

# Eiginleikar stofnfrumna: frumusérhæfing og ný meðferðarúrræði?

## Ágrip

Pórarinn Guðjónsson<sup>1</sup>

Eiríkur Steingrímsson<sup>2</sup>

Stofnfrumur búa yfir þeim áhugaverða eiginleika að geta endurnýjað og viðhaldið sjálfum sér en einnig myndað sérhæfðar frumur með skiptingu. Best þekktu stofnfrumurnar eru blóðmyndandi stofnfrumur en þær hafa verið notaðar í læknisfræðilegum tilgangi í fjölda ára til endurnýjunar á blóðfrumum sjúklunga. Nýlegar rannsóknir á stofnfrumum úr fósturvísu og stofnfrumum sem fundist hafa í ýmsum vefjum manna og dýra hafa vakið vonir um að unnt verði að nota þessar gerðir stofnfruma í svipuðum tilgangi. Í þessari yfirlitgrein verða eiginleikar stofnfruma ræddir og fjallað um nýlegar tilraunir til að nýta þær í meðferð sjúkdóma. Ljóst er að enn er mörgum spurningum ósvarað varðandi notkun stofnfruma til lækninga.

## Stofnfrumur úr fósturvísu

Eftir fyrstu skiptingar fósturvísis eru frumurnar ósérhæfðar en smám saman verða til sérhæfðari frumur sem síðan verða að limum og líffærum. Frumur fósturvísis eru því alhæfar (totipotent) til að byrja með. Fram til þessa hefur verið talið að þroskunarferlið sé einstefna frá ósérhæfðri frumu til sérhæfðrar og að sérhæfðar frumur geti ekki afsérhæfst. Nýlegar rannsóknir benda þó til að frumur geti snúið aftur til uppruna síns og afsérhæfst og síðan sérhæfst aftur eftir

## ENGLISH SUMMARY

Guðjónsson P, Steingrímsson E

**Stem cells: cell differentiation and novel therapies**

Læknablaðið 2003; 89: 43-8

Stem cells are unusual with regard to their capability of both self-renewal and differentiation into specialized cells. Best known are the hematopoietic stem cells which have been used in cell replacement therapy for many years. Recently, research on both embryonic and adult stem cells has offered new hope of cell replacement therapy to treat various diseases. Here we review the properties of both embryonic and adult stem cells as well as recent experiments on the therapeutic use of such cells. Although stem cells offer promising solutions for medical treatment, many difficulties need to be overcome before laboratory results can be moved to the bedside.

**Key words:** stem cells, differentiation.

**Correspondence:** Pórarinn Guðjónsson, [thorarinn@krabb.is](mailto:thorarinn@krabb.is)

það, jafnvel í aðrar frumur en þær voru til að byrja með. Segja má að mikilvægasta vísbendingin um slíkan sveigjanleika fruma hafi verið einræktunin á Dollý en þar sýndu Ian Wilmut og fleiri (1) að unnt er að

**Stofnfrumur** Frumur sem geta endurnýjað og viðhaldið sjálfum sér en einnig myndað sérhæfðar frumur með skiptingu.

**Innri frumumassi** Klasi af ósérhæfðum frumum innan í kímblöðru fósturvísis sem síðar mynda fósturlögin þrjú.

**Einræktun lífvera** Lífvera er útbúin sem inniheldur nákvæmlega sama erfðaefni og foreldrið.

**Einræktun í frumurækt** Klasi af frumum sem ræktaður er frá einni frumu.

**„Feeder“ frumur:** Stoðfrumur sem oft eru notaðar við ræktun annarra fruma. Losa nauðsynlega vaxtarþætti út í umhverfið.

**Fósturlög** Við fósturþroskun myndast þrjú fósturlög, innlag, miðlag og útlag. Síðar í þroskuninni myndar innlagið lungu og meltingarveg, miðlagið bein, vöðva og stoðvef en útlagið myndar húð, taugar og heila.

