

Aktueller Stand und Perspektive der Zelltransplantation bei neurodegenerativen Erkrankungen

P. Bauer, R. Knoblich, E. Mix, J. Pahnke, A. Rolfs

Neurobiologisches Labor, Klinik für Neurologie und Poliklinik, Universität Rostock
(Direktor: Prof. Dr. R. Benecke)

Schlüsselwörter

Neurotransplantation, Stammzellen, M. Parkinson, Chorea Huntington

Zusammenfassung

Die Zellersatztherapie im zentralen Nervensystem durch Transplantation neuronaler Stammzellen bietet viel versprechende Therapieansätze für eine Reihe chronisch degenerativer Erkrankungen wie M. Parkinson oder Chorea Huntington und auch nach Defektzuständen infolge eines Hirninfarktes. In den letzten Jahren wurden signifikante Erkenntnisse zur Bedeutung neuronaler Stammzellen im fetalen, aber auch adulten Gehirn gemacht und damit Prozesse der körpereigenen neuronalen Plastizität und Regeneration beschreibbar. Gleichzeitig haben sich die Kenntnisse zur zellulären wie auch funktionellen Pathologie neurodegenerativer Erkrankungen so verfeinert, dass die tierexperimentellen Daten und Pilotstudien zur Neurotransplantation an kleinen Patientenkollektiven die Diskussion verschiedener Strategien für einzelne Krankheitsbilder erlauben. Auf der Grundlage breiter, internationaler Konsensus-Aktivitäten – bio-ethischer wie auch technologischer – wird geklärt werden müssen, ob sich die Neurotransplantation einer breiten therapeutischen Nutzung öffnen lässt.

Keywords

Neurotransplantation, neuronal stem cells, Parkinson's disease, Huntington's disease

Summary

Transplantation of neuronal stem cells is a promising therapeutic option in neurodegenerative diseases. Especially Parkinson's disease and Huntington's disease with their distinct and well characterized cellular pathology, unavoidable clinical deterioration and several animal models are recognized as suitable models for basic and clinical research in neurotransplantation. As most recent data about fetal and adult neuronal progenitor cells have significantly enriched our knowledge about regeneration and plasticity in the developing and adult brain, there are now diverse efforts to transfer this "physiological" potential into protocols for neurotransplantation in animal models. In parallel, preliminary studies in humans initiated a broad discussion about ethical issues and technological aspects. An international scientific and public consensus about these issues should precede further therapeutic intervention in humans to avoid discredit of this promising technique.

Transplantation in neurodegenerative diseases – recent advances and perspectives

Nervenheilkunde 2002; 21: 88–93

schiedliche Organe zu differenzieren und spezifizieren, oder andererseits bereits eine fortgeschrittenere Entwicklungseigenschaft aufweisen, sodass sie sich nur noch in einzelne Organe differenzieren können. Letztere sind dann häufig nicht mehr notwendigerweise embryonalen Ursprungs, sondern stammen – z.B. im Bereich des ZNS – aus dem adulten Organ selber.

In Abgrenzung davon beschreibt der Begriff der »Progenitorzelle« eine restringiertere Eigenschaft. Üblicherweise werden darunter alle Zellen verstanden, die im Vergleich zu anderen Zellen chronologisch noch einer frühen Entwicklung entsprechen (17).

Insbesondere die ethischen Probleme bei der Verwendung von embryonalem Material bedingen es, dass neben der Generierung kontinuierlich kultivierbarer neuronaler Stammzellen humanen Ursprungs auch Xenotransplantate – gemeint ist dabei die Herkunft der Zellen aus anderen Spezies, beispielsweise aus dem Schwein – verstärkt hinsichtlich ihrer Eignung als restituierender Zellansatz analysiert werden (1).

Die Möglichkeit, embryonale, pluripotente Mausstammzellen (ES) zu propagieren und die Differenzierung zu induzieren, ermöglichte erstmals die *In-vitro*-Produktion von Geweben für funktionelle Untersuchungen, Medikamentenscreening und experimentelle Transplantation. Der Befund einer Generierung von Neuronen aus embryonalen Mausstammzellen wurde 1995 beschrieben und damit die Möglichkeit einer späteren Transplantation eröffnet. Neben der Verwendung von Stammzellen aus Nagern konnten in der Zwi-

Die Geschichte der neuronalen Transplantation für den Ersatz degenerierter Neuronen und zur Rekonstruktion funktionell gestörter Regelkreisläufe im humanen Zentralnervensystem (ZNS) ist kurz, und die klinische Anwendung der Grundlagenergebnisse steckt trotz einer rasanten Entwicklung in den letzten Jahren noch immer in den Kinderschuhen.

