

Cecilia Bull, Peter S. Eriksson

Inst. för Klinisk Neurovetenskap  
Sahlgrenska universitetssjukhuset, Göteborg

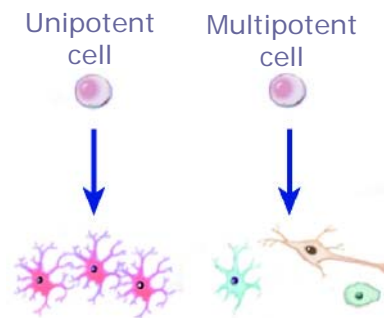
Mathilda Zetterström

Celltherapeutics, Göteborg

### Vad är stamceller?

**Deras ursprung och potential: med särskild tonvikt på neurala och embryonala stamceller**

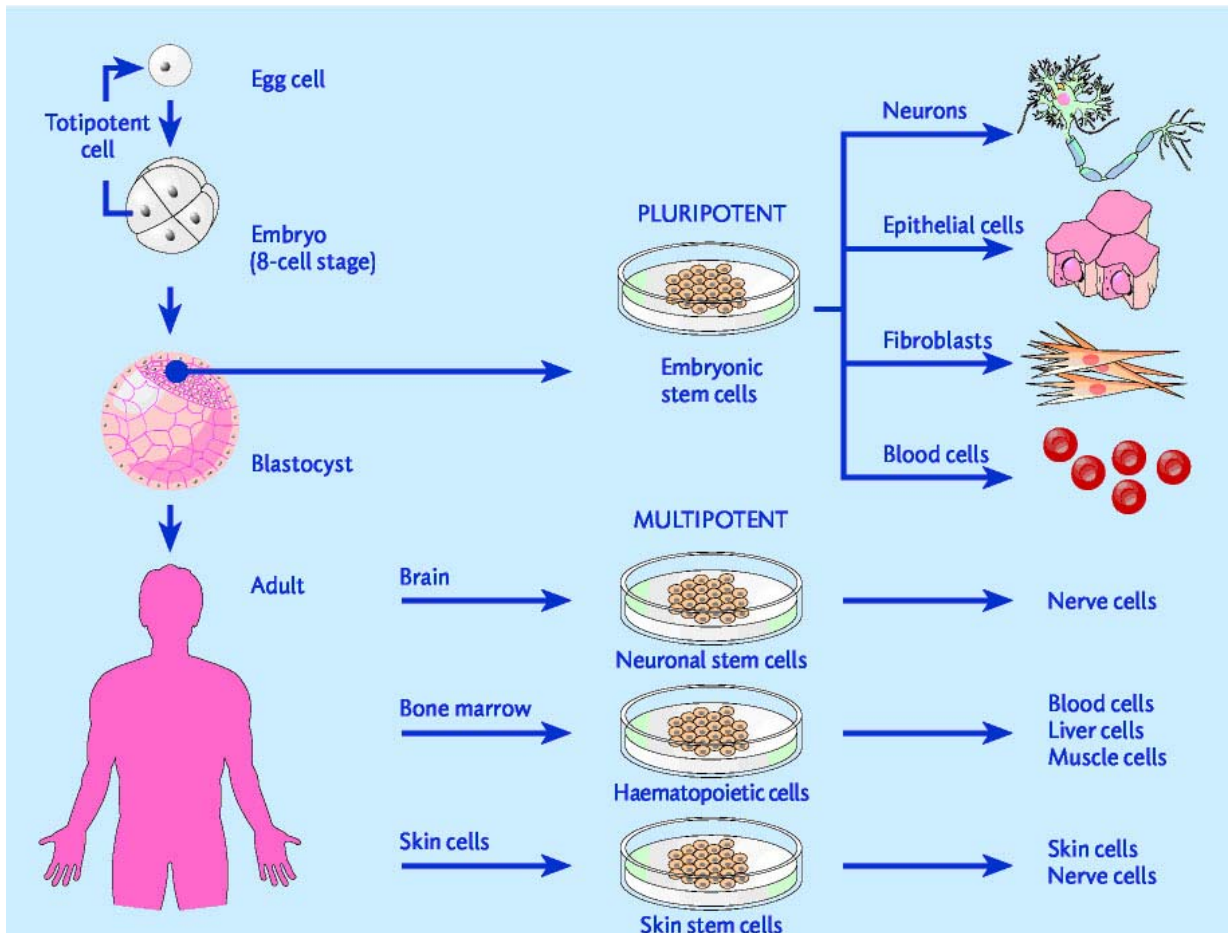
Under embryonalutvecklingen bildas alla organ från grupper av delande celler, som kallas för *stamceller*. Dessa celler är från början "oprogrammerade" men kan mogna ut (differentiera) och bilda alla de olika celltyper som finns i en organism. Termen stamcell beskriver en cell som (I) har obegränsad eller utökad förmåga att dela sig och (II) har multi-potential, dvs en cell kan ge upphov till flera celler av samma sort men även bilda flera skilda celltyper (Fig 1).



