

Stammzellentherapie bei Diabetes mellitus?

Neue Perspektiven aus der Grundlagenforschung

HENRYK ZULEWSKI

Die Transplantation von funktionstüchtigem Pankreasgewebe stellt dem Prinzip nach die optimale Therapie des Typ-1-Diabetes dar. Allerdings ist der Einsatz der Pankreastransplantation stark limitiert. Einen neuen therapeutischen Ansatz, welcher vielleicht einmal die heutige Insulintherapie ersetzen könnte, liefert die Stammzellforschung. Über den aktuellen Stand des Wissens orientiert der folgende Beitrag.

Erfolg und Dilemma der Insulintherapie

Die für den Glukosestoffwechsel verantwortlichen endokrinen Zellen des Pankreas liegen in abgekapselten Mikroorganen, den so genannten Langerhans'schen Inseln (*Abbildung*). Aus immer noch nicht ganz geklärten Gründen werden beim Diabetes mellitus Typ 1 die für die Insulinproduktion

verantwortlichen Betazellen der Langerhans'schen Inseln vom Immunsystem zerstört. Der resultierende absolute Insulinmangel hatte vor der Insulinära für die Betroffenen in der Regel fatale Folgen und endete meistens tödlich. Seit Einführung von Insulin in die Therapie des Diabetes mellitus Typ 1 im Januar 1922 – nur sechs Monate nach seiner Entdeckung durch die kanadische Arbeitsgruppe um Frederick G. Banting – hat diese Erkrankung ihren Schrecken als tödliches, unheilbares Leiden verloren. Der Diabetes mellitus Typ 1 wurde aber zu einer chronischen Krankheit mit zum Teil schweren Spätkomplikationen, wie diabetischer Retinopathie, Nephropathie, Neuropathie sowie Mikro- und Makroangiopathie. Diese Komplikationen können in der Regel vermieden werden, wenn es gelingt, eine stabile Stoffwechseleinstellung mit Hilfe des Insulins zu erreichen. Ein direkter Zusammenhang zwischen der Stoffwechseleinstellung des Diabetikers – ausgedrückt mit dem prozentualen Anteil des glykosylierten Hämoglobins (HbA_{1c}) als Langzeitparameter – und der Entwicklung von Spätkomplikationen wurde erst zu Beginn der Neunzigerjahre in zwei prospektiven Langzeitstudien (1, 2) nachgewiesen: je tiefer der HbA_{1c} -Wert, desto geringer das Risiko, Spätkomplikationen zu entwickeln. Diese Studien offenbarten aber auch, dass ein tiefer HbA_{1c} -Wert nur mit einem deutlich erhöhten Risiko für schwere Hypoglykämien zu erreichen ist (1, 2).

Einen Ausweg aus diesem therapeutischen Dilemma böte die Pankreastransplantation, die aber wegen der damit verbundenen erheblichen Komplikationen nur einer kleinen Gruppe von Patienten angeboten werden kann. Ähnliches gilt für die in letzter Zeit erfolgreich eingesetzte Transplantation von Langerhans'-

Merk-sätze

- Im Mausmodell ist es gelungen, aus embryonalen Stammzellen Insulin sezernierende Zellen herzustellen, die in vivo Diabetes zu heilen vermögen.
- Menschliche embryonale Stammzellen wurden zur Differenzierung in Insulin produzierende Zellen noch nicht erfolgreich verwendet, und deren Gebrauch für Forschungszwecke ist ethisch weiterhin sehr problematisch.
- Im adulten Pankreas gibt es aber Zellen, aus denen sich in vitro den Langerhans'schen Inseln ähnelnde Strukturen entwickeln können, die Insulin produzierende Zellen enthalten. Derartige Zellen wurden in einem Tiermodell für den Diabetes mellitus Typ 1 unter die Nierenkapsel der diabetischen Mäuse transplantiert und führten zur Heilung des Diabetes.
- Humane Nestin-positive Zellen (NIPs), die aus dem fötalen Pankreas isoliert wurden, konnten in vitro in Insulin produzierende Zellen verwandelt werden. Es erscheint denkbar, dass ex vivo isolierte und aufbereitete NIP eines Tages Diabetikern als Zellersatztherapie transplantiert werden.

Stammzellentherapie bei Diabetes mellitus?

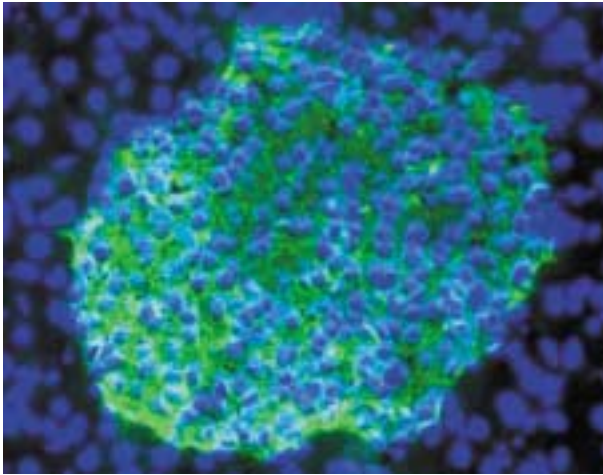


Abbildung: Immunfluoreszenzfärbung einer Langerhans'schen Insel mit Darstellung von Insulin-positiven Zellen in grün sowie einer Zellkernfärbung mittels DAPI in blau.

schen Inseln des Pankreas (3). Hier besteht das Problem vor allem im Mangel an Organen zur Isolierung der Inseln (man benötigt die Inseln von zwei bis vier Pankreata, um Insulinunabhängigkeit bei einem Patienten zu erreichen) sowie die ebenfalls noch nicht absehbaren Folgen einer Langzeitimmunsuppression. Die jüngsten Fortschritte in der Stammzellforschung zeigen mögliche Alternativen auf, mit denen die aktuelle Insulintherapie eines Tages ersetzt werden könnte.

Insulin produzierende Zellen aus embryonalen Stammzellen

In den letzten drei Jahren ist es mehreren Arbeitsgruppen gelungen, embryonale Stammzellen der Maus in Insulin-positive Zellen zu verwandeln (4–7). Wenn die so neu generierten Zellen in diabetische Mäuse transplantiert wurden, konnte eine Verbesserung bis Normalisierung des Blutzuckers beobachtet werden (4, 5, 7). Diese Experimente zeigen, dass es im Prinzip möglich ist – zumindest im Mausmodell –, aus embryonalen Stammzellen Insulin sezernierende Zellen im Labor herzustellen, die in vivo Diabetes zu heilen vermögen. Ein grundlegendes Problem bei diesen Experimenten ist jedoch die Kontrolle der Proliferation der sich stark vermehrenden Zellen. Das enorme Wachstumspotenzial

dieser Zellen, das die Entstehung eines ganzen Lebewesens erst möglich macht, führte andererseits bei Transplantation zur Entstehung von Tumoren, deren Bildung nicht immer zuverlässig verhindert werden kann (4, 8). Ein weiteres Problem ist die Reproduzierbarkeit der mit embryonalen Stammzellen erzielten Ergebnisse, die erhebliche Probleme bereiten kann, da es nicht eine standardisierte und von allen angewandte Methode zur Gewinnung, Proliferation und Differenzierung dieser Zellen gibt. Zudem können sich Zelllinien von embryonalen

Stammzellen erheblich unterscheiden. Menschliche embryonale Stammzellen wurden zur Differenzierung in Insulin produzierende Zellen noch nicht erfolgreich verwendet, und deren Gebrauch für Forschungszwecke ist ethisch weiterhin sehr problematisch.

Gewinnung von Betazellen aus pankreatischen Stammzellen

Ausgehend von Beobachtungen aus der Embryologie über die Entwicklung des Pankreas (8) ist die Hypothese entstanden, dass sich mutmassliche pankreatische Vorläufer- oder Stammzellen für die Langerhans'schen Inseln und somit für die Insulin produzierenden Betazellen im duktalem Gewebe des Pankreas befinden könnten (9). Dieser Hypothese folgend, versuchte man, pankreatisches Gewebe, angereichert mit duktalem Strukturen, in vitro zu kultivieren und in Insulin produzierende Zellen zu differenzieren. In jüngsten Arbeiten konnte dann auch gezeigt werden, dass es im Pankreas Zellen gibt, aus denen sich in vitro den Langerhans'schen Inseln ähnelnde Strukturen entwickeln können, die Zellen enthalten, welche Insulin produzieren (10, 11). Derartige Zellen wurden in einem Tiermodell für den Diabetes mellitus Typ 1 unter die Nierenkapsel der diabetischen Mäuse

transplantiert und haben hier den Diabetes geheilt (11).

Zellen mit dem Potenzial, sich in einen endokrinen Zelltyp zu verwandeln, scheint es im adulten Pankreas aber auch ausserhalb der favorisierten duktalem Strukturen zu geben. So wurde in einem kürzlich publizierten Report gezeigt, dass azinäre Zellen, die normalerweise den Verdauungssaft produzieren, unter bestimmten Bedingungen ebenfalls die Fähigkeit besitzen, sich in Insulin-positive Zellen zu verwandeln (12). Stamm- oder Vorläuferzellen werden ebenfalls in pankreatischen Inseln selbst vermutet (13). Der genaue phylogenetischen Ursprung und die Identität der beschriebenen Vorläufer- oder Stammzellen bleiben jedoch unbekannt, denn es gibt bisher keinen zuverlässigen Marker für pankreatische Stammzellen.

Nestin als Marker für Stammzellen im Pankreas

Trotz ihres endodermalen Ursprungs können bei pankreatischen endokrinen Zellen erstaunliche Parallelen mit neuronalen Zellen beobachtet werden, in Bezug auf die Expression von bestimmten Enzymen, Hormonen sowie von Transkriptionsfaktoren, die von entscheidender Bedeutung für die regelrechte Entwicklung sowohl des Gehirns als auch des endokrinen Pankreas sind (8, 14). Im zentralen Nervensystem kennt man jedoch seit über zwölf Jahren einen Marker für Stammzellen, das Neurofilament Nestin (15). Vor kurzem sind Nestin exprimierende Zellen auch in embryonalen und adulten Langerhans'schen Inseln des Pankreas beschrieben worden (16). Diese Zellen exprimieren weder die bekannten Inselhormone Insulin, Glukagon, Somatostatin oder das pankreatische Polypeptid noch finden sich in ihnen neurale Proteine. Nestin-positive Zellen in den Langerhans'schen Inseln des Pankreas entsprechen also einem bis anhin unbekanntem neuen Zelltyp. Es konnte auch gezeigt werden, dass diese Zellen in einzelnen Bereichen des duktalem Gewebes vorkommen, ohne jedoch Teil des duktalem Epithels zu sein. Sie liegen vereinzelt subepithelial und sehen Makrophagen recht ähnlich (18).

Stammzellentherapie bei Diabetes mellitus?

Nestin-positive Zellen konnten aus humanen Inseln isoliert werden, und sie haben die Fähigkeit, in vitro zu proliferieren. Sie konnten über Monate in Kultur gehalten werden, was mit normalen, differenzierten humanen Zellen in der Regel nicht möglich ist, aber eine Eigenschaft von Stammzellen darstellt. Die Nestin-positiven Zellen zeigen in vitro ein erstaunliches Entwicklungspotenzial. So konnten sie differenziert werden in pankreatische endokrine Zellen mit der Sekretion sowohl von Insulin als auch von Glukagon (18). Zudem fand man die Expression von Genen, die normalerweise zum Repertoire der exokrinen Zellen des Pankreas gehören, wie das Zytokeratin 19 oder die Amylase. Zusätzlich konnte die Aktivierung von Genen gefunden werden, die für einen hepatischen Phänotyp sprechen, wie der für die Entwicklung zu Hepatozyten essenzielle Transkriptionsfaktor XBP-1 (17) oder das Alpha-Fetoprotein (18). Diese Daten sprechen dafür, dass Nestin exprimierende Zellen aus den Langerhans'schen Inseln multipotente Stammzellen sind. Wegen ihres Ursprungs werden diese Zellen Nestin-positive Islet Derived Progenitor Cells oder kurz NIP genannt (18). Die Differenzierung von NIP in Insulin-positive Zellen hängt ab von der intakten Funktion des Transkriptionsfaktors IDX-1 (auch PDX und IPF-1 genannt) und wird entscheidend stimuliert durch das insulinotrope Hormon Glucagon-Like Peptide 1 (GLP-1) (18).

In einer kürzlich publizierten Arbeit konnte gezeigt werden, dass NIP, die aus humanem fötalem Pankreas isoliert wurden, in vitro zu Insulin produzierenden Zellen verwandelt werden konnten, die sich in Cluster-ähnlichen Zellverbänden befanden. Diese inselähnlichen Strukturen wurden anschliessend diabetischen und immunsupprimierten Mäusen transplantiert und haben hier den Blutzucker normalisieren können (19).

Insulin produzierende Zellen aus der Leber

Pankreas und Leber sind während der embryonalen Entwicklung aus benachbarten

Regionen des Endoderms entstanden und sind daher aus dem Blickwinkel der Entwicklung nahe Verwandte. Vor wenigen Jahren konnte gezeigt werden, dass Leberzellen, in denen der für die Pankreasentwicklung und Insulinproduktion wichtige Transkriptionsfaktor IDX durch Gentherapie aktiviert wurde, anfangen, Insulin zu produzieren (20). Diese Insulinproduktion und Sekretion reichte im Tiermodell aus, um einen Diabetes zu behandeln, auch wenn die Insulinausschüttung nicht wie in den Betazellen glukoseabhängig reguliert war.

In einem anderen Ansatz haben Wissenschaftler Leberstammzellen isoliert und diese unter bestimmten Bedingungen in vitro dazu bringen können, dass sie sich in Insulin produzierende Zellen verwandeln, die sich in Zellhaufen anordnen, welche pankreatischen Inseln ähnlich sind (21). Auch wenn die Nettoproduktion von Insulin bei diesen Experimenten sehr gering war, ist schon allein die Tatsache, dass es überhaupt funktioniert hat, sehr wichtig für die Suche nach alternativen Stammzellen, die sich für die Produktion von Insulin sezernierenden Zellen eignen.

Insulin produzierende Zellen aus dem Knochenmark

Das Knochenmark ist eine bekannte Quelle für Stammzellen, und eine Knochenmarkstransplantation beziehungsweise die Transplantation von Stammzellen des Knochenmarks gehört mittlerweile zur Routine in der Therapie bestimmter Leukämien. Stammzellen aus dem Knochenmark scheinen aber auch das Potenzial zu besitzen, sich unter bestimmten Umständen in andere Gewebe wie Skelett- und Herzmuskel, Nerven oder Leber zu verwandeln (22). In einem sehr eleganten Experiment wurde nun im Tiermodell gezeigt, dass Zellen aus dem Knochenmark sich auch zu Insulin-positiven Zellen entwickeln können (23). Die Knochenmarkszellen der Spendermaus waren mit einem genetischen Marker versehen, der die Zellen im Fluoreszenzlicht grün aufleuchten lässt, wenn bei ihnen das Insulingen aktiviert wurde. Der genaue Charakter dieser Zellen, die ihren Weg in die Langerhans's-

sche Insel des Pankreas gefunden haben und dort anfangen, Insulin zu produzieren, ist noch nicht bekannt. Die Tragweite dieses Experiments, das noch durch andere Labors bestätigt werden muss, liegt auf der Hand. Knochenmark ist relativ einfach verfügbar. Ob derartige Stammzellen jedoch auch im menschlichen Knochenmark vorkommen, ist Gegenstand intensiver Forschung und keineswegs sicher.

Fazit

Noch vor wenigen Jahren war die Idee einer auf Stammzellen basierten Diabetestherapie reine Fiktion. Heute ist diese Idee dank der Fortschritte in der Stammzellforschung zu einer ernsthaften, wissenschaftlichen Fragestellung avanciert. Es ist durchaus denkbar, dass ex vivo isolierte und expandierte NIP, die anschliessend zu Insulin sezernierenden Zellen differenziert werden, eines Tages diabetischen Patienten als Zellersatztherapie transplantiert werden. ●

Das Literaturverzeichnis kann beim Verlag angefordert werden, auch via E-Mail: info@rosenfluh.ch

Dr. med. Henryk Zulewski
Abteilung Endokrinologie,
Diabetologie und klinische Ernährung
Departement Innere Medizin
Kantonsspital Basel
Petersgraben 4
4031 Basel
E-Mail: henryk.zulewski@unibas.ch

Interessenkonflikte: keine deklariert