Definitionsgemäß wird unter einer »Stammzelle« im Zentralnervensystem eine Zelle verstanden, die das Potenzial hat, sich in Neurone, Astrozyten und Oligodendrozyten zu differenzieren und sich im ausreichenden Maße selbst zu erneuern, um die erforderliche Anzahl an Zellen im Gehirn zu ersetzen (19). Stammzellen können einerseits embryonalen Ursprungs sein, und damit die Fähigkeit besitzen, sich in unter-

schenzeit auch klare Belege für die Gewinnung pluripotenter Stammzellen aus humanen Embryonen gewonnen werden (24, 28). Die pluripotenten Eigenschaften von embryonalen Mauszellen werden offensichtlich durch die Expression von OCT4 determiniert (32). Die Erneuerung der embryonalen Mausstammzellen ist abhängig von einer gp130-STAT3-Kaskade.

Die Arbeitsgruppe von Angelo Vescovi (2) analysierte, inwieweit Stammzellen bezüglich der Entstehung spezifischer Zelltypen restringiert sind. Nach Transplantation von mutativ markierten neuronalen Stammzellen in einen bestrahlten Empfänger fanden sich verschiedene markierte Blutzelltypen inklusive Myeloide, Lymphoide, wie auch frühe hämatopoetische Zellen. Dies belegt, dass neuronale Stammzellen die Fähigkeit aufweisen können, stärker zu differenzieren als bislang vermutet (20). Derartige experimentelle Ansätze mögen für die Zukunft eine maßgebliche Auswirkung auf die Frage haben, welches Ausgangsmaterial für zukünftige Transplantationen bei neurodegenerativen Erkrankungen benutzt werden kann. Denn neben der Zellbiologie und Charakteristik der benutzten Zellen dürfte vor allem auch die Frage des produktionstechnischen Ablaufes von zunehmender Bedeutung werden (21).

Die Pathogenese zahlreicher neurodegenerativer Erkrankungen konnte in den letzten Jahren geklärt werden. Die Behandlung von Erkrankungen des zentralen Nervensystems kann damit auf einen oder mehrere Schritte innerhalb der Kaskade des Zelluntergangs fokussieren. Die Möglichkeit, neuronale Progenitorzellen aus dem ZNS unter Einsatz verschiedener Wachstumsfaktoren propagieren zu können, hat sich als extrem hilfreich zur Analyse verschiedener Phänomene der Zellbiologie erwiesen, wie z.B. die Differenzierung der einzelnen Zelltypen (25).

Wichtig für die zukünftig zu wählende, differenzierte Einsatzstrategie von zellulären Transplantaten ist ein noch weitergehendes Verständnis für die Regulationsmechanismen bei der Differenzierung der adulten neuronalen Progenitorzellen, da dies die Problematik der Verwendung embryonaler Stammzellen lösen könnte (27).

Stammzellen im embryonalen und adulten humanen ZNS

Zahlreiche Hinweise belegen die Existenz von Stammzellen im embryonalen ZNS. Im zerebralen Kortex lässt sich die Selbsterneuerung für multipotente Stammzellen bei embryonalen Ratten direkt unter Verwendung von FGF-2 (fibroblast growth factor) und Glial-konditioniertem Medium belegen (6). Überleben und Proliferation von multipotenten Stammzellen aus dem embryonalen Striatum der Maus ist abhängig von der Anwesenheit des Wachstumsfaktors IGF (insulin-like growth factor). Unter Einsatz von FGF-2 lassen sich Langzeitprogenitorzellkulturen aus dem embryonalen Hippokampus, Myelon und Frontalhirn der Ratte sowie aus dem embryonalen zerebralen Kortex der Maus etablieren. Die Neurogenese im Erwachsenenalter impliziert die Präsenz von undifferenzierten Progenitorzellen. Studien an embryonalen Stammzellen zeigen, dass spezifische Wachstumsfaktoren neuronale Stammzellen zu einer raschen *In-vitro*-Zellteilung stimulieren können.

Die subependymale Zone nahe dem Striatum ist eine wesentliche Quelle für die adulte Version IGF-responsiver multipotenter Stammzellen aus dem ZNS (21). Ebenfalls aus dem Hippokampus der erwachsenen Ratte lassen sich unter Einsatz von FGF-2 multipotente Stammzellen isolieren, die sich auch bei zahlreichen Passagierungen, Frier-Auftau-Behandlungen und Reaktivierungsansätzen erhalten lassen.

Multipotente Stammzellen mit der Eigenschaft, unter Anwesenheit spezifischer Wachstumsfaktoren gliale und neuronale Zellen zu generieren, sind in den letzten Jahren aus verschiedenen Regionen des erwachsenen humanen ZNS beschrieben worden, sowohl von neurogenen Zonen (z.B. Hippokampus und subventrikuläre Zone) als auch von nicht-neurogenen Zonen (wie z.B. Myelon, septales und striatales Parenchym). Eine Kombination von IGF und FGF-2 ist erforderlich, um Stammzellen aus dem Myelon der erwachsenen Maus zu isolieren (30).