**Fullorðinsstofnfrumur (adult stem cell)** Ósérhæfðar frumur sem finnast í sérhæfðum vef og geta endurmyndað sjálfar sig og flestar eða allar þær frumugerðir sem finnast í viðkomandi vef.

**Alhæfar (totipotent) frumur** Frumur sem geta myndað allar frumur líkamans.

**Fjölhæfar (multipotent) frumur** Frumur sem geta myndað flestar frumur líkamans.

**Tví/einhæfar (bi/unipotency) frumur** Frumur sem geta myndað eina eða tvær frumugerðir eingöngu.

**Furðuæxli (teratocarcinoma)** Æxli sem mynda sérhæfða vefi, til dæmis tennur, hár og vöðva. Eiga oftast uppruna í kímfrumum.

**Vaxtarþættir** Prótein sem örva frumur til að skipta sér. Dæmi: LIF: leukemia inhibitory factor, bFGF: basic fibroblasts growth factor og MGF: mast cell growth factor.

**Genagreypping (imprinting)** Tjáníng genasamsæta er háð því frá hvoru foreldrinu þær erfast.

<sup>1</sup>Krabbameinsfélag Íslands, Skógarhlíð 8, 105 Reykjavík.  
<sup>2</sup>Lífefna- og sameindalíffræðistofa, Læknadeild Háskóla Íslands, Vatnsmýrarvegi 16, 101 Reykjavík og Urður, Verðandi, Skuld, Snorrabraut 60, 105 Reykjavík.  
Bréfaskipti og fyrirspurnir: Pórarinn Guðjónsson, Krabbameinsfélag Íslands, Skógarhlíð 8, 105 Reykjavík. [thorarinn@krabb.is](mailto:thorarinn@krabb.is)

**Lykilorð:** stofnfrumur, frumusérhæfing.

endurforrita kjarna fullorðinna fruma þannig að þeir geta myndað allar frumur líkamans. Einnig hafa nýlegar rannsóknir á vöðvafrumum í rækt sýnt að unnt er að fá þær til að afsérhæfast og síðan sérhæfast í ýmsar frumugerðir auk vöðvafruma (2).

Rannsóknir á stofnfrumum úr fósturvísium eiga sér langa sögu og í gegnum tíðina hafa orðið til mismunandi stofnfrumulínur, allar með sína sérstöku eiginleika. Flestar þessara frumna hafa verið ræktaðar úr fósturvísium músa. Yfirleitt er hæfileiki stofnfrumna úr fósturvísium til að sérhæfast í hinar ýmsu frumutegundir prófaður á þrennan hátt: Í fyrsta lagi er athugað hvort frumurnar geti sérhæfst í hin þrjú kímlög fóstursins (miðlag, útlag, innlag) í frumurækt. Í öðru lagi er prófað hvort frumurnar geti myndað furðuæxli (teratocarcinoma) þegar þeim er komið fyrir í músum. Furðuæxli eru krabbamein sem oft geyma sérhæfða vefi (jafnvel hár eða tennur) en þannig er geta frumnanna til að sérhæfast könnuð. Í þriðja lagi er prófað hvort frumurnar geti tekið þátt í myndun allra frumugerða (þar með talið kynfrumna) í músum með myndun blendinga (chimeras). Frumunum er þá komið fyrir í kímbloðru fósturvísium músa sem síðan er komið á legg og athugað hvort stofnfrumurnar lögðu sitt til myndunar allra vefja dýrsins sem til varð.

