

Stamceller

Stamceller er pluripotente celler med – i hvert fald teoretisk – uendelige muligheder i behandlingen af kroniske ofte invaliderende sygdomme. Som det fremgår af dette temanummer af Ugeskrift for Læger, er der dog fortsat mange åbne spørgsmål og uløste opgaver vedrørende vækstregulering og differentiering af stamceller, som skal løses, inden stamceller udgør en reel behandlingsmulighed.

De syv artikler opdaterer stamcellers poten-

tielle muligheder inden for onkologi, endokrinologi, kardiologi og neurologi. Selv om ovenstående problemer kan virke store, er det dog opløftende, at der inden for flere sygdomsgrupper er igangsat større kliniske humane studier, hvorfra resultaterne afventes med spænding.

God læselyst.

Tonny Jensen

Assisterende videnskabelig redaktør

Introduktion til stamcelleforskning

Ph.d.-studerende Pernille Linnert Jensen, forskningsassistent Johanne Press Wegeberg & professor Claus Yding Andersen

STATUSARTIKEL

Rigshospitalet,
Reproduktionsbiologisk
Laboratorium, Juliane
Marie Centret

På grund af deres store potentiale inden for sygdomsbehandling nyder stamceller stadig stigende opmærksomhed fra forskere og samfund verden over. Stamceller kan erstatte defekte eller manglende celler i menneskets krop, og dette åbner store muligheder inden for regenerativ medicin. Her spås cellerne i mange tilfælde at kunne kurere sygdomme og tilstande, som førhen kun har kunnet lindres og symptombehandles. Stamceller besidder evnen til at forny sig selv og samtidig give ophav til en, flere eller alle specialiserede celletyper i kroppen (henholdsvis monopotens, multipotens og pluripotens).

Der findes flere forskellige typer stamceller, og mange har relevans inden for sygdomsbehandling af mennesker. De mest anvendte i klinisk sammenhæng har indtil nu været de såkaldt voksne stamceller. Disse er dog begrænsede i deres potentiale til sygdomsbehandling, idet de normalt kun kan udvikle sig til få specifikke celletyper og har et begrænset vækstpotentiale.

Som alternativ til voksne stamceller findes de embryonale stamceller, som kan isoleres fra få dage gamle befrugtede æg (embryoner), der er i overskud efter fertilitetsbehandling. Disse celler kan udvikle sig til alle celletyper i kroppen og kan dele sig nærmest uendeligt. Til gengæld kan det være vanskeligt at styre både den retning cellerne udvikler sig i og deres uendelige vækstpotentiale.

En ny metode til at overkomme en del af voksne og embryonale stamcellers begrænsninger er den såkaldte »inducerede pluripotens«, ved hvilken en patients egne somatiske celler kan reprogrammeres til celler med samme egenskaber som embryonale stamceller. Denne nye metode skaber uanede muligheder inden for regenerativ medicin, blandt andet fordi patienten selv kan tilvejebringe stamceller til sin behandling.

VOKSNE STAMCELLER

I stort set alle væv og organer i menneskekroppen findes der nicher af voksne stamceller, som varetager den vigtige opgave at erstatte nedslidte og døde celler og derved sikre et fuldt funktionelt væv livet igennem. De voksne stamceller, der også kaldes adulte, somatiske eller vævsafledte stamceller, er ikke endeligt specialiserede celler, men heller ikke helt uspecialiserede som de embryonale stamceller. De besidder til gengæld et større vækst- og specialiseringspotentiale end de somatiske celler, der normalt udgør den funktionelle del af et organ. Koncentrationen, mængden og distributionen af de voksne stamceller afhænger af det naturlige behov i det specifikke organ, hvor cellefornyelsen og reparationen foregår. For eksempel erstattes tarmslimhindens celler hver syvende dag, og blodceller har en levetid på mellem en uge og hundrede dage. Nerveceller udskiftes derimod sjæl-