Figur 1. Unipotenta celler kan bara ge upphov till en celltyp; multipotenta celler kan producera flera celltyper.

Stamceller kan vara mer eller mindre begränsade när det gäller deras förmåga att bilda olika celler. En *totipotent* stamcell från ett nyligen befruktat ägg kan ge upphov till en hel organism, inklusive det centrala och perifera nervsystemet. Några dagar efter befruktningen och ett antal celledelningar senare utvecklas ägget till en *blastocyst* som inplanteras i livmodern. Blastocysten består av ett yttre skikt celler och en inre cellmassa. Det yttre skiktet utvecklas till fosterhinna och moderkaka medan den inre cellmassan utvecklas till embryot. Denna inre cellmassa utgörs främst av *pluripotenta* stamceller. Dessa celler har vissa begränsningar, vilket innebär att de kan ge upphov till alla celler i en organism förutom de celler som bygger upp det yttre cellagret i embryots blastocyststadie; de som bildar moderkakan och fosterhinnorna. *Embryonala* stamceller (ES-celler) får forskarna från den inre cellmassan i blastocysten och de tillhör därmed den pluripotenta klassen av celler (Fig. 2).

KORRESPONDENS TILL  
Cecilia Bull  
Institutionen för Klinisk Neurovetenskap  
Sahlgrenska Universitetssjukhuset  
Blå Stråket 7, vån 2  
413 45 Göteborg  
Sverige  
[Cecilia.Bull@neuro.gu.se](mailto:Cecilia.Bull@neuro.gu.se)

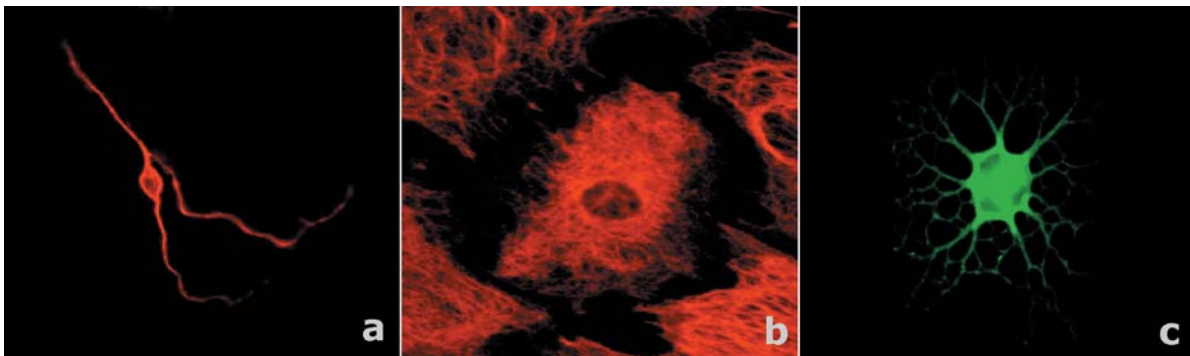


Figur 2. Olika stadier av differentiering när en stamcell utvecklas till en fullt differentierad cell.

