

Regenerative Medizin und stammzellbasierte Wirkstoffentwicklung

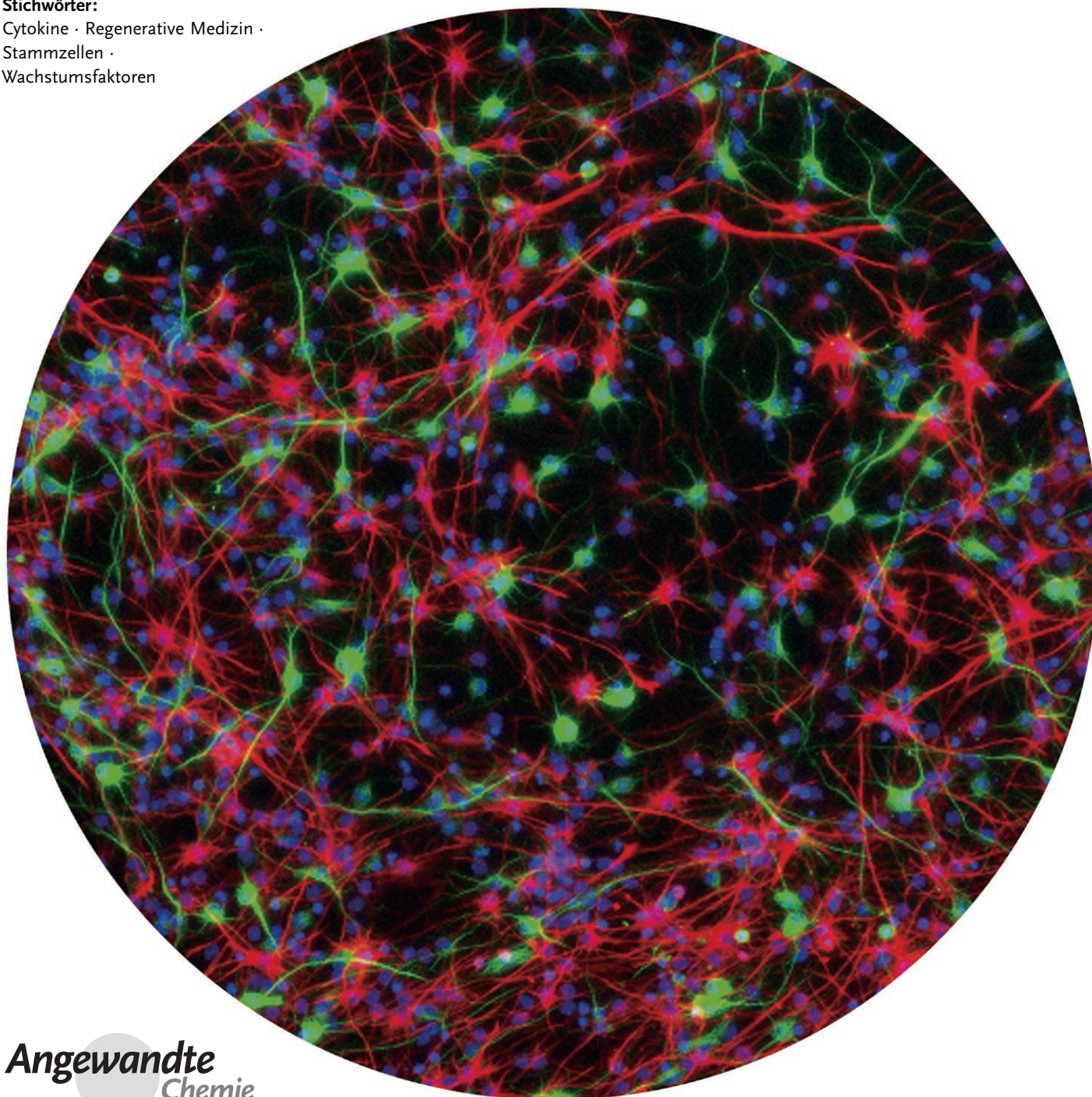
Kazuhiro Sakurada,* Fiona M. McDonald* und Fumiki Shimada*

Stichwörter:

Cytokine · Regenerative Medizin ·

Stammzellen ·

Wachstumsfaktoren



„Die ganze Welt ist Bühne,
Und alle Frau'n und Männer bloße Spieler.
Sie treten auf und gehen wieder ab;
...
Der letzte Akt, mit dem
Die seltsam wechselnde Geschichte schließt,
Ist zweite Kindheit, gänzlich Vergessen
Ohn' Augen, ohne Zahn, Geschmack und alles.“
(Wie es euch gefällt, 2. Aufzug, 7. Szene)

Wie es William Shakespeare so eindrucksvoll beschrieb, geht das Altern oft mit einem Verlust an Gewebe- und Organfunktionen einher. Mit steigender Lebenserwartung in vielen Ländern nimmt das Durchschnittsalter der Gesellschaft zu – und damit auch die Probleme durch altersbedingte Erkrankungen. Von der regenerativen Medizin erwartet man, dass sie als ein mächtiger Akteur in diesem Drama auftritt, und die Stammzelltechnologie ist vielleicht der Schlüssel zur Entwicklung innovativer Behandlungen von akuten und chronischen degenerativen Zuständen. In diesem Aufsatz werden die gegenwärtige Situation und einige Ausblicke in die Zukunft der regenerativen Medizin und der stammzellbasierten Wirkstoffentwicklung gegeben.

1. Einleitung

Das letzte Jahrhundert war von enormen Fortschritten in der Gesundheitsfürsorge und Medizin geprägt. Neben einigen Ausnahmen (z. B. Antibiotika) können viele der eingeführten Arzneimittel in zwei Klassen eingeteilt werden: solche mit symptomlindernder Wirkung und solche, die gegen asymptotische Zustände wirken, die Risikofaktoren für andere Erkrankungen darstellen (Bluthochdruck, Hyperlipidämie usw.). Trotz aller Fortschritte gibt es aber noch immer viele chronische degenerative Erkrankungen, für die keine angemessenen Behandlungsmöglichkeiten verfügbar sind. Zu den typischen Erscheinungsbildern solcher Krankheiten gehören Gewebeerstörung und Organversagen. Daneben gibt es noch viele andere Erkrankungen, die ebenfalls Gewebedegeneration und nachhaltige Organfunktionsstörungen verursachen und deren Häufigkeit mit dem Alter zunimmt; Beispiele sind Myokardinfarkt, Schlaganfall, Diabetes und Arthritis. Die regenerative Medizin ist eine neue medizinische Disziplin, deren Ziel die Wiederherstellung der Organfunktion nach Schädigung durch solche Erkrankungen ist.

2. Das therapeutische Konzept der regenerativen Medizin – früher und heute

Die Transplantation von Spendergeweben und -organen, z. B. von Nieren, ist ein etabliertes und meist sehr wirksames Verfahren zur Behandlung von Gewebeverletzungen und schwerem dauerhaftem Organversagen. Eine andere viel eingesetzte Therapie ist die Knochenmarkstransplantation,

um hämatopoetische Knochenmarkstammzellen (HSCs)^[**] bei Krankheiten des blutbildenden Systems und bei Krebs zu ersetzen. Haupthindernis in der Transplantationsmedizin ist der Mangel an transplantierbaren Organen, Geweben und Zellen. Vor diesem Hintergrund hat sich das ursprüngliche Konzept der regenerativen Medizin entwickelt: transplantierbares Material aus kultivierten humanen Stammzellen in vitro zu züchten. Diesen Bereich der regenerativen Medizin bezeichnet man gewöhnlich als „Zellersatztherapie“ oder „Stammzelltherapie“. Von den zahlreichen klinischen Tests, die hierfür durchgeführt wurden, sind einige in Tabelle 1 zusammengestellt. Die NIH-Datenbank für klinische Studien

Aus dem Inhalt

1. Einleitung	5803
2. Das therapeutische Konzept der regenerativen Medizin – früher und heute	5803
3. Die Biologie der Stammzellen	5805
4. Therapiefelder für die regenerative Medizin und stammzellbasierte Therapeutika	5809
5. Pharmakologische Ansätze für die regenerative Medizin und stammzellbasierte Therapeutika	5810
6. Translationale Medizin mit humanen pluripotenten Stammzellen	5819
7. Schlussfolgerungen	5819

[*] Dr. K. Sakurada, Dr. F. M. McDonald, Dr. F. Shimada
Bayer Yakuhin Research Center
BMA 3F, 1-5-5 Minatojima-minamimachi
Chuo-ku, Kobe 650-0047 (Japan)
Fax: (+81) 78-304-7242
E-Mail: kazuhiko.sakurada@gmail.com
fiona.mcdonald@bayerhealthcare.com
fumiki.shimada@bayerhealthcare.com

Dr. K. Sakurada
derzeitige Adresse:
iZumi Bio, Inc., 4th Floor
1650 Owens Street, San Francisco, CA 94158 (USA)

Dr. F. M. McDonald
derzeitige Adresse:
Bayer Schering Pharma AG
D-13342 Berlin (Deutschland)

Dr. F. Shimada
derzeitige Adresse:
Bayer Yakuhin Ltd., 6-64 Nishimiyahara 2-chome
Yodogawa-ku, Osaka 532-0004 (Japan)

[**] Eine Liste von Abkürzungen findet sich am Ende des Aufsatzes.

Tabelle 1: Zusammenstellung einiger klinischer Studien im Bereich der stammzellbasierten regenerativen Medizin.^[a]

Therapiefeld/Indikation	Unternehmen/Institution	Zellherkunft	Zelltyp	Entwicklungsphase
Hämatologie/Immunologie				
Blutkrebs	Gamida-Cell Ltd.	Nabelschnurblut	HCS	Phase II
GVHD	Osiris Therapeutics	Knochenmark	MSC	Phase III
Morbus Crohn	Osiris Therapeutics	Knochenmark	MSC	Phase III
Herz-Kreislauf				
AMI	Amorcyte Inc.	Knochenmark	CD34 + -Zellen	Phase I
AMI	Osiris Therapeutics	Knochenmark	MSC	Phase I
CHF/AMI	Angioblast Systems	Knochenmark	MPC	Phase I
chronische Myokard-Ischämie	Cytori Therapeutics	Fettgewebe	MSC	Phase I
chronische Myokard-Ischämie	Arteriocyte	Knochenmark	CD133 + -Zellen	Phase I
chronische Myokard-Ischämie/CHF	Mytogen Inc.	Skelettmuskel	Myoblasten	Phase I
chronische Myokard-Ischämie	Kobe IBRI	mobiliertes peripheres Blut	CD34 + -Zellen	Phase II
Herzinfarkt	Universität Rostock	Knochenmark	CD133 + -Zellen	Phase I/II
Angina pectoris	Baxter Healthcare Corp.	mobiliertes peripheres Blut	CD34 + -Zellen	Phase II
CHF	BioHeart Inc.	Skelettmuskel	Myoblasten	Phase II/III
AMI	Universität Frankfurt	Knochenmark	gemischte Vorläuferzellen	Phase III
PAOD/CLI	Universität Frankfurt	Knochenmark	gemischte Vorläuferzellen	Phase I/II
CLI	Kobe IBRI	mobiliertes peripheres Blut	CD34 + -Zellen	Phase I/II
PAOD/CLI	Aastrom Bioscience Inc.	Knochenmark	MSC	Phase IIb
Neurologie				
Dollinger-Bielschowsky-Syndrom	Stem Cells Inc.	Fötus	NSC	Phase I
Orthopädie				
Knochenregeneration	Aastrom Bioscience Inc.	Knochenmark	MSC	Phase III
Knorpelregeneration	Osiris Therapeutics	Knochenmark	MSC	Phase II

[a] Die Abkürzungen sind tabellarisch am Ende des Aufsatzes erklärt.

(www.clinicaltrial.gov) weist mehr als 700 aktive Tests von Stammzellverfahren aus.

Daneben gibt es zwei weitere wichtige Strömungen in der regenerativen Medizin: die Regenerationsinduktion und die Selbstheilungspotenzierung. Lange Zeit vermutete man, dass Organismen wie der Salamander den Schlüssel für die Induktion einer Regeneration beim Menschen bereithalten könnten. Diese Tiere können komplexe Strukturen, etwa ein vollständiges Bein, regenerieren, indem sie an der Wunde eine embryoähnliche Umgebung schaffen. So wurde vorgeschlagen: „Der allgemeine Ansatz der regenerativen Medizin sollte sein, die zellulären und molekularbiologischen Unterschiede zu identifizieren, durch die sich die Gewebeembryogenese von der Wundheilung (Narbenbildung) unterscheidet und dann eine solche embryoähnliche (regenerative) Umge-

bung im verletzten adulten Gewebe neu zu schaffen“.^[1] In den letzten zehn Jahren wurden allerdings keine nennenswerten Fortschritte bei der induzierten Regeneration komplexer Strukturen in Säugern erzielt.

Das dritte Konzept, die Selbstheilungspotenzierung, entstand aus der Untersuchung adulter Stammzellen (Gewebestammzellen) von Säugern. Die Lebensdauern individueller Zellen im menschlichen Körper (die sich je nach Gewebe unterscheiden) sind generell kürzer als die Lebensdauer des Gesamtorganismus. Daher müssen alte Zellen durch neue Zellen in einem Prozess ersetzt werden, der als proliferative Homöostase bezeichnet wird. Daneben können Zellen durch Verletzung oder Entzündung geschädigt werden; in diesem Falle tritt eine verletzungsinduzierte Zellgenese in Erscheinung. Adulte Stammzellen spielen in beiden Prozessen eine



Kazuhiro Sakurada, geboren in Okayama (Japan), studierte molekulare Genetik und promovierte 1993 an der Universität Osaka. Er war Mitarbeiter der Kyowa Hakko Kogyo Research Laboratories (ab 1988) und Gastwissenschaftler an der Kyoto University School of Medicine (1991–92) und am Salk Institute in La Jolla (1997–98). 2004 wechselte er zu Nihon Schering KK (einem Unternehmen der Schering AG, heute Bayer Schering Pharma AG), und er ist heute Leiter des Bayer Yakuin Research Center in Kobe. Seine Forschungen gelten der Entwicklung regenerativer Therapien für unheilbare Krankheiten.



Fiona McDonald studierte Pharmazie und promovierte 1980 in Pharmakologie an der University of Strathclyde, Glasgow. Nach einem Postdoc-Aufenthalt in der Abteilung für Angewandte Physiologie an der Universität zu Köln wechselte sie 1986 nach Berlin zur Schering AG (heute Bayer Schering Pharma AG). Gegenwärtig leitet sie die Abteilung Regenerative Pharmakologie am Bayer Yakuin Research Center in Kobe, Japan.

entscheidende Rolle. Die Funktion der Stammzellen bei der Entwicklung besteht darin, Gewebe und Organe nach strengen zeitlichen und räumlichen Mustern herzustellen. Entscheidend ist allerdings, dass die adulten Stammzellen nur eine bestimmte Zahl neuer Zellen erzeugen sollen, und dies nur bei Bedarf. Im Einklang mit diesem Konzept wurde gezeigt, dass sich die Funktion von Gewebestammzellen im adulten System und im Embryo unterscheidet. Diese Beobachtung deutete auch darauf hin, dass Säuger nur eine begrenzte Fähigkeit haben, komplexe Strukturen vollständig zu regenerieren – im Unterschied zu Salamandern und einigen anderen Amphibien und Wirbellosen. Dennoch sollten medizinische Interventionen, die die proliferative Homöostase und die verletzungsbedingte Zellgenese aktivieren können, prinzipiell die Behandlung menschlicher Krankheiten ermöglichen.

3. Die Biologie der Stammzellen

Bezogen auf ihre Herkunft kann man menschliche Stammzellensysteme in drei Gruppen einteilen: 1) Stammzellen aus fötalen Geweben und aus Embryos, 2) Stammzellen aus Nabelschnur und Plazenta und 3) Stammzellen aus adulten Keim- und somatischen Geweben. Alle drei Stammzellensysteme kommen als Zellquellen für eine Zellersatztherapie infrage. Darüber hinaus sind Stammzellen in adulten somatischen Geweben ein Interventionsort zur Potenzierung von Selbstheilungsprozessen. In diesem Abschnitt werden wir die Biologie solcher Stammzellensysteme zusammenfassen.

3.1. Stammzellen aus fötalen Geweben und Embryos

Menschliche pluripotente Stammzellen können aus menschlichen Blastocysten fünf Tage nach der In-vitro-Befruchtung oder von primitiven Keimzellen aus Embryonen 5 bis 9 Wochen nach der Befruchtung gewonnen werden; im ersten Fall handelt es sich um embryonale Stammzellen (ES-Zellen), im zweiten Fall um embryonale Keimzellen (EG-Zellen).^[2] ES-Zellen aus Mäusen wurden schon 1981 entwickelt, während über menschliche ES- und EG-Zellen erst 1998 publiziert wurde. Die Untersuchungen der letzten acht

bis zehn Jahre, die vornehmlich der Entwicklung von Zellen für künftige klinische Anwendungen galten, haben sich auf menschliche ES-Zellen konzentriert.