Die Isolation von Progenitorzellen aus ruhenden Regionen des Gehirns legt nahe, dass die Neurogenese im erwachsenen humanen Gehirn nicht aufgrund des Fehlens von Progenitorzellen limitiert ist, sondern eher aufgrund der Defizienz solcher Faktoren, die die Differenzierung vorantreiben oder aufgrund der fehlenden Permissivität zur neuronalen Migration im adulten Hirnparenchym.

Proliferation und Differenzierung von adulten neuronalen Stammzellen

Verschiedene Mechanismen werden für die Regulation der Stammzellendifferenzierung angenommen: intrinsische Faktoren, erhöhte Zelldichte, Exposition von verschiedenen Faktoren oder Substraten, Zellteilungsprogramme etc. Spezifische Signalmoleküle, wie zum Beispiel Serum, Retinoidsäure, FGF-2, BDNF (brain-derived neurotrophic factor) oder Neurotropher Faktor 3 (NF-3) und andere Wachstumsfaktoren beeinflussen das Schicksal der Stammzellen und treiben diese in neuronale oder gliale Differenzierungswege (29). In *In-vitro*-Experimenten bedingen Schilddrüsenhormone die Differenzierung von neuronalen Stammzellen in Oligodendrozyten, CNTF (ciliary neurotrophic factor) in Astrozyten und BDNF in Neurone. IGF und FGF-2 halten neuronale Stammzellen in einem undifferenzierten Zustand. Insulin, BDNF und der insulinähnliche Wachstumsfaktor I regulieren die Proliferationskapazität von Stammzellen und deren Differenzierung.

Die Rolle von intrinsischen Faktoren bei der Spezifikation von neuronalen Stammzellen ist dabei unklar. Eine zunehmende Zahl an unterschiedlichen Transkriptionsfaktoren lässt sich in unterschiedlichen Entwicklungsstadien von Stammzellen nachweisen (11).

Potenzieller therapeutischer Einsatz von adulten Stammzellen

Der Nachweis neuronaler Stammzellen im adulten ZNS eröffnet zahlreiche Perspektiven für die Restitution von defekten neuronalen Funktionen als Folge von Traumen oder verschiedenen neurodegenerativen Erkrankungen. Dabei können prinzipiell drei unterschiedliche Strategien für den therapeutischen Einsatz von Stammzellen geplant werden:

1. als **Spenderzellen** für die Transplantation bei Zellersatztherapien im Rahmen neurodegenerativer Erkrankungen;
2. als Vektorsysteme für **gentherapeutische Strategien** zur Propagierung und Manipulation von Stammzellen in vitro mit dem Ziel der Expression therapeutischer Genprodukte mit anschließender Transplantation in die entsprechenden Genregionen;
3. als **endogenes Reservoir** zur Rekonstitution defekter Funktionalitäten durch die In-situ-Freisetzung von Wachstumsfaktoren – durch deren funktionelle Überexpression – und die Induktion von Migration und Differenzierung in spezifische Phänotypen (3).

Immunologische Aspekte der Zelltransplantation im ZNS

Neben der Frage nach der korrekten Strategie und Propagierung des unterschiedlichen Zellmaterials sind auch immunologische Aspekte für eine erfolgreiche Verwendung von neuronalen Stammzellen als Transplantationsmaterial von Bedeutung.

Üblicherweise überleben Transplantate in den meisten Teilen des Körpers ohne eine weitere Form der Immunsuppression nur in einer syngen Situation, beispielsweise bei eineiigen Zwillingen. Xenografte, das heißt Spenderzellen aus anderen Spezies, und Allografte, das heißt Spenderzellen aus einem genetisch differenten Individuum derselben Spezies, zeigen

typischerweise Abstoßungsreaktionen. Der Schweregrad dieser Reaktion ist von den immunogenen Unterschieden zwischen Spender und Empfänger abhängig, aber auch von anderen Faktoren, wie z. B. dem Zustand der Reimmunisierung des Empfängers.

Die Situation im Bereich des Nervensystems unterscheidet sich erheblich von dieser allgemeinen Beschreibung, da das ZNS immunologisch privilegiert ist. Das Gehirn weist weder konventionelle lymphatische Gefäße noch dendritische Zellen auf und ist über die Bluthirnschranke von der restlichen Zirkulation des Körpers immunologisch getrennt. Aus diesen anatomischen Gründen und auch aus der Anwesenheit von TGF- β (transforming growth factor- β) und Fas-Ligand leitet sich ein Teil der immunologischen Privilegiertheit des Gehirns ab.

Diese Besonderheit ist jedoch nicht absolut, was sich darin zeigt, dass Allografte und Xenografte auch im Gehirn abgestoßen werden können – wenn auch deutlich langsamer als in anderen Organen.