Vissa stamceller förblir odifferentierade (omogna) genom fosterutvecklingen och behåller sin förmåga att dela sig även hos den vuxna organismen. Dessa stamceller benämns adulta stamceller och kan återfinnas i flera olika vävnader som i lever, näthinna, benmärg och tarm. Normalt ligger de i dvala men kan rekryteras vid behov för att till exempel ersätta celler som skadats eller för allmänt underhåll. Adulta stamceller hör till *multipotenta* stamceller. Utvecklingspotentialen hos multipotenta stamceller har ännu inte testats till fullo. Tills nyligen trodde man att dessa celler endast kunde ge upphov till den sorts celler som de härstammar från, men flera studier har idag ifrågasatt denna teori. En del stamceller från den adulta hjärnan har till exempel visat sig kunna ge upphov till de flesta celltyper när de injicerats i tidiga embryonala stadier av mus och kyckling. På liknande sätt har man visat att celler från adult benmärg under rätt förhållanden kan bilda nervceller trots att de egentligen är programmerade för att bilda blodceller. Det har debatterats om det finns en universell adult stamcell som är lika obegränsad som den embryonala stamcellen. Rapporter om hudvävnad som diffe-

rentierat till nervceller och nervstamceller som bildat muskel- eller blodceller ger onekligen intryck av att en sådan cell existerar. Idag har dock ännu inte någon adult stamcell som kan differentiera till alla typer av celler isolerats.

Progenitorceller härstammar från stamcellerna, men är ytterligare begränsade i sin förmåga att bilda olika celltyper jämfört med den adulta stamcellen. Dessutom, när en stamcell delar sig är åtminstone den ena dottercellen alltid en exakt kopia av modercellen och kan fortsätta dela sig, men när en progenitorcell delar sig kan båda dottercellerna mogna ut till specialiserade celler. På så sätt avstannar normalt delningen i en kultur med progenitorceller efter en tid och man har bara kvar differentierade celler. Progenitorceller i nervsystemet ger normalt upphov till neuron (nervceller) eller gliaceller (astrocyter och oligodendrocyter). Dessa tre är de huvudsakliga celltyperna i hjärnan (Fig. 3).



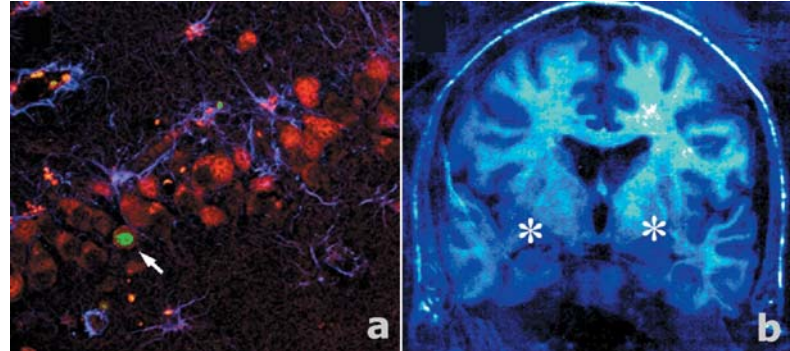
Figur 3. De tre viktigaste celltyperna i hjärnan som de ser ut i fluorescence-mikroskopet: a. ett neuron; b. en astrocyt; och c. en oligodendrocyt.

### Upptäckten av stamceller i hjärnan

Trots att man under mer än ett sekel känt till att det förekommer stamceller i olika vävnader har man länge ansett att den adulta hjärnan varit ett undantag, främst på grund av att hjärnan har en svag regenerativ kapacitet. Under 1900-talet beskrevs nervregeneration som försök av nervsystemet att hålla cellerna vid liv i drabbade områden efter sjukdom eller skada, samt som stimulering av tillväxt hos nervutskotten. Bildandet av nya neuron (neurogenes) ansågs endast ske under fosterutvecklingen och kort tid runt födseln med undantag för bildandet av nya kopplingar, så kallade synapser, i den adulta hjärnan. Hela nervceller kunde alltså inte nybildas. Nyligen har man emellertid visat att stamceller som kan ge upphov till nya nervceller existerar i det adulta centrala nervsystemet (CNS), även hos människan. Detta är en överraskande upptäckt. De första studierna med positiva resultat fokuserade på hippocampus (se nästa avsnitt) och luktbulben hos hjärnor av adulta gnagare där man kunde visa att bildandet av nya neuron förekom. Efterhand gjordes fler studier på ämnet hos gnagare och sångfåglar och dessa pekade i samma riktning; att neuron kunde bildas även efter födseln. Åtskilliga studier hos olika arter har på senare tid företagits och alla, inklusive de som gjorts på människa (Fig. 4), har visat denna

kapacitet till omfattande celledelning, cellregeneration och neurogenes i hjärnan. Detta är en mycket viktig upptäckt, eftersom stamceller från hjärnan kan vara en ny möjlighet att behandla skador i centrala nervsystemet samt olika hjärnsjukdomar som Parkinsons, Alzheimers och multipel skleros.

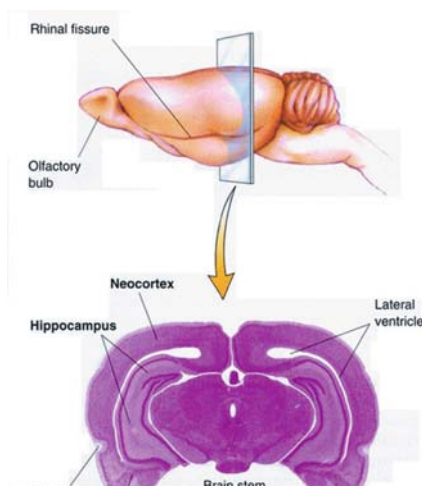
**Figur 4.** a. Bromodeoxyridine (BrdU) inkorporeras i DNA från cellerna som delar sig, och används för att märka nyfödda neuron, här i hippocampus från en vuxen människa (pilen). b. Magnetresonansbild (MRI), som visar ett tvärsnitt av människohjärnan. Asterisker visar läget på hippocampus.



### Neurogenes i hippocampus hos adult råtta

*Hippocampus* (från det grekiska ordet för sjöhäst) är en bit veckad hjärnbark på var sida av de laterala ventriklarna (Fig. 5). Man har visat att ett område i hippocampus, som kallas *dentate gyrus* (DG), innehåller stamceller som differentierar främst till neuron, men även astrocyter och oligodendrocyter. Nybildning av neuron kan vara ett sätt att adaptera till förändrad omgivning och förändrade stimuli. Eftersom hippocampus är involverat i minne och inlärning är plasticiteten (kapaciteten till förändring) här av stort intresse.

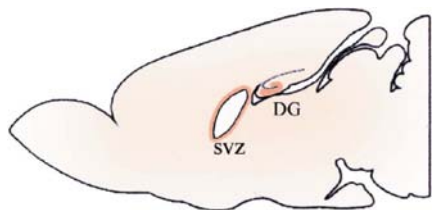
Ett annat område där man kan finna adulta stamceller är subventrikulära zonen (SVZ) som gränsar till de laterala ventriklarna. Detta område är troligen den främsta källan till adulta stamceller i hjärnan (Fig. 6).



**Figur 5.** Ett snitt genom råttjärnan som visar hippocampus och de laterala ventriklarna (Bear, et al. © Lippincott Williams and Wilkins).