Allgemeine Kriterien für pluripotente ES- und EG-Zellen sind: 1) Sie stammen von Blastocysten oder primitiven Keimzellen ab; 2) sie behalten während der Vermehrung den normalen Karyotyp bei, sind unsterblich und können in einer sich selbst erneuernden Weise fortgepflanzt werden; 3) sie sind zur spontanen Differenzierung in außerembryonale Gewebe fähig und entwickeln sich zu allen drei embryonalen Keimblättern in vitro und (in Teratomen) in vivo; 4) sie können jeden Zelltyp des Körpers einschließlich Keimzellen bilden, wenn der Klon in einen Blastocysten transplantiert wird.^[2] Humane ES-Zellen und EG-Zellen erfüllen die ersten drei Kriterien. Aus ethischen Gründen kann das vierte Kriterium mit menschlichen ES-Zellen nicht getestet werden. Daher werden gegenwärtig menschliche Zellen als embryonale Stammzellen bezeichnet, wenn sie die anderen drei Kriterien erfüllen. In einer jüngsten Studie hat die Internationale Stammzell-Initiative 59 menschliche ES-Zelllinien aus 17 Laboratorien weltweit charakterisiert.^[3] Trotz der Unterschiede im genetischen Ursprung und der technischen Verfahren zur Etablierung und Haltung der Zelllinien wiesen sie alle ein ähnliches Expressionsmuster verschiedener ES-Zellmarker auf. Für die Anwendung menschlicher ES-Zellen in der Klinik ist es zwingend, gemeinsame Standards und Verfahren für die Qualitätskontrolle festzulegen. In diesem Zusammenhang ist die weitsichtige Identifizierung und Definition der Herkunft von ES-Zellen eine weitere wichtige Aufgabe, um die Konsistenz des Ausgangsmaterials sicherzustellen.

ES-Zellen des Menschen und der Maus verwenden unterschiedliche Signalwege, um ihre Pluripotenz aufrechtzuerhalten.^[4] ES-Zellen der Maus benötigen den Leukämiehemmenden Faktor (LIF) und den Wachstumsfaktor BMP (bone morphogenetic protein), während menschliche ES-Zellen z.B. Activin/Nodal und den Fibroblasten-Wachstumsfaktor (FGF) benötigen. Vor kurzem wurden pluripotente Stammzellen aus Mäuseepiblasten isoliert, die einige Unterschiede zu ES-Zellen der Maus, dafür aber Ähnlichkeiten mit menschlichen ES-Zellen zeigen.^[5] Pluripotente Mäusestammzellen aus Epiblastenzellen könnten als wichtiges Werkzeug dienen, um die Unterschiede zwischen murinen und humanen ES-Zellen aufzuspüren und festzustellen, ob diese vom Unterschied der Arten herrühren oder von Unterschieden in der z.B. zeitlichen Entwicklung der Zellen.

3.2. Stammzellen aus Nabelschnurblut und Plazenta

Nabelschnurblut, Nabelschnur, Plazenta, Fruchtblase und Fruchtwasser werden nach der Geburt im Allgemeinen verworfen, könnten aber eine wertvolle Quelle für Stamm- und Vorläuferzellen sein. Das Nabelschnurblut ist schon lange als Ausgangsmaterial für hämatopoetische Stammzellen bekannt und wird routinemäßig als Alternative zu Knochenmark verwendet, um Zellen für Transplantationen zur Behandlung von Erkrankungen des blutbildenden Systems zu gewinnen.^[6] Bei Verwendung von Nabelschnurblut treten ernste Trans-



Fumiki Shimada studierte Pharmazie an der Universität Teikyo und promovierte in molekularer Pharmakologie an der Kobe University Medical School. 1992 ging er zu Mitsui Pharmaceuticals, wo er an ZNS-Wirkstoffen arbeitete. 2001 trat er eine Stelle bei Nihon Schering KK an, in deren Rahmen er 2002–2003 bei Schering in Berlin im Bereich Neurobiologische Forschung arbeitete. 2004 wechselte er zum Nihon Schering Research Center in Kobe und wurde 2007 Leiter der stammzellbasierten Wirkstoffforschung der Bayer Schering Pharma AG. Sein gegenwärtiger Arbeitsschwerpunkt ist die regenerative Medizin.

planat-Wirt-Erkrankungen (graft vs. host disease) seltener auf, allerdings ist der Einsatz dieser Methode dadurch begrenzt, dass nur eine relativ geringe Zahl von Zellen aus der Nabelschnurvene isoliert werden kann.

Fruchtwasser und Plazenta enthalten beide eine heterogene Population von Vorläuferzellen, und die Plazenta spielt eine wichtige Rolle als blutbildendes Organ während der Embryogenese. Das Zellprofil des Fruchtwassers ändert sich, wenn während der Schwangerschaft Zellen aus Plazenta und Embryo hineingelangen. Von mehreren Arbeitsgruppen wurde herausgefunden, dass menschliche Plazenta und Fruchtwasser fibroblastenähnliche Zellen enthalten, die sich in viele Richtungen weiterdifferenzieren können.^[7a] Diese Zellen haben einige Eigenschaften mit mesenchymalen Stammzellen (MSCs) aus dem Knochenmark gemeinsam und können zur Differenzierung in mesenchymale Zellen, Neuronen und Hepatocyten angeregt werden.^[7b]

3.3. Stammzellen aus adultem Keimdrüsengewebe

Es ist allgemein bekannt, dass Keimbahn-Stammzellen (GSCs) in ausgereiften Hoden vorliegen und Spermatozoen produzieren.^[8] Dagegen vermutete man bei weiblichen Säugern, dass sie mit einer bestimmten Zahl von Oocyten geboren werden und dass ausgewachsene Weibchen keine GSCs besitzen. Diese Hypothese wurde aber durch den Befund infrage gestellt, dass neue Oocyten aus putativen GSCs aus Knochenmark und Eierstöcken gewonnen werden können.^[9] Dass aus dem Knochenmark stammende Zellen hierzu beitragen, wird wiederum von Eggen et al. angezweifelt,^[10] die keine Hinweise auf reife Oocyten aus dem Knochenmark fanden. Trotz der kontroversen Diskussionen wurde das Konzept der Oogenese im adulten Ovar allerdings nicht vollständig widerlegt.^[11]

Von GSCs aus adulten Mäusehoden wurde berichtet, dass sie die Eigenschaften von ES-Zellen annehmen, wenn man sie unter spezifischen Bedingungen kultiviert.^[12] Wenn ähnliche Stammzellen auch aus humanen GSCs gezüchtet werden können (wie dies bereits postuliert wurde^[13]), könnten sie eine mögliche Quelle für humane ES-ähnliche Zellen sein.

3.4. Stammzellen aus adulten somatischen Geweben

3.4.1. Gewebestammzellen

Adulte Gewebestammzellen und Vorläuferzellen werden für die proliferative Homöostase und die verletzungsinduzierte Zellentwicklung benötigt, und sie befinden sich in allen Geweben des menschlichen Körpers. Die Entwicklungsmöglichkeiten dieser Stammzellen sind im Allgemeinen auf die Erzeugung solcher Zellen beschränkt, die in diesem Gewebe vorkommen. Adulte Gewebestammzellen lassen sich in drei Kategorien aufteilen.^[14] Zur ersten Gruppe gehören Zellen

Tabelle 2: Gewebestammzellen/Vorläuferzellen im adulten menschlichen Organismus.

Gewebe	Stammzelle	Nische
Blut	hämatopoetische Stammzellen	Knochenmark
Darm	epitheliale Darmstammzellen	Darmkrypten
Haut/Haar	epidermale Stammzellen	Haarzwiebel
Leber	Ovalzellen	Gallenkanälchen
Pankreas	Pankreas-Vorläuferzellen	Pankreasgang
Skelettmuskel	Satellitenzellen	zwischen Sarkolemma und Basallamina
Gehirn	neuronale Stammzellen	subventrikuläre Zone und Gyrus dentatus
Herz	Herzvorläuferzellen	nicht bestimmt

mit hohem Durchsatz und hoher Regenerationsfähigkeit wie HSCs, Darmepithel-Stammzellen und epidermale Stammzellen. Die zweite Gruppe umfasst Zellen mit niedriger Teilungsrate, aber hoher Regenerationsfähigkeit wie die ovalen Leberzellen, Pankreas-Vorläuferzellen und Skelettmuskel-Satellitenzellen. In der dritten Gruppe finden sich Zellen mit niedriger Teilungsrate und niedrigem Regenerationspotential wie neuronale Stammzellen (NSCs)^[15] und Herzvorläuferzellen.^[16] Obwohl die physiologische Rolle adulter NSCs und Herzvorläuferzellen noch umstritten ist, haben verschiedene Untersuchungen proliferative Homöostase und verletzungsinduzierte Zellbildung in Gehirn und Herz gezeigt. Die am besten erforschten Zellen sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

3.4.2. Mesenchymale Stammzellen

Neben den Gewebestammzellen sind auch die mesenchymalen Stammzellen überall im Körper zu finden.^[17] Wenn Knochenmarkszellen auf Kunststoff in Medium kultiviert werden, das 10% Serum enthält, können MSCs als fibroblastische, kunststoffadhärente Zellen identifiziert werden.^[18] MSCs können nicht nur zu mesenchymalen Gewebezellen differenzieren (z. B. Adipocyten, Knochen, Muskeln, Knorpel und Bindegewebe), sondern auch zu nichtmesenchymalen Zellen wie Neuronen.^[19] MSCs wurden auch aus Gehirn, Milz, Leber, Niere, Lunge, Herz, Muskel, Thymus, Pankreas, Fettgewebe und Gefäßen isoliert und vermehrt, und es wurde die Vermutung geäußert, die ursprünglichen Stammzellen, aus denen sich die MSCs entwickelten, seien in einer perivaskulären Nische angesiedelt.^[17] Mesenchymale Stammzellen können sich an verletzten Stellen ansiedeln, sogar wenn sie (wie in einigen Untersuchungen gezeigt) intravenös injiziert werden,^[20] und dort die Geweberegeneration und Vaskularisierung fördern. Die Mechanismen sind zwar noch unklar, aber zahlreiche Experimente belegen die vielfachen Funktionen mesenchymaler Stammzellen in vivo, darunter die Differenzierung in somatische Zellen, die parakrine Aktivierung endogener Reparaturprozesse und die Fähigkeit zur Immunsuppression.

Trotz intensiver Forschung an MSCs sind noch immer Fragen offen über ihre entwicklungsabhängige Herkunft und das Verhalten in vivo. Einer verbreiteten Auffassung nach stammen MSCs aus dem Mesoderm. Eine aktuelle Untersuchung weist allerdings nach, dass die frühen MSCs aus dem Neuroepithelium und aus Zellen der Neuralleiste stammen.^[21] Außerdem gibt es in dieser Untersuchung Hinweise, dass die MSCs, die vom neuroepithelialen Entwicklungspfad

abgezweigt sind, diese Funktion nur vorübergehend ausfüllen und dann durch MSCs unbekannter Herkunft postnatal ersetzt werden. Die Hypothese, dass MSCs aus unterschiedlichen Quellen stammen und den Organismus in mehreren Wellen erreichen, stimmt mit dem Befund überein, dass sich MSCs überall aus dem Körper isolieren lassen. Vielleicht leiten sich einige adulte MSCs von adulten Neuralleisten-Stammzellen ab, die in mesenchymalen Geweben persistieren.^[22] Ließe sich die Herkunft der adulten MSCs klären, könnte man daraus vielleicht auch Rückschlüsse auf ihre physiologische Funktion ziehen.

Mithilfe unterschiedlicher Zellkulturbedingungen für MSCs ließ sich eine multipotente Stammzelle isolieren, die sich in Zellen aller drei Keimblätter differenzieren kann. Multipotente adulte Vorläuferzellen (MAPCs) waren die erste Population dieser Stammzellen mit dieser Fähigkeit.^[23] Sie wurden zuerst aus adultem Knochenmark gewonnen, anschließend auch aus Gehirn und Muskel. Eine andere Klasse dieser multipotenten Stammzellen mit der Fähigkeit, sich zu Zellen aller drei Keimblätter zu differenzieren, ist die aus Knochenmark isolierte MIAMI-Zelle (marrow-isolated adult multilineage inducible), die den MAPCs gleicht.^[24] Die Aufklärung der Herkunft adulter MSCs wird zeigen, ob multipotente Zellen mit dem Potential für drei Keimblätter im Organismus existieren oder ob der multipotente Phänotyp *in vitro* während des Kultivierungsprozesses erworben wird.

3.4.3. Zirkulierende Zellen aus dem Knochenmark, die zu Verletzungsstellen rekrutiert werden

An der Reparatur von Gewebeschäden sind neben den Gewebestammzellen viele verschiedene zirkulierende Zellen beteiligt, die dem Knochenmark entstammen. Die Mobilisierung erfolgt direkt oder indirekt durch Cytokine, die während einer verletzungsinduzierten Entzündung gebildet werden,^[25] oder durch Aktivierung sympathischer Neuronen.^[26] Die größte Population der durch Cytokinausschüttung rekrutierten Zellen besteht offenbar aus Monocyten/Makrophagen.^[27] Zur Gewebereparatur trägt allerdings eine spezifische Population von aus dem Blut stammenden CD34⁺/CD11b⁺-Zellen, den Fibrocyten, bei,^[28] entweder direkt durch Differenzierung zum erforderlichen Zelltyp^[29] oder durch Zellfusion.^[30]

Unter normalen Bedingungen kommen nur sehr wenige Knochenmarksstammzellen/Vorläuferzellen wie HSCs, endotheliale Vorläuferzellen (siehe Abschnitt 4.2) und MSCs im peripheren Blut vor. Diese Zellen werden durch Verletzung oder Entzündung mobilisiert, und obwohl ihre Gesamtzahl viel niedriger liegt als die der Makrophagen, könnten sie eine wichtige Rolle bei der Geweberegeneration spielen. HSCs können z.B. die Neuvaskularisierung an der Verletzungsstelle induzieren.^[31]

3.5. Fehlfunktion adulter Stammzellsysteme als Ursache für Gewebsdegeneration und Krebs

Monogeneisch mendelnde Krankheiten manifestieren sich meist in der Kindheit, während sich komplexe Erkrankungen meist erst im mittleren Alter bemerkbar machen und altersabhängig stärker werden. Diese komplexen Syndrome zeigen Fehlfunktionen bei der Zellbildung wie Atrophie, Dysplasie und Hyperplasie, die durch Störungen der proliferativen Homöostase und der verletzungsinduzierten Zellbildung verursacht werden.^[32] Krebs (Neoplasien) wird ebenfalls durch Störungen der proliferativen Homöostase verursacht, und die Häufigkeit vieler Krebsarten nimmt mit dem Alter zu. Nach der Krebsstammzellhypothese entsteht Krebs durch die Transformation adulter Gewebestammzellen (siehe Abschnitt 5.4). Gealterte Gewebestammzellen können nicht nur tumorigen verändert sein, sondern sie können auch eine Unterdrückung der Selbsterneuerung zeigen, die dann zur Gewebeatrophie führt (siehe Abbildung 1).

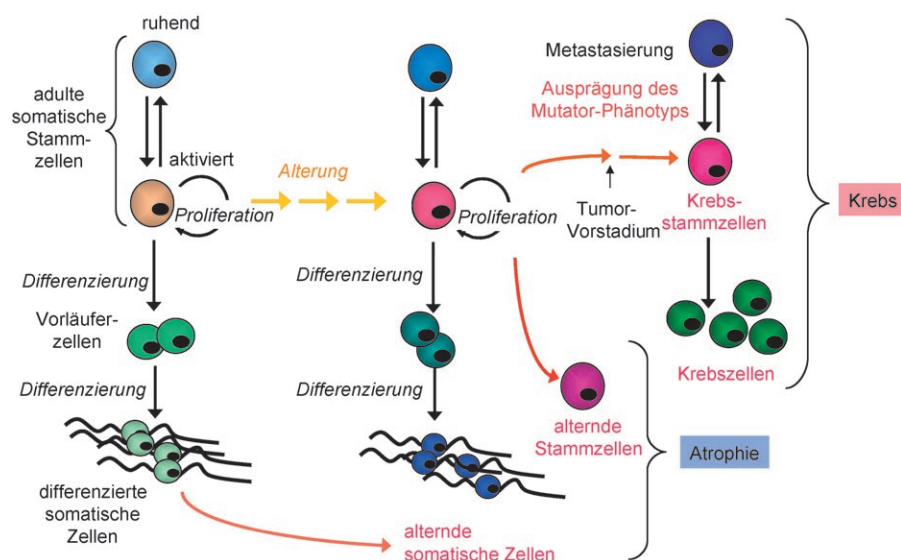


Abbildung 1. Altersabhängige stammzellintrinsische Fehlfunktionen.

Proliferation und Differenzierung adulter Gewebestammzellen werden sowohl durch parakrine Faktoren, die in der Stammzellnische gebildet werden,^[33] als auch durch systemische endokrine Faktoren reguliert. Die Gewebereparatur kann durch ein Fehlen dieser Faktoren oder durch eine inhibitorisch wirkende Umgebung beeinträchtigt werden. Die stammzellintrinsische Fehlfunktion hemmt ebenfalls Reparaturprozesse, wie an hämatopoetischen Stammzellen gezeigt wurde.^[34] Die verschiedenen Varianten sind in Abbildung 2 zusammengefasst. Geht man davon aus, dass die adulten Gewebestammzellen wahrscheinlich die Verursacher dieser altersbedingten Probleme bei der Zellproliferation sind, kann erwartet werden, dass ein Verständnis der Fehlfunktionen adulter Stammzellen zur Verhinderung und Behandlung vieler verbreiteter menschlicher Krankheiten beitragen wird.