dent, og derfor er tætheden af nervestamceller ofte lav. De voksne stamceller kan isoleres fra forskellige kilder. Knoglemarven og navlestrengen er de mest anvendte. Begge disse kilder indeholder bloddannende (hæmatopoetiske) stamceller og mesenkymale stamceller (se litteraturgennemgang [1]). Blodstamceller er længe blevet anvendt til behandling af sygdomme i blodet såsom leukæmi, hvor patientens kræftramte blodceller dræbes ved kemoterapi. Dernæst tilføres raske blodstamceller fra en donor, og disse vil så kunne gendanne patientens knoglemarv. Patienterne vil efter transplantationen med de fremmede celler desværre typisk have behov for livslang behandling med immunsuppressiv medicin [2].

De mesenkymale stamceller fra knoglemarven og navlestrengen kan udvikle sig til bruskceller, knogleceller, muskelceller, fedtceller og blodkarceller. Disse celletyper kan for eksempel bruges i behandlingen af forskellige sportsskader og andre traumer i brusk, knogler og muskler. Også forskellige hjertesygdomme behandles forsøgsvis med voksne stamceller [3].

EMBRYONALE STAMCELLER

Humane embryonale stamceller (hESC) er selvfornende, uspecialiserede celler fra det tidlige embryon. Cellerne er unikke, fordi de er pluripotente og dermed besidder potentialet til at danne alle celler og væv i et nyt individ.

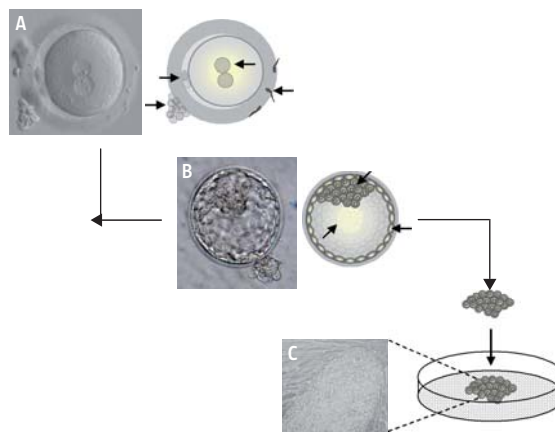
Når et embryon er 5-7 dage gammelt, befinder det sig normalt på blastocyststadiet, og herfra kan den indre cellemasse isoleres under mikroskop (Figur 1). I alt 50 til 100 celler overføres til dyrkning på et understøttende lag af humane bindevævsceller. Der anvendes et dyrkningsmedium med næring og vækstfaktorer, der kan holde hESC uspecialiserede. Dyrkningen foregår ved 37 °C i en atmosfære, der sikrer cellernes fysiologiske forhold. Med lidt held og tålmodighed opstår en ny stamcellelinje på denne måde, uden vi kender den direkte mekanisme [4].

I laboratoriet kan hESC holdes i dette uspecialiserede stadie og dyrkes på ubestemt tid. Evnen til at kunne dele sig nærmest uendeligt skyldes blandt andet enzymet telomerase, som konstant er aktiveret i hESC, og som sikrer, at DNA'ets længde forbliver intakt efter mange celledelinger. Dermed forhindres den molekylære ældning af cellerne, og dermed bliver det muligt at opnå det store antal af celler, som vil være nødvendigt i mulige terapeutiske anvendelser.

I kultur kan hESC specialisere sig spontant og tilfældigt, men det er også muligt at opnå specifikke celletyper ved dirigeret differentiering, hvor cellerne stimuleres til at udvikle sig i en ønsket retning (se litteraturgennemgang [5]). Eksempler på celler, der er

FIGUR 1

Isolering af humane embryonale stamceller fra befrugtede æg. **A.** Ægcellen kort efter befrugtning. Uden for det befrugtede æg ses rester af cumulusceller (støtteceller). På venstre side af det befrugtede æg ses pollegemerne (overskydende DNA fra reduktionsdeling), og på højre side ses overskydende sædceller. I midten ses de to pronuclei, umiddelbart inden de smelter sammen og danner en ny kerne. **B.** Fem til syv dage efter befrugtningen kaldes det befrugtede æg en blastocyst. Øverst ses den indre cellemasse: den del af blastocysten, der skaber det nye individ. Trofoblasterne (det ydre celleglag) bliver til moderkage og fosterhinde. Derudover ses blastocoellet, som er det væskefyldte hulrum inden i blastocysten. **C.** For at skabe en embryonal stamcellelinje isoleres den indre cellemasse, hvorefter den overføres til en dyrkningskål med dyrkningsmedie og humane bindevævsceller, der fungerer som et understøttende celleglag for stamcellerne.



fremstillet fra hESC i kultur, er nerveceller, hjerte-celler, insulinproducerende celler, bruskceller, leverceller, knogleceller og celler fra øjets nethinde. Der er dog endnu lang vej til, at alle kroppens celletyper kan dannes på denne måde i ensartede kulturer, der er velegnede til behandling. Der er til gengæld håb om at kunne bruge celler, der er afledt fra hESC i regenerativ medicin til behandling af neurodegenerative sygdomme som Alzheimers sygdom, Parkinsons syge og multipel sklerose, samt sygdomme som kræft, sukkersyge og rygmarsvlæsioner.

På verdensplan er det dog endnu kun det amerikanske firma Geron, der efter lovende forsøg på rotter har fået tilladelse til at indlede kliniske fase 1-forsøg med hESC-afledte nerveceller. hESC-afledte nerveceller blev transplanteret til skadesstedet på rotter med brækket nakke, og resultatet var genetableret førlighed og følsomhed hos rotten. Grunden til, at det har været så svært at få tilladelse til at anvende hESC til kliniske forsøg, er bl.a. frygten for, at de afledte kulturer kan indeholde rester af uspecialiserede celler, som stadig kan dele sig uendeligt og tilfældigt og dermed skabe tumorer, der indeholder for-



TABEL 1

Fordele og ulemper ved forskellige typer stamceller

	Fordele	Ulemper
Voksne stamceller	Immunrespons kan undgås eller mindskes Mindre risiko for dannelse af kræftknuder Flere kilder til celler	Kan ikke dele sig uendeligt Problemer med at skaffe celler nok Kan kun give ophav til få celletyper Cellerne kan reintroducere den sygdom, man vil behandle
Embryonale stamceller	Kan blive til alle celletyper i menneskekroppen Mange celler kan skabes relativt hurtigt	Risiko for immunrespons Risiko for udvikling af kræftknuder i patienten Svært at skabe rene kulturer med de ønskede celletyper Ethiske overvejelser – destruktions af et embryo
Induceret pluripotente stamceller	Intet immunrespons Patienten kan få celler fra sin egen krop Mulighed for at teste patientspecifik medicin	Mangel på erfaring og viden om cellerne Cellerne kan reintroducere sygdommen, der behandles Svært at skabe rene kulturer med de ønskede celletyper

skellige celletyper (teratomer) i patienten. Desuden oprinder hver hESC-linje fra et enkelt befrugtet æg og udtrykker derfor en specifik vævs- og blodtype, som kan skabe immuninkompatibilitet og vævsafstødning i fremtidige patienter. Meget forskning pågår derfor omkring sikkerheden i anvendelsen af disse celler, og det antages derfor, at der vil gå en del år, før regenerativ behandling med celler, der er afledt fra hESC, bliver almindelig på danske hospitaler.

INDUCERET PLURIPOTENS

I 2007 blev det første gang vist på mennesker, at man kan bringe voksne somatiske celler tilbage til det tidligste uspecialiserede stadie (svarende til hESC) ved at indføre fire vigtige stamcellegener Oct4, Sox2, Klf4 og c-Myc i cellerne og dermed iværksætte en genetisk reprogrammering [6]. Disse uspecialiserede celler ligner til forveksling hESC og kaldes humane inducerede pluripotente stamceller (iPSC). Det banebrydende ved disse celler er, at de kan udvikles fra en specifik patients egne somatiske celler og dernæst kan udvikle sig til alle celletyper i menneskekroppen ligesom hESC. Man kan altså »spole« kroppens voksne celler tilbage i laboratoriet og dernæst vælge, hvilke celletyper de i stedet skal udvikle sig til.

