

Immunbiologie embryonaler Stammzellen

PROF. DR. MED. SONJA SCHREPFER

Universitäres
Herzzentrum Hamburg

ZUSAMMENFASSUNG

Bei Herzinfarkt abgestorbenes Myokard kann bisher durch kein Therapieverfahren wiederhergestellt werden. Neue Hoffnung versprechen jedoch Ansätze auf der Basis von Stammzelltherapie. Die Transplantation von Stammzellen soll den ischämischen Myokardschaden verringern, eine Regeneration des Herzmuskelgewebes unterstützen und eine Verbesserung der Herzfunktion erzielen.

Ein grundsätzliches Problem der Stammzelltherapie des akuten Myokardinfarktes stellt die Verfügbarkeit geeigneter Stammzellen zum Zeitpunkt der Akuttherapie dar. Ansätze, die eine Isolierung, Purifizierung und Expansion spezifischer autologer adulter Stammzellpopulationen beinhalten, scheiden aus. Allogene embryonale oder adulte Stammzellen könnten zwar jederzeit bereitgestellt werden, werden jedoch nach Transplantation vom Empfänger-Immunsystem abgestoßen. Dieses Problem wurde in den letzten Jahren unterschätzt, da Stammzellen aufgrund ihrer reduzierten Expression von Antigen-wirksamen MHC-Molekülen weitläufig als immunprivilegiert angesehen wurden [1, 2]. Meine als auch andere Arbeitsgruppen haben jedoch kürzlich zeigen können, dass Stammzellen abgestoßen werden und dass eine starke Immunsuppression des Empfängers notwendig wäre, diese Abstoßung zu verringern [3–6]. Eine derartige Immunsuppression ist jedoch aufgrund ihrer erheblichen Nebenwirkungen für die Therapie des akuten Myokardinfarktes nicht gerechtfertigt.

Unser Labor befasst sich mit transplantationsimmunologischen Fragestellungen in der der adulten, fetalen und embryonalen Stammzelltransplantation mit aktuellsten Methoden der Molekular- und Zellbiologie und Immunologie [7]. Das Ziel dieser Studien ist die immunologische Barriere zu überwinden und die Verfügbarkeit geeigneter Zellen zu ermöglichen. Hierfür ist die in-vivo-Darstellung transplanteder Stammzellen im Wirtsorganismus von großer Bedeutung, um das Stammzellüberleben und ihre funktionelle Reorganisation sensi-

tiv, akkurat und nicht invasiv überwachen zu können. Die Biolumineszenz-Bildgebung eignet sich hervorragend für die Visualisierung von Zellwanderungen und -überleben in lebenden Organismen. Basierend auf dem Nachweis von Reportertransgenen ist die Mehrfachuntersuchung ein und desselben Tieres und damit der dynamische Nachweis von Effektorzell-Migration möglich. Die Potentiale dieser hochinnovativen Technik sind für viele medizinische Anwendungsbereiche von Bedeutung, so zum Beispiel für Onkologie, Inflammation, Metabolismus und Toxikologie, Neurologie, Gentherapie und viele andere [8–10].

STAND DER FORSCHUNG: STAMMZELLTRANSPLANTATION ZUR MYOKARDREGENERATION

In präklinischen Studien zur Myokardregeneration mittels Stammzelltherapie wurden aufbereitete mesenchymale oder hämatopoietische Knochenmarkstammzellen, Skelettmyoblasten und endotheliale Progenitorzellen erfolgreich eingesetzt, um den ischämischen Schaden zu begrenzen und/oder die Herzfunktion zu verbessern [11–15]. Eine Übertragung dieses Ansatzes in die Klinik erschien vielversprechend.

Ansätze zur Therapie der chronisch-ischämischen Herzerkrankung sahen die Applikation von autologen Stammzellpopulationen vor, die entweder chirurgisch im Rahmen einer Bypassversorgung intramyokardial injiziert [16–19] oder interventionell transendokardial [20, 21] oder direkt intrakoronar [22, 23] appliziert wurden. Zum Einsatz kamen Skelettmyoblasten [16] oder unfraktionierte [17, 18, 20–23] oder CD133-selektionierte [19] mononukleäre Knochenmarkszellen. Die Erfolge der Stammzelltherapie im Hinblick auf eine Funktionsverbesserung des Myokards waren heterogen. Die besten Ergebnisse wurden erzielt durch eine gleichzeitige Revaskularisierung des Areals der Stammzelltransplantation mittels Bypassanlage [24]. Skelettmyoblasten zeigten ein deutliches arrhythmogenes Potential, was eine

prophylaktische Defibrillator-Implantation in dieser Patientengruppe notwendig machte und die Sicherheit der Skelettmyoblasten-Transplantation in Frage stellte [25–27].

Verschiedene Stammzelleffekte werden für ihre kardioprotektive und kardioregenerative Wirkung verantwortlich gemacht. Mesenchymale und hämatopoietische Stammzellen vermitteln parakrine Effekte durch die Produktion von Zytokinen [28]. Sie unterstützen über angiogenetische Faktoren die Revaskularisation ischämischer Areale und stabilisieren die Extrazellulärmatrix und reduzieren das ventrikuläre Remodeling [29]. Antiapoptotische Mediatoren erhöhen die Ischämietoleranz des gefährdeten Myokards und können die Infarktgröße reduzieren. Des Weiteren kann die Stammzelltransplantation über eine Aktivierung von ortsansässigen kardialen Stammzellen die endogene Myokardregeneration unterstützen [25].

Gerade ihre antiapoptotischen Effekte machen die Stammzelltransplantation interessant für einen Einsatz in der Akuttherapie, um ischämische Kardiomyozyten vor Apoptose zu bewahren und

die Infarktgröße einzugrenzen. Unsere Arbeitsgruppe hat in einem präklinischen Modell kürzlich gezeigt, dass vor allem der antiapoptotische Effekt mesenchymaler Stammzellen zur Reduzierung der Infarktgröße und Verbesserung der Pumpfunktion führt [30]. In randomisiert-kontrollierten Studien wurde die intrakoronare Applikation von unselektionierten mononukleären Knochenmarkszellen im Rahmen einer Akut-PTCA im Herzkatheterlabor gegen Placebo getestet [31, 32]. Obwohl die Ergebnisse erneut heterogen waren, ist insgesamt eine moderate Verbesserung der linksventrikulären Pumpfunktion durch diese Stammzelltherapie zu vermuten [33–37].

Durch Verwendung von autologen, patienteneigenen unselektionierten mononukleären Knochenmarkszellen wird eine Immunreaktion gegen die Transplantatzellen verhindert. Dieser Ansatz hat jedoch erhebliche Nachteile. Die biologischen Eigenschaften der gewonnenen Zellen sind individuell sehr verschieden und hängen unter anderem vom Alter des Patienten, dessen Begleiterkrankungen und dem Gewinnungsverfahren ab. Diese Heterogenität macht es schwierig, wenn nicht unmöglich, eine reproduzierbare Zelltherapie zu

Abbildung 1

■ Das TSI-Labor.

Die TSI-Lab-Mitglieder (von links nach rechts: Christiane Pahrman (Lab Manager), Danja Meyberg (Wiss MA), Prof. Dr. med. Sonja Schrepfer (Leiterin), Mandy Kolk (Wiss MA) und PD Dr. med. Tobias Deuse (Oberarzt thorakale Transplantation)). Die immunologische Barriere verhindert bisher den klinischen Einsatz der allogenen Stammzelltransplantation zur Regeneration von geschädigtem, eigenem Gewebe. Ein besseres Verständnis der zugrundeliegenden immunologischen Mechanismen ist unbedingt notwendig, um die Transplantation von allogenen Stammzellen in die Klinik zu bringen. Das TSI-Lab bearbeitet transplantationsimmunologische Fragestellungen in der adulten und embryonalen Stammzelltransplantation mit aktuellsten Methoden.



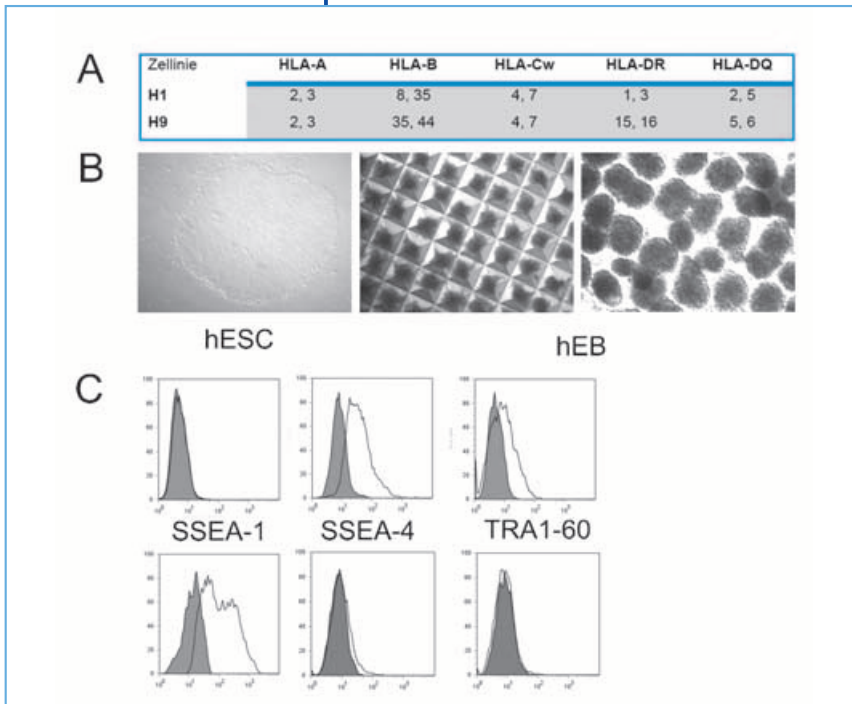


Abbildung 2

Zellcharakterisierung

A. HLA-Typisierung von humanen embryonalen Stammzellen (H1 und H9 Linie), durchgeführt im HLA-Labor Stanford (Dr. D. Tyan).

B. Links: Undifferenzierte humane embryonale Stammzellkolonie (hESC) in Zellkultur. Mitte: Erzeugung von humanen Embryoid Bodies (hEBs) aus undifferenzierten hESC mittels der AggreWell 400-Technik.

Rechts: Formierte hEBs in uniformer Größe.

C. Histogramme von FACS-Analysen. Obere Reihe: Undifferenzierte hESCs sind positiv für pluripotente Marker wie SSEA-4 und TRA1-60 und negativ für SSEA-1. Untere Reihe: Histogramme von differenzierten hESCs nach 45 Tagen in Kultur.

etablieren. Des Weiteren gibt es logistische Probleme, eine Zellgewinnung und Verarbeitung für die Akutversorgung jederzeit zu gewährleisten. Obwohl bislang nicht abschließend geklärt ist, welche Knochenmarks-Stammzellpopulation die größten Erfolge bei der Myokardregeneration zeigt, so wäre eine Aufreinigung mit Elimination von mononukleären Immunzellen wünschenswert. Eine Anreicherung mit mononukleären Immunzellen, die den inflammatorischen Prozess bestärken, ist im akuten Myokardinfarkt kontraproduktiv. Außerdem konnte experimentell gezeigt werden, dass eine *in vitro* Genmanipulation von Stammzellen vor der Transplantation deren Zytokinprofil ändern und deren Wirkung deutlich verstärken kann [38–40].

Idealerweise stünden also unbegrenzte, gut definierte, aufgereinigte, vitale und funktionale, genmanipulierte, *in vitro* expandierte Stammzellen für die Zelltransplantation während der Akutversorgung des Myokardinfarktes zur Verfügung. Dieser Ansatz ist jedoch nur über eine allogene Zelltransplantation denkbar, die bislang an der immunologischen Inkompatibilität mit Abstoßung der Transplantatzellen scheitert.

Humane embryonale Stammzellen (hESCs), die ausschließlich allogene transplantiert werden kön-

nen, haben noch ein deutlich größeres regeneratives Potential als adulte Stammzellen und kommen ebenfalls für die Myokardregeneration in Frage. Ihr größter Vorteil ist ihre Pluripotenz, die ihnen eine Differenzierung in Herzmuskelzellen ermöglicht und somit enormes regeneratives Potential verleiht.

Das TSI-Labor arbeitet mit den genehmigten embryonalen Stammzellen H1 und H9. Die genauen HLA Epitope wurden mittels HLA Typisierung auf DNA Basis bestimmt (**Abb. 2A**). Aus den undifferenzierten, in Kolonien wachsenden Stammzellen werden spezialisierte Zellen, wie z.B. Kardiomyozyten, generiert (**Abb. 2B**). Hierfür wird die AggreWell 400-Technik (Stemcell Technologies) angewendet. Als Differenzierungsprotokoll nutzen wir das etablierte Protokoll von Keller et al. [45]. Für die ersten 12 Tage werden die Zellen bei 5% CO₂/5% O₂/90% N₂ kultiviert und anschließend bei a 5% CO₂ weiterkultiviert. Durch den Differenzierungssprung zu hEBs verlieren die Zellen ihre Marker für Pluripotenz (SSEA-4, Oct3/4, TRA1-60) und zeigen eine positive SSEA-1 Expression (**Abb. 2C**).

Aufgrund ihres frühen Entwicklungsstands und der postulierten fehlenden Expression von immunologisch relevanten Oberflächenmarkern wurden Stammzellen als immunprivilegierte Zellen betrachtet [41]. Jedoch weisen sowohl adulte als auch embryonale Stammzellen eine zwar geringere, aber dennoch hinreichend starke MHC-I-Expression auf, um eine allogene Immunreaktion auszulösen [41–43] und abgestoßen zu werden.

Diese immunologische Barriere und die zur Abstoßung führenden Mechanismen werden von uns genauer definiert, um Ansätze zur Umgehung der Abstoßung zu finden.

Da bisher Uneinigkeit besteht, ob humane embryonale Stammzellen, fetale Nabelschnurstammzellen oder adulte Knochenmarksstammzellen für eine klinische Therapie zu bevorzugen sind, untersuchen wir alle Zelltypen.

METHODE DER BIOLUMINESZENZ-BILDGEBUNG IN DER STAMMZELLTRANSPLANTATION

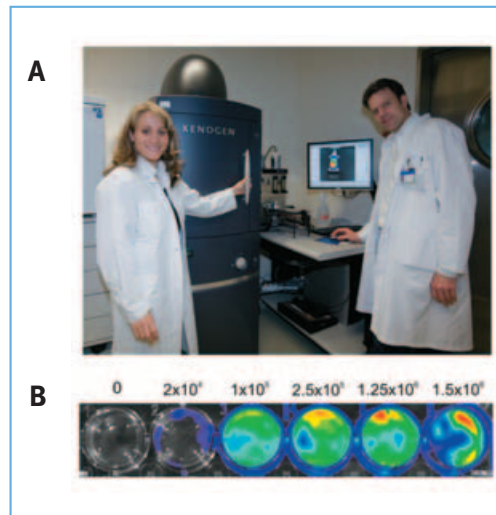
Humane embryonale Stammzellen (hESCs), die ausschließlich allogene transplantiert werden können, haben ein deutlich größeres regeneratives

Potential als adulte Stammzellen. Ihr größter Vorteil ist ihre Pluripotenz, die ihnen z.B. eine Differenzierung in Herzmuskelzellen ermöglicht und somit enormes regeneratives Potential verleiht.

Aufgrund ihres frühen Entwicklungsstands und der postulierten fehlenden Expression von immunologisch relevanten Oberflächenmarkern wurden Stammzellen als immunprivilegierte Zellen betrachtet [1, 2]. Mittlerweile ist nachgewiesen, dass embryonale Stammzellen eine zwar geringe, aber dennoch hinreichend starke MHC-I-Expression aufweisen, um eine allogene Immunreaktion auszulösen und abgestoßen zu werden [3–6].

Diese immunologische Barriere und die zur Abstoßung führenden Mechanismen müssen genauer definiert werden, um Ansätze zur Umgehung der Abstoßung zu finden. Hierbei wird die in-vivo-Darstellung transplantierter Stammzellen im Wirtsorganismus einen erheblichen Einfluss auf die Akzeptanz zellbasierter Therapiestrategien haben.

Das TSI-Lab ist im Universitären Herzzentrum Hamburg (Herz- und Gefäßchirurgie; Klinikdirektor: Prof. Dr. med. H. Reichenspurner) angesiedelt. Die Zielsetzung unserer Arbeitsgruppe ist unter anderem die Charakterisierung der Immunbiologie von embryonalen Stammzellen in Abhängigkeit von ihrem Differenzierungsgrad. *In vivo* sollen Stammzellmigration, Zellüberlebens-



rate und funktionelle Reorganisation nicht-invasiv überwacht werden um die Grundlagen der Stammzellimmunbiologie zu verstehen für eine spätere klinische Translation.

Eine bisher vielverwendete Möglichkeit, Stammzellen *in vivo* darzustellen, ist die magnetische Markierung der Zellen für die Magnetresonanztomographie (MRT) [44]. Mittels der MRT-Technologie wurden stabile Überlebensraten von transplantierten Stammzellen nachgewiesen. Mittlerweile wurde jedoch gezeigt, dass die Stammzellen und somit die Eisenpartikel von Makro-

Abbildung 3

■ Biolumineszenz Imaging (BLI).

A. Mittels des IVIS 200 (in schwarz) von Caliper können Stammzellen longitudinal *in vivo* überwacht werden.

B. Mittels BLI können quantitative Aussagen über das Zellüberleben gemacht werden: Das Lichtsignal korreliert mit Zellzahl, ist nicht auf andere Zellen übertragbar und erlischt sobald die Zelle stirbt.

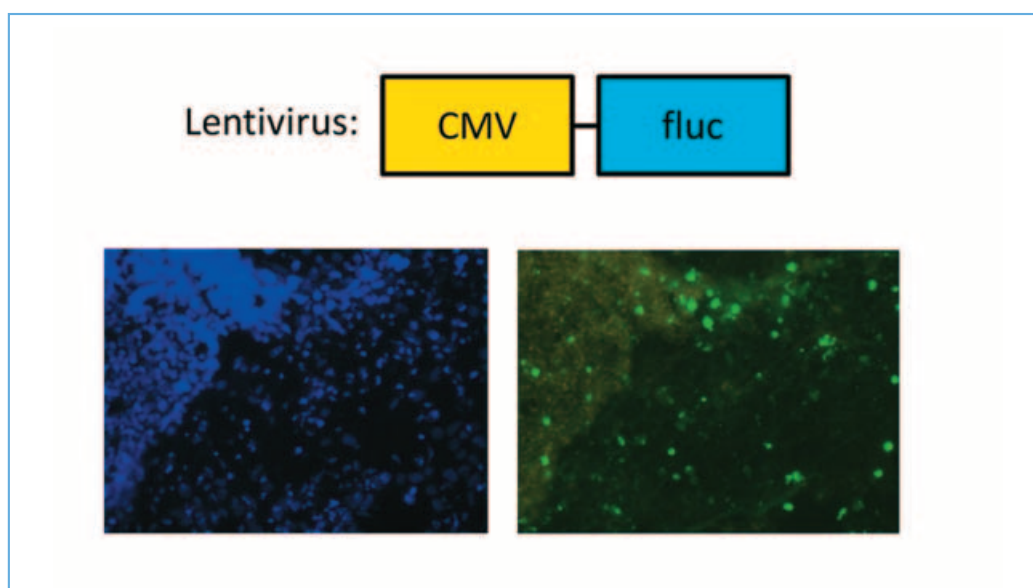


Abbildung 4

■ Zellmarkierung mit firefly luciferase.

Die Zellen werden mittels eines Lentivirus stabil mit luciferase unter einem CMV-Promoter transduziert. Anschließend können die Zellen mittels Puromycin selektiert und purifiziert werden. Abgebildet ist eine hESC-Kolonie in der Kernfärbung DAPI (links) und der Kontrolltransduktion mit GFP (rechts). Erfolgreich transduzierte Zellen leuchten in Grün.

Abbildung 5

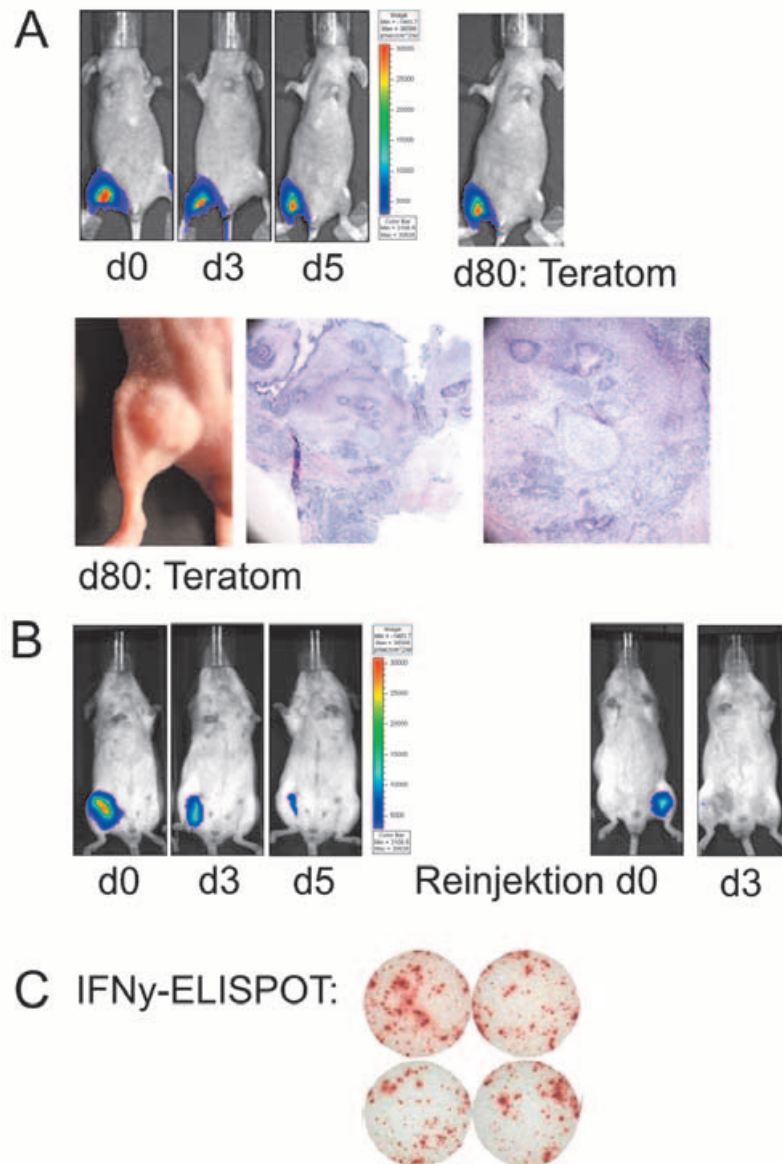
■ *In vivo* Ergebnisse mit BLI.

A. Biolumineszenz-Bildgebung zum Nachweis der Tumorgenität von Stammzellen: In immuninkompetente Mäuse transplantierte humane embryonale Stammzellen (hESC) am Transplantationstag (d0) und am dritten bzw. fünften postoperativen Tag (d3, d5). Nach 80 Tagen hat sich am Transplantationsort ein makroskopischer Tumor (Teratom) entwickelt, der makroskopisch und mittels BLI nachweisbar ist.

Das Teratom wurde durch Nachweis von Zellen aller drei Keimblätter histologisch bestätigt.

B. Biolumineszenz-Bildgebung zum Nachweis der Abstoßungskinetik: hESCs wurden in Balb/C-Mäuse transplantiert und mittels BLI am Transplantationstag (d0) und am dritten bzw. fünften postoperativen Tag (d3, d5) überwacht. An Tag 5 waren die hESCs abgestoßen. Eine Woche später wurden hESCs in die kontralaterale Seite der gleichen Mäuse transplantiert und mittels BLI eine akzelebrierte und somit adaptive Immunantwort nachgewiesen, da die Zellen bereits am dritten Tag abgestoßen waren.

C. Der Elispot für die IFN γ -Sekretion von TH₁-Zellen der gleichen Tiere deutet auf eine zellulär vermittelte Abstoßung hin und bestätigt die mittels BLI nachgewiesene adaptive Immunantwort.



phagen aufgenommen wurden und letztendlich die Makrophagenmigration visualisiert wurde [44].

Die moderne Biolumineszenz-Bildgebung basiert auf der hochempfindlichen Messung von *in vivo* emittiertem Licht [45]. Generiert wird dies durch transgene Expression lumineszierender Enzyme (Luciferase) oder passiv durch äußere Anregung fluoreszenter Proteine. Mittels einer hochempfindlichen CCD-Kamera wird das für das mensch-

liche Auge nicht wahrnehmbare Licht detektiert, gemessen und in Echtzeit auf ein Bild des Modells projiziert.

Reporter Gene Imaging ermöglicht die Dokumentation von Anzahl, Lokalisation, Proliferation und Zelltod transplantierte Stammzellen *in vivo*, indem der ATP-Gehalt der Zellen als Photonen pro Sekunde mittels eines Luciferase Detektorsystems gemessen wird (Xenogen, CA, USA). Da

die Entstehung des Lichtsignals ATP-abhängig ist, erlischt das Signal bei Zelltod und kann nicht auf andere Zellen durch Fusion oder Makrophagen-Aufnahme übertragen werden. Diese neue elegante Methode erlaubt außerdem wiederholte Messungen im gleichen Tier und ist signifikant sensitiver als herkömmliche Methoden wie Histologie, lacZ Färbungen etc. Mittels des IVIS200 können bis zu fünf Mäuse simultan gemessen werden. Hierfür wird anästhesierten Mäusen 200 µl Luciferin i. p. appliziert, das entstehende Lichtsignal mittels IVIS200 quantifiziert und anschließend als Photonen pro Sekunde (total flux) und als $\text{Log}[\text{photons/sec}]$ dokumentiert. Das Lichtsignal korreliert mit zunehmender Zellzahl und erlischt mit Zelltod (**Abb. 3**).

METHODE

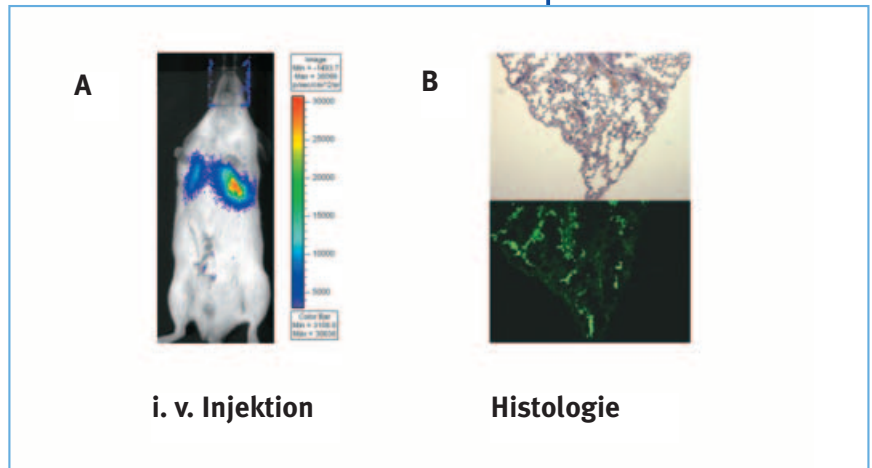
Die stabile Transduktion der undifferenzierten Stammzellen erfolgt retroviral mittels Lentivirus unter einem CMV-Promoter. Die Zellen können nach Transduktion durch ihre Puromycin-Resistenz purifiziert und weiter expandiert werden. Wir haben eine gute Transduktionseffizienz bei hoher Zellviabilität beobachtet (**Abb. 4**).

NACHWEIS DER TUMOR-GENITÄT VON EMBRYONALEN STAMMZELLEN

Als Kontrollgruppe unserer Transplantatstudien dienten T-Zell-defiziente und somit immuninkompetente Balb/C nude-Mäuse (**Abb. 5A**). In diesem Wirtorganismus fand aufgrund der fehlenden T-Zellen keine zelluläre Abstoßung der undifferenzierten hESC statt. Aufgrund der fehlenden Immunreaktion bilden transplantierte undifferenzierte hESC Teratome [9], die mittels BLI longitudinal *in vivo* überwacht werden können. Nach einigen Wochen wird der Tumor auch makroskopisch sichtbar und kann mittels Histologie und Nachweis von Zellen aller drei Keimblätter dokumentiert werden.

NACHWEIS DER ABSTOßUNGSKINETIK

Mittels BLI haben wir die Abstoßungskinetik von hESC dokumentiert und die Rolle der angeborenen versus adaptiven Immunität *in vivo* untersucht. Erstmals kann longitudinal *in vivo* nach-



gewiesen werden, wie lange die Stammzellen überleben. Hierdurch ist es möglich, bei wiederholter Stammzelltransplantation zu dokumentieren, ob ein toleranter Status erreicht wird oder eine akzelerierte Abstoßung stattfindet (**Abb. 5B**). Hierfür wurden fluc-markierte hESCs intramuskulär in den rechten Oberschenkel von Balb/C-Mäusen transplantiert. Die Zellen wurden innerhalb von 7 Tagen abgestoßen. Bei Re-Transplantation der gleichen Zellen wurde eine akzelerierte Abstoßung innerhalb von 3 Tagen dokumentiert, was für eine adaptive Immunantwort spricht (**Abb. 1B**: Reinjektion). Die BLI Daten korrelierten mit unseren unidirektionalen ELISPOT-Daten für $\text{IFN}\gamma$ produzierende TH_1 -Zellen. Hierfür wurden 1×10^7 Mitomycin-inhibierte hESCs mit 1×10^6 Milzzellen der transplantierten Mäuse inkubiert und die $\text{IFN}\gamma$ -Sekretion (TH_1 -Antwort) anhand der Spotanzahl mittels ELISPOT Reader gemessen (**Abb. 5C**).

NACHWEIS DER ZELLMIGRATION

Die beste Applikationsart von Stammzellen zur Myokardregeneration nach Herzinfarkt ist bisher nicht definiert. In Frage kommen intravenöse, intrakoronare und intramyokardiale Applikationsformen. Mittels BLI haben wir dokumentiert, dass die intravenöse Applikation von Stammzellen zur Myokardregeneration ungeeignet ist (**Abb. 6**). Nach intravenöser Injektion von 1×10^5 Stammzellen wurden mittels BLI die Mehrzahl der Zellen in der Lunge gefunden (**Abb. 6A**). Aufgrund der Größendiskrepanz von Stammzellen und Durchmesser der Lungenkapillaren blieb die Mehrzahl

Abbildung 6

■ *Biolumineszenz-Bildgebung zum Nachweis der Stammzellmigration.*
A. Intravenös applizierte Stammzellen wurden bereits 5 Minuten nach Injektion mittels BLI in der Lunge nachgewiesen. Aufgrund ihrer Größe bleiben sie in den Lungenkapillaren hängen.
B. Mittels Histopathologie wurden die BLI-Ergebnisse bestätigt. Hierfür wurden hESCs vor Injektion mit dem grünfluoreszierenden Farbstoff CSFE gefärbt (oben: H+E; unten: CSFE).

der Stammzellen im Gefäßbett der Lunge hängen. Dieses Ergebnis wurde mittels Histopathologie bestätigt (**Abb. 6B**). Hierfür wurden die Stammzellen vor Injektion mittels CFSE gefärbt und anhand ihrer Grünfluoreszenz im Fluoreszenzmikroskop nachgewiesen.

FAZIT

Embryonale Stammzellen stellen aufgrund ihrer Pluripotenz eine vielversprechende Zellpopulation zur Myokardregeneration dar. Aufgrund ihres undifferenzierten Stadiums zeigen sie zwar eine geringere Immunogenität als adulte, differenzierte Zellen, dennoch induzieren sie eine starke Immunreaktion nach Transplantation. Diese immunologische Hürde muss überwunden werden, bevor embryonale Stammzellen für den klinischen Einsatz zur Verfügung stehen.

LITERATUR

- Fändrich F, Dresske B, Bader M, Schulze M. Embryonic stem cells share immune-privileged features relevant for tolerance induction. *J Mol Med* 2002; 80: 343–350.
- Zavazava N. Embryonic stem cells and potency to induce transplantation tolerance. *Expert Opin Biol Ther*. 2003 Feb; 3 (1): 5–13. Review.
- Swijnenburg R.-J., Schrepfer S., Govaert J.A., Cao F., Ransohoff K., Sheikh A.Y., Haddad M., Connolly A.J., Davis M.M., Robbins R.C., Wu J.C. Immunosuppressive therapy mitigates immunological rejection of human embryonic stem cell xenografts. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 12991–12996.
- Wu D.C., Boyd A.S., Wood K.J. Embryonic stem cells and their differentiated derivatives have a fragile immune privilege but still represent novel targets of immune attack. *Stem Cells* 2008; 26: 1939–1950.
- Drukker M., Benvenisty N. The immunogenicity of human embryonic stem-derived cells. *Trends Biotechnol*. 2004 Mar; 22 (3): 136–41. Review.
- Drukker M., Katz G., Urbach A., Schuldiner M., Markel G., Itskovitz-Eldor J., Reubinoff B., Mandelboim O., Benvenisty N. Characterization of the expression of MHC proteins in human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002 Jul 23; 99 (15): 9864–9.
- Homepage: http://www.uke.de/kliniken/kardiochirurgie/index_55658.php?id=-1_-1_1&as_link=http%3A//www.uke.de/kliniken/kardiochirurgie/index_55658.php
- Cao F, Lin S, Xie X, Ray P, Patel M, Zhang X, Drukker M, Dylla S.J., Connolly A.J., Chen X, Weissman I.L., Gambhir S.S., Wu J.C. In vivo visualization of embryonic stem cell survival, proliferation, and migration after cardiac delivery. *Circulation*. 2006 Feb 21; 113 (7): 1005–14.
- Cao F, Drukker M, Lin S, Sheikh A.Y., Xie X, Li Z, Connolly A.J., Weissman I.L., Wu J.C. Molecular imaging of embryonic stem cell misbehavior and suicide gene ablation. *Cloning Stem Cells*. 2007 Spring; 9 (1): 107–17.
- Wang H., Cao F., De A., Cao Y., Contag C. Gambhir S.S., Wu J.C., Chen X. Trafficking Mesenchymal Stem Cell Engraftment and Differentiation in Tumor-Bearing Mice by Bioluminescence Imaging. *Stem Cells*. 2009 Apr 2; 27 (7): 1548–1558.
- Pittenger M.F., Martin B.J. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ Res* 2004; 95: 9–20.
- Limbourg F.P., Ringes-Lichtenberg S., Schaefer A., Jacoby C., Mehraein Y., Jäger M.D., Limbourg A., Fuchs M., Klein G., Ballmaier M., Schlitt H.-J., Schrader J., Hilfiker-Kleiner D., Drexler H. Haematopoietic stem cells improve cardiac function after infarction without permanent cardiac engraftment. *Eur J Heart Fail* 2005; 7: 722–729.
- Murtuza B., Suzuki K., Bou-Gharios G., Beauchamp J.R., Smolenski R.T., Partridge T.A., Yacoub M.H. Transplantation of skeletal myoblasts secreting an IL-1 inhibitor modulates adverse remodeling in infarcted murine myocardium. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 4216–4221.
- Cho H.-J., Lee N., Lee J.Y., Choi Y.J., Li M., Wecker A., Jeong J.-O., Curry C., Qin G., Yoon Y.-S. Role of host tissues for sustained humoral effects after endothelial progenitor cell transplantation into the ischemic heart. *J Exp Med* 2007; 204: 3257–3269.
- Marsboom G., Janssens S. Endothelial progenitor cells: new perspectives and applications in cardiovascular therapies. *Expert Review of Cardiovascular Therapy* 2008; 6: 687–701.
- Menasche P., Alfieri O., Janssens S., McKenna W., Reichenspurner H., Trinquart L., Vilquin J.-T., Marolleau J.-P., Seymour B., Larghero J., Lake S., Chatellier G., Solomon S., Desnos M., Hagege A.A. The Myoblast Autologous Grafting in Ischemic Cardiomyopathy (MAGIC) trial: first randomized placebo-controlled study of myoblast transplantation. *Circulation* 2008; 117: 1189–1200.
- Mocini D., Staibano M., Mele L., Giannantoni P., Menichella G., Colivicchi F., Sordini P., Salera P., Tubaro M., Santini M. Autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Am Heart J* 2006; 151: 192–197.
- Hendriks M., Hensen K., Clijsters C., Jongen H., Koninckx R., Bijns E., Ingels M., Jacobs A., Geukens R., Dendale P., Vijgen J., Dilling D., Steels P., Mees U., Rummens J.-L. Recovery of regional but not global contractile function by the direct intramyocardial autologous bone marrow transplantation: results from a randomized controlled clinical trial. *Circulation* 2006; 114: 1101–107.

19. Stamm C., Kleine H.-D., Choi Y.-H., Dunkelmann S., Lauffs J.-A., Lorenzen B., David A., Liebold A., Nienaber C., Zurakowski D., Freund M., Steinhoff G. Intramyocardial delivery of CD133+ bone marrow cells and coronary artery bypass grafting for chronic ischemic heart disease: safety and efficacy studies. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007; 133: 717–725.
20. Perin E.C., Dohmann H.F.R., Borojevic R., Silva S.A., Sousa A.L.S., Mesquita C.T., Rossi M.I.D., Carvalho A.C., Dutra H.S., Dohmann H.J.F., Silva G.V., BelÃ©m L, Vivacqua R., Rangel F.O.D., Esporcatte R., Geng Y.J., Vaughn W.K., Assad J.A.R., Mesquita E.T., Willerson J.T. Transendocardial, autologous bone marrow cell transplantation for severe, chronic ischemic heart failure. *Circulation* 2003; 107: 2294–2302.
21. Fuchs S., Kornowski R., Weisz G., Sattler L.F., Smits P.C., Okubagzi P., Baffour R., Aggarwal A., Weissman N.J., Cerqueira M., Waksman R., Serruys P., Battler A., Moses J.W., Leon M.B., Epstein S.E. Safety and feasibility of transendocardial autologous bone marrow cell transplantation in patients with advanced heart disease. *Am J Cardiol* 2006; 97: 823–829.
22. Strauer B.E., Brehm M., Zeus T., Bartsch T., Schannwell C., Antke C., Sorg R.d.V., Kögler G., Wernet P., Müller H.-W., Köstering M. Regeneration of human infarcted heart muscle by intracoronary autologous bone marrow cell transplantation in chronic coronary artery disease: the IACT Study. *J Am Coll Cardiol* 2005; 46: 1651–1658.
23. Blatt A., Cotter G., Leitman M., Krakover R., Kaluski E., Milo-Cotter O., Resnick I.B., Samuel S., Gozal D., Vered Z., Slavin S., Shapira M.Y. Intracoronary administration of autologous bone marrow mononuclear cells after induction of short ischemia is safe and may improve hibernation and ischemia in patients with ischemic cardiomyopathy. *Am Heart J* 2005; 150: 986.
24. Ang K.-L., Shenje L.T., Srinivasan L., Galinanes M. Repair of the damaged heart by bone marrow cells: from experimental evidence to clinical hope. *Ann Thorac Surg* 2006; 82: 1549–1558.
25. Engelmann M.G., Franz W.M. Stem cell therapy after myocardial infarction: ready for clinical application? *Curr Opin Mol Ther* 2006; 8: 396–414.
26. Kaminski A., Steinhoff G. Current status of intramyocardial bone marrow stem cell transplantation. *Semin Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 20: 119–125.
27. Wollert K.C., Drexler H. Cell-based therapy for heart failure. *Curr Opin Cardiol* 2006; 21: 234–239.
28. Burchfield J.S., Dimmeler S. Role of paracrine factors in stem and progenitor cell mediated cardiac repair and tissue fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2008; 1: 4.
29. Badorf C., Dimmeler S. Neovascularization and cardiac repair by bone marrow-derived stem cells. *Handb Exp Pharmacol* 2006; 283–298.
30. Deuse T., Peter C., Fedak P., Doyle T., Reichenspurner H., Zimmermann W., Eschenhagen T., Stein W., Wu J., Robbins R., Schrepfer S. HGF or VEGF gene transfer maximizes mesenchymal stem cell-based myocardial salvage after acute myocardial infarction. *Circulation* 2009; [in press].
31. Martin-Rendon E., Brunskill S., Doree C., Hyde C., Watt S., Mathur A., Stanworth S. Stem cell treatment for acute myocardial infarction. *Cochrane Database Syst Rev* 2008: CD006536.
32. Dimmeler S., Burchfield J., Zeiher A.M. Cell-based therapy of myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28: 208–216.
33. Janssens S., Dubois C., Bogaert J., Theunissen K., Deroose C., Desmet W., Kalantzi M., Herbots L., Sinnaeve P., Dens J., Maertens J., Rademakers F., Dymarkowski S., Gheysens O., Van Cleemput J., Bormans G., Nuyts J., Belmans A., Mortelmans L., Boogaerts M., Van de Werf F. Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 2006; 367: 113–121.
34. Lunde K., Solheim S., Aakhus S., Arnesen H., Abdelnoor M., Egeland T., Endresen K., Ilebakk A., Mangschau A., Fjeld J.G., Smith H.J., Taraldsrud E., Groggaard H.K., Bjornerheim R., Brekke M., Müller C., Hopp E., Ragnarsson A., Brinchmann J.E., Forfang K. Intracoronary injection of mononuclear bone marrow cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355: 1199–1209.
35. Schächinger V., Erbs S., Elsässer A., Haberbosch W., Hambrecht R., Hölschermann H., Yu J., Corti R., Mathey D.G., Hamm C.W., Süselbeck T., Assmus B., Tonn T., Dimmeler S., Zeiher A.M. Intracoronary bone marrow-derived progenitor cells in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 355: 1210–1221.
36. Wollert K.C., Meyer G.P., Lotz J., Ringes-Lichtenberg S., Lippolt P., Breidenbach C., Fichtner S., Korte T., Hornig B., Messinger D., Arseniev L., Hertenstein B., Ganser A., Drexler H. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet* 2004; 364: 141–148.
37. Ge J., Li Y., Qian J., Shi J., Wang Q., Niu Y., Fan B., Liu X., Zhang S., Sun A., Zou Y. Efficacy of emergent transcatheter transplantation of stem cells for treatment of acute myocardial infarction (TCT-STAMI). *Heart* 2006; 92: 1764–1767.
38. Li W., Ma N., Ong L.-L., Nesselmann C., Klopsch C., Ladilov Y., Furlani D., Piechaczek C., Moebius J.M., Lützow K., Lendlein A., Stamm C., Li R.-K., Steinhoff G. Bcl-2 engineered MSCs inhibited apoptosis and improved heart function. *Stem Cells* 2007; 25: 2118–2127.
39. Gao F., He T., Wang H., Yu S., Yi D., Liu W., Cai Z. A promising strategy for the treatment of ischemic heart disease: Mesenchymal stem cell-mediated vascular endothelial growth factor gene transfer in rats. *Can J Cardiol* 2007; 23: 891–898.

40. Noiseux N., Gnechi M., Lopez-Illasaca M., Zhang L., Solomon S.D., Deb A., Dzau V.J., Pratt R.E. Mesenchymal stem cells overexpressing Akt dramatically repair infarcted myocardium and improve cardiac function despite infrequent cellular fusion or differentiation. *Mol Ther* 2006; 14: 840–850.
41. Fändrich F., Dresske B., Bader M., Schulze M. Embryonic stem cells share immune-privileged features relevant for tolerance induction. *J Mol Med* 2002; 80: 343–350.
42. Swijnenburg R.-J., Schrepfer S., Govaert J.A., Cao F., Ransohoff K., Sheikh A.Y., Haddad M., Connolly A.J., Davis M.M., Robbins R.C., Wu J.C. Immunosuppressive therapy mitigates immunological rejection of human embryonic stem cell xenografts. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 12991–12996.
43. Wu D.C., Boyd A.S., Wood K.J. Embryonic stem cells and their differentiated derivatives have a fragile immune privilege but still represent novel targets of immune attack. *Stem Cells* 2008; 26: 1939–1950.
44. Li Z., Suzuki Y., Huang M., Cao F., Xie X., Connolly A.J., Yang P.C., Wu J.C. Comparison of reporter gene and iron particle labeling for tracking fate of human embryonic stem cells and differentiated endothelial cells in living subjects. *Stem Cells*. 2008 Apr; 26 (4): 864–73.
45. Yang L., Soonpaa M.H., Adler E.D., Roepke T.K., Kattman S.J., Kennedy M., Henckaerts E., Bonham K., Abbott G.W., Linden R.M., Field L.J., Keller G.M. Human cardiovascular progenitor cells develop from a KDR+ embryonic-stem-cell-derived population. *Nature*. 2008 May 22; 453 (7194): 524–8. Epub 2008 Apr 23.



Prof. Dr. med. Sonja Schrepfer, Jg. 1974, studierte an der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg und München und arbeitete danach als Assistenzärztin an den Universitätskliniken München und Hamburg. Mit 32 Jahren (2007) habilitierte sie sich in den Fächern experimentelle Herzchirurgie und Immunologie an der Universität Hamburg und ist seit 2009 als beratende Professorin an der Stanford Universität tätig. Sie gründete im Februar 2009 am Universitären Herzzentrum Hamburg (Direktor: Prof. Dr. med. H. Reichen-spurner) das »Transplant and Immunobiology (TSI)-Lab« und hat im Juli 2009 von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) eine Heisenberg-Professur erhalten. Von 1997 bis 2001 war sie als Doktorandin an der Universität Würzburg im Bereich Kardio-vaskuläre Chirurgie tätig. Nach vier weiteren Jahren als Forscherin an der Universitätsklinik

Hamburg und einem mehrmonatigen Forschungsaufenthalt in Stanford 2005 wechselte sie 2006 mit einem DFG-Stipendium an die Stanford Universität. Dort wurde sie 2007 Instructor und leitete ihre eigene Arbeitsgruppe. Ihr Hauptinteresse gilt der Transplantationsimmunologie und Stammzellbiologie.

FÖRDERUNGEN UND AUSZEICHNUNGEN

In den letzten Jahren erhielt Frau Prof. Schrepfer zahlreiche Preise und Auszeichnungen für ihre Forschungsleistungen, wie z.B. den »Christian-Lauritzen-Preis« der Deutschen Menopause Gesellschaft 2005, den »Rudolf Pichlmayr Preis« 2007 und den »ATC Young Investigator Award« 2008. Zuletzt war sie Finalistin bei der »Vivien Thomas Award Session of the American Heart Association (AHA)«. Des Weiteren warb sie erfolgreich zahlreiche Stipendien ein, wie z.B. ein DFG-Forschungsstipendium 2005 und das »Dean's Fellowship« der Stanford Universität 2006 und 2007, und erhielt auch diverse Auszeichnungen, wie z.B. den mit 40.000 Pfund dotierten »Basic Science Award ISHLT 2008« und das mit 60.000 EUR dotierte niederländische »ZonMW Scholarship« 2008. Dazu kommen einige Patente und zahlreiche Publikationen.

Frau Prof. Schrepfer ist gerade aus Stanford zurück nach Hamburg gezogen.

KONTAKT



Prof. Dr. med. Sonja Schrepfer
 Universitäres Herzzentrum Hamburg
 Transplant and Stem Cell Immunobiology
 Lab (TSI)
 Herzchirurgie
 Campus Forschung, N27
 Martinistraße 52
 20246 Hamburg
 E-Mail: schrepfer@stanford.edu