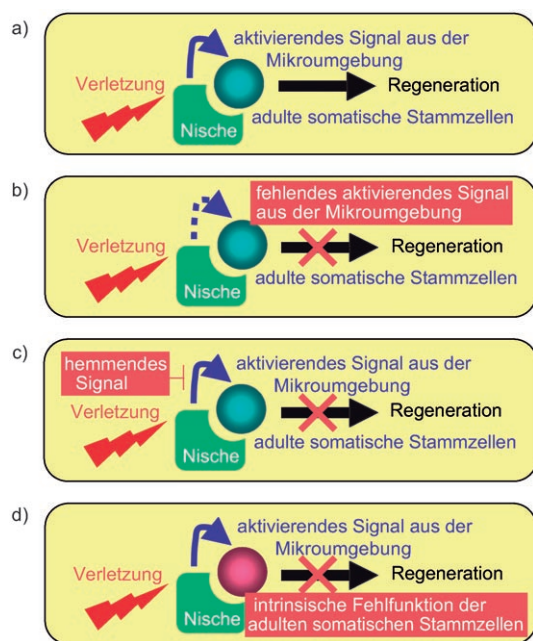


Abbildung 2. Faktoren, die zu Fehlfunktionen bei der Gewebereparatur beitragen: a) normaler Reparaturvorgang; b) Fehlen von parakrinen/endokrinen Reparatursignalen; c) Wirkung inhibitorischer Signale; d) Versagen der Reparatur aufgrund stammzellintrinsicser Fehlfunktion.

3.5.1. Änderungen der Stammzellfunktion, die mit intrinsischen Stammzellveränderungen einhergehen

In zahlreichen Untersuchungen wurde zwar das altersabhängige Nachlassen der HSC-Funktionen in Mäusen nachgewiesen, über die zugrundeliegenden Ursachen ist aber sehr wenig bekannt. Zwei der klinisch am häufigsten auftretenden altersbedingten hämatologischen Zustände sind die reduzierte Funktion des adaptiven Immunsystems und das Zunehmen myeloproliferativer Erkrankungen.^[35] Da sich diese altersabhängigen hämatologischen Zustände bei Mäusen durch HSC-Transplantation übertragen lassen, vermutete man eine autonome Veränderung der HSCs als Ursprung der Fehlfunktion.^[35] Telomerverkürzung, DNA-Mutation und epigenetische Veränderungen sind die wichtigsten Auslöser altersbedingter stammzellintrinsicser Fehlfunktionen.^[36] In der Maus beeinträchtigen Ausfälle bei der DNA-Reparatur (z.B. der Reparatur von Doppelstrangbrüchen oder der Nucleotidexzisionsreparatur) und der Telomer-Erhaltung die Funktion der HSCs mit dem Alter.^[37,38] Choudhury et al.^[39] zeigten eindeutig, dass die Deletion von p21 gegen das altersbedingte Versagen der Telomere in Stammzellen schützt, ohne die Bildung von Krebs zu beschleunigen. Reaktive Sauerstoffspezies, die DNA-Schädigungen induzieren, führen in *Atm*-defizienten Mäusen ebenfalls zu einer altersbedingten Einschränkung der HSC-Funktion über einen p38-MAPK-abhängigen Mechanismus.^[40,41]

Die altersbedingte Fehlfunktion von HSCs in *Atm*-defizienten Mäusen weist auch auf epigenetische Einflüsse auf den Seneszenz-Stoffwechsel hin, denn die Überexpression

von *Bmi-1*, einem epigenetischen Kontrollelement, kann die HSC-Fehlfunktion *INK4a*-abhängig ausgleichen.^[40] Der Verlust von *Bmi-1* reduziert andererseits die Selbsterneuerung in NSCs^[42] und HSCs^[43] in Mäusen, und das Gen für das Werner-Syndrom, das für ein DNA-Reparaturenzym codiert, wird in Tumorzellen epigenetisch supprimiert.^[44] Allgemein bekannt ist auch, dass in Tumorzellen oft eine globale Hypomethylierung und eine Promotor-Hypermethylierung beobachtet werden.^[45] Suzuki et al.^[46] fanden, dass in Patienten mit Dickdarm- und Magenkrebs die epigenetischen Veränderungen mit dem Alter korrelierten, nicht jedoch die Akkumulation von DNA-Mutationen. Das deutet darauf hin, dass die epigenetischen Veränderungen der DNA-Mutation vorangehen könnten. Die DNA-Mutationen korrelierten wiederum mit epigenetischen Veränderungen, besonders mit Hypomethylierungen. Auch dies lässt vermuten, dass die epigenetischen Veränderungen der Entwicklung von DNA-Mutationen und der Tumorentwicklung und -progression vorangehen und diese möglicherweise vorbereiten.

3.5.2. Änderungen der Stammzellfunktion, die mit Veränderungen der Stammzellnische einhergehen

Die funktionelle Veränderung der Stammzellnische ist ein weiterer Auslöser für den altersbedingten Funktionsverlust von Stammzellen. Ein Beispiel dafür liefert die Spermatogenese. Sie wird durch Spermien-Stammzellen aufrechterhalten und weist altersabhängige Defizite auf, die bis zur Unfruchtbarkeit führen können. Ryu et al. zeigten, dass sich aus murinen Spermienstammzellen, die ihre Aktivität normalerweise nach 12 bis 24 Monaten einstellen, über mehr als 3 Jahre Spermien entwickeln, wenn man sie alle 3 Monate in die Hoden junger Mäuseböcke überträgt.^[47]

Allgemein wird angenommen, dass der altersbedingte Funktionsverlust von HSCs in Mäusen durch zellautonome Veränderungen vorangetrieben wird. In einer aktuellen Untersuchung wurde daneben aber auch die Bedeutung der HSC-Nische nachgewiesen.^[48] So wird die Bildung von B-Lymphocyten beeinträchtigt und die Myeloidproliferation gesteigert, wenn Knochenmarkszellen aus Wildtypspendern in alte Mäuse mit funktionslosen Telomeren transplantiert werden. Der Mechanismus des Funktionsverlustes menschlicher HSCs ist noch nicht aufgeklärt, aber dieser Befund deutet darauf hin, dass die Stammzellnische eine der Komponenten sein kann, die am HSC-Funktionsverlust auch im Menschen beteiligt sind.

3.5.3. Änderungen der Stammzellfunktion, die mit dem Altern endokriner Systeme einhergehen

Die Regeneration verletzter Skelettmuskeln oder Leber ist in alten Mäusen gehemmt. Wenn alte Mäuse allerdings physikalisch mit jungen Mäusen des gleichen Stammes verbunden werden (heterochronische Parabiose) und dadurch ihr Kreislaufsystem gemeinsam nutzen, wird die regenerative Kapazität des Skelettmuskels und der Leber in den alten Mäusen wiederhergestellt.^[49] Dies deutet darauf hin, dass der altersbedingte Verlust der Stammzellfunktion von systemischen Faktoren in der Umgebung der Stammzellen moduliert

werden kann und dass solche Faktoren im Allgemeinen im Blut junger Tiere vorhanden sind, im Alter aber verloren gehen.

Die Funktion hormonsezernierender endokriner Organe nimmt mit dem Alter ebenfalls ab und damit auch die Konzentration mancher Hormone, die von den entsprechenden Geweben gebildet werden.^[50] Eines dieser Hormone ist das Wachstumshormon (growth hormone, GH). Die GH-Sekretion der Hypophyse ist während der Pubertät am stärksten und nimmt dann mit zunehmendem Alter ab.^[51] Dies wird vermutlich durch die zunehmende Produktion von Somatostatin durch den Hypothalamus und die dadurch reduzierte Produktion des GHRH (growth hormone releasing hormone, Somatoliberein) verursacht.^[50,51] Dadurch wird auch die GH-abhängige Produktion des IGF-1 (insulin-like growth factor-1) reduziert. IGF-1 spielt eine wichtige Rolle bei Stammzellproliferation und -überleben, sodass die Verringerung der GH-Produktion zur altersabhängigen Fehlfunktion von Stammzellsystemen beitragen könnte.

4. Therapiefelder für die regenerative Medizin und stammzellbasierte Therapeutika

Es gibt viele Therapiefelder, in denen die regenerative Medizin und stammzellbasierte Therapeutika eine Rolle spielen können. Im folgenden Abschnitt werden wir das Potenzial solcher Ansätze für hämatologische, kardiovaskuläre, neurologische und orthopädische Erkrankungen und Diabetes (Typ I) zusammenfassen.

4.1. Hämatologische Erkrankungen

Zahlreiche hämatologische Erkrankungen wie Leukämie, Hodgkin-Lymphom, multiples Myelom, myeloproliferative Erkrankungen, myelodysplastische Syndrome, Phagozyten-Fehlfunktionen, primäre Immundefizienzerkrankungen und Stoffwechselkrankheiten lassen sich durch HSC-Transplantation behandeln. Knochenmark war in der Vergangenheit die Hauptquelle von HSCs in Heranwachsenden und Erwachsenen. Die klinische Anwendung wird allerdings durch den Mangel an passenden Spendern eingeschränkt. In der letzten Zeit wurden mobilisiertes peripheres Blut (d.h. Blut von Patienten, die z.B. mit granulocytenkoloniestimulierendem Faktor G-CSF behandelt wurden, um Zellen aus dem Knochenmark ins periphere Blut zu mobilisieren, sodass eine zunehmende Zahl von Stammzellen aus dem Knochenmark im Kreislauf zirkuliert) und Nabelschnurblut als neue Quellen für die HSC-Transplantation eingeführt.^[52] Obwohl mobilisierte Stammzellen aus peripherem Blut vielfach in der Klinik verwendet werden, wird der Einsatz durch die schlechte Mobilisierung bei manchen Personen und das Risiko eines Milzrisses beim Spender begrenzt. HSCs aus Nabelschnurblut haben aufgrund der kleineren Zahl reifer Lymphocyten den Vorteil des geringeren Risikos einer Transplantat-Wirt-Erkrankung, aber die niedrige Zahl von Stammzellen, die sich so gewinnen lässt, schränkt den Empfängerkreis auf Kinder ein. Die genannten Einschränkungen

können überwunden werden, wenn es gelingt, eine Technologie zur HSC-Vermehrung zu entwickeln; hierauf wird in Abschnitt 5.3.1 näher eingegangen.

4.2. Herz-Kreislauf-Erkrankungen

Zu den Herz-Kreislauf-Erkrankungen zählen Schädigungen der Herzkranzgefäße, zerebrovaskuläre Erkrankungen, periphere Atherosklerose, rheumatische Herzerkrankungen, angeborene Herzerkrankungen, Thrombose der tiefen Venen und Lungenembolien. Stammzellbasierte Therapieverfahren sollten einige dieser Zustände therapieren können, indem sie die Neubildung von Herzmuskelzellen und die Gefäßbildung unterstützen. Allgemein nimmt man an, dass nach der Geburt neue Endothelzellen während der Angiogenese aus den vorhandenen Endothelzellen entstehen. In mehreren Studien konnte allerdings gezeigt werden, dass endotheliale Vorläuferzellen (EPCs) aus dem Knochenmark zur postnatalen Vaskularisierung beitragen.^[53] Es ließ sich auch zeigen, dass die Zellen aus der hämatopoetischen Linie am Ort der Verletzung abgefangen werden können und so Neovaskularisierung durch die Produktion von Wachstumsfaktoren induzieren können.^[31] Dies stimmt mit der Beobachtung überein, dass die Transfusion von mobilisiertem peripherem Blut in Patienten mit kritischer Durchblutungsstörung von Extremitäten als Sekundärerkrankungen von Diabetes die Durchblutung verbesserte.^[54]

In einigen Untersuchungen an Tiermodellen des Myokardinfarkts wurde beobachtet, dass sich kultivierte MSCs aus dem Knochenmark an der Stelle der Verletzung ansiedeln und die Differenzierung von Kardiomyocyten und die Vaskularisierung vorantreiben,^[55] sodass es fast zu einer Normalisierung der Herzfunktion kommt. Die zugrundeliegenden Mechanismen sind allerdings unbekannt.

Die Beobachtung, dass Knochenmarksbestandteile wie EPCs, HSCs und MSCs zu Reparaturvorgängen am Herzen nach einem Infarkt beitragen können, begründete eine therapeutische Strategie mit adulten Knochenmarkszellen nach einem Myokardinfarkt. Das Ausmaß der Effekte variierte zwischen unterschiedlichen Versuchsreihen, insgesamt konnte aber ein eindeutig positiver Effekt von Zelltransplantationen mit Knochenmarkszellen in Tiermodellen des Myokardinfarkts nachgewiesen werden.^[56–58] Auf der Grundlage dieser Befunde wurden Patienten mononukleäre Zellen aus dem Knochenmark in die Herzkranzgefäße appliziert. In zwei klinischen Studien erwies sich die Transplantation mononukleärer Zellen aus dem Knochenmark als sicher, und die Herzfunktion nach einem Myokardinfarkt verbesserte sich.^[59,60a] Nachfolgedaten von einer dieser Studien zeigten allerdings, dass nach 18 Monaten kein signifikanter Unterschied zwischen der mit Zellen behandelten und der Kontrollgruppe bestand.^[60b] Eine weitere Studie zeigte einen positiven Effekt von Vorläuferzellen aus dem Knochenmark auf den klinischen Befund ein Jahr nach der Behandlung.^[61]

Zusätzlich zu den Zelltherapieansätzen eröffnet die Identifizierung von kardialen Vorläuferzellen im adulten Herzen^[16] auch neue therapeutische Optionen zur pharma-

kologischen Stimulation des endogenen Reparaturprozesses bei Herzerkrankungen.

4.3. Neurologische Erkrankungen

Regenerative Therapien neurologischer Erkrankungen beruhen auf dem Ansatz, Schäden am Nervensystem, die durch Krankheit oder Verletzung entstanden sind, mithilfe von ex vivo vermehrten Stammzellen oder endogenen adulten neuronalen Stammzellen zu beheben.^[15,62] Schlaganfall, die Parkinsonsche Krankheit, Rückenmarksverletzungen, die Alzheimersche Krankheit, amyotrophe Lateralsklerose, Chorea Huntington und multiple Sklerose sind einige mögliche Indikationen für eine regenerative neurologische Therapie. Verglichen mit hämatologischen und kardiovaskulären Indikationen liegt die Hauptschwierigkeit bei neurologischen Indikationen darin, dass neben der Neurogenese auch eine Wiederherstellung des fehlerlosen neuronalen Netzwerkes erforderlich ist. Eine mögliche Ausnahme ist die Parkinsonsche Krankheit, bei der die Erzeugung dopaminproduzierender Zellen im Striatum ohne die Regeneration verlorener Neuronen in der Substantia nigra vermutlich für eine erfolgreiche Behandlung ausreicht. Eine chirurgische Rekonstruktion der neuronalen Netzwerke ist nicht möglich, und so konzentrieren sich die meisten Aktivitäten auf die Stimulation des endogenen Reparatursystems. Eine detailliertere Diskussion findet sich in Abschnitt 5.3.2. Einige Unternehmen entwickeln zellbasierte Testsysteme für neurologische Indikationen; sie greifen dabei auf neuronale Stammzellen aus fötalen Hirnzellen, auf adulte Knochenmarkszellen und auf embryonale Stammzellen zurück.

4.4. Diabetes mellitus, Typ 1

Diabetes Typ 1 (juveniler Diabetes) ist eine Autoimmunerkrankung, die die Degeneration der β -Zellen des Pankreas verursacht. Die wichtigste Behandlung besteht im Insulinersatz, doch die erforderliche stabile Kontrolle des Blutglucosespiegels ist eine große Herausforderung. Fehlt eine angemessene metabolische Kontrolle, kann es zu Sekundärerkrankungen wie Nephropathie, Neuropathie, Retinopathie, Durchblutungsstörungen der Gliedmaßen und anderen kardiovaskulären Problemen kommen. Die Wiederherstellung der physiologisch regulierten Insulinsekretion könnte diese Probleme überwinden. In den letzten Jahren wurde zunehmend versucht, dieses Ziel durch die Transplantation von Inselzellen zu erreichen.^[63] Wie bei anderen Transplantationstherapien fehlt es aber auch hier an geeignetem Spendergewebe. Das wichtigste Ziel für die regenerative Medizin bei juvenilem Diabetes ist daher die In-vitro-Erzeugung von insulinproduzierenden β -Inselzellen, die für eine Transplantation geeignet sind.^[63] Wenn man die Zellen mit einer geeigneten Technik zur Einkapselung vor einem Immunangriff abschirmen kann (und dabei die freie Passage von Glucose und Insulin ermöglicht, sodass die Insulinproduktion physiologisch reguliert wird),^[64] dann wären autologe Zellen nicht erforderlich und man könnte einen allogenetischen

Ansatz verwenden, bei dem embryonale Stammzellen als die Quelle von Zellen für die weitere Differenzierung dienen. Die Strategie kann momentan noch nicht verfolgt werden, weil die effiziente Differenzierung vollfunktionaler Inselzellen aus ES-Zellen noch nicht möglich ist.

Die Existenz von Vorläuferzellen, aus denen sich bei Erwachsenen neue β -Zellen entwickeln können, ist noch umstritten.^[65] Solche Vorläuferzellen könnten allerdings neue therapeutische Möglichkeiten für die pharmakologische Stimulation endogener Reparaturprozesse bei Diabetes eröffnen.

4.5. Orthopädische Erkrankungen

Degenerative Erkrankungen von Knochen und Gelenken wie Brüche, Osteoporose und Arthritis stellen ein weiteres Gebiet mit nennenswertem Potenzial für regenerative Therapieansätze dar. Osteocel, das von Osiris Therapeutics entwickelt wurde, enthält MSCs aus Knochenmark und wird in den USA seit seiner Einführung im Jahr 2005 eingesetzt, um die Heilung von Knochenbrüchen zu verbessern und den Knochenverlust durch Tumorerkrankungen zu mildern. Knochenmarks-MSCs können in knochenbildende Osteoblasten differenzieren^[66] und zur Knochenregeneration beitragen,^[67] wenn man sie an die Stelle der Verletzung transplantiert und eine biokompatible Matrix aufbaut.