Um 1970 tókst að rækta svokallaðar Embryonic Carcinoma (EC) frumur úr furðuæxlum sem fundust í eistum músa (3). Frumur þessar líkjast fósturfrumum í útliti og eru ósérhæfðar, þær er auðvelt að rækta auk þess sem þær geta sérhæfst í ýmsar frumugerðir. Ef frumum þessum er blandað við kímbloðru fósturvísium músa verða til blendingar (chimeras) og geta EC frumurnar tekið þátt í myndun allra vefja nema kynfrumna. Frekari rannsóknir leiddu í ljós að frumur þessar eru áhugaverðar en hafa takmarkað notagildi þar sem flestar þeirra eru mislitna (aneuploid). Auk þess eiga þær uppruna sinn í krabbameinum og koma því ekki úr eðlilegu umhverfi.

Árið 1981 tókst tveimur rannsóknahópum að útbúa stofnfrumur úr innanfrumumassumúsafósturvísium á kímbloðrustigi (4, 5). Innanfrumumassi fósturvísium eru einsleitar ósérhæfðar frumur sem þroskast smám saman í hið eiginlega fóstur. Utan um þær er þunnt frumulag sem nefnist trophoctoderm og myndar fylgjuna á síðari stigum þroskunar. Fram til þessa hafði ekki tekist að viðhalda frumum úr innanfrumumassa í ósérhæfðu ástandi í rækt en bæði Evans og Kaufman (5) og Martin (4) tókst að rækta Embryonic Stem (ES) frumur úr innanfrumumassa með því að rækta frumurnar á „feeder“ stoðfrumum (sjá skilgreiningar) auk 2-mercaptoethanols og 10-20% kálfaserms. Línur af ES-frumum voru útbúnar með því að viðhalda þeim frumum sem virtust ósérhæfðar en henda hinum. Til að halda ES-frumum ósérhæfðum verður að rækta þær með stoðfrumunum eða með vaxtarþættinum LIF (leukemia inhibitory factor). Ef stoðfrumur eða LIF vantar í ætið, sérhæfast ES-frum-

urnar fljótlega í hinar ýmsu frumugerðir. Rannsóknir sýndu að ES-frumurnar eru fjölhæfar í öllum þremur sérhæfniprófunum og gátu meira að segja myndað kynfrumur í blendingum. Hvorki ES-frumur né frumur úr innanfrumumassa geta þó sérhæfst í þær frumur sem mynda trophoctoderm frumulagið og teljast því fjölhæfar en ekki alhæfar. ES-frumurnar eru eðlilegar hvað litningasamsetningu varðar. Þegar þær taka þátt í myndun kynfrumna hefur erfðaeftni ES-frumnanna verið flutt yfir í næstu kynslóð og hefur þessi eiginleiki verið mikið notaður til að útbúa erfðabreyttar mýs þar sem unnt er að breyta erfðaeftni ES-frumnanna að vild.

Þriðja gerðin af stofnfrumum úr fósturvísium var útbúin 1992 með því að rækta forvera kynfrumna (primordial germ cells), en þær má finna í kinkambi (gonadal ridge) fósturvísium á ákveðnu stigi þroskunar (6, 7). Þessar forverar kynfrumna myndast snemma í þroskun músarinnar en kinkamburinn sjálfur verður þó ekki til fyrr en síðar. Stofnfrumur sem ræktaðar eru úr kinkambi nefnast Embryonic Gonadal (EG) frumur og eins og ES-frumur þurfa þær stoðfrumur, LIF og serum til vaxtar en auk þess þurfa þær vaxtarþættina Mast cell Growth Factor (MGF) og bFGF (basic Fibroblast Growth Factor). Frumur þessar eru fjölhæfar og að mörgu leyti hafa þær svipaða eiginleika og ES-frumur. Þær geta meðal annars tekið þátt í myndun kynfrumna í blendingsfóstri.

Þessar þrjár gerðir af stofnfrumum, EC-, ES- og EG-frumur, en þó einkum þær tvær síðastnefndu, hafa verið mikið notaðar til rannsókna á fjölhæfi frumna í músum. Sem dæmi má nefna að nýlega voru ES-frumur notaðar til að útbúa eðlilega starfhæfar dópamínmyndandi frumur í músamódeli fyrir Parkinsons sjúkdóm (8). Einnig tókst Rideout og fleiri (9) að mynda blóðmyndandi stofnfrumur úr ES-frumum og laga með því ákveðinn erfðagalla músanna. Af þessu er ljóst að í músum hafa frumur þessar skapað spennandi möguleika. Einnig er ljóst að af rannsóknunum þessum má ýmislegt læra um notkun stofnfrumna til lækninga.