Die Bluthirnschranke verhindert, dass Immunglobuline und naive T-Zellen in das Gehirn gelangen, während aktivierte T-Zellen durch die Bluthirnschranke in Gehirngewebe einwandern können. B-Lymphozyten erkennen Proteine, Kohlenhydrate, Glykoproteine und Glykolipide mit membrangebundenen Immunglobulinen, deren Spezifität identisch zu den Antikörpern ist, die sie freisetzen, sobald sie sich zu Plasmazellen differenzieren. Antikörper gegen Transplantate können natürlichen Ursprungs sein, und damit bereits zum Zeitpunkt der Transplantation anwesend, oder durch das Transplantat selber induziert sein. Intrastratale Transplantate von embryonalem Schweine-VM-Gewebe überleben in Knock-out-Mäusen mit einem Immunglobulindefekt länger als in Wildtyp-Mäusen, was nahelegt, dass Antikörper an der neuronalen Xenograft-Abstoßung beteiligt sind (16). Das Ausmaß, mit dem induzierte Antikörper an der neuronalen Xenograft-Abstoßung beim Menschen beteiligt sind, ist derzeit unklar.

Die meisten Hinweise für die Bedeutung der T-Zellen ergeben sich im Rahmen

der neuronalen Xenograft-Abstoßung (5). Kultivierte embryonale Gehirnzellen des Schweines induzieren in vitro eine Proliferationsantwort in humanen T-Zellen.

Die Abstoßung von intrazerebralen neuronalen Xenografts kann durch die Behandlung des Rattenempfängers mit T-Zell-Antikörpern verhindert werden. Durch die immunsuppressive Behandlung kann das Überleben von neuronalen Xenograften, deren Effekt in der T-Zell-Suppression liegt, verbessert werden; T-Zellen infiltrieren intrazerebrale neuronale Xenografts bei Nagern und humanen Empfängern. Transplantate aus dem humanen fetalen Frontalhirn überleben in Tieren länger, die für CD4⁺-T-Zellen depletiert sind, was sich für CD8⁺-T-Zell-depletierte Tiere nicht zeigen lässt.

Humanes Serum enthält nicht nur Antikörper gegen α -Galaktosyl-Epitope, sondern auch natürliche Antikörper gegen andere Epitope, die auf embryonalem Schweinehirn exprimiert werden (26).

Erfahrungen bei neurodegenerativen Erkrankungen

Morbus Parkinson

Die Parkinsonsche Erkrankung ist durch den progressiven Verlust dopaminerger Neurone in der Substantia nigra des Mittelhirns charakterisiert. Darüber hinaus erleiden zahlreiche extranigrale Komponenten des motorischen Systems sowie verschiedene Zentren des limbischen Systems und der autonomen Regulation ausgeprägt degenerative Veränderungen, weswegen es sich letztendlich um eine Multisystemerkrankung handelt.

Einige Projektionsneurone entwickeln die für die Erkrankung charakteristischen intraneuronalen Einschlusskörper in Form von Lewy-Körpern und Lewy-Neuriten in den Zellfortsätzen (4). Trotz der anfänglich guten Effektivität einer L-Dopa-Substitutionstherapie ist diese Herangehensweise schlussendlich nicht in der Lage den progressiven Verlust der Neurone zu beeinflussen. Nach einem durchschnittlich 10- bis 14-jährigen Krankheitsverlauf weisen

deswegen die meisten Parkinson-Patienten nur noch unbefriedigende Besserungen unter der Medikation auf (9). Die Limitation der medikamentösen Therapie führte daher zu neuen Ansätzen inklusive der Pallidotomie und der tiefen Hirnstimulation, aber auch der zellulären Transplantation.

Verschiedene Studien wurden in den letzten Jahren publiziert, die zeigen konnten, dass die Transplantation von dopaminergen Neuronen bei Patienten über einen langen Zeitraum (3 bis 4 Jahre) eine klinische Verbesserung bewirken kann (12–14). Alle diese Studien waren blind angelegt und wurden mit kleinen Patientenzahlen durchgeführt. Erschwerend für die Bewertung der therapeutischen Erfolge waren auch Probleme hinsichtlich eines standardisierten Studiendesigns, so fehlten beispielsweise einheitliche Score-Systeme (UPDRS, Core Assessment Program for Intracerebral Transplantations). Diese Einschränkung macht die Vergleichbarkeit der Ergebnisse der einzelnen Zentren fast unmöglich.

Freed und Mitarbeiter haben 2001 im New England Journal of Medicine (10) eine doppelblind kontrollierte Studie zur Implantation embryonaler dopaminergener Neurone bei Patienten mit schwerem Parkinson-Syndrom durchgeführt. Hierzu randomisierten die Autoren 40 Patienten zwischen 34 und 75 Jahren mit schwerem Parkinson-Syndrom (mittlere Krankheitsdauer 14 Jahre), bei denen entweder eine Nerven- oder eine Scheinoperation durchgeführt werden sollte. Das Transplantat bestand aus kultiviertem mesenzephalen Gewebe von vier Embryonen und wurde bilateral in das Putamen eingebracht. Bei den scheintransplantierten Patienten erfolgte lediglich eine Trepanation ohne Penetration der Dura. Insbesondere in der Gruppe der jüngeren Patienten unter 60 Jahre ließ sich in standardisierten Testungen eine signifikante Verbesserung der Parkinson-Symptome z.B. unter Verwendung der UPDRS-Testung darstellen. Bei 17 von 20 transplantierten Fällen wurde ein Faserwachstum der Neurone mittels F18-Fluorodopa-uptake in der Positron-Emissionstomographie bzw. postmortal nachgewiesen. Bedeutsam waren jedoch die Nebenwirkungen, die sich in 15% der trans-

plantierten Patienten mit schweren Dystonien und Dyskinesien zeigten und auch nach Reduktion oder Absetzen der L-Dopa-Medikation persistierten. Diese schwerwiegende Nebenwirkung hat Anlass zu zahlreichen Spekulationen gegeben, zumal sie bislang von den europäischen Arbeitsgruppen, vor allem in Schweden, in diesem Schwere- und Umfangsgrad nicht beschrieben wurde. Eine wesentliche Bedeutung für diese Beobachtung in der Studie von Freed und Mitarbeitern (10) könnte der Art der Vorbehandlung und Vorkultivierung der mesenzephalen Zellen zukommen, da die zur Transplantation anstehenden Gewebe bis zu vier Wochen in vitro kultiviert wurden. Dies kann einerseits zu einer phänotypischen Modifikation der Zelle führen, andererseits das neuronale Programm in einer neuen Umgebung – nach Transplantation – komplett verändern.

Zahlreiche Fragen, wie die der genauen Transplantationslokalisierung, die Art des zu wählenden Materials und auch die Begleitbedingungen (Form der Kultivierung, Zugabe von neurotrophen Faktoren, genetische Modifikation der Progenitorzellen etc.) sind noch immer ungelöst. Auch die Einschätzung der Notwendigkeit einer parallelen Immunsuppression – auch bei der Transplantation von embryonalem Gewebe – muss noch abschließend beantwortet werden (1, 22). Angesichts der Tatsache, dass in den letzten 12 Jahren über 300 Parkinson-Patienten embryonale oder fetale Gewebe zur Transplantation erhielten, ist es dringend erforderlich, einerseits eine internationale Standardisierung im Rahmen eines Konsortiums zu erreichen, andererseits die Transplantation nur auf wenige ausgewiesene Zentren in genau definierten Fällen zu beschränken.

Die unverändert bestehenden quantitativen Limitationen und ethischen Diskussionen machen es weiterhin notwendig, über Möglichkeiten und Umfang von neuronalen Xenotransplantaten zu diskutieren. Um diese zahlreichen offenen Fragen zu beantworten, wurde im Rahmen des BioMed-2-Programms der Europäischen Union 1996 die NECTAR (Network of European CNS Transplantation and Restoration)-Gruppe gegründet.

Weiterhin ist es für eine klinische Validierung neuer Transplantationsansätze beim Morbus Parkinson dringend erforderlich, neue Tiermodelle zu entwickeln.

Erkenntnisse über den molekularen Mechanismus des Zelltodes dopaminergener Neurone kamen im Wesentlichen aus den Studien mit 6-OH-Dopamin und 1-Methyl-4-Phenyl-1, 2, 3, 6-Tetrahydropyridin (MPTP) als Parkinsonmodelle (7). MPTP ist ein selektiver und hochpotenter mitochondrialer Komplex-1-Inhibitor. Dieser Befund führte auch zu dem Nachweis reduzierter mitochondrialer Komplex-1-Aktivitäten bei sporadischen Parkinson-Patienten. Beim 6-OH-Dopamin-Modell mit anschließender Apomorphin-induzierter pathologischer Rotation stehen der Einfachheit die Limitationen hinsichtlich der fehlenden Chronizität und langsamen Progredienz des Krankheitsbildes entgegen. Im Gegensatz dazu ist MPTP eher in der Lage, über die Metabolisierung zu aktiven Substanzen die selektive Degeneration von dopaminergen Neuronen zu induzieren.