Eine weitere Indikation sind Entzündungen der Gelenke wie Osteoarthritis. Hier ist das Behandlungsziel die Regeneration des Knorpels.^[68] MSCs werden als Stammzellquelle für die Regeneration von Knorpelkissen und Knorpelbeschichtungen verwendet.

5. Pharmakologische Ansätze für die regenerative Medizin und stammzellbasierte Therapeutika

In der Vergangenheit konnten synthetische niedermolekulare Substanzen und Naturstoffe für nützliche pharmakologische Interventionen zur Modulation zellulärer Prozesse in Stammzellen genutzt werden. Tatsächlich haben mehrere Studien gezeigt, dass viele zugelassene Medikamente das Potenzial haben, Stammzellfunktionen zu modulieren,^[69] und auch neue Verbindungen mit modulierendem Einfluss auf Stammzellen wurden gefunden.^[70–72] Diese Verbindungen könnten das Potenzial haben, Stammzellen ex vivo zu vermehren und zu differenzieren oder als Pharmaka Selbstheilungsprozesse zu stimulieren. In diesem Abschnitt fassen wir die Möglichkeiten chemischer Ansätze in der regenerativen Medizin und zur stammzellbasierten Wirkstofffindung zusammen. Einige der in diesem Abschnitt erwähnten Substanzen sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

5.1. Vermehrung und Differenzierung embryonaler Stammzellen

Die effiziente Selbsterneuerung von ES-Zellen über einen langen Zeitraum ist der erste Schlüsselschritt für eine ES-Zellen-basierte regenerative Medizin. Murine ES-Zellen

Tabelle 3: Zusammenstellung einiger Wirkstoffe, die die Stammzellmobilisierung, -vermehrung oder -differenzierung beeinflussen oder bei denen regenerative Wirkung in vivo nachgewiesen wurde.

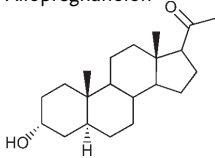
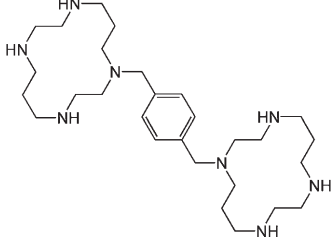
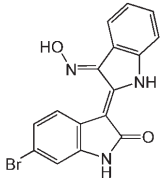
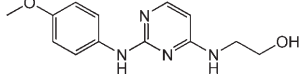
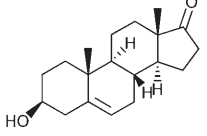
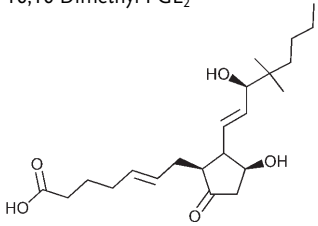
Verbindung	Wirkung; Mechanismus	Lit.
Allopregnanolon 	Gesteigerte Proliferation von neuronalen Hippocampus-Vorläuferzellen in Ratten und humanen neuronalen Stammzellen in vitro	[135]
AMD3100 (Plerixafor) 	Verstärkte HSC-Mobilisierung (AMD3100 + G-CSF im Vergleich zu G-CSF allein); CXCR4-Antagonist	[96]
Antidepressiva, z. B. Fluoxetin (SSRI), Tranylcypromin (MAOI), Desipramin (tricyclisch), Venlafaxin (SNRI), Rolipram (PDE4-Inhibitor)	Gesteigerte Zellproliferation im Hippocampus und Neurogenese	[126]
BMP	Vermehrung von ES-Zellen in der Maus (in Kombination mit LIF); Smad-Aktivierung und Hemmung von p38 und ERK	[74, 75]
6-Bromindirubin-3'-oxim (BIO) 	Vermehrung von Mäuse- und humanen ES-Zellen; GSK3-Hemmung Gesteigerte Proliferation von Herzvorläuferzellen aus menschlichem Herz	[77] [154]
Cardiogenol C 	Differenzierung von ES-Zellen zu Herzzellen	[86]
decHOX-Peptid	Gesteigerte Vermehrung von Nabelschurblut-stämmigen HSCs ex vivo; HOX-Mimetikum	[116]
Dehydroepiandrosteron (DHEA) 	Gesteigerte Neurogenese im Hippocampus	[133]
16,16-Dimethyl-PGE₂ 	Zunahme der HSC-Zahl und der HSC-Repopulation	[118]

Tabelle 3: (Fortsetzung)

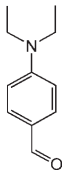
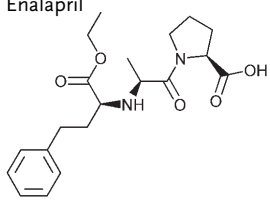
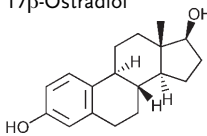
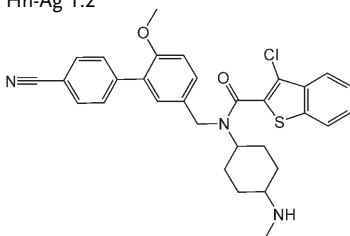
Verbindung	Wirkung; Mechanismus	Lit.
<p>Diethylaminobenzaldehyd</p> 	HSC-Vermehrung in vitro; Aldehyddehydrogenase-Inhibitor	[117]
<p>Enalapril</p> 	Gesteigerte Mobilisierung der endothelialen Vorläuferzellen nach ischämischem Stress; ACE-Hemmer	[93]
<p>Erythropoetin</p>	Zunahme zirkulierender hämatopoetischer Vorläuferzellen und endothelialer Vorläuferzellen in EPO-behandelten Patienten	[88]
<p>17β-Östradiol</p> 	Zunahme zirkulierender endothelialer Vorläuferzellen Zunahme der Osteogenese	[91] [161]
G-CSF	Mobilisierung von Knochenmarksstammzellen ins periphere Blut Verbesserte funktionale Regeneration nach experimentellem Myokardinfarkt Reduzierte Infarktgröße und verbesserte funktionale Regeneration nach experimentellem Schlaganfall; [103]; in Kombination mit Stammzellfaktor Gesteigerte Neurogenese aus neuronalen Stammzellen in vitro	[52, 98, 99] [99] [103, 104] [104]
GM-CSF	Mobilisierung von Knochenmarkszellen ins periphere Blut	[87]
GRO β	HSC-Mobilisierung; CXCR2-Ligand	[97]
HGF + IGF-1	Migration, Proliferation und Differenzierung von Herzvorläuferzellen und verbesserte funktionale Regeneration nach experimentellem Myokardinfarkt	[157]
<p>Hh-Ag 1.2</p> 	Gesteigerte Proliferation neuronaler Vorläuferzellen; Smoothed-Agonist	[122]
LIF	Vermehrung von murinen ES-Zellen (in Verbindung mit BMP); STAT3-Aktivierung	[73]
Lithium	Gesteigerte Proliferation neuronaler Vorläuferzellen in Hochdichtekulturen; induzierte neuronale Differenzierung neuronaler Vorläuferzellen im Hippocampus; ERK/CREB-Aktivierung Verstärkte Knochenbildung; Aktivierung der Wnt-Signalgebung	[128] [166]

Tabelle 3: (Fortsetzung)

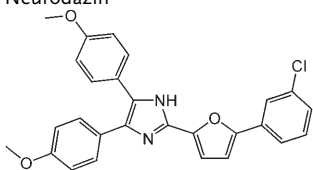
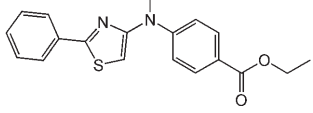
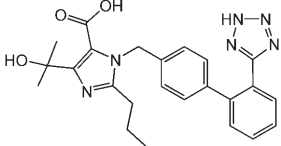
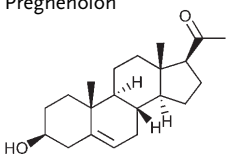
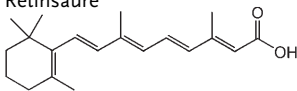
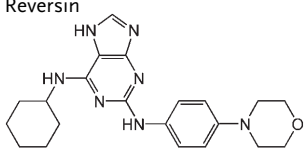
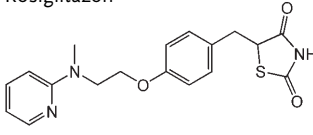
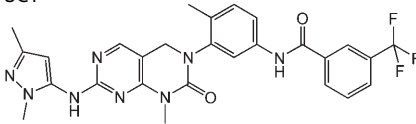
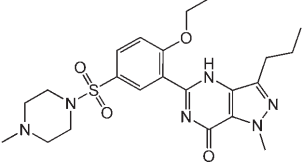
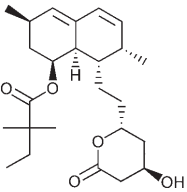
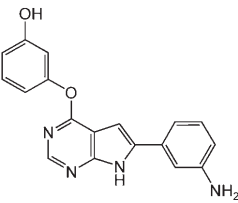
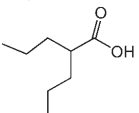
Verbindung	Wirkung; Mechanismus	Lit.
Neurodazin 	Erzeugung neuronaler Zellen aus Skelettmuskelzellen	[179]
Neuropathiazol 	Induktion neuronaler Differenzierung adulter neuronaler Vorläuferzellen des adulten Hippocampus	[124]
Neuropeptid Y	Gesteigerte Proliferation neuronaler Vorläuferzellen des Hippocampus; ERK1/2-Aktivierung	[136]
Olmesartan 	Zunahme endothelialer Vorläuferzellen in Patienten mit Diabetes mellitus, Typ 2; AT1-Rezeptorantagonist	[92]
Oxytocin	Differenzierung adulter Sca-1 ⁺ -Zellen aus adulten Mäusen zu Kardiomyocyten	[149]
PACAP	Gesteigerte Proliferation neuronaler Stammzellen in vitro und in vivo; PKC-abhängige Wirkung	[137]
Parathormon	Verstärkte Knochenbildung	[164]
Pregnenolon 	Gesteigerte Neurogenese im Hippocampus	[134]
Retinsäure 	Neuronale Differenzierung von Embryoidkörpern	[79]
Reversin 	Dedifferenzierung von myogenen generationsgebundenen Zellen zu multipotenten mesenchymalen Vorläuferzellen	[178]
Rosiglitazon 	Zunahme endothelialer Vorläuferzellen und Förderung der Differenzierung hin zur endothelialen Entwicklungslinie	[90]
SC1 	Vermehrung von murinen ES-Zellen; Hemmung von RasGAP und ERK1/2	[76]

Tabelle 3: (Fortsetzung)

Verbindung	Wirkung; Mechanismus	Lit.
<p>Sildenafil</p> 	<p>Gesteigerte Neurogenese und verbesserte funktionale Regeneration nach experimentellem Schlaganfall; PDE5-Inhibitor</p> <p>Gesteigerte Bildung von Neurosphären aus Zellen der subventrikulären Zone; gesteigerte neuronale Differenzierung von Neurosphären; Aktivierung des PI3K/Akt-Weges und GSK3-Phosphorylierung/-Inhibierung</p>	<p>[131]</p> <p>[132]</p>
<p>Statine (z. B. Simvastatin)</p> 	<p>Gesteigerte Differenzierung endothelialer Vorläuferzellen aus mononukleären Zellen aus peripherem Blut; Stimulierung des PI3K/Akt-Weges</p>	<p>[89]</p>
<p>TWS119</p> 	<p>Neuronale Differenzierung von ES-Zellen; GSK3β-Inhibierung und Aktivierung des β-Catenin-Signalweges</p>	<p>[85]</p>
<p>Valproidsäure</p> 	<p>Gesteigerte HSC-Proliferation und Selbsterneuerung; Histondeacetylase-Inhibitor; GSK3β-Inhibition und HoxB4-Hochregulierung</p> <p>Induktion neuronaler Differenzierung neuronaler Vorläuferzellen des adulten Hippocampus; Histondeacetylase-Inhibitor; NeuroD-Hochregulierung</p>	<p>[115]</p> <p>[130]</p>

werden typischerweise in Gegenwart von LIF^[73] und BMP^[74] vermehrt. Die Kombination dieser beiden Faktoren lässt ES-Zellen auch ohne Serum und Feeder-Zellen proliferieren. LIF aktiviert die STAT-Signale, die die Selbsterneuerung beschleunigen und die mesodermale und endodermale Differenzierung hemmen.^[73] BMP hemmt die MAPK-Signale und die neuroektodermale Differenzierung.^[74,75] Vor kurzem wurde in einem chemischen Hochdurchsatzscreening das 3,4-Dihydropyrimido[4,5-*d*]pyrimidin-Analogon SC1 identifiziert, das murine ES-Zellen auch in Abwesenheit von LIF vermehren kann.^[76] Als Angriffspunkte für SC1 wurden RasGAP und ERK 1/2 nachgewiesen. BIO (6-Bromindirubin-3'-oxim), ein synthetisches Derivat des Naturstoffs 6-Bromindirubin (der einer der Bestandteile des aus Mollusken stammenden echten Purpurs ist), ist ebenfalls in der Lage die Selbsterneuerung menschlicher und muriner ES-Zellen ohne Feeder-Zellen zu beschleunigen, indem es die Glycogensynthasekinase 3 (GSK3) hemmt und die Wnt-Signale aktiviert.^[77]

Im Vergleich zu murinen ES-Zellen leiten menschliche ES-Zellen nach Ablösung und Dissoziation aus dem Verband (Anoikis) schneller die Apoptose ein, was große Probleme bei der Manipulation dieser Zellen mit sich bringt, z.B. bei einer Subklonierung, für die man nichtadhärent wachsende

Zellen benötigt. Kürzlich konnte nachgewiesen werden, dass der selektive Rho-assoziierte Kinaseinhibitor (ROCK) Y-27632 die durch Dissoziation der Zellen ausgelöste Apoptose deutlich verringert.^[78] Der Wirkmechanismus von Y-27632 ist noch unbekannt, doch zeigt ein anderer ROCK-Inhibitor (Fasudil) einen ähnlichen Effekt, während Inhibitoren verschiedener, nicht verwandter Kinasen keine Wirkung hatten.^[78]

Gegenwärtig werden verschiedene Methoden für die Differenzierung von ES-Zellen in spezifische Entwicklungslinien verfolgt. Differenzierung zu neuronalen Zellen kann beispielsweise durch eine Behandlung der Embryoidkörper (EBs; embryoid body; entspricht etwa dem Blastulastadium) mit Retinsäure induziert werden^[79] durch eine mehrstufige Induktions-/Selektionskultur^[80] oder mit spezifischen Wachstumsfaktoren in serum- und feederzellfreier Kultur.^[81,82] Eine stabile Differenzierung zu Herzmuskelzellen findet man bei spontan differenzierenden ES-Zellen, wenn sie unter geeigneten Bedingungen kultiviert und durch die vorübergehende Hemmung des BMP-Signals durch Noggin stimuliert werden.^[83] Im Vergleich dazu erweist sich die Erzeugung insulinproduzierender Inselzellen komplexer. Die Zellen müssen für die Induktion funktionaler insulinähnlicher Zellhaufen mehrere Stadien durchlaufen: die endgül-

tige Endoderm-Induktion, die Bildung von Pankreasendoderm, die endokrine Induktion und Reifung inselähnlicher Zellhaufen. Vor kurzem beschrieben Jiang et al. eine Methode für die Erzeugung inselähnlicher Pankreas-Zellhaufen, die insulinproduzierende Zellen aus menschlichen ES-Zellen enthielten.^[84]

Auch wenn in den letzten zehn Jahren große Fortschritte bei der Differenzierung von ES-Zellen erzielt wurden, werden bessere Verfahren benötigt. Dazu untersuchten Ding et al. eine große Zahl synthetischer niedermolekularer Substanzen in zellbasierten Phänotyp-Screenings und fanden als Stimulator der Neurogenese TWS119^[85] und vier Diaminopyrimidine, die die Myogenese von Herzzellen stimulieren, nämlich Cardiogenol A–D,^[86] von denen Cardiogenol C am wirksamsten ist.