En hvað um stofnfrumur úr fósturvísium manna? Fyrir um fjórum árum síðan tókst James Thomson og fleiri (10) að rækta ES-stofnfrumur úr fósturvísium manna á kímbloðru stigi. Fósturvísarnir sem notaðir voru í þessum tilraunum voru fósturvísar sem höfðu orðið til við glasafrjóvganir en átti ekki að nota frekar og voru því gefnir til rannsókna með upplýstu samþykki. Ræktun stofnfrumna úr fósturvísium manna fór fram á svipaðan hátt og ræktun ES-frumna úr músum: innanfrumumassinn var skorinn frá og frumurnar ræktaðar á stoðfrumum úr músum í návist valinna vaxtarþátta. Valið var fyrir ósérhæfðum frumum sem líkjast ES-frumum músa og tókst að rækta nokkrar línur slíkra frumna úr mannafróstrum. Þessar fyrstu ES-frumur sem voru útbúnar úr mönnum kröfðust þess að þær væru ræktaðar á stoðfrumum en nýlega hefur tekist að rækta ES-frumur manna án stoðfrumna en í

æti sem músastodfrumur höfðu áður komist í snertingu við (conditioned medium) (11). Líklegt er að stodfrumurnar losi einhverja nauðsynlega vaxtarþætti út í ætið. Ólíkt ES-frumum músa krefjast ES-frumur manna ekki vaxtarþáttarins LIF.

Á svipuðum tíma og ES-frumur úr mönnum voru útbúnar tókst rannsóknahópi Gearhart og fleiri að rækta EG-frumur úr fósturvísu manna (12). Frumurnar voru ræktaðar úr forverafrumum kynfrumna (primordial germ cells) sem fengnar voru úr kynkömbum fimm til níu vikna gamalla fósturvísa. Fósturvísarnir fengust úr fóstureyðingum og voru gefnir til rannsókna. Líkt og EG-frumur músa þurfa EG-frumur manna ýmsa vaxtarþætti, svo sem LIF og bFGF auk forskolin til að þrífast.

Til að athuga getu ES- og EG-frumnanna úr mönnum til að sérhæfast voru frumurnar ræktaðar án „feeder“ frumanna eða í fjarveru LIF vaxtarþáttarins og í báðum tilfellum mynduðust frumur með einkenni kím-laganna þriggja (miðlags, útlags, innlags). Einnig var sýnt að ES-frumur manna geta myndað furðuæxli þegar þeim er komið fyrir í músum. Eins og gefur að skilja er ekki unnt að framkvæma þriðja sérhæfingarprófið og athuga hvort ES- eða EG-frumur manna geta tekið þátt í myndun allra fruma fóstursins.

Eins og með ES-frumur músa þá hefur tekist að stýra sérhæfingu ES-frumna úr mönnum í ákveðnar áttir, til dæmis hefur tekist að láta þær mynda blóðmyndandi frumur (13) og taugafrumur (14). Ýmislegt hefur þó slegið á vonir manna um að einfalt verði að nota frumur sem þessar til meðhöndlunar á sjúkdómum. Í fyrsta lagi geta ES frumur myndað æxli þegar þeim er komið fyrir í dýrum (samanber sérhæfingarprófið hér að ofan). Æxlismyndun væri alvarleg aukaverkun við meðferð og því er nauðsynlegt að finna leiðir til að koma í veg fyrir að æxli myndist. Í öðru lagi hefur nýlega komið í ljós að við sérhæfinguna tjá fósturstofnfrumur vefjaflokkaprótín á yfirborði sínu sem geta valdið höfnun frumnanna ef þeim er komið fyrir í vef annarra einstaklinga (15). Í þriðja lagi er ljóst að genagreyting (imprinting) á erfðaeftni ES-frumna músa er mjög breytileg í rækt (16). Genagreyting hefur mikil áhrif á tjáningu erfðaeftnisins og gæti því haft óæskileg áhrif á starfsemi frumunnar. Og í fjórða lagi er erfitt að rækta ES- og EG-frumur án stodfrumna eða skilyrts ætis sem aðrar frumur (oft músafrumur) hafa þegar komist í snertingu við. Því er erfitt að tryggja að frumurnar smitist ekki af veirum sem gætu verið til staðar í stodfrumunum eða ætinu. Ljóst er að á næstu árum munum við verða vitni að frekari tilraunum til að stýra sérhæfingu stofnfrumna úr fósturvísu og tilraunum við að nýta þær til lækninga. Rétt er að geta þess að rannsóknir á fósturvísu eru bannaðar með lögum á Íslandi (sjá lög um tæknifrjóvganir nr. 55 frá 1996). Ekki er því leyfilegt að útbúa stofnfrumur úr fósturvísu manna hér á landi samkvæmt núgildandi lögum.

### Stofnfrumur fullmyndaðra vefja

Lengi hefur verið ljóst að líkaminn hefur ákveðna hæfni til viðgerða og endurmyndunar á fullmynduðum, sérhæfðum vefjum ýmissa líffæra. Á undanförunum árum hefur komið í ljós að margir fullmyndaðir vefir í fullþroska einstaklingum geyma svokallaðar fullorðinsstofnfrumur (adult stem cells) sem gera viðgerðir og endurmyndanir mögulegar. Mikil áhersla er nú lögð á að skilgreina þessar stofnfrumur betur til að unnt verði að einangra þær og virkja til lækninga gegn sjúkdómum á borð við Parkinsons-sjúkdóm, sykursýki og Alzheimer. Einnig er líklegt að frekari þekking á fullorðinsstofnfrumum geti gefið vísbendingar um tilurð ýmissa krabbameina. Einn af kostum þess að nota fullorðinsstofnfrumur er að komast má hjá þeim siðfræðilegu álitamálum sem tengjast notkun stofnfrumna úr fósturvísu. Eins og allar aðrar stofnfrumur verða fullorðinsstofnfrumur að geta myndað nákvæm afrit af sjálfum sér (dótturfrumur) í langan tíma án þess að sýna öldrunareinkenni (senescence). Einnig verða þær að geta gefið af sér sérhæfðar frumur með ákveðna svipgerð. Í flestum tilfellum á sérhæfingin sér stað í nokkrum skrefum þar sem stofnfrumurnar mynda svokallaðar forverafrumur sem síðan sérhæfast í hinar starfrænu frumur viðkomandi líffæris.

Mikil vitneskja og reynsla hefur fengist af rannsóknum á blóðmyndandi stofnfrumum (Hematopoietic Stem Cells; HSC) úr beinmerg. Rannsóknir á blóðmyndandi stofnfrumum eru áratugum á undan öðrum stofnfrumurannsóknum en þessar frumur eru einu stofnfrumurnar sem í dag eru nýttar í meðferð sjúkdóma (17). Tvær gerðir blóðmyndandi stofnfrumna hafa verið skilgreindar. Í fyrsta lagi langlífur móðurstofnfrumur (Long-term HSC) sem endast einstaklingnum ævina á enda. Í öðru lagi skammlífur dótturstofnfrumur (Short term-HSC) sem eru forverar allra blóðfrumna. Skammlífur dótturstofnfrumur sérhæfast í eitilfrumu- (lymphoid) og kyrninga- (myeloid) forvera. Eitilfrumuforverarnir sérhæfast síðan í T og B eitilfrumur og drápsfrumur (natