan der observeres teratom(er) bestående af vævstyper fra samtlige tre kimplag. Alternativt kan hES-cellernes dyrkningsmedium modificeres, så spontan differentiering fremmes. Herved dannes der såkaldte embryoide legemer, som indeholder en mosaik af forskellige mere specialiserede celletyper, som kan påvises med forskellige immunfarvninger.

hES-cellelinjer er endvidere karakteriseret ved nærmest uendelig vækst, og cellefordoblinger på mange hundrede er ikke usædvanligt. Netop muligheden for at danne et meget stort antal celler i laboratoriet gør hES-celler attraktive som kilde til mere funktionelt specialiserede celler til klinisk brug, da et stort antal af transplanterede celler formodentlig vil være af afgørende betydning.

Det anslås, at der på verdensplan er dannet omkring 400-500 hES-cellelinjer. Heraf findes der ca. 20 i Danmark [10-12], hvoraf de 13 er etableret på Rigshospitalet med resten fordelt på Odense Universitetshospital og den private IVF-klinik Ciconia i Århus.

Vævstypemorfologisk forlignelse

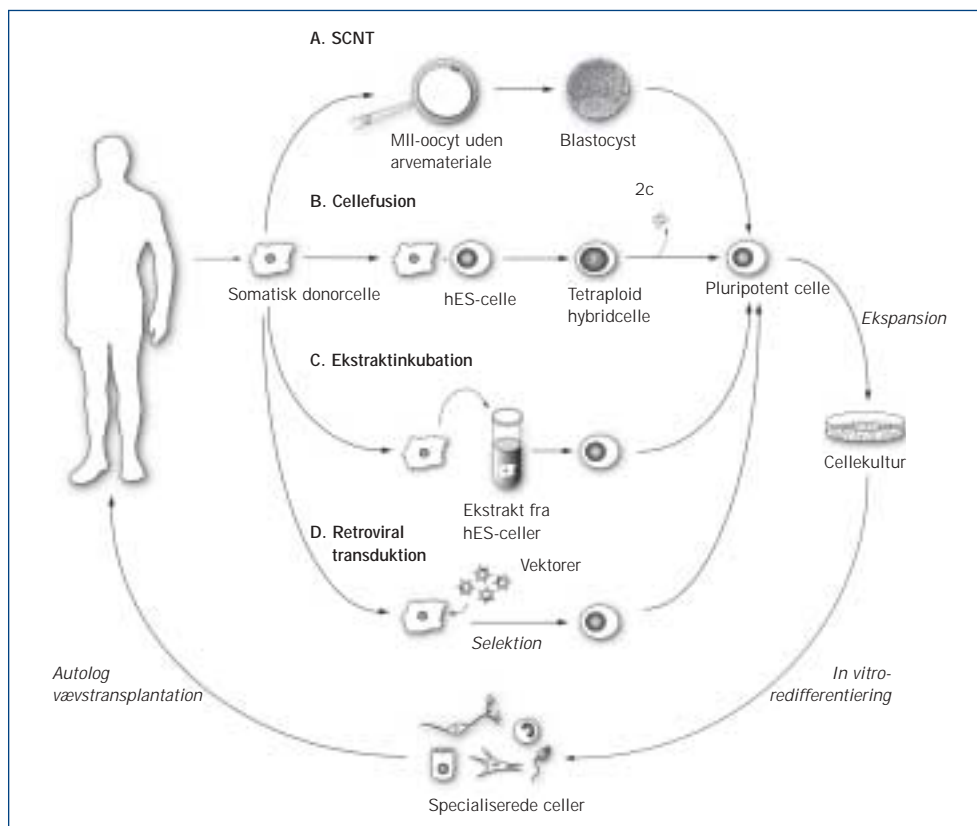
Da hES-celler er af embryonal oprindelse, vil de have en genotype, som er identisk med den oprindelige zygote, som



Figur 3. Immuncytokemiske analyser af gængse markører for humane embryonale stam (hES)-celler (OCT4, SSEA-3, SSEA-4, TRA-1-60, TRA-1-81) samt lamin A/C, som er en markør for differentierede celler. Markørerne er visualiseret ved hjælp af fluoresceinkonjugerede sekundære antistoffer (grøn/turkis). Cellerne er endvidere kontrastfarvet for cellekerner (blå) og cytoskelet (rød). Omkring hES-cellerne ses humane dermale fibroblaster, der hyppigt anvendes som *feeder*-celler.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

Figur 4. Fire aktuelle metoder til fremstilling af humane autologe pluripotente stamceller: SCNT eller »terapeutisk kloning« (A), cellefusion (B), celleekstraktinkubation (C) og retroviral transfektion (D). Alle fire metoder sigter mod at danne hES-celler eller hES-lignende celler, som efter veletablerede dyrkningsprotokoller kan re-differentieres til den ønskede målcelle, som patienten måtte have brug for. c = monoploidt kromosomantal; hES = human embryonal stem-; MII = meta-fase II; SCNT = somatisk cellekernetransplantation.



embryonet dannedes fra. Specialiserede celler differentieret fra hES-celler vil derfor også udtrykke embryonets vævstypeprofil og vil dermed kunne give anledning til host vs graftreaktion ved allogen transplantation [13]. Risikoen for en sådan afstødning er den største hindring for klinisk anvendelse af specialiserede celler deriveret fra eksisterende hES-cellelinjer. Der er derfor blevet foreslået forskellige metoder til at omgå inkompatibilitet mellem donorceller og recipient, f.eks. ved dannelse af en universel hES-cellelinje med blokeret ekspresion af humant leukocyt-antigen (HLA)-klasse I-overflademarkører. Forsøg med mus har dog vist, at donorvæv fra HLA^{-/-} individer afstødes af recipienterne med samme frekvens som hos vildtypekontrollerne [14], og fraværet af HLA-molekyler kan endvidere føre til viral replikation, tumordannelse og angreb fra *natural killer*-celler [15]. Det har også været foreslået at skabe en vævsbank bestående af forskellige hES-cellelinjer med passende HLA-diversitet [16], og f.eks. er det svenske biotekfirma Cellartis påbegyndt etablering af en hES-cellefabrik i Skotland mhp. produktion af klinisk anvendelige hES-celler med diverse HLA-haplotyper. På grund af mulighed for resterende HLA-*mismatches* samt uoverensstemmelser i *minor histocompatibility antigen*-systemet [17] kan supplerende immunsuppressiv terapi dog stadig være nødvendig, hvilket kan føre til bivirkninger som infektion og malignitet [18, 19]. Den ideelle klinisk anvendelige hES-cellelinje bør derfor være immunologisk identisk (autolog) med recipienten.

Derfor er der på det seneste rettet øget fokus mod at frembringe sådanne autologe pluripotente stamceller vha. direkte reprogrammering af donors egne somatiske celler [20]. Især fire strategier har gjort sig bemærket: somatisk cellekernetransplantation (SCNT), cellefusion, celleekstraktinkubation og retroviral transduktion (**Figur 4**).

Ved SCNT (»terapeutisk kloning«) injiceres en cellekerne fra en differentieret donorpatientcelle ind i en MII-oocyt, som er blevet tømt for sit eget DNA. Dernæst aktiveres den frembragte »zygote« vha. en svag elektrisk strøm, hvorved MII-oocytten »narres« til at tro, at den er blevet befrugtet og begynder at reprogrammere det fremmede somatiske genom. I princippet er et individ således dannet – genetisk identisk med donor. De ansvarlige reprogrammerende faktorer i MII-oocytens cytoplasma er stort set ukendte, men der udtrykkes adskillige faktorer af betydning for den såkaldte epigenetiske regulering [21]. Det har derfor været nærliggende at forsøge at frembringe klonede humane embryoner mhp. at danne hES-celler, der er genetisk og immunologisk identiske med donor (Figur 4A). I praksis har det dog hidtil vist sig at være overordentlig vanskeligt at foretage terapeutisk kloning med human væv. En sydkoreansk forskergruppes højt profilerede succes med at danne donorspecifikke hES-celler [22, 23] viste sig siden hen at være helt igennem uretlig. Endvidere viste det sig, at der var anvendt langt flere humane oocytter (>2.000) til kloningsforsøgene end oprindelig rapporteret.

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

Andre grupper har forsøgt at foretage SCNT med humane celler på oocytter fra pattedyr for at omgå manglen på done-rede humane oocytter [24], men validiteten og ikke mindst de etiske aspekter af forsøgene er stærkt omdiskuterede. Efter utallige forsøg er det for nylig lykkedes at frembringe de første klonede ES-celler fra primater vha. af en ny og særlig skånsom kloningsteknik [25], hvorved sandsynligheden for at frembringe klonede hES-celler er steget betragteligt.

En alternativ metode til at frembringe autologe hES-celler er forsøgt med fusion af hES-celler med somatiske celler (Figur 4B). hES-celler er med held fusioneret med bl.a. fibroblaster, hvilket resulterede i en reaktivering af hES-cellespecifikke gener i fibroblastgenomet samtidig med en nedregulering af fibroblastmarkører [26]. Den fremkomne hybridcelle udviser en pluripotent fænotype, både hvad angår morfologi, vækst og overflademarkører, og er sågar i stand til at danne teratomer og embryoide legemer. En tetraploid celle fremkommet ved fusion mellem to diploide celler er dog helt udelukket fra at kunne anvendes i klinisk øjemed grundet den overhængende risiko for kromosomanomalier og tumorigenicitet. Forsøg har været gjort for at fjerne det overskydende genom fra den oprindelige hES-celle-fusionspartner, blandt andet vha. sofistikerede centrifugeringsregimener [27], men en tilfredsstillende løsning lader stadig vente på sig.

I en anden tilgang benytter man sig af transient inkubation af somatiske celler i heterologe celleekstrakter. Ved ekstrakt-induceret reprogrammering udsættes en given somatisk donorcelle kortvarigt for en detergent, som i svage doser danner porer i cellemembranen, hvilket gør den reversibelt permeabel for makromolekyler inkl. proteiner. Dernæst inkuberes donorcellen i et celleekstrakt udvundet fra den ønskede målcelle, og cellemembranen lukkes og restitueres ved efterfølgende celledyrkning (Figur 4C). Det antages, at donorcellespecifikke transkriptionsfaktorer i cellekernen erstattes af heterologe transkriptionsfaktorer fra celleekstraktet under inkubationsfasen, således at cellens epigenetiske profil og dermed fænotype ændres i retning mod målcellens, hvorimod selve arvemassen forbliver uændret. I forsøg på egentlig dedifferentiering og reprogrammering af somatiske celler vha. ekstrakter fra en pluripotent cellelinje, er opregulering af bl.a. OCT4 observeret [28, 29]. Effektiviteten og varigheden af reprogrammeringen synes dog indtil videre at være begrænset, og en lang række eksperimentelle forhold kan optimeres.

Med udgangspunkt i 24 gener relateret til cellevækst og pluripotens har man i nylige forsøg med retroviral transduktion identificeret en kernegruppe på fire gener (*Oct4*, *Sox2*, *Klf4*, *c-Myc*), der synes at være tilstrækkelige for udvikling af pluripotens [30, 31]. Humane fibroblaster transduceret med disse fire gener (såkaldte *induced pluripotent stem* (iPS)-celler) viste tegn på dedifferentiering med udtryk af hES-markører, høj telomeraseaktivitet, dannelse af embryoide legemer in vitro og teratomer in vivo (Figur 4D) [31]. Kun en mindre del af de eksponerede fibroblaster, som udtrykte de fire gener, dedifferentie-

redes til iPS-celler, hvilket bl.a. kan skyldes at den ektopiske ekspression af disse fire gener måske skal være nøje koordineret. Til forskel fra de andre tre metoder er iPS-celler baseret på transduktion, hvorved ikke kun det epigenetiske reguleringsniveau berøres, men også selve genomet ændres, hvilket indtil videre udelukker klinisk anvendelse hos mennesker.

Andre udfordringer

Det har vist sig, at hES-celler ved standarddyrkningsbetingelser optager og udtrykker immunogent materiale fra murine fibroblaster-*feeder*-celler [32]. Endvidere ses der også ofte genetiske anomalier opstået i hES-celler efter længere tids dyrkning [33], og karakteren af anomalierne afspejler ændringer observeret i visse humane cancerformer. Dette vil der dog formentlig kunne screenes og selekteres for, idet det har vist sig, at overflademarkøren CD30 er associeret med transformation af hES-cellelinjer [34]. En klinisk acceptabel transplantation af specialiserede celler differentieret fra hES-celler, som skal leve op til *good manufacturing practice*- og *good clinical practice*-krav, må således være forudgået af dyrkning på en ikkeanimalsk deriveteret matrice og i et komplet kemisk defineret dyrkningsmedium baseret udelukkende på humane proteiner.

Konklusion

Celler udviklet fra embryonale stamceller er i dyremodeller påvist at besidde et stort terapeutisk potentiale til behandling af en lang række celledegenerative sygdomme, som i dag kun kan behandles palliativt eller symptomatisk. F.eks. har man i forsøg med rotter således påvist, at behandling med motoriske neuroner deriveteret fra murine embryonale stamceller kan

Faktaboks

Humane embryonale stamceller er pluripotente og kan differentieres til en lang række af de specialiserede cellyper, som den humane krop består af

Cellerne spås et enormt terapeutisk potentiale ved den fremtidige behandling af en lang række celledegenerative sygdomme og tilstande

Humane embryonale stamceller dannes fra overskudsembrioner doneret af patienter i behandling med kunstig befrugtning

For tiden forskes der intensivt i frembringelsen af humane embryonale stamceller eller pluripotente stamceller, som er immunologisk kompatible med recipienten, for at undgå afstødning

Før humane embryonale stamceller vil kunne anvendes klinisk, bør problemer af sikkerhedsmæssig karakter løses, herunder risikoen for overførsel af patogener fra dyr og risikoen for tumordannelse

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

medføre regeneration af selektivt læderet ventral medulla spinalis og reducere graden af paralysis betragteligt [35].

Stamcelleforskningen nyder stor opmærksomhed i disse år, og politiske beslutningstagere i en række lande og amerikanske forbundsstater har da også valgt at investere enorme summer i dette forskningsområde. Imidlertid er der som skitseret stadig en række udfordringer, som skal løses på tilfredsstillende vis. Når og hvis dette sker, vil der til gengæld åbne sig uanede perspektiver for den regenerative medicin til gavn for millioner af patienter verden over.

Korrespondance: *Roberto S. Oliveri*, Reproduktionsbiologisk Laboratorium 5712, Juliane Marie Centret, Rigshospitalet, DK-2100 København Ø.
E-mail: oliveri@rh.dk

Antaget: 7. januar 2008
Interessekonflikter: Ingen

Taksigelse: Læge *Martin Hutchings* takkes for gennemlæsning af manuskriptet.

Litteratur

- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998;282:1145-7.
- Zhang SC, Wernig M, Duncan ID et al. In vitro differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2001;19:1129-33.
- Mummery C, Ward D, van den Brink CE et al. Cardiomyocyte differentiation of mouse and human embryonic stem cells. *J Anat* 2002;200:233-42.
- Bielby RC, Boccaccini AR, Polak JM et al. In vitro differentiation and in vivo mineralization of osteogenic cells derived from human embryonic stem cells. *Tissue Eng* 2004;10:1518-25.
- Agarwal S, Holton KL, Lanza R. Efficient differentiation of functional hepatocytes from human embryonic stem cells. *Stem Cells* 2008 (i trykken).
- Lund RD, Wang S, Klimanskaya I et al. Human embryonic stem cell-derived cells rescue visual function in dystrophic RCS rats. *Cloning Stem Cells* 2006;8:189-99.
- Glaser T, Perez-Bouza A, Klein K et al. Generation of purified oligodendrocyte progenitors from embryonic stem cells. *FASEB J* 2005;19:112-4.
- Nayernia K, Nolte J, Michelmann HW et al. In vitro-differentiated embryonic stem cells give rise to male gametes that can generate offspring mice. *Dev Cell* 2006;11:125-32.
- Ramalho-Santos M, Willenbring H. On the origin of the term "stem cell". *Cell Stem Cell* 2007;1:35-8.
- Lysdahl H, Gabrielsen A, Minger SL et al. Derivation and characterization of four new human embryonic stem cell lines: the Danish experience. *Reprod Biomed Online* 2006;12:119-26.
- Laursen SB, Møllgaard K, Olesen C et al. Regional differences in expression of specific markers for human embryonic stem cells. *Reprod Biomed Online* 2007;15:89-98.
- Frandsen U, Porneki AD, Floridon C et al. Activin B mediated induction of Pdx1 in human embryonic stem cell derived embryoid bodies. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;362:568-74.
- Grinnemo KH, Kumagai-Braesch M, Mansson-Broberg A et al. Human embryonic stem cells are immunogenic in allogeneic and xenogeneic settings. *Reprod Biomed Online* 2006;13:712-24.
- Grusby MJ, Auchincloss H, Jr., Lee R et al. Mice lacking major histocompatibility complex class I and class II molecules. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:3913-7.
- Bradley JA, Bolton EM, Pedersen RA. Stem cell medicine encounters the immune system. *Nat Rev Immunol* 2002;2:859-71.
- Taylor CJ, Bolton EM, Pocock S et al. Banking on human embryonic stem cells: estimating the number of donor cell lines needed for HLA matching. *Lancet* 2005;366:2019-25.
- Fairchild PJ, Robertson NJ, Minger SL et al. Embryonic stem cells: protecting pluripotency from alloreactivity. *Curr Opin Immunol* 2007;19:596-602.
- Fishman JA, Rubin RH. Infection in organ-transplant recipients. *N Engl J Med* 1998;338:1741-51.
- Euvrard S, Kanitakis J, Claudy A. Skin cancers after organ transplantation. *N Engl J Med* 2003;348:1681-91.
- Oliveri RS. Epigenetic dedifferentiation of somatic cells into pluripotency: cellular alchemy in the age of regenerative medicine? *Regen Med* 2007;2:795-816.
- Oliveri RS, Kalisz M, Schjerling CK et al. Evaluation in mammalian oocytes of gene transcripts linked to epigenetic reprogramming. *Reproduction* 2007;134:549-58.
- Hwang WS, Ryu YJ, Park JH et al. Evidence of a pluripotent human embryonic stem cell line derived from a cloned blastocyst. *Science* 2004;303:1669-74.
- Hwang WS, Roh SI, Lee BC et al. Patient-specific embryonic stem cells derived from human SCNT blastocysts. *Science* 2005;308:1777-83.
- Chen Y, He ZX, Liu A et al. Embryonic stem cells generated by nuclear transfer of human somatic nuclei into rabbit oocytes. *Cell Res* 2003;13:251-63.
- Byrne JA, Pedersen DA, Clepper LL et al. Producing primate embryonic stem cells by somatic cell nuclear transfer. *Nature* 2007;450:497-502.
- Cowan CA, Atienza J, Melton DA et al. Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells. *Science* 2005;309:1369-73.
- Pralong D, Mrozik K, Occhiodoro F et al. A novel method for somatic cell nuclear transfer to mouse embryonic stem cells. *Cloning Stem Cells* 2005;7:265-71.
- Taranger CK, Noer A, Sorensen AL et al. Induction of dedifferentiation, genome-wide transcriptional programming, and epigenetic reprogramming by extracts of carcinoma and embryonic stem cells. *Mol Biol Cell* 2005;16:5719-35.
- Freberg CT, Dahl JA, Timoskainen S et al. Epigenetic reprogramming of OCT4 and NANOG regulatory regions by embryonal carcinoma cell extract. *Mol Biol Cell* 2007;18:1543-53.
- Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006;126:663-76.
- Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007;131:861-72.
- Martin MJ, Wuotri A, Gage F et al. Human embryonic stem cells express an immunogenic nonhuman sialic acid. *Nat Med* 2005;11:228-32.
- Maitra A, Arking DE, Shivapurkar N et al. Genomic alterations in cultured human embryonic stem cells. *Nat Genet* 2005;37:1099-103.
- Herszfeld D, Wolvetang E, Langton-Bunker E et al. CD30 is a survival factor and a biomarker for transformed human pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol* 2006;24:351-7.
- Deshpande DM, Kim YS, Martinez T et al. Recovery from paralysis in adult rats using embryonic stem cells. *Ann Neurol* 2006;60:32-44.