5.2. Mobilisierung von Knochenmarkstammzellen

Die Mobilisierung von Knochenmarkszellen ist eines der Schlüsselverfahren, um Stammzellen, Vorläuferzellen, Makrophagen und Monocyten an die Stelle einer Verletzung zu dirigieren, wo sie die Vaskularisierung induzieren und die Regeneration unterstützen können. Die Injektion von G-CSF ist eine der verbreitetsten Methoden, um HSCs für eine Transplantation zu klinischen Zwecken zu mobilisieren.^[52] Daneben zeigen auch einige andere pharmakologische Substanzen wie der granulocyten-/makrophagenkoloniestimulierende Faktor (GM-CSF),^[87] Erythropoietin,^[88] Statine,^[89] Rosiglitazone,^[90] Östrogene,^[91] Angiotensin-II-Rezeptor-Antagonisten^[92] und ACE-Inhibitoren^[93] eine Wirkung auf Knochenmarkszellen. HMG-CoA-Reduktaseinhibitoren und rekombinantes humanes Erythropoietin erhöhen die Zahl zirkulierender endothelialer Vorläuferzellen über die PI3-Kinase/Akt-Signalwege.^[88,89] Die Rolle von Angiotensin-II bei der Mobilisierung endothelialer Vorläuferzellen wurde durch die Beobachtung geklärt, dass der ACE-Inhibitor Enalapril die Funktion endothelialer Vorläuferzellen über den CD26/Dipeptidylpeptidase-IV-Signalweg moduliert.^[93]

Man ging lange Zeit davon aus, dass die G-CSF-induzierte HSC-Mobilisierung durch Proteasen gesteuert wird (z. B. die Matrix-Metalloproteinase 9 (MMP-9), die neutrophile Elastase und Cathepsin G), die die Mikroumgebung des Knochenmarks verändern, indem sie das vaskuläre Zelladhäsionsmolekül-1 und SDF-1 abbauen und dadurch die extrazelluläre Matrix umformen.^[94] Die Hypothese wurde jedoch durch den Befund infrage gestellt, dass G-CSF die HSC-Mobilisierung auch in Mäusen induzierte, denen die neutrophilen Serinproteasen fehlen und/oder nachdem sie mit MMP-9-Inhibitoren behandelt worden waren.^[95] Vor kurzem berichteten Katayama et al., dass das sympathische Nervensystem ebenfalls zur Mobilisierung von HSCs beiträgt, indem es die Expression des *SDF-1*-Gens in den Osteoblasten der Knochenmarksnische herunterreguliert.^[26]

Die entscheidende Rolle der SDF-1/CXCR4-Achse bei der Knochenmarkszellmobilisation wurde auch mithilfe des spezifischen CXCR4-Antagonisten AMD3100 nachgewiesen.^[96] AMD3100 (Plerixafor) befindet sich in der klinischen Entwicklung als HSC-mobilisierender Wirkstoff für Patienten

mit Non-Hodgkin-Lymphom oder multiplem Myelom.^[96] Auch andere Chemokine sind möglicherweise an der HSC-Mobilisierung beteiligt; für den CXCR2-Liganden GRO β wurde nachgewiesen, dass er HSCs in Mäusen und Affen effektiv mobilisiert.^[97]

5.2.1. Die Anwendung stammzellmobilisierender Wirkstoffe zur Gewebereparatur

G-CSF gilt als möglicher Wirkstoff für die Behandlung von Herzversagen nach Myokardinfarkt, nachdem seine günstige Wirkung auf die Herzfunktion und die Kardiogenese in Tiermodellen des Herzinfarkts gezeigt wurde.^[98,99] G-CSF wurde an Patienten mit akutem Herzinfarkt (AMI, acute myocardial infarction) oder chronischer Myokard-Ischämie getestet. Die G-CSF-Behandlung scheint sicher zu sein, und klinische Tests an Patienten mit AMI verliefen ermutigend. Allerdings zeigten drei placebokontrollierte Doppelblindstudien keinen Effekt einer G-CSF-Behandlung.^[100–102]

In einem Schlaganfallmodell in der Maus induzierte eine Kombination von G-CSF und dem Stammzellfaktor SCF in der Infarktregion Neurogenese von NSCs und MSCs und eine Wiederherstellung der Gewebefunktion.^[103] In diesem Modell erwies sich G-CSF + SCF in der subakuten Phase als wirksamer als in der akuten Phase. Man vermutet, dass MSCs ins periphere Blut mobilisiert werden und zur Verletzungsstelle wandern können, wenngleich die Rolle von MSCs bei der ZNS-Regeneration noch nicht klar ist. G-CSF hat neben den Effekten auf das Knochenmark noch weitere Funktionen bei der ZNS-Regeneration. Dazu gehören eine direkte proliferationsfördernde Wirkung auf die NSCs und ein protektiver Effekt auf die Neuronen.^[104] G-CSF kann auch die Produktion inflammatorischer Cytokine wie TNF- α , IL-1 β und IL-12 hemmen;^[105] möglicherweise ist es dieser entzündungshemmende Effekt, der eine Rolle bei der ZNS-Regeneration spielt. In einer kleinen klinischen Studie wurde G-CSF zehn Patienten 5 Tage lang verabreicht, beginnend zwischen Tag 1 und 5 nach einem Schlaganfall. Dabei zeigte die mit G-CSF behandelte Gruppe innerhalb von 12 Monaten im Vergleich zur Kontrollgruppe eine bemerkenswerte Regeneration der neurologischen Funktionen ohne größere Nebenwirkungen.^[106] Da G-CSF allerdings vorübergehend die Gerinnungsneigung steigern kann,^[107] müssen Sicherheit und Wirksamkeit einer G-CSF-Behandlung an einem größeren Patientenkollektiv sorgfältig untersucht werden.

5.3. Selbsterneuerung und Differenzierung von Gewebestammzellen

Die Verbesserung der Selbsterneuerung und Differenzierung von Gewebestammzellen ist ein weiteres wichtiges Ziel pharmakologischer Intervention. Gewebestammzellen kommen in somatischen Geweben normalerweise in einem Ruhezustand vor, können aber vorübergehend durch verletzungsbedingte Signale aktiviert werden, um sich entweder symmetrisch zu teilen und den Stammzellvorrat aufzufüllen oder um sich asymmetrisch in eine Tochterstammzelle und eine Tochtervorläuferzelle zu teilen; letztere schlägt den Weg

der Differenzierung ein.^[108] Dies ist der Hauptunterschied zu embryonalen Stammzellen, die sich (nur) symmetrisch teilen. Würde man die molekularen Mechanismen der asymmetrischen Zellteilung und der verletzungsinduzierten Zellbildung verstehen, könnte man damit vielleicht einen Durchbruch bei der Entwicklung von Regenerationstherapien erzielen. In diesem Abschnitt diskutieren wir das Potenzial chemischer Ansätze zur Ex-vivo-Vermehrung von HSCs und zur Modulation verletzungsinduzierter Neurogenese, Kardiogenese, Osteogenese und Genese von β -Inselzellen.

5.3.1. In-vitro-Vermehrung von HSCs

Kombinationen hämatopoetischer Cytokine, darunter SCF, der Flt3-Ligand, Thrombopoietin und IL-6/löslicher IL-6-Rezeptor können HSCs in einem SCID-Repopulations-Zellassay im Vergleich zur Kontrolle erheblich vermehren.^[109] Allerdings verbesserten durch Cytokine vermehrte HSCs aus Nabelschnurblut nicht die Wirksamkeit von Transplantationen in der klinischen Anwendung,^[110] sodass eine weitere Verbesserung der HSC-Vermehrung erforderlich ist. Aus aktuellen Untersuchungen geht hervor, dass die Signalwege von Notch,^[111] HOXB4,^[112] Wnt^[113] und BMP^[114] die HSC-Selbsterneuerung regulieren. Gesucht werden Verbindungen, die die Effekte dieser Signalwege nachahmen.

Valproidsäure stimuliert die Selbsterneuerung von HSCs durch die Inhibierung von GSK3 β und die gleichzeitige Aktivierung der Wnt-Signalkaskade und des *HOXB4*-Gens.^[115] Ein Peptid, das das YPWN-Motiv aus dem HOX-Protein enthält („Lockvogel“), verstärkt die Ex-vivo-Vermehrung der HSCs aus menschlichem Nabelschnurblut, indem es die HOX-Funktion nachahmt.^[116] Auch die Hemmung der Aldehyddehydrogenase mit Diethylaminobenzaldehyd induziert die HSC-Expansion, indem die Produktion endogener Retinoide inhibiert wird, was die Differenzierungssignale abschwächt.^[117] Ein weiteres Ergebnis dieser Untersuchung war, dass die Hemmung der Aldehyddehydrogenase auch die Expression von *HOXB4* in humanen HSCs hochreguliert, was zur verstärkten Vermehrung beitragen könnte.

Um neue Modulatoren der HSC-Vermehrung zu finden, wurde eine Verbindungsbibliothek in einem Zebrafisch-Assay durchsucht.^[118] Mit Linolsäure nahm die Zahl der HSCs zu, während sie mit Celecoxib, einem Cyclooxygenasehemmer, in diesem System abnahm. Weil PGE₂ der wichtigste Effektor aus der Gruppe der Prostaglandine im Zebrafisch ist, wurde PGE₂ als möglicher HSC-Modulator näher untersucht. Mit dem stabilen PGE₂-Derivat 16,16-Dimethyl-PGE₂ ließ sich nachweisen, dass PGE₂ die Proliferation von Mäuse-HSCs induziert.^[118] Aus dieser Studie lässt sich außerdem ableiten, dass die Verabreichung von COX-Inhibitoren an Patienten, die eine HSC-Transplantation erhielten, die Wiederherstellung der hämatopoetischen Funktionen beeinträchtigen kann.

5.3.2. Verletzungsinduzierte Neurogenese

Auch wenn nach einem Schlaganfall eine gewisse spontane verletzungsinduzierte Neurogenese beobachtet werden kann,^[119] ist die Zahl der neuen Neuronen aus NSCs geringer

als die Zahl der abgestorbenen Neuronen. Ein Wirkstoff, der Neurogenese induzieren kann, könnte einen großen therapeutischen Fortschritt bei der Behandlung degenerativer ZNS-Erkrankungen bedeuten. Es ist aber entscheidend, dass ein Induktor der Neurogenese nur für die Regeneration verlorenen Gewebes sorgt (Anzahl, Typ und Lokalisierung der Neuronen), denn unspezifische, konstitutive Neurogenese könnte schwere Nebenwirkungen wie Epilepsie und erhöhten Schädelinnendruck verursachen. Um „umgebungsspezifische“ Neurogenese-Induktoren entwickeln zu können, müssen die Mechanismen der physiologischen Neurogenese aufgeklärt und die biologischen Schlüsselaktivitäten identifiziert werden, die die Proliferation, Differenzierung, Migration und das Überleben der Zellen auf dem Weg von NSCs zu voll ausdifferenzierten Neuronen kontrollieren.

Gegenwärtig steht die Entwicklung von Substanzen, die die Proliferation oder Differenzierung von NSCs und Vorläuferzellen fördern, im Blickpunkt des Interesses. Wachstumsfaktoren und neurotrophe Faktoren können Proliferation und Differenzierung von NSCs induzieren. Die systemische Applikation von Wachstums- und neurotrophen Faktoren war jedoch nicht erfolgreich, beispielsweise weil sie die Blut-Hirn-Schranke nur schlecht überwinden; außerdem können sie erhebliche Nebenwirkungen wie Schmerz (BDNF und NGF)^[120] oder Anämie (FGF-2)^[121] auslösen. Ein alternativer Ansatz ist die Suche nach niedermolekularen Substanzen, die die Wachstumsfaktoren und neurotrophen Faktoren substituieren können. Beispiele dafür sind Smoothed-Agonisten, die das Hh-Signal verstärken,^[122] und der Verstärker des Wnt-Signals, 2-Amino-4-[3,4-(methylenedioxy)benzylamino]-6-(3-methoxyphenyl)pyrimidin.^[123] Da Hh und Wnt allerdings eine Reihe von Funktionen innerhalb und außerhalb des ZNS haben, ist noch unsicher, ob diese Verbindungen die erforderliche Spezifität an der verletzten Stelle zeigen. Um diese Fragen zu klären, wurde ein Hochdurchsatzscreening mit kultivierten adulten NSCs auf NSC-spezifische Neurogenese-Induktoren durchgeführt. Dabei wurden aus 50000 Verbindungen 4-Aminothiazolderivate identifiziert, die die neuronale Differenzierung auslösen können.^[124] Außerdem wurden mit einer umfassenden Profilierung der Zielgene neue Angriffspunkte für Wirkstoffe gefunden, die die Neurogenese beeinflussen.^[125]

Abgesehen von diesen Versuchen, neue Verbindungen und Targets zu finden, wurde auch von neuroregenerativen Effekten einiger bekannter Wirkstoffe berichtet. So haben Antidepressiva mit unterschiedlichen molekularen Angriffstellen die Fähigkeit, Neurogenese im Hippocampus zu induzieren.^[126] Die zugrundeliegenden molekularen Mechanismen der Neurogenese konnten noch nicht aufgeklärt werden, es wurde aber berichtet, dass Antidepressiva die Produktion von BDNF erhöhen.^[127] Das stimmungsaufhellende Lithium induziert ebenfalls Proliferation und Differenzierung von NSCs im Hippocampus in vitro und in vivo,^[128] und Lithium steigert auch die Produktion von BDNF.^[129] Der stimmungsaufhellende und antiepileptische Wirkstoff Valproidsäure fördert die Neurogenese durch Hemmung der Histondeacetylase.^[130] Sildenafil, ein PDE-V-Inhibitor, steigerte die cGMP-Konzentration im Gehirn und förderte die Neurogenese in einem Schlaganfallmodell,^[131] die höhere cGMP-

Konzentration wurde einer Förderung der neuronalen Regeneration über die Aktivierung der Akt/PI3-Kinase in NSCs zugeschrieben.^[132]

Auch Hormone und Neurotransmitter können Neurogenese induzieren. Außer von IGF-1, Östrogen, Prolactin und den Schilddrüsenhormonen ist die Induktion der Proliferation/Differenzierung von NSCs auch von anderen Hormonen wie Dehydroepiandrosteron,^[133] Pregnenolonsulfat^[134] und Allopregnanolon^[135] bekannt, darüber hinaus auch von Neuropeptid Y,^[136] PACAP^[137] und Neurotransmittern wie Dopamin, Serotonin, Norepinephrin und Acetylcholin.^[138–141]

Die meisten Untersuchungen über verletzungsinduzierte Neurogenese haben sich mit Schlaganfall befasst. Wieviele der dabei erworbenen Kenntnisse sich auf andere Indikationen wie chronisch neurodegenerative Erkrankungen übertragen lassen, ist noch offen. Es gibt einige Hinweise auf eine gesteigerte Neurogenese bei Parkinson-Patienten, doch muss dies noch bestätigt werden.^[142] Verletzungsinduzierte Neurogenese wurde im Gehirn von Alzheimer-Patienten nicht nachgewiesen. Wenn jedoch transgene Tiere, die eine Amyloidablagerung aufweisen, Umgebungsbedingungen ausgesetzt werden, die die Neurogenese im Hippocampus steigern, wird die Amyloidablagerung reduziert.^[143] Man kann also annehmen, dass eine Umgebung, die die Neurogenese fördert, die Entstehung und Ablagerung von Amyloid unterdrückt. Die Aufklärung der zugrundeliegenden molekularen Mechanismen könnte neue Angriffspunkte für die Behandlung der Alzheimerschen Krankheit liefern.

5.3.3. Verletzungsinduzierte Kardiogenese

Wie von den Neuronen des ZNS nahm man auch vom postnatalen Herzen an, dass es ein postmitotisches Organ sei, dessen einzige Reaktion auf den Verlust von Kardiomyocyten die Hypertrophie der verbleibenden Myocyten ist.^[144] In einer Studie von 1998 wurde jedoch die Proliferation von Myocyten in gesunden menschlichen Herzen und eine verstärkte Proliferation nach AMI nachgewiesen.^[145] Offenbar ist das Herz also zur proliferativen Homöostase fähig, sodass die Myocyten-Proliferation zumindest teilweise das infarktbedingte Absterben von Myocyten ausgleichen kann. Einer der wichtigsten Durchbrüche auf diesem Gebiet in den letzten Jahren war die Isolierung möglicher Herzvorläuferzellen aus postnatalen Herzen.^[146–155] Wegen der sehr niedrigen Teilungsrate unter normalen Bedingungen werden die Untersuchungen über verletzungsinduzierte Kardiogenese und die Rolle der Herzvorläuferzellen kontrovers diskutiert.

Bei akutem Infarkt steigt der Durchsatz der Kardiomyocyten an, und der Nettoeffekt ist positiv (pro Tag werden mehr neue Zellen gebildet als absterben).^[156] Bei chronischem Myokardinfarkt wird dieser Nettoeffekt jedoch negativ. Trotz des Netto-Anstiegs der Myocytenbildung in der akuten Phase des Infarkts reicht die spontane Kardiogenese daher oft nicht aus, um eine vollständige Wiederherstellung der Funktion zu erreichen.

Die meisten Herzvorläuferzellen exprimieren funktionale Rezeptoren für den Hepatocytenwachstumsfaktor HGF und für IGF-1. Ausgehend von der Hypothese, dass Herzvorläuferzellen in der Infarktregion absterben, wurden die Effekte

von HGF und IGF im Hinblick auf eine gesteigerte Rekrutierung von Herzvorläuferzellen aus unverletzten Geweberegionen (durch HGF) und eine Stimulation der Proliferation und Differenzierung der Herzvorläuferzellen (durch IGF-1) untersucht.^[157] Die Verabreichung von HGF und IGF-1 in einem Infarktmodell in der Maus stimulierte die Myocytenregeneration und die Neubildung von Gefäßen.^[157] Die Proliferation der Herzvorläuferzellen kann beispielsweise auch durch GSK3 β -Inhibitoren aktiviert werden,^[154] die Differenzierung zu Kardiomyocyten durch FGF-2^[158] oder Oxytocin.^[149] Eingehende Untersuchungen der verletzungsinduzierten Kardiogenese sollten neue Angriffspunkte für eine Therapie mit dem Ziel der Herzregeneration finden.