I øjeblikket er en række metoder under udvikling til at danne iPSC ud fra somatiske celler – de tidlige systemer anvendte vira (lentivirus, adenovirus eller retrovirus) til overførelsen af gener, og der er tillige anvendt små proteiner eller kemiske molekyler til at reprogrammere cellerne. Den nyeste og mest lovende model inden for induceret pluripotens er den såkaldte *piggyBac*-model, hvor et mobilt genetisk element integreres i værtscellens genom uden brug af virusinfektion. Når cellerne så er reprogrammeret, kan dette element fjernes igen, således at cellerne bevarer det nye uspecialiserede stadie uden at bære spor efter den genetiske modifikation [7]. Hermed omgås to af de store udfordringer, denne nye tekno-

logi har mødt – nemlig de ukendte konsekvenser ved brug af virusinfektioner og den langvarige genetiske modificering (se litteraturgennemgang [8]).

Selv om den nye iPSC-teknologi er i hastig udvikling, er de omprogrammerede celler endnu ikke godt karakteriseret. iPSC er formodentlig ikke helt lig de uspecialiserede hESC, der er udviklet fra embryoner, og det er endnu uvist, om iPSC besidder uheldige egenskaber, der kan skade en mulig fremtidig patient. Der er eksempelvis rejst berettiget bekymring for, at iPSC kan være genetisk ustabile og derfor være forbundet med en øget kræftisiko. iPSC-teknologien



STAMCELLER I TAL

1958 var året, i hvilket de første knoglemarvstransplantationer (med voksne stamceller) blev udført.

50 knoglemarvstransplantationer gennemføres hvert år i Danmark.

350 centre i Europa udfører 18.000 knoglemarvstransplantationer hvert år.

210 forskellige celletyper findes i menneskets krop.

210 celletyper kan principielt skabes fra humane embryonale stamceller (hESC).

1998 var året, i hvilket den første hESC-linje blev isoleret i USA.

1.071 hESC-linjer eksisterede på verdensplan i 2009.

33 hESC-linjer eksisterer i Danmark.

1 klinisk studie er sat i gang med celler, der er afledt fra hESC.

3 års erfaring har man med induceret pluripotens hos mennesker.

3 mia. USD har Californien investeret i stamcelleforskning (2004-2014).

65 mio. DKK har den danske regering sat af til stamcelleforskning til de næste fem år.

242.309 artikler fremkommer på pubmed.org ved søgning på *stem cell*.

19,4 mio. hits på google.com med søgeordet *stem cell*.

er således både spændende og lovende, men der skal stadig en stor grundforskningsindsats til, før det kan komme på tale med kliniske forsøg, og behandling med iPSC ligger således stadig en del år ude i fremtiden [9]. I mellemtiden kan man til gengæld forestille sig, at iPSC kan anvendes til at udvikle og teste medicin til specifikke patienter. Eksempelvis kan der skabes cardiomyocytter ud fra en hjertepatientens hudceller, og derved kan der dannes celler til forsøg i laboratoriet. Denne type forsøg kan give ny information om specifikke sygdomme på celleniveau samt forbedre eksisterende behandlingsformer. Derudover følger mange nye muligheder for grundforskning i cellebiologi og sygdomsforståelse i kølvandet på udviklingen af den inducerede pluripotens.

Samlet set er stamcelleforskningen et spændende felt, der er i rivende udvikling, og som i fremtiden med stor sandsynlighed vil resultere i nye behandlingsformer til mange patienter verden over. I stedet for symptombehandling vil der sandsynligvis komme kure til mange sygdomme og skader, der i dag dårligt lader sig behandle. Selv om der næppe er tvivl om, at

stamceller vil revolutionere mange sygdommes behandling i fremtiden, fordres der tålmodighed hos patienter og læger, før disse nye koncepter udvikles, og vi kan se cellernes fulde potentiale udfolde sig (Tabel 1).

KORRESPONDANCE: Claus Yding Andersen, Reproduktionsbiologisk Laboratorium, Afsnit 5712, Rigshospitalet, 2100 København Ø. E-mail: yding@rh.dk

ANTAGET: 3. juni 2010

INTERESSEKONFLIKTER: Ingen

LITTERATUR

1. Kuci S, Kuci Z, Latifi-Pupovci H et al. Adult stem cells as an alternative source of multipotential (pluripotential) cells in regenerative medicine. *Curr Stem Cell Res Ther* 2009;4:107-17.
2. Brentjens RJ. Cellular therapies in acute lymphoblastic leukemia. *Curr Opin Mol Ther* 2009;11:375-82.
3. Abdallah BM, Kassem M. Human mesenchymal stem cells: from basic biology to clinical applications. *Gene Ther* 2008;15:109-16.
4. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998;282:1145-7.
5. Trounstein A. The production and directed differentiation of human embryonic stem cells. *Endocr Rev* 2006;27:208-19.
6. 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.
7. Wolftjen K, Michael IP, Mohseni P et al. PiggyBac transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells. *Nature* 2009;458:766-70.
8. Patel M, Yang S. Advances in reprogramming somatic cells to induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Rev* 2010, 25. marts (Epub ahead of print).
9. Robbins RD, Prasain N, Maier BF et al. Inducible pluripotent stem cells: not quite ready for prime time? *Curr Opin Organ Transplant* 2010;15:61-7.

Kræftstamceller i det hæmopoietiske system

Læge Thomas Urup, læge Gitte Madsen, stud.med. Sofie Hallager, cand.scient. Alexander Schmitz, cand.scient. Kirsten Fogd, cand.stat. Martin Bøgsted, cand.scient. Mette Nyegaard, cant.scient. Karen Dybkær Sørensen & professor Hans E. Johnsen

Konceptuelt er maligne sygdomme i det hæmopoietiske system afhængige af såkaldte kræft- eller cancer-stamceller (CSC), som ud over at initiere og forny også vedligeholder væksten af det syge væv. Dette blev oprindeligt beskrevet som *sleeper-feeder*-teorien [1].

Disse sygdomsinitierende cellers natur og biologi er fortsat ukendt, men det er åbenbart, at en identifikation og karakteristik af dem vil øge vores forståelse af den initiale maligne transformering, progression og spredning – hvilket vil have direkte eller indirekte indflydelse på valget af individualiseret målrettet terapi.

Fænomenologisk beskrives normale stamceller som lavfrekvente, selvfornyende og med potentiale til multilinjedifferentiering (Tabel 1).

Denne beskrivende definition synes ikke at dække CSC, idet de synes at være linjespecifikke og frekvente.

Det er vores opfattelse, at en forståelse af de normale stamcellers biologi kan give ny indsigt i cancer-

biologien og medvirke til at afdække stamcellefunktioner og karakterisere initiale, transformerende mutationer eller balancerede translokationer, som dysregulerer kræftstamcellens genetiske maskineri.

I denne statusartikel gives der først en beskrivelse af stamcellekonceptet og dets fænomenologi hos raske, og dernæst fokuseres der på konceptet for CSC ved leukæmi og myelomatose.

Slutteligt omtales det gennemgående begreb inden for stamcelleforskning *selvfornyelse*, som formentlig er den mekanisme, der forklarer, at størstedelen af kræftframte patienter recidiverer trods kemoterapi.

STAMCELLEKONCEPTET HOS RASKE OG VED KRÆFTSYGDOM

Den normale hæmopoietiske stamcelle

Regeneration af knoglemarv efter letal bestråling af mus gav de første indikationer af tilstedeværelsen af hæmopoietiske stamceller (HSC) [2]. Siden er eksistensen af et cellulært hierarki bestående af stam-

STATUSARTIKEL

Århus Universitets-hospital,
Aalborg Sygehus,
Hæmatologisk Afdeling