Die Entdeckung neuer Gene, die mit den hereditären Verlaufsformen des M. Parkinson assoziiert sind, erlaubte es, neue Tiermodelle zu etablieren. Masliah und Mitarbeiter (18) entwickelten ein Mausmodell, das das humane Wildtyp- α -Synuklein unter einem PDGF β (platelet-derived growth factor- β)-Promotor überexprimiert. α -Synuklein ist jenes Gen, welches als erstes durch Mutationsanalysen direkt mit der Entwicklung einer dominant erblichen Form der Parkinsonschen Erkrankung in Verbindung gebracht werden konnte (23). Sie charakterisierten fünf Mauslinien, die normales Maus- α -Synuklein exprimierten, zusätzlich jedoch 10 bis 80% des humanen α -Synukleins. Alle diese transgenen Linien entwickelten neuronale zytoplasmatische und nukleäre Einschlüsse, die sich mittels spezifischer Antikörper für humanes α -Synuklein und Ubiquitin anfärben ließen. Feany und Bender (8) beschrieben erstmals ein Modell des M. Parkinson an der Fruchtfliege *Drosophila* durch Überexpression von α -Synuklein. Durch die Überexpression von normalen und mutierten Formen des α -Synukleins kommt es in halber Lebensspanne zu einem progredienten Verlust von dopaminergen Neuronen und die Tiere ent-

wickeln intraneuronale Einschlusskörperchen, die α -Synukleine enthalten. Klinisch zeigten die Tiere altersabhängig progressive lokomotorische Dysfunktionen.

Beide Modelle könnten nach erfolgreichem Transfer in Nager bzw. Primaten gut geeignet sein, einerseits die Chronizität, andererseits das spezifische Schädigungsmuster des M. Parkinson besser zu imitieren und damit besser geeignete Tiermodelle für zukünftige Transplantationsexperimente zu liefern.

Chorea Huntington

Die Chorea Huntington stellt eine fatale, autosomal dominante neurodegenerative Erkrankung dar mit im Vordergrund stehender Chorea und progredienter Demenz. Histopathologisch findet sich eine schwere Degeneration selektiver neuronaler Populationen im humanen Striatum. Tiermodelle für die Chorea Huntington werden meist durch die exzitotoxische Läsion striataler Neurone generiert, wobei am häufigsten exzitotoxische Glutamatanaloga, wie Tainin-, Ibuten- oder Quinolinsäure gewählt werden. Nach lokaler Injektion einer dieser Substanzen in das Striatum findet sich ein Verlust an neuronalen Zellen mit abnehmenden Konzentrationen von GABA und Azetylcholin, Substanz P und Enkephalinen.

Die zelluläre Transplantation ins Striatum zeigt konsistent eine Verhaltensbesserung der Tiere. Einschränkend ist zu bemerken, dass die exzitotoxischen Läsionen des Rattenstriatums nicht das führende Symptom der Chorea hervorrufen. Gleichwohl zeigen Ratten im Schädigungsmodell deutliche lokomotorische Verhaltensauffälligkeiten und reagieren abnorm auf unterschiedliche pharmakologische Testungen.

Im Unterschied zum Rattenmodell der Chorea Huntington finden sich bei nicht-humanen Primaten nach einer Nucleus caudatus-Läsion mit exzitotoxischen Substanzen die Zeichen der Chorea. Elektronenmikroskopische Untersuchungen von fetalen striatalen Affen-Transplantaten in das Striatum läsionierter Affen belegen die Anwesenheit von Neuronen in unter-

schiedlichem Entwicklungszustand, von denen zahlreiche striatal ähnliche so genannte »spiny neurons« aufweisen.

Vaskuläre Erkrankungen

Präklinische Studien belegten den potenziellen Effekt von kultivierten neuronalen Zellen, die sich von einer Teratokarzinomzelllinie ableiteten (15). In einer kleinen Pilotstudie wurden Sicherheit und Machbarkeit der Transplantation von humanen neuronalen Zellen (LBS-Neurone aus der NT2-D1-humanen Progenitorzelllinie) an 12 Patienten mit durchgemachten Hirninfarkten analysiert. Durch stereotaktische Maßnahmen wurden in die Areale der Infarkte 2×10^6 Zellen in unterschiedlicher Häufigkeit eingebracht. Die serielle Untersuchung über 12 bis 18 Monate erbrachte keine relevanten Zelltransplantat-assoziierten Nebenwirkungen. In einer quantitativen Skalierung (European Stroke Scale Score) verbesserten sich sechs Patienten um 3 bis 10 Punkte mit einem Mittelwert von 2,9 Punkten in allen Patienten ($p = 0,046$). Einen deutlichen Fluoro-Deoxyglukose-uptake in den Implantaten zeigten – sechs Monate nach erfolgter Transplantation – 6 der 11 PET-Analysen.

Multiple Systematrophie

Die multiple Systematrophie (MSA) des striato-nigralen Degenerationstyps wird mit zunehmender Güte der Diagnosekriterien und dem steigenden Bekanntheitsgrad des Krankheitsbildes immer häufiger als Ursache eines neurodegenerativen Parkinson-Syndroms diagnostiziert. Infolge der kombinierten Degeneration der Substantia nigra pars compacta und des Striatums versagen die klassischen Parkinson-Medikamente bei 90% der Patienten (31). Für die Entwicklung neuer Therapieansätze ist auch hier das Fehlen von adäquaten Tiermodellen ein großes Problem.