5.3.4. Osteogenese

Zwei Typen von Zellen sind an der Formung von Knochen beteiligt: die Knochen auflösenden Osteoklasten und die Knochen bildenden Osteoblasten.^[159] Die Balance zwischen diesen beiden Aktivitäten sorgt für die Erhaltung der Knochensubstanz während des Lebenszyklus. Bei Osteoporosepatienten führt ein Ungleichgewicht in diesem System zum Verlust von Knochensubstanz. In den Osteoblasten werden Östrogenrezeptoren exprimiert, und Östrogen hat eine positive Wirkung auf die Knochenbildung.^[160,161] Weil der Einsatz von Östrogenen mit einem erhöhten Risiko für Gebärmutter- und Brustkrebs einhergeht, werden selektive Östrogenrezeptor-Modulatoren (SERMs) wie Raloxifen für Prävention und Behandlung von Osteoporose eingesetzt.^[162] Im Idealfall hätte ein SERM für die Osteoporosebehandlung antagonistische Effekte auf Brust und Gebärmutter und agonistische Effekte auf den Knochen.^[163] Humanes Parathormon ist ein weiterer Wirkstoff, der sich bei der Behandlung postmenopausaler Osteoporose bewährt hat.^[164]

Es ist allgemein anerkannt, dass die Proteine der Hedgehog-Familie und die Gruppe der morphogenen Knochenproteine die Knochenbildung während der Embryogenese regulieren. Vor kurzem wurde gezeigt, dass der Wnt-Signalweg zur Knochenbildung beim Erwachsenen beiträgt.^[165] Eine pharmakologische Intervention sehr gut zugängliche Zielstruktur in diesem Signalweg ist GSK3 β ; GSK3 β -Inhibitoren induzieren die Differenzierung von Osteoblasten und die Knochenbildung.^[166]

5.3.5. Erzeugung von β -Inselzellen

Die Suche nach Regenerationsmöglichkeiten für Pankreasinseln wird ebenfalls intensiv betrieben. Drei Hauptwege zur Erzeugung neuer β -Zellen im adulten Pankreas wurden vorgeschlagen: 1) Neogenese aus duktalem Vorläuferzellen, 2) Proliferation existierender β -Zellen, 3) Transdifferenzierung pankreatischer exokriner Vorläuferzellen.^[65] Die Studien werden allerdings kontrovers diskutiert – letztlich wegen dem unter normalen Umständen sehr begrenzten Durchsatz dieser Zellen. Das glucagonähnliche Peptid 1 (GLP-1) und das verwandte Peptid Exendin-4 verhindern Diabetes, indem sie die β -Zellmasse durch Hemmung der Apoptose vergrößern.^[167] Daher könnte neben der Zellersatztherapie mit β -Inselzellen aus ES eine medikamentöse

Behandlung ein weiterer wichtiger Ansatz zur regenerativen Behandlung von Diabetes sein.

5.4. Tumorstammzellen

Trotz der langen Geschichte der Krebsforschung wurde der Ursprung von Tumoren des Menschen noch nicht identifiziert. Lange glaubte man, dass Tumoren von somatischen Zellen abstammen, in denen DNA-Mutationen mit sechs Charakteristika akkumulieren: 1) Autarkie bei Wachstumsignalen, 2) Unempfindlichkeit gegen wachstumshemmende Signale, 3) Vermeidung der Apoptose, 4) invasives Wachstum und Metastasierung, 5) unbegrenztes Teilungspotential und 6) nachhaltige Angiogenese.^[168] In jüngerer Zeit wurde mehrfach das Auftreten einer geringen Zahl tumorinitiierender Zellen in vielen, aber nicht in allen Tumoren nachgewiesen (bezeichnet als Tumorstammzellen). Davon ausgehend wurde eine neue Hypothese aufgestellt, nach der Tumoren durch eine Funktionsstörung von Gewebestammzellen entstehen können. So sind viele Gene, die als Onkogene identifiziert wurden (z.B. Wnt, Sonic Hedgehog Shh, Notch, Bmi-1) mit der Stammzellfunktion verknüpft.^[169,170] Außerdem sind Gewebestammzellen anfällig dafür, DNA-Mutationen und epigenetische Veränderungen anzusammeln, da sie während eines ganzen Lebens in somatischen Geweben existieren. Die Rolle der Krebsstammzellen in der Pathophysiologie menschlicher Tumoren ist noch weitgehend unklar. Wo sie existieren, wäre ihre Eliminierung aber die Voraussetzung für eine Heilung. Gegenwärtig zielen die meisten pharmakologischen Ansätze zur Ausschaltung von Tumorstammzellen auf Signalwege wie Wnt, Shh und Notch, die auch an normalem Tumorzellwachstum beteiligt sind. Cyclopamin, ein Steroid-Alkaloid, hemmt die Shh-Signalkette spezifisch und hemmt auch das Tumorstammwachstum im Gehirn.^[171] Gleevec (ST1571/Imatinib-Mesylat) ist ein Tyrosinkinaseinhibitor, der die β -Catenin-Aktivität bei Dickdarmkrebs im Menschen hemmt.^[172] γ -Secretase-Inhibitoren unterbrechen das Notch-Signal, und verschiedene Inhibitoren wie *N*-[*N*-(3,5-Difluorphenylacetyl)-L-alanyl]-S-phenylglycintert-butylester (DAPT), Dibenazepin, IL-X (cbz-IL-CHO) und andere können das Tumorstammwachstum unterdrücken und Apoptose einleiten.^[173] Ein anderer Notch-Inhibitor, MK0752, befindet sich in der klinischen Phase I gegen akute lymphoblastische T-Zell-Leukämie und fortgeschrittenen Brustkrebs.^[173] Ergebnisse aus Langzeitstudien mit Verbindungen, die gegen Tumorstammzellen und gegen „normale“ Tumorzellen gerichtet sind, sollten zu einem besseren Verständnis der Rolle der Tumorstammzellen für Krankheitsverlauf und Therapieergebnis beitragen.

5.5. Umprogrammierung von Gewebestammzellen

Wie in Abschnitt 3.5.1 diskutiert, werden Mutationen der DNA und epigenetische Veränderungen als Hauptgründe für stammzellintrinsische Fehlfunktionen angesehen. Die Telomerverkürzung begrenzt die Teilungsfähigkeit humaner Stammzellen durch die Aktivierung der DNA-Schadensant-

wort. Wie schon erwähnt, ist die Hemmung von p21 (Cdkn1a, Clip1 und Waf1) ein potenzieller Ansatz, um altersbedingte Stammzellfehlfunktionen, die durch die Telomerverkürzung ausgelöst werden, zu unterdrücken, ohne die Tumorbildung zu beschleunigen, und um die proliferative Homöostase und die verletzungsinduzierte Zellbildung in Patienten mit Telomerm Funktionsstörung zu verbessern.^[39]

In aktuellen Untersuchungen konnte sicher nachgewiesen werden, dass epigenetische Veränderungen sowohl bei Erkrankungen als auch in der normalen Entwicklung beim Menschen eine Rolle spielen.^[45,174,175] Ein allgemeines Prinzip von epigenetisch bedingten Erkrankungen sind Defekte in der phänotypischen Plastizität, also in der Fähigkeit der Stammzellen, ihre Funktion als Reaktion auf interne oder externe Umgebungssignale zu verändern. Ziel der therapeutischen Forschung auf diesem Gebiet ist es, die Mechanismen der altersabhängigen epigenetischen Modifikation von Gewebestammzellen zu identifizieren und pharmakologische Therapiemöglichkeiten zu schaffen, um den ungeeigneten epigenetischen Status gealterter Gewebestammzellen zu reprogrammieren. Dazu müssen wir Biomarker für normale Stammzellen, gealterte Stammzellen und präonkogene Stammzellen identifizieren. *INK4a/ARF*, ein Tumorsuppressor, könnte ein Biomarker sein, um zwischen normalen Stammzellen, alternden Stammzellen und Tumorstammzellen zu unterscheiden.^[176] Die Anhäufung von p16^{INK4a} in alternden Stammzellen wurde bereits nachgewiesen. Andererseits wird die Spaltung von p16^{INK4a} als Zeichen für Krebs angesehen. So lässt sich die Expression von p16^{INK4a} vielleicht als Ersatz-Biomarker in der Diagnostik und Wirkstoffforschung verwenden.

In neueren Experimenten wurde gezeigt, dass der Transfer der Gene *Oct4*, *Sox2*, *c-Myc* und *Klf4* in somatische Zellen adulter Mäuse diese in ESC-ähnliche pluripotente Stammzellen verwandelt.^[177] Dieses überraschende Ergebnis lässt es möglich erscheinen, aus alternden oder prä-onkogenen Gewebestammzellen normale Gewebestammzellen zu gewinnen, obwohl man dazu möglicherweise andere Faktoren benötigt als die, mit denen man somatische Zellen umprogrammieren kann. Ziel der Wirkstoffsuche ist in diesem Fall, niedermolekulare chemische Verbindungen oder biologische Präparate zu finden, mit denen eine Umprogrammierung differenzierter Gewebezellen und/oder gealterter Gewebestammzellen induziert werden kann. Dazu durchmusterten Chen et al. eine Bibliothek kleiner heterocyclischer Verbindungen, darunter 2,6-disubstituierte Purine, auf ihre Fähigkeit, die Dedifferenzierung der generationsgebundenen Myoblasten-Zelllinie C2C12 zu induzieren und fanden 2-(4-Morpholinoanilino)-6-cyclohexylaminopurin (Reversin), das C2C12-Zellen in multipotente Vorläuferzellen umwandeln kann; die Zellen können sich anschließend in Adipocyten und Osteoblasten differenzieren.^[178] Williams et al.^[179] konnten auch zeigen, dass sich C2C12-Zellen oder mononukleäre und Satellitenzellen aus menschlichen Skelettmuskeln durch eine Behandlung mit Neurodazin zur Entwicklung eines neuronalen Phänotyps anstoßen lassen. Neurodazin wurde bei einem Neurogenese-Screening von etwa 300 Imidazolderivaten identifiziert. Die Ergebnisse belegen, dass Ansätze zur

Umprogrammierung von Zellen mit niedermolekularen Substanzen erfolgreich sein können.

die die Lebensqualität in einer alternden Gesellschaft entscheidend verbessern werden.^[181]

6. Translationale Medizin mit humanen pluripotenten Stammzellen

Unterschiede in den pharmakologischen Effekten zwischen Tieren und Menschen können ein Hindernis bei der Auswahl geeigneter Wirkstoffkandidaten für die weitere Entwicklung sein. Techniken, die die Übertragung von Erkenntnissen aus Tierexperimenten in die klinische Anwendung ermöglichen, sind dringend erforderlich für die Verbesserung der Produktivität der Wirkstoffentwicklung. Zu diesen gehören In-vitro- und In-vivo-Testsysteme, die die Effekte im Menschen nachahmen.

Neben humanen ES-Zellen ist es vielleicht auch möglich, ES-Zell-ähnliche Stammzellen aus den Keimdrüsen zu isolieren^[13] oder sie aus adulten somatischen Zellen durch den Transfer von somatischen Zellkernen zu erzeugen.^[180] Solche pluripotenten Stammzellen können in gewissem Umfang in vitro gezielt zu adulten somatischen Zellen und somatischen Stammzellen differenziert werden. Zellen und Gewebe, die aus pluripotenten Stammzellen differenziert wurden, sollten den In-vivo-Status besser widerspiegeln als konventionelle Zelllinien. Außerdem können adulte somatische Stammzellen komplexe humane Gewebe bilden, wenn sie in immundefiziente Mäuse transplantiert werden. Humane Stammzellen könnten also für In-vitro- und In-vivo-Testsysteme eingesetzt werden, die den tatsächlichen biologischen Zustand im Menschen nachahmen.

Humane pluripotente Stammzellen aus einem Umprogrammierungsansatz sind zwar noch nicht verfügbar. Die Technologie wäre aber ein sehr effektives Werkzeug für die translationale Medizin und für die Erzeugung menschlicher Zellen und Gewebe mit spezifischen genetischen Eigenschaften. Mithilfe pluripotenter Stammzellen ließen sich Effekte und Nebenwirkungen von Wirkstoffkandidaten vorhersagen, die durch genetische Polymorphie hervorgerufen werden.

Die Verwendung menschlicher pluripotenter Stammzellen für unterschiedlichste Fragestellungen der Wirkstoffentwicklung macht die Entwicklung von Technologien nötig, die eine präzise Regulierung ihres Wachstums und ihrer Differenzierung ermöglichen.

7. Schlussfolgerungen

Kenntnisse über Stammzellen und Methoden zu ihrer Verwendung ermöglichen gänzlich neue Richtungen in der Wirkstoffentwicklung und der Therapie. Ursprünglich war die regenerative Medizin darauf gerichtet, mithilfe der Stammzelltechnologien einen Beitrag zur Zelltherapie zu leisten. Der Fortschritt in der Entwicklungsbiologie und der Biologie adulter Stammzellen eröffnet nun aber neue Perspektiven zur Behandlung degenerativer Erkrankungen. Wir glauben, dass Technologien auf der Basis von adulten und embryonalen Stammzellen das Potenzial für innovative Therapien haben,

Abkürzungen

ACE	Angiotensin umwandelndes Enzym
AMI	akuter Myokardinfarkt
AT1	Angiotensin II Typ 1 (-Rezeptor)
BDNF	hirnstämmiger neurotropher Faktor
BMP	morphogenetisches Knochenprotein
cGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
CHF	kongestive Herzinsuffizienz
CLI	Ischämiesyndrom
ZNS	Zentralnervensystem
COX	Cyclooxygenase
CREB	Bindeprotein des cAMP-Response-Elements
DNA	Desoxyribonucleinsäure
EB	Embryoidkörper
EG	embryonale Keimzelle
EPC	endotheliale Vorläuferzelle
EPO	Erythropoietin
ERK	extrazelluläre signalregulierte Kinase
ES	embryonale Stammzelle
FGF	Fibroblasten-Wachstumsfaktor
G-CSF	granulocytenkoloniestimulierender Faktor
GH	Wachstumshormon
GLP	glucagonähnliches Peptid
GM-CSF	granulocyten-/makrophagenkoloniestimulierender Faktor
GSC	Keimbahnstammzelle
GSK	Glycogensynthasekinase
GVHD	Gewebeabstoßung (graft versus host disease)
HGF	Hepatocytenwachstumsfaktor
Hh	Hedgehog
HMG-CoA	3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA
HSC	hämatopoetische Stammzelle
IBRI	Institute for Biomedical Research and Innovation
IGF	insulinähnlicher Wachstumsfaktor
IL	Interleukin
LIF	Leukämie hemmender Faktor
MAPK	mitogenaktivierte Proteinkinase
MAPC	multipotente adulte Vorläuferzelle
MMP	Matrix-Metalloproteinase
MPC	mesenchymale Vorläuferzelle
MSC	mesenchymale Stammzelle
NGF	Nervenwachstumsfaktor
NIH	National Institutes of Health
NSC	neuronale Stammzelle
PACAP	hypophysäres adenylatcyclaseaktivierendes Polypeptid
PAO	peripherer arterieller Verschluss
PDE	Phosphodiesterase
PGE	Prostaglandin E
PI3	Phosphatidylinositoltriphosphat
PKC	Proteinkinase C

ROCK	Rho-assoziierte Kinase
SCF	Stammzellfaktor
SCID	schwerer kombinierter Immundefekt
SDF	Stromazell-Faktor
SERM	selektiver Östrogenrezeptormodulator
STAT	Signalübermittler und Transkriptionsaktivator
TNF	Tumornekrosefaktor