### Faktorer som påverkar adult neurogenes och cellöverlevnad

Nya metoder utvecklade för att studera molekylära mekanismer har avslöjat en rad olika faktorer som medverkar i produktionen och överlevnaden av neuron och gliaceller bildade i det adulta stadiet. Kunskapen är fortfarande bristfällig, men det tycks vara omgivningen snarare än inneboende egenskaper hos cellerna själva, som dikterar deras öde. Stamceller som transplanteras från en fosterhjärna till en annan vandrar tillsammans med värdcellerna och differentierar till celltyper som är specifika för den region de hamnat i. Detta gäller också för stamceller som man tagit från adult vävnad. De kan odlas och expanderas i näringsmedium med tillväxtfaktorer för att sedan återinplanteras och bilda nya neuron och gliaceller. Trots att man vet att hormoner, neurotransmittorer och tillväxtfaktorer är involverade i regleringen av neurogenes, så känner man idag inte till de exakta molekylära och cellulära signalerna som leder till att en stamcell "väljer" att utvecklas åt ett visst håll. Bättre kunskap

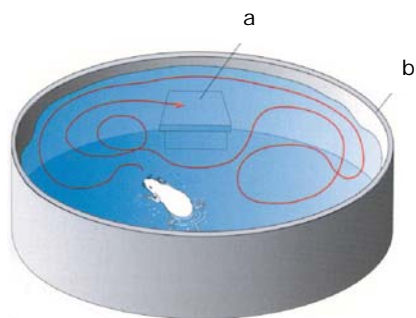


**Figur 6.** Två områden som är kända för att bilda nya neuron i det adulta CNS är *dentate gyrus* (DG) i hippocampus och subventricular zone (SVZ).

om de mekanismer som kontrollerar tillväxt och differentiering är nödvändig. Adulta stamceller i hjärnan är få och svåra att isolera och deras tillväxt i cellodling är begränsad. Användning av adulta stamceller som behandling mot sjukdomar och andra skador är av stort intresse, men det krävs mer forskning. Kunskapen om dessa cellers egenskaper, möjligheter och begränsningar är inte tillräcklig och fler metoder, till exempel för att odla upp humana stamceller i tillräcklig mängd för en transplantation, måste utvecklas.

### Fysisk träning ger ökad neurogenes

Det är kanske ingen nyhet att fysisk träning är bra för vår hälsa. Vad som däremot är nytt, är att detta också gäller för våra nervceller. Möss som får tillfälle att frivilligt springa i ett snurrande hjul visar ökad neurogenes och ökad cellöverlevnad hos nybildade celler i dentate gyrus. Springande råttor visar också en förbättrad motståndskraft mot skador orsakade av bland annat stroke, samt snabbare tillfrisknande. En studie utförd år 2001 demonstrerade att fysisk aktivitet hos människor ger minskade risker för hjärnsjukdomar som dementia och Alzheimers <sup>1</sup>s. Dessutom är frivillig fysisk träning troligen ett utmärkt sätt att lindra stress, som har en negativ påverkan på neurogenes. Stress hindrar nämligen produktionen av nya neuron i dentate gyrus, minskar cellöverlevnaden och försämrar minnet.



**Figur 7.** Morris vattenlabyrint. a) visar den dolda plattformen och b) bassängen.  
From: Bear, et al. © Lippincott Williams and Wilkins, 2001.

Hippocampus uppvisar så kallad synaptisk plasticitet och används därför ofta som modell för signalöverföring. Synaptisk plasticitet är när nervcellernas kopplingar i hjärnan påverkas av stimuli och förändras efter behov, och detta anses bidra till minne och inläring. Betydelsen av hippocampus i minnesförmåga och inläring kan visas i en "Morris vattenlabyrint", som är ett test på den spatiala minnesförmågan hos råttor (Fig 7). Råttan placeras i en pool fylld med grumligt vatten där en plattform finns nedsänkt alldeles under ytan. Normalt simmar en frisk råtta runt till den stöter på plattformen och den lär sig snart att simma direkt till plattan. En råtta med en skada på hippocampus tycks dock inte kunna komma ihåg var plattformen är, hur många försök den än får göra. Genom att låta råttan springa i hjul ökar neurogenesen i hippocampus och därmed också minnesförmågan när råttan åter får simma i vattenlabyrinten — ett tecken på förbättrad hjärnplasticitet.

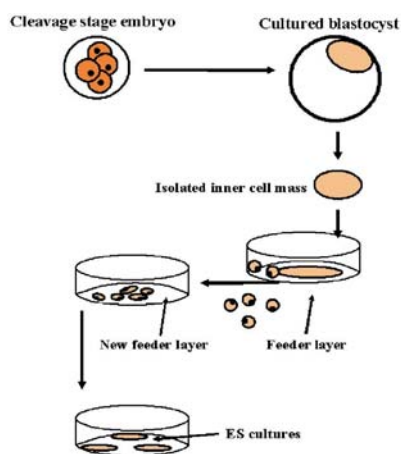
### Embryonala stamceller

En embryonal stamcell är, som redan nämnts, en odifferentierad pluripotent cell isolerad från det tidiga embryot i blastocyststadiet (se Fig. 2). De embryonala stamcellerna har en unik förmåga till oändlig delning *in vitro* (i cellkultur) utan att mogna, och därför kan de odlas upp i stora mängder och ändå behålla förmågan att differentiera ut till de celltyper som bildar de tre embryonala groddlagren. Dessa groddlager utgörs av

ektoderm (hud och nervceller), mesoderm (bl a muskelceller, bindväv och blodceller) samt endoderm (inre organ) och är källan till alla celltyper i den vuxna organismen (ca 250 olika celltyper). Det är viktigt att poängtera att embryonala stamceller *inte* själva kan ge upphov till ett embryo, då de saknar förmåga att bygga upp det yttre cellagret i blastocysten. Detta lager ger ju senare upphov till moderkaka och fosterhinnor vilka krävs för fostrets utveckling i livmodern.

### Framtagning av en human embryonal stamcellslinje

I Sverige används överblivna mänskliga embryon som producerats vid *in vitro* fertilisering (IVF; konstgjord befruktning) till att isolera embryonala stamcellslinjer. Par som deltar i ett IVF-program kan, efter att ha erhållit information om forskningen, frivilligt donera de ägg som blivit över efter en konstgjord befruktning. Pluripotenta humana embryonala stamceller har isolerats och odlats i cellkultur med lyckat resultat. Den inre cellmassan (ICM) tas från ett 5-dagars embryo och överförs i en odlings-skål där botten har täckts med bindvävsceller. Bindvävscellerna är framställda från möss och producerar ämnen som inducerar cellväxt. När cellmassan tas bort från sin normala embryonala omgivning och odlas under lämpliga förhållanden, ger den upphov till celler som uttrycker markörer för embryonala stamceller och uppvisar typisk stamcellskaraktär.



Figur 8. Processen att skapa en pluripotent embryonal stamcellslinje från en blastocyst.

I närvaro av serum (en blodkomponent) och efter 9–15 dagar har cellerna från ICM delat sig och bildat klumpar. Celler från klumparnas periferi avskiljs på kemisk eller fysikalisk väg och sås ut i odlings-skålar under identiska förhållanden. Kolonier med den passande odifferentierade morfologin selekteras, sås ut på nytt, expanderas upp och bildar efterhand en ny potentiell embryonal stamcellslinje (Fig.8). Dessa celler kan sedan odlas vidare och hållas odifferentierade i serum eller medium med tillväxtfaktorer. Humana ES-celler formar relativt platta, kompakta kolonier med en fördubblings-tid på ungefär 36 timmar.

### Stamceller som behandlingsmetod: Varför använda sig av embryonala stamceller?

Det har debatterats mycket kring huruvida det är rätt att använda sig av humana embryonala stamceller för forskning och för utveckling av nya behandlingsmetoder. Varför inte nöja sig med att använda adulta stamceller istället och undvika ställningstagande i så svåra frågor som "vad räknas som liv"?

Det finns flera olika anledningar till varför man vill forska med embryonala stamceller. En anledning är att ES-celler kan dela sig i oändlighet *in vitro*, något som ännu inte visats hos adulta stamceller. Vidare kan troligtvis en ES-cell generera ett större antal celltyper än en adult stamcell.

Ett annat problem är att få fram tillräckligt med celler på kort tid inför en behandling. Adulta stamceller finns bara i ett litet antal i kroppen, blir färre med åldern och är svåra att isolera. Detta kan jämföras med ES-celler som relativt enkelt kan odlas upp i stora mängder under obegränsad tid. Om man vill använda autologa adulta stamceller (patientens egna stamceller) vid en behandling, måste man först isolera cellerna från patienten och odla upp dem tills de finns i tillräckligt antal. Detta är en tidskrävande process vilket är problematiskt om en akut behandling behövs. Vidare finns en begränsning med adulta stamceller när det gäller behandling av genetiska sjukdomar. Autologa adulta stamceller är antagligen inte lämpliga för transplantation eftersom de också bär på den defekta genen. Dessutom kan adulta stamceller innehålla flera andra genetiska defekter som åsamkats av de dagliga påfrestningar celler utsätts för såsom solljus, gifter och de vanliga fel som kan uppstå i DNA:et då cellen delar sig. Dessa genetiska defekter kan undvikas vid användandet av embryonala stamceller.

Forskning på embryonala stamceller kan också hjälpa oss att förstå de fundamentala processerna i människans embryonala utveckling genom att ge möjlighet att identifiera viktiga gener och de faktorer som inaktiverar och aktiverar dessa. ES-celler kan också öka vår kunskap om kromosomdefekter och andra fel som leder onaturlig celledelning och differentiering och orsakar cancer samt ett stort antal andra sjukdomar.

### **Stamceller som behandlingsmetod vid neurologiska sjukdomar**

Det finns en stor potential hos stamceller som behandling vid en mängd olika sjukdomar. När det gäller transplantation, är stamceller ett väldigt lovande forskningsområde. Det är svårt att hitta immunologiskt matchande donatorer, och ofta krävs ett medgivande från familjemedlemmar för att man skall kunna erålla organ eller annan vävnad till en transplantation. Stamceller kan användas till att producera vävnader såsom ben, brosk, leverceller och i framtiden kanske hela organ för transplantation. Stamceller kan också manipuleras genetiskt för att ersätta defekta gener och sedan återimplanteras i patienten, vilket skulle kunna bli en viktig behandlingsmetod mot till exempel autoimmuna sjukdomar.

Trots att däggdjurshjärnan innehåller endogena (kroppsegna) stamceller är självläkningen av skador som uppstått vid olika neurologiska tillstånd är oftast långsam och ineffektiv. Detta kan bero på att antalet endogena stamceller efterhand sinar ut men också på en ofördelaktig mikromiljö som motverkar läkningsprocessen. Det är troligt att endogena stamceller förekommer i hela centrala nervsystemet, men att själva differentieringen enbart sker i vissa begränsade områden. Därför har transplanterade stamcellers förmåga att migrera och integrera i vävnad och dessutom ut-

söndra viktiga molekyler gett oss en ny möjlighet att behandla neurologiska sjukdomar. Eftersom degenerering av celltyper i hjärnan kan vara ett resultat av gifter, brist på vissa näringsämnen eller andra patologiska orsaker skulle en idealisk transplantation inte bara reparera skadan, utan också producera molekyler som stabiliserar mikromiljön och på olika vis skyddar från nya angrepp. Det har redan visats att neuronala stamceller kan producera en mängd olika näringsämnen.

När det gäller multipel skleros kan demyeliniseringen av axonerna (nervutskotten) orsaka allvarliga handikapp hos den drabbade. Myelin, producerat av oligodendrocyter, bildar ett isolerande lager runt axonerna vilket underlättar konduktionen av nervimpulser. I en musmodell som härmar demyeliniseringen i multipel skleros, tar sig neuronala stamceller (som injicerats in i ventriklarna eller direkt in i blodet) över blod-hjärnbarriären och differentierar till oligodendrocyter, remyeliniserar en andel av de skadade axonen och lindrar därmed symptomen. Framgångsrik behandling för patienter med Parkinsons sjukdom har redan påbörjats med stamceller som producerar dopamin. Emellertid är det ännu en lång väg kvar tills dess att effektiva stamcellsterapier kan komma att användas i större utsträckning. Som redan nämnts kan endogena faktorer som skapar en fientlig miljö för transplanterade celler bromsa framgångarna. Vidare kan den höga hastigheten med vilken cellerna delar sig leda till för tidigt åldrande hos cellerna och cancer. Dessutom är långtidseffekterna på egenskaperna hos manipulerade stamceller ännu inte kända. Ytterligare forskning rörande dessa celler och de faktorer som på positivt eller negativt sätt påverkar deras överlevnad, tillväxt och differentiering är därför nödvändig.

### Ytterligare läsning

Altman, J. and Das, G.D. (1965) Post-natal origin of microneurons in the rat brain. *Nature* **207**, 953–956.

Bear, M.F., Connors, B.W., Paradiso, M.A. (2001) *Neuroscience: Exploring the brain*. Lippincott Williams & Wilkins (2001) ISBN:0 683 30596 4.

Cameron, H.A., Woolley, C.S., McEwen, B.S. *et al.* (1993) Differentiation of newly born neurons and glia in the dentate gyrus of the adult rat. *Neuroscience* **56**, 337–344.

Clarke, D.L., Johansson, C.B., Wilbertz, J. *et al.* (2000) Generalized potential of adult neural stem cells. *Science* **288**, 1660–1663.

Dunnet, S.B. and Björklund A. (2000) *Functional neuronal transplantation*. Raven Press: New York.

Eriksson, P.S., Perfilieva, E., Björk-Eriksson, T. *et al.* (1998) Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Natural Medicines* **4**, 1313–1317.

Gage, F.H. (2000) Mammalian neural stem cells. *Science* **287**, 1433–1438.



John, G.R., Shankar, S.L., Shafit-Zagardo, B. *et al.* (2002) Multiple sclerosis: re-expression of a developmental pathway that restricts oligodendrocyte maturation. *Natural Medicines* **8**, 1115–1121.

Kempermann, G., Kuhn, H.G. and Gage, F.H. (1997) More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* **386**, 493–495.

Nilsson, M., Perfilieva, E., Johansson, U. *et al.* (1999) Enriched environment increases neurogenesis in the adult rat dentate gyrus and improves spatial memory. *Journal of Neurobiology* **39**, 569–578.

Odorico J.S., Kaufman D.S. and Thomson J.A. (2001) *Stem cells* **19**, 193–204.

Stanworth S.J. and Newland A.C. (2001) Stem cells: progress in research and edging towards the clinical setting. *Clinical Medicine* **1**, 378–382.

van Praag, H., Kempermann, G. and Gage, F.H. (1999) Running increases cell proliferation and neurogenesis in the adult mouse dentate gyrus. *Nature Neuroscience* **2**, 266–270.

Yandava, B.D., Billingham, L.L. and Snyder, E.Y. (1999) Global cell replacement is feasible via neural stem cell transplantation: evidence from the dysmyelinated shiverer mouse brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **96**, 7029–7034.

### Webbsidor

US National Institutes of Health Web site  
<http://www.nih.gov/news/stemcell/primer.htm>