Bisherige Ansätze, das Krankheitsbild hinsichtlich der Klinik und Pathologie bei Nagern zu imitieren, beinhaltet die sequenzielle Injektion von 6-OH-Dopamin und Quinolinsäure in das mittlere Frontalhirn-

bündel und ipsilaterale Striatum (Double-toxin-double-lesion-Ansatz). Erste Transplantationsansätze mit embryonalen Stammzellen bei Nagern zeigen, dass ein Teil der Verhaltensstörungen reversibel ist. Die intrastriale Injektion von mitochondrialem Toxin 3NP und MPP bei Nagern bewirkt eine sekundäre exzitotoxische striatale Läsion und subtotale neuronale Degeneration der Substantia nigra pars compacta, was ein vereinfachtes Modell darstellen könnte, um die MSA-Pathologie zu imitieren (Single-toxin-double-lesion-Modell).

Ratten, die ein Mischtransplantat oder reines mesenzephalenes Transplantat erhielten, zeigten eine signifikante Reduktion der Amphetamin-induzierten Rotation 10 Wochen nach Transplantation im Vergleich zur Quinolinsäure-Applikation. Dieser Befund ließ sich bei Tieren, die ein striatales Transplantat erhielten, nicht reproduzieren. Eine Apomorphin-induzierte kontralaterale Rotation war 10 Wochen nach striataler, jedoch nicht nach mesenzephaler Transplantation im Vergleich zur Quinolinsäure-Applikation signifikant erhöht. Die charakteristischen Apomorphin- bzw. Amphetamin-induzierten pathologischen Rotationen nach der sequenziellen nigralen und striatalen Läsion ließen sich demzufolge partiell durch die Transplantation eines reinen mesenzephalenen oder gemischten mesenzephal-striatalen Transplantats (31) rückgängig machen.

Aussicht

Die entscheidenden Fragen hinsichtlich einer breiten Anwendung von Stammzellen bei der Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen werden diejenigen sein, die sich mit der Standardisierung der Zellen als Ausgangsmaterial, der einheitlichen Indikationsstellung zur Transplantation und der Technik der Transplantation beschäftigen werden.

Dies sind Fragen, die nur in internationalen Konsensus-Aktivitäten beantwortet und vorerst auf wenige Zentren beschränkt werden sollten. Die große Gefahr der Diskreditierung dieser Methodik ist zu sehen.

wenn trotz vieler ungelöster Fragestellungen bereits zum jetzigen Zeitpunkt eine kritiklose und breite Anwendung von Transplantationsmaßnahmen erfolgt.

Literatur

- Barker RA, Kendall AL, Widner H. Neural tissue xenotransplantation: what is needed prior to clinical trials in Parkinson's disease? *Cell Transplantation* 2000; 9: 235-46.
- Bjornson CRR, Rietze RL, Reynolds BA, Magli MC, Vescovi AL. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science* 1999; 283: 534-7.
- Borlongan CV, Sanberg PR, Freeman TB. Neural transplantation for neurodegenerative disorders. *Lancet* 1999; 353: 29-30.
- Braak H, Rüb U, Braak E. Neuroanatomie des Morbus Parkinson. *Nervenarzt* 2000; 71: 459-69.
- Brevig T, Holgersson J, Widner H. Xenotransplantation for CNS repair: immunological barriers and strategies to overcome them. *Trends Neurosci* 2000; 23: 337-44.
- Davis AA, Temple S. A self-renewing multipotential stem cell in embryonic rat cerebral cortex. *Nature* 1994; 372: 263-6.
- Dunnett SB, Bjorklund A. Prospects for new restorative and neuroprotective treatments in Parkinson's disease. *Nature* 1999; 399: A32-9.
- Feany MB, Bender WW. A Drosophila model of Parkinson's disease. *Nature* 2000; 404: 394-8.
- Fischbach GD, McKhann GM. Cell therapy for Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2001; 344: 763-5.
- Freed CR, Greene PE, Breeze RE, Tsai WY, DuMouchel W, Kao R, Dillon S, Winfield H, Culver S, Trojanowski JQ, Eidelberg D, Fahn S. Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2001; 344: 710-9.
- Frisen J, Johansson CB, Lothian C, Lendahl U. Central nervous system stem cells in the embryo and adult. *Cell Mol Life Sci* 1998; 54: 935-45.
- Hagell P, Schrag A, Piccini P, Jahanshahi M, Brown R, Rehnrona S, Widner H, Brundin P, Rothwell JC, Odin P, Wenning GK, Morrish P, Gustavii B, Björklund A, Brooks DJ, Marsden CD, Quinn NP, Lindvall O. Sequential bilateral transplantation in Parkinson's disease. *Brain* 1999; 122: 1121-32.
- Hauser RA, Freeman TB, Snow BJ, Neurt M, Gauger L, Kordower JH, Olanow CW. Long-term evaluation of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson disease. *Arch Neurol* 1999; 56: 179-87.
- Jacques DB, Kopyov OV, Eagle KS, Carter T, Lieberman A. Outcomes and complications of fetal tissue transplantation in Parkinson's disease. *Stereotact Funct Neurosurg* 1999; 72: 219-24.
- Kondziolka D, Wechsler L, Goldstein S, Meltzer C, Thulborn KR, Gebel J, Jannetta P, DeCesare S, Elder EM, McGrogan M, Reitman MA, Bynum L. Transplantation of cultured human neuronal cells for patients with stroke. *Neurology* 2000; 55: 565-9.
- Larsson LC, Czech KA, Widner H, Korsgren O. Discordant neural tissue xenografts survive longer in immunoglobulin deficient mice. *Transplantation* 1999; 68: 1153-60.
- Masliah E, Alford M, Mallory M, Rockenstein E, Moechars D, Van Leuven F. Abnormal glutamate transport function in mutant amyloid precursor protein transgenic mice. *Exp Neurol* 2000; 163: 381-7.
- Masliah E, Rockenstein E, Veinbergs I, Mallory M, Hashimoto M, Takeda A, Sagara Y, Sisk A, Mucke L. Dopaminergic loss and inclusion body formation in alpha-synuclein mice: implications for neurodegenerative disorders. *Science* 2000; 287: 1265-9.
- McKay R. Stem cells in the central nervous system. *Science* 1997; 276: 66-71.
- Moore MAS. Turning brain into blood - clinical applications of stem-cell research in neurobiology and hematology. *N Engl J Med* 1999; 341: 605-7.
- Morshead CM, Reynolds BA, Craig CG, McBurney MW, Staines WA, Morassutti D, Weiss S, van der Kooy D. Neural stem cells in the adult mammalian forebrain: a relatively quiescent subpopulation of subependymal cells. *Neuron* 1994; 13: 1071-82.
- Palmer MR, Granholm AC, Horne van CG, Giardina KE, Freund RK, Moorhead JW, Gerhardt GA. Intranigral transplantation of solid tissue ventral mesencephalon or striatal grafts induces behavioral recovery in 6-OH-DA-lesioned rats. *Brain Res* 2001; 890: 86-99.
- Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, Pike B, Root H, Rubenstein J, Boyer R, Stenroos ES, Chandrasekharappa S, Athanassiadou A, Papapetrooulos T, Johnson WG, Lazzarini AM, Duvoisin RC, Di Iorio G, Golbe LI, Nussbaum RL. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 1997; 276: 2045-7.
- Shamblott MJ, Axelman J, Wang S, Bugg EM, Littlefield JW, Donovan PJ, Blumenthal PD, Huggins GR, Gearhart JD. Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 13726-31.
- Shihabuddin LS, Palmer TD, Gage FH. The search for neural progenitor cells: prospects for the therapy of neurodegenerative disease. *Mol Med Today* 1999; 5: 474-80.
- Sumitran S, Lui J, Czech KA, Christensson B, Widner H, Holgersson J. Human natural antibodies cytotoxic to pig embryonic brain cells recognize novel non-Galalpha1,3Gal-based xenoantigens. *Exp Neurol* 1999; 159: 347-61.
- Svendsen CN, Smith AG. New prospects for human stem-cell therapy in the nervous system. *Trends Neurosci* 1999; 22: 357-64.
- Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282: 1145-7.
- Vescovi AL, Parati EA, Gritti A, Poulin P, Ferrario M, Wanke E, Frölichsthal-Schoeller P, Cova L, Arcellana-Panilio M, Colombo A, Galli R. Isolation and cloning of multipotential stem cells from the embryonic human CNS and establishment of transplantable human neural stem cell lines by epigenetic stimulation. *Exp Neurol* 1999; 156: 71-83.
- Weiss S, Dunne C, Hewson J, Wohl C, Wheatley M, Peterson AC, Reynolds BA. Multipotent CNS stem cells are present in the adult mammalian spinal cord and ventricular neuroaxis. *J Neurosci* 1996; 16: 7599-609.
- Wenning GK, Granata R, Puschban Z, Scherfler C, Poewe W. Neural transplantation in animal models of multiple system atrophy: a review. *J Neural Transm* 1999; 55: 103-13.
- Wilmot I. Pluripotent stem cells: biology and applications. *Trends Mol Med* 2001; 7: 240-1.

Korrespondenzadresse:
 Prof. Dr. Arndt Rolfs
 Universität Rostock
 Klinik für Neurologie und Poliklinik
 Gehlsheimer Straße 20, 18055 Rostock
 Tel. 03 81/4 94 95 40, Fax 03 81/4 94 95 42
 E-Mail: arndt.rolfs@med.uni-rostock.de