Eingegangen am 16. Februar 2007

Übersetzt von Dr. Burkard Neuß, Jülich

- [1] D. L. Stocum, *Science* **1997**, 276, 15.
- [2] M. F. Pera, B. Reubinoff, A. Trounson, *J. Cell Sci.* **2000**, 113, 5–10.
- [3] The International Stem Cell Initiative, *Nat. Biotechnol.* **2007**, 25, 803–816.
- [4] A. Biswas, R. Hutchins, *Stem Cells Dev.* **2007**, 16, 213–221.
- [5] I. G. M. Brons, L. E. Smithers, M. W. B. Trotter, P. Rugg-Gunn, B. Sun, S. M. Chuva de Sousa Lopes, S. K. Howlett, A. Clarkson, L. Ahrlund-Richter, R. A. Pedersen, L. Vallier, *Nature* **2007**, 448, 191–195.
- [6] S. S. Grewal, J. N. Barker, S. M. Davies, J. E. Wagner, *Blood* **2003**, 101, 4233–4244.
- [7] a) S. A. Steigman, D. O. Fauza, *Curr. Prot. Stem Cell Biol.* **2007**, 1E.2.1–1E.2.12; b) H.-I. Huang, *Curr. Prot. Stem Cell Biol.* **2007**, 1E.1.1–1E.1.9.
- [8] D. G. de Rooij, J. A. Grootegoed, *Curr. Opin. Cell Biol.* **1998**, 10, 694–701.
- [9] J. Johnson, J. Bagley, M. Skaznik-Wikiel, H.-J. Lee, G. B. Adams, Y. Niikura, K. S. Tschudy, J. Canning Tilly, M. L. Cortes, R. Forkert, T. Spitzer, J. Iacomini, D. T. Scadden, J. L. Tilly, *Cell* **2005**, 122, 303–315.
- [10] K. Eggen, S. Jurga, R. Gosden, I. M. Min, A. J. Wagers, *Nature* **2006**, 441, 1109–1114.
- [11] J. B. Kerr, R. Duckett, M. Myers, K. L. Britt, T. Mladenovska, J. K. Findlay, *Reproduction* **2006**, 132, 95–109.
- [12] K. Guan, K. Nayernia, L. S. Maier, S. Wagner, R. Dressel, J. H. Lee, J. Nolte, F. Wolf, M. Li, W. Engel, G. Hasenfuss, *Nature* **2006**, 440, 1199–1203.
- [13] D. Cyranoski, *Nature* **2006**, 440, 586–587.
- [14] T. A. Rando, *Nature* **2006**, 441, 1080–1086.
- [15] H. Okano, M. Sakaguchi, K. Ohki, N. Suzuki, K. Sawamoto, *J. Neurochem.* **2007**, 102, 1459–1465.
- [16] M. A. Laflamme, C. E. Murry, *Nat. Biotechnol.* **2005**, 23, 845–856.
- [17] L. da Silva Meirelles, P. C. Chagastelles, N. B. Nardi, *J. Cell Sci.* **2006**, 119, 2204–2213.
- [18] D. J. Prockop, *Science* **1997**, 276, 71–74.
- [19] M. Dezawa, H. Kanno, M. Hoshino, H. Cho, N. Matsumoto, Y. Itokazu, N. Tajima, H. Yamada, H. Sawada, H. Ishikawa, T. Mimura, M. Kitada, Y. Suzuki, C. Ide, *J. Clin. Invest.* **2004**, 113, 1701–1710.
- [20] G. Chamberlain, J. Fox, B. Ashton, J. Middleton, *Stem Cells* **2007**, 25, 2739–2749.
- [21] Y. Takashima, T. Era, K. Nakao, S. Kondo, M. Kasuga, A. G. Smith, S.-I. Nishikawa, *Cell* **2007**, 129, 1377–1388.
- [22] K. J. L. Fernandes, I. A. McKenzie, P. Mill, K. M. Smith, M. Akhavan, F. Barnabé-Heider, J. Biernaskie, A. Juneck, N. R. Kobayashi, J. G. Toma, D. R. Kaplan, P. A. Labosky, V. Rafuse, C.-C. Hui, F. D. Miller, *Nat. Cell Biol.* **2004**, 6, 1082–1093.
- [23] Y. Jiang, B. N. Jahagirdar, R. L. Reinhardt, R. E. Schwartz, C. D. Keene, X. R. Ortiz-Gonzalez, M. Reyes, T. Lenvik, T. Lund, M. Blackstad, J. Du, S. Aldrich, A. Lisberg, W. C. Low, D. A. Largaespada, C. M. Verfaillie, *Nature* **2002**, 418, 41–49.
- [24] G. D'Ippolito, S. Diabira, G. A. Howard, P. Menei, B. A. Roos, P. C. Schiller, *J. Cell Sci.* **2004**, 117, 2971–2981.
- [25] J.-P. Lévesque, I. G. Winkler, S. R. Larsen, J. E. J. Rasko, *Handb. Exp. Pharmacol.* **2007**, 180, 3–36.
- [26] Y. Katayama, M. Battista, W.-M. Kao, A. Hidalgo, A. J. Peired, S. A. Thomas, P. S. Frenette, *Cell* **2006**, 124, 407–421.
- [27] M. Grunewald, I. Avraham, Y. Dor, E. Bacher-Lustig, A. Itin, S. Jung, S. Chimenti, L. Landsman, R. Abramovitch, E. Keshet, *Cell* **2006**, 124, 175–189.
- [28] C. N. Metz, *Cell. Mol. Life Sci.* **2003**, 60, 1342–1350.
- [29] Y. Zhao, D. Glesne, E. Huberman, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, 100, 2426–2431.
- [30] F. D. Camargo, R. Green, Y. Capetanaki, K. A. Jackson, M. A. Goodell, *Nat. Med.* **2003**, 9, 1520–1527.
- [31] N. Takakura, *Cancer Sci.* **2006**, 97, 568–574.
- [32] G. M. Martin, *Mech. Ageing Dev.* **2007**, 128, 9–12.
- [33] D. T. Scadden, *Nature* **2006**, 441, 1075–1079.
- [34] H. Geiger, G. Rennebeck, G. Van Zant, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, 102, 5102–5107.
- [35] D. J. Rossi, D. Bryder, I. L. Weissman, *Exp. Gerontol.* **2007**, 42, 385–390.
- [36] M. Collado, M. A. Blasco, M. Serrano, *Cell* **2007**, 130, 223–233.
- [37] A. Nijnik, L. Woodbine, C. Marchetti, S. Dawson, T. Lambe, C. Liu, N. P. Rodrigues, T. L. Crockford, E. Cabuy, A. Vindigni, T. Enver, J. I. Bell, P. Slijepcevic, C. C. Goodnow, P. A. Jeggo, R. J. Cornall, *Nature* **2007**, 447, 686–690.
- [38] D. J. Rossi, D. Bryder, J. Seita, A. Nussenzweig, J. Hoeijmakers, I. L. Weissman, *Nature* **2007**, 447, 725–729.
- [39] A. R. Choudhury, Z. Ju, M. W. Djojicubroto, A. Schienke, A. Lechel, S. Schaetzlein, H. Jiang, A. Stepczynska, C. Wang, J. Buer, H.-W. Lee, T. von Zglinicki, A. Ganser, P. Schirmacher, H. Nakauchi, K. L. Rudolph, *Nat. Genet.* **2007**, 39, 99–105.
- [40] K. Ito, A. Hirao, F. Arai, S. Matsuoka, K. Takubo, I. Hama-guchi, K. Nomiya, K. Hosokawa, K. Sakurada, N. Nakagata, Y. Ikeda, T. W. Mak, T. Suda, *Nature* **2004**, 431, 997–1002.
- [41] K. Ito, A. Hirao, F. Arai, K. Takubo, S. Matsuoka, K. Miyamoto, M. Ohmura, K. Naka, K. Hosokawa, Y. Ikeda, T. Suda, *Nat. Med.* **2006**, 12, 446–451.
- [42] A. V. Molofsky, R. Pardal, T. Iwashita, I.-K. Park, M. F. Clarke, S. J. Morrison, *Nature* **2003**, 425, 962–967.
- [43] I.-K. Park, D. Qian, M. Kiel, M. W. Becker, M. Pihlaja, I. L. Weissman, S. J. Morrison, M. F. Clarke, *Nature* **2003**, 423, 302–305.
- [44] R. Agrelo, W.-H. Cheng, F. Setien, S. Roperio, J. Espada, M. F. Fraga, M. Herranz, M. F. Paz, M. Sanchez-Céspedes, M. J. Artiga, D. Guerrero, A. Castells, C. von Kobbe, V. A. Bohr, M. Esteller, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, 103, 8822–8827.
- [45] A. P. Feinberg, R. Ohlsson, S. Henikoff, *Nat. Rev. Genet.* **2006**, 7, 21–33.
- [46] K. Suzuki, I. Suzuki, A. Leodolter, S. Alonso, S. Horiuchi, K. Yamashita, M. Peruchio, *Cancer Cell* **2006**, 9, 199–207.
- [47] B.-Y. Ryu, K. E. Orwig, J. M. Oatley, M. R. Avarbock, R. L. Brinster, *Stem Cells* **2006**, 24, 1505–1511.
- [48] Z. Ju, H. Jiang, M. Jaworski, C. Rathinam, A. Gompf, C. Klein, A. Trumpp, K. L. Rudolph, *Nat. Med.* **2007**, 13, 742–747.
- [49] I. M. Conboy, M. J. Conboy, A. J. Wagers, E. R. Girma, I. L. Weissman, T. A. Rando, *Nature* **2005**, 433, 760–764.
- [50] S. W. J. Lamberts, A. W. van den Beld, A.-J. van der Lely, *Science* **1997**, 278, 419–424.
- [51] E. Corpas, S. M. Harman, M. R. Blackman, *Endocr. Rev.* **1993**, 14, 20–39.
- [52] C. Cutler, J. H. Antin, *Clin. Chest Med.* **2005**, 26, 517–527.
- [53] T. Asahara, A. Kawamoto, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **2004**, 287, C572–C579.

- [54] A. Kawamura, T. Horie, I. Tsuda, Y. Abe, M. Yamada, H. Egawa, J. Iida, H. Sakata, K. Onodera, T. Tamaki, H. Furui, K. Kukita, J. Meguro, M. Yonekawa, S. Tanaka, *J. Artif. Organs* **2006**, 9, 226–233.
- [55] N. Nagaya, T. Fujii, T. Iwase, H. Ohgushi, T. Itoh, M. Uematsu, M. Yamagishi, H. Mori, K. Kangawa, S. Kitamura, *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* **2004**, 287, H2670–H2676.
- [56] S. Raffii, D. Lyden, *Nat. Med.* **2003**, 9, 702–712.
- [57] M. F. Pittenger, B. J. Martin, *Circ. Res.* **2004**, 95, 9–20.
- [58] J. D. Dowell, M. Rubart, K. B. S. Pasumarthi, M. H. Soonpaa, L. J. Field, *Cardiovasc. Res.* **2003**, 58, 336–350.
- [59] V. Schächinger, B. Assmus, M. B. Britten, J. Honold, R. Lehmann, C. Teupe, N. D. Abolmaali, T. J. Vogl, W.-K. Hofmann, H. Martin, S. Dimmeler, A. M. Zeiher, *J. Am. Coll. Cardiol.* **2004**, 44, 1690–1699.
- [60] a) K. C. Wollert, G. P. Meyer, J. Lotz, S. Ringes-Lichtenberg, P. Lippolt, C. Breidenbach, S. Fichtner, T. Korte, B. Hornig, D. Messinger, L. Arseniev, B. Hertenstein, A. Ganser, H. Drexler, *Lancet* **2004**, 364, 141–148; b) G. P. Meyer, K. C. Wollert, J. Lotz, J. Steffens, P. Lippolt, S. Fichtner, H. Hecker, A. Schaefer, L. Arseniev, B. Hertenstein, A. Ganser, H. Drexler, *Circulation* **2006**, 113, 1287–1294.
- [61] V. Schächinger, S. Erbs, A. Elsässer, W. Haberbosch, R. Hambrecht, H. Hölschermann, J. Yu, R. Corti, D. G. Mathey, C. W. Hamm, T. Süselbeck, N. Werner, J. Haase, J. Neuzner, A. Germing, B. Mark, B. Assmus, T. Tonn, S. Dimmeler, A. M. Zeiher for the REPAIR-AMI Investigators, *Eur. Heart J.* **2006**, 27, 2775–2783.
- [62] O. Lindvall, Z. Kokaia, A. Martinez-Serrano, **2004**, 10 Suppl., S42–S50.
- [63] C. Limbert, G. Päch, F. Jakob, J. Seufert, *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2008**, 79, 389–399.
- [64] A. Sambanis, *Diabetes Technol. Ther.* **2000**, 2, 81–89.
- [65] T. G. Fellous, N. J. Guppy, M. Brittan, M. R. Alison, *Diabetes Metab. Res. Rev.* **2007**, 23, 87–99.
- [66] R. Bielby, E. Jones, D. McGonagle, *Injury* **2007**, 38S1, S26–S32.
- [67] S. P. Bruder, N. Jaiswal, N. S. Ricalton, J. D. Mosca, K. H. Kraus, S. Kadiyala, *Clin. Orthop. Relat. Res.* **1998**, 355S, S247–S256.
- [68] W. Richter, *Curr. Opin. Rheumatol.* **2007**, 19, 451–456.
- [69] P. Romagnani, L. Lasagni, B. Mazzinghi, E. Lazzeri, S. Romagnani, *Curr. Med. Chem.* **2007**, 14, 1129–1139.
- [70] S. Ding, P. G. Schultz, *Nat. Biotechnol.* **2004**, 22, 833–840.
- [71] S. Ding, P. G. Schultz, *Curr. Top. Med. Chem.* **2005**, 5, 383–395.
- [72] S. Chen, S. Hilcove, S. Ding, *Mol. Biosyst.* **2006**, 2, 18–24.
- [73] H. Niwa, T. Burdon, I. Chambers, A. Smith, *Genes Dev.* **1998**, 12, 2048–2060.
- [74] Q.-L. Ying, J. Nichols, I. Chambers, A. Smith, *Cell* **2003**, 115, 281–292.
- [75] X. Qi, T.-G. Li, J. Hao, J. Hu, J. Wang, H. Simmons, S. Miura, Y. Mishina, G.-Q. Zhao, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, 101, 6027–6032.
- [76] S. Chen, J. T. Do, Q. Zhang, S. Yao, F. Yan, E. C. Peters, H. R. Schöler, P. G. Schultz, S. Ding, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, 103, 17266–17271.
- [77] N. Sato, L. Meijer, L. Skaltsounis, P. Greengard, A. H. Brivanlou, *Nat. Med.* **2004**, 10, 55–63.
- [78] K. Watanabe, M. Ueno, D. Kamiya, A. Nishiyama, M. Matsumura, T. Wataya, J. B. Takahashi, S. Nishikawa, S. Nishikawa, K. Muguruma, Y. Sasai, *Nat. Biotechnol.* **2007**, 25, 681–686.
- [79] G. Bain, D. Kitchens, M. Yao, J. E. Huettner, D. I. Gottlieb, *Dev. Biol.* **1995**, 168, 342–357.
- [80] S.-H. Lee, N. Lumelsky, L. Studer, J. M. Auerbach, R. D. McKay, *Nat. Biotechnol.* **2000**, 18, 675–679.
- [81] Q.-L. Ying, M. Stavridis, D. Griffiths, M. Li, A. Smith, *Nat. Biotechnol.* **2003**, 21, 183–186.
- [82] K. Watanabe, D. Kamiya, A. Nishiyama, T. Katayama, S. Nozaki, H. Kawasaki, Y. Watanabe, K. Mizuseki, Y. Sasai, *Nat. Neurosci.* **2005**, 8, 288–296.
- [83] S. Yuasa, Y. Itabashi, U. Koshimizu, T. Tanaka, K. Sugimura, M. Kinoshita, F. Hattori, S. Fukami, T. Shimazaki, S. Ogawa, H. Okano, K. Fukuda, *Nat. Biotechnol.* **2005**, 23, 607–611.
- [84] J. Jiang, M. Au, K. Lu, A. Eshpeter, G. Korbutt, G. Fisk, A. S. Majumdar, *Stem Cells* **2007**, 25, 1940–1953.
- [85] S. Ding, T. Y. H. Wu, A. Brinker, E. C. Peters, W. Hur, N. S. Gray, P. G. Schultz, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, 100, 7632–7637.
- [86] X. Wu, S. Ding, Q. Ding, N. S. Gray, P. G. Schultz, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, 126, 1590–1591.
- [87] S. H. Yoon, Y. S. Shim, Y. H. Park, J. K. Chung, J. H. Nam, M. O. Kim, H. C. Park, S. R. Park, B.-H. Min, E. Y. Kim, B. H. Choi, H. Park, Y. Ha, *Stem Cells* **2007**, 25, 2066–2073.
- [88] F. H. Bahlmann, K. de Groot, J.-M. Spandau, A. L. Landry, B. Hertel, T. Duckert, S. M. Boehm, J. Menne, H. Haller, D. Fliser, *Blood* **2004**, 103, 921–926.
- [89] S. Dimmeler, A. Aicher, M. Vasa, C. Mildner-Rihm, K. Adler, M. Tiemann, H. Rütten, S. Fichtlscherer, H. Martin, A. M. Zeiher, *J. Clin. Invest.* **2001**, 108, 391–397.
- [90] C.-H. Wang, N. Ciliberti, S.-H. Li, P. E. Szmitko, R. D. Weisel, P. W. M. Fedak, M. Al-Omran, W.-J. Cherng, R.-K. Li, W. L. Stanford, S. Verma, *Circulation* **2004**, 109, 1392–1400.
- [91] K. Strehlow, N. Werner, J. Berweiler, A. Link, U. Dirnagl, J. Priller, K. Laufs, L. Ghaeni, M. Milosevic, M. Böhm, G. Nickenig, *Circulation* **2003**, 107, 3059–3065.
- [92] F. H. Bahlmann, K. de Groot, O. Mueller, B. Hertel, H. Haller, D. Fliser, *Hypertension* **2005**, 45, 526–529.
- [93] C.-H. Wang, S. Verma, I.-C. Hsieh, Y.-J. Chen, L.-T. Kuo, N.-I. Yang, S.-Y. Wang, M.-Y. Wu, C.-M. Hsu, C.-W. Cheng, W.-J. Cherng, *J. Mol. Cell. Cardiol.* **2006**, 41, 34–43.
- [94] T. Lapidot, I. Petit, *Exp. Hematol.* **2002**, 30, 973–981.
- [95] J.-P. Levesque, F. Liu, P. J. Simmons, T. Betsuyaku, R. M. Senior, C. Pham, D. C. Link, *Blood* **2004**, 104, 65–72.
- [96] N. Flomenberg, S. M. Devine, J. F. DiPersio, J. L. Liesveld, J. M. McCarty, S. D. Rowley, D. H. Vesole, K. Badel, G. Calandra, *Blood* **2005**, 106, 1867–1874.
- [97] L. M. Pelus, S. Fukuda, *Exp. Hematol.* **2006**, 34, 1010–1020.
- [98] D. Orlic, J. Kajstura, S. Chimenti, F. Limana, I. Jakoniuk, F. Quaini, B. Nadal-Ginard, D. M. Bodine, A. Leri, P. Anversa, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, 98, 10344–10349.
- [99] S. Minatoguchi, G. Takemura, X.-H. Chen, N. Wang, Y. Uno, M. Koda, M. Arai, Y. Misao, C. Lu, K. Suzuki, K. Goto, A. Komada, T. Takahashi, K. Kosai, T. Fujiwara, H. Fujiwara, *Circulation* **2004**, 109, 2572–2580.
- [100] R. S. Ripa, E. Jørgensen, Y. Wang, J. J. Thune, J. C. Nilsson, L. Søndergaard, H. E. Johnsen, L. Køber, P. Grande, J. Kastrup, *Circulation* **2006**, 113, 1983–1992.
- [101] D. Zohlnhöfer, I. Ott, J. Mehili, K. Schömig, F. Michalk, T. Ibrahim, G. Meisetschlager, J. von Wedel, H. Bollwein, M. Seyfarth, J. Dirschinger, C. Schmitt, M. Schwaiger, A. Kastrati, A. Schömig for the REVIVAL-2 Investigators, *J. Am. Med. Assoc.* **2006**, 295, 1003–1010.
- [102] M. G. Engelmann, H. D. Theiss, C. Hennig-Theiss, A. Huber, B. J. Wintersperger, A.-E. Werle-Ruedinger, S. O. Schoenberg, G. Steinbeck, W.-M. Franz, *J. Am. Coll. Cardiol.* **2006**, 48, 1712–1721.
- [103] H. Kawada, S. Takizawa, T. Takanashi, Y. Morita, J. Fujita, K. Fukuda, S. Takagi, H. Okano, K. Ando, T. Hotta, *Circulation* **2006**, 113, 701–710.
- [104] A. Schneider, C. Krüger, T. Steigleder, D. Weber, C. Pitzer, R. Laage, J. Aronowski, M. H. Maurer, N. Gassler, W. Mier, M. Hasselblatt, R. Kollmar, S. Schwab, C. Sommer, A. Bach, H.-G. Kuhn, W.-R. Schäbitz, *J. Clin. Invest.* **2005**, 115, 2083–2098.

- [105] S. von Aulock, I. Diterich, L. Hareng, T. Hartung, *Curr. Opin. Invest. Drugs* **2004**, 5, 1148–1152.
- [106] W.-C. Shyu, S.-Z. Lin, C.-C. Lee, D. D. Liu, H. Li, *Can. Med. Assoc. J.* **2006**, 174, 927–933.
- [107] K. Kaptan, C. Beyan, A. Ifran, *Can. Med. Assoc. J.* **2006**, 175, 1095.
- [108] S. J. Morrison, J. Kimble, *Nature* **2006**, 441, 1068–1074.
- [109] T. Ueda, K. Tsuji, H. Yoshino, Y. Ebihara, H. Yagasaki, H. Hisakawa, T. Mitsui, A. Manabe, R. Tanaka, K. Kobayashi, M. Ito, K. Yasukawa, T. Nakahata, *J. Clin. Invest.* **2000**, 105, 1013–1021.
- [110] J. Jarosca, K. Goltry, A. Smith, B. Waters-Pick, P. L. Martin, T. A. Driscoll, R. Howrey, N. Chao, J. Douville, S. Burhop, P. Fu, J. Kurtzberg, *Blood* **2003**, 101, 5061–5067.
- [111] B. Varnum-Finney, L. Xu, C. Brashem-Stein, C. Nourigat, D. Flowers, S. Bakkour, W. S. Pear, I. D. Bernstein, *Nat. Med.* **2000**, 6, 1278–1281.
- [112] J. Kros, P. Austin, N. Beslu, E. Kroon, R. K. Humphries, G. Savageau, *Nat. Med.* **2003**, 9, 1428–1432.
- [113] T. Reya, A. W. Duncan, L. Ailles, J. Domen, D. C. Scherer, K. Willert, L. Hintz, R. Nusse, I. L. Weissman, *Nature* **2003**, 423, 409–414.
- [114] G. Bhardwaj, B. Murdoch, D. Wu, D. P. Baker, K. P. Williams, K. Chadwick, L. E. Ling, F. N. Karanu, M. Bhatia, *Nat. Immunol.* **2001**, 2, 172–180.
- [115] G. Bug, H. Gül, K. Schwarz, H. Pfeifer, M. Kampmann, X. Zheng, T. Beissert, S. Boehrer, D. Hoelzer, O. G. Ottmann, M. Ruthardt, *Cancer Res.* **2005**, 65, 2537–2541.
- [116] H. Tanaka, I. Matsumura, K. Itoh, A. Hatsuyama, M. Shikamura, Y. Satoh, T. Heike, T. Nakahata, Y. Kanakura, *Stem Cells* **2006**, 24, 2592–2602.
- [117] J. P. Chute, G. G. Muramoto, J. Whitesides, M. Colvin, R. Safi, N. J. Chao, D. P. McDonnell, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, 103, 11707–11712.
- [118] T. E. North, W. Goessling, C. R. Walkley, C. Lengerke, K. R. Kopani, A. M. Lord, G. J. Weber, T. V. Bowman, I.-H. Jang, T. Grosser, G. A. FitzGerald, G. Q. Daley, S. H. Orkin, L. I. Zon, *Nature* **2007**, 447, 1007–1011.
- [119] A. Arvidsson, T. Collin, D. Kirik, Z. Kokaia, O. Lindvall, *Nat. Med.* **2002**, 8, 963–970.
- [120] S. Pezet, S. B. McMahon, *Annu. Rev. Neurosci.* **2006**, 29, 507–538.
- [121] H. L. Wamsley, U. T. Iwaniec, T. J. Wronski, *Toxicol. Pathol.* **2005**, 33, 577–583.
- [122] M. Frank-Kamenetsky, X. M. Zhang, S. Bottega, O. Guicherit, H. Wichterle, H. Dudek, D. Bumcrot, F. Y. Wang, S. Jones, J. Shulok, L. L. Rubin, J. A. Porter, *J. Biol.* **2002**, 1, 10.
- [123] J. Liu, X. Wu, B. Mitchell, C. Kintner, S. Ding, P. G. Schultz, *Angew. Chem.* **2005**, 117, 2023–2026; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2005**, 44, 1987–1990.
- [124] M. Warashina, K. H. Min, T. Kuwabara, A. Huynh, F. H. Gage, P. G. Schultz, S. Ding, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 605–607; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 591–593.
- [125] Y. Cai, P. Wu, M. Ozen, Y. Yu, J. Wang, M. Ittmann, M. Liu, *Neuroscience* **2006**, 138, 133–148.
- [126] J. E. Malberg, J. A. Blendy, *Trends Pharmacol. Sci.* **2005**, 26, 631–638.
- [127] A. A. Russo-Neustadt, M. J. Chen, *Curr. Pharm. Des.* **2005**, 11, 1495–1510.
- [128] J. S. Kim, M.-Y. Chang, I. T. Yu, J. H. Kim, S.-H. Lee, Y.-S. Lee, H. Son, *J. Neurochem.* **2004**, 89, 324–336.
- [129] T. Fukumoto, S. Morinobu, Y. Okamoto, A. Kagaya, S. Yamawaki, *Psychopharmacology* **2001**, 158, 100–106.
- [130] J. Hsieh, K. Nakashima, T. Kuwabara, E. Mejia, F. H. Gage, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, 101, 16659–16664.
- [131] R. Zhang, Y. Wang, L. Zhang, Z. Zhang, W. Tsang, M. Lu, L. Zhang, M. Chopp, *Stroke* **2002**, 33, 2675–2680.
- [132] L. Wang, Z. G. Zhang, R. L. Zhang, M. Chopp, *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **2005**, 25, 1150–1158.
- [133] K. K. Karishma, J. Herbert, *Eur. J. Neurosci.* **2002**, 16, 445–453.
- [134] W. Mayo, V. Lemaire, J. Malaterre, J. J. Rodriguez, M. Cayre, M. G. Stewart, M. Kharouby, G. Rougon, M. Le Moal, P. V. Piazza, D. N. Abrous, *Neurobiol. Aging* **2005**, 26, 103–114.
- [135] J. M. Wang, P. B. Johnston, B. G. Ball, R. D. Brinton, *J. Neurosci.* **2005**, 25, 4706–4718.
- [136] O. W. Howell, K. Doyle, J. H. Goodman, H. E. Scharfman, H. Herzog, A. Pringle, A. G. Beck-Sickinger, W. P. Gray, *J. Neurochem.* **2005**, 93, 560–570.
- [137] A. Mercer, H. Rönnholm, J. Holmberg, H. Lundh, J. Heidrich, O. Zachrisson, A. Ossoinak, J. Frisén, C. Patrone, *J. Neurosci. Res.* **2004**, 76, 205–215.
- [138] S. A. Baker, K. A. Baker, T. Hagg, *Eur. J. Neurosci.* **2004**, 20, 575–579.
- [139] M. Banas, M. Hery, R. Printemps, A. Daszuta, *Neuropsychopharmacology* **2004**, 29, 450–460.
- [140] V. A. Kulkarni, S. Jha, V. A. Vaidya, *Eur. J. Neurosci.* **2002**, 16, 2008–2012.
- [141] N. Kaneko, H. Okano, K. Sawamoto, *Genes Cells* **2006**, 11, 1145–1159.
- [142] M. Geraerts, O. Krylyshkina, Z. Debyser, V. Baekelandt, *Stem Cells* **2007**, 25, 263–270.
- [143] O. Lazarov, J. Robinson, Y.-P. Tang, I. S. Hairston, Z. Korade-Mirnic, V. M.-Y. Lee, L. B. Hershey, R. M. Sapolsky, K. Mirnic, S. S. Sisodia, *Cell* **2005**, 120, 701–713.
- [144] R. Zak, *Circ. Res.* **1974**, 34/35 Suppl II, 17–26.
- [145] J. Kajstura, A. Leri, N. Finato, C. Di Loreto, C. A. Beltrami, P. Anversa, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, 95, 8801–8805.
- [146] A. M. Hierlihy, P. Seale, C. G. Lobe, M. A. Rudnicki, L. A. Megeney, *FEBS Lett.* **2002**, 530, 239–243.
- [147] A. P. Beltrami, L. Barlucchi, D. Torella, M. Baker, F. Limana, S. Chimenti, H. Kasahara, M. Rota, E. Musso, K. Urbanek, A. Leri, J. Kajstura, B. Nadal-Ginard, P. Anversa, *Cell* **2003**, 114, 763–776.
- [148] H. Oh, S. B. Bradfute, T. D. Gallardo, T. Nakamura, V. Gaussin, Y. Mishina, J. Pocius, L. H. Michael, R. D. Behringer, D. J. Garry, M. L. Entman, M. D. Schneider, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, 100, 12313–12318.
- [149] K. Matsuura, T. Nagai, N. Nishigaki, T. Oyama, J. Nishi, H. Wada, M. Sano, H. Toko, H. Akazawa, T. Sato, H. Nakaya, H. Kasanuki, I. Komuro, *J. Biol. Chem.* **2004**, 279, 11384–11391.
- [150] C. M. Martin, A. P. Meeson, S. M. Robertson, T. J. Hawke, J. A. Richardson, S. Bates, S. C. Goetsch, T. D. Gallardo, D. J. Garry, *Dev. Biol.* **2004**, 265, 262–275.
- [151] O. Pfister, F. Mouquet, M. Jain, R. Summer, M. Helmes, A. Fine, W. S. Colucci, R. Liao, *Circ. Res.* **2005**, 97, 52–61.
- [152] E. Messina, L. De Angelis, G. Frati, S. Morrone, S. Chimenti, F. Fiordaliso, M. Salio, M. Battaglia, M. V. G. Latronico, M. Colletta, E. Vivarelli, L. Frati, G. Cossu, A. Giacomello, *Circ. Res.* **2004**, 95, 911–921.
- [153] A. Linke, P. Müller, D. Nurzynska, C. Casarsa, D. Torella, A. Nascimbene, C. Castaldo, S. Cascapera, M. Böhm, F. Quaini, K. Urbanek, A. Leri, T. H. Hintze, J. Kajstura, P. Anversa, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2005**, 102, 8966–8971.
- [154] K. Tateishi, E. Ashihara, S. Honsho, N. Takehara, T. Nomura, T. Takahashi, T. Ueyama, M. Yamagishi, H. Yaku, H. Matsubara, H. Oh, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2007**, 352, 635–641.
- [155] K.-L. Laugwitz, A. Moretti, J. Lam, P. Gruber, Y. Chen, S. Woodward, L.-Z. Lin, C.-L. Cai, M. M. Lu, M. Reth, O. Platoshyn, J. X.-J. Yuan, S. Evans, K. R. Chien, *Nature* **2005**, 433, 647–653.
- [156] P. Anversa, J. Kajstura, A. Leri, R. Bolli, *Circulation* **2006**, 113, 1451–1463.

- [157] K. Urbanek, M. Rota, S. Cascapera, C. Bearzi, A. Nascimbene, A. De Angelis, T. Hosoda, S. Chimentì, M. Baker, F. Limana, D. Nurzynska, D. Torella, F. Rotatori, R. Rastaldo, E. Musso, F. Quaini, A. Leri, J. Kajstura, P. Anversa, *Circ. Res.* **2005**, *97*, 663–673.
- [158] N. Rosenblatt-Velin, M. G. Lepore, C. Cartoni, F. Beermann, T. Pedrazzini, *J. Clin. Invest.* **2005**, *115*, 1724–1733.
- [159] H. Takayanagi, *Nat. Rev. Immunol.* **2007**, *7*, 292–304.
- [160] F. Syed, S. Khosla, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2005**, *328*, 688–696.
- [161] M. Heim, O. Frank, G. Kampmann, N. Sochocky, T. Pennimpede, P. Fuchs, W. Hunziker, P. Weber, I. Martin, I. Bendik, *Endocrinology* **2004**, *145*, 848–859.
- [162] M. W. Draper, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2003**, *997*, 373–377.
- [163] M. A. Musa, M. O. F. Khan, J. S. Cooperwood, *Curr. Med. Chem.* **2007**, *14*, 1249–1261.
- [164] A. Cranney, A. Papaioannou, N. Zytaruk, D. Hanley, J. Adachi, D. Goltzman, T. Murray, A. Hodsman for the Clinical Guidelines Committee of Osteoporosis Canada, *Can. Med. Assoc. J.* **2006**, *175*, 52–59.
- [165] R. Baron, G. Rawadi, *Endocrinology* **2007**, *148*, 2635–2643.
- [166] P. Clément-Lacroix, M. Ai, F. Morvan, S. Roman-Roman, B. Vayssière, C. Belleville, K. Estrera, M. L. Warman, R. Baron, G. Rawadi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **2005**, *102*, 17406–17411.
- [167] Y. Li, T. Hansotia, B. Yusta, F. Ris, P. A. Halban, D. J. Drucker, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 471–478.
- [168] D. Hanahan, R. A. Weinberg, *Cell* **2000**, *100*, 57–70.
- [169] M. S. Wicha, S. Liu, G. Dontu, *Cancer Res.* **2006**, *66*, 1883–1890.
- [170] T. Reya, S. J. Morrison, M. F. Clarke, I. L. Weissman, *Nature* **2001**, *414*, 105–111.
- [171] P. Sanchez, A. Ruiz i Altaba, *Mech. Dev.* **2005**, *122*, 223–230.
- [172] L. Zhou, N. An, R. C. Haydon, Q. Zhou, H. Cheng, Y. Peng, W. Jiang, H. H. Luu, P. Vanichakarn, J. P. Szatkowski, J. Y. Park, B. Breyer, T.-C. He, *Cancer Lett.* **2003**, *193*, 161–170.
- [173] I.-M. Shih, T.-L. Wang, *Cancer Res.* **2007**, *67*, 1879–1882.
- [174] A. P. Feinberg, *Nature* **2007**, *447*, 433–440.
- [175] W. Reik, *Nature* **2007**, *447*, 425–432.
- [176] J. Gil, G. Peters, *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2006**, *7*, 667–677.
- [177] K. Okita, T. Ichisaka, S. Yamanaka, *Nature* **2007**, *448*, 313–317.
- [178] S. Chen, Q. Zhang, X. Wu, P. G. Schultz, S. Ding, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 410–411.
- [179] D. R. Williams, M.-R. Lee, Y.-A. Song, S.-K. Ko, G.-H. Kim, I. Shin, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 9258–9259.
- [180] K. Hochedlinger, R. Jaenisch, *Nature* **2006**, *441*, 1061–1067.
- [181] Seit Annahme dieses Aufsatzes sind mehrere Beiträge über die Erzeugung Human-ES-Zellen-ähnlicher pluripotenter Zellen aus humanen somatischen Zellen erschienen, in denen die Induktion Human-ES-Zellen-ähnlicher Zellen aus somatischen Zellen demonstriert wird: K. Takahashi, K. Tanabe, M. Ohnuki, M. Narita, T. Ichisaka, K. Tomoda, S. Yamanaka, *Cell* **2007**, *131*, 861–872; J. Yu, M. A. Vodyanik, K. Smuga-Otto, J. Antosiewicz-Bourget, J. L. Frane, S. Tian, J. Nie, G. A. Jonsdottir, V. Ruotti, R. Stewart, I. I. Slukvin, J. A. Thomson, *Science* **2007**, *318*, 1917–1920; I. H. Park, R. Zhao, J. A. West, A. Yabuuchi, H. Huo, T. A. Ince, P. H. Lerou, M. W. Lensch, G. Q. Daley, *Nature* **2008**, *451*, 141–146; W. E. Lowry, L. Richter, R. Yachnicko, A. D. Pyle, J. Tchieu, R. Sridharan, A. T. Clark, K. Plath, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **2008**, *105*, 2883–2888; H. Masaki, T. Ishikawa, S. Takahashi, M. Okumura, N. Sakai, M. Haga, K. Kominami, H. Migita, F. McDonald, F. Shimada, K. Sakurada, *Stem Cell Res.* **2008**, *1*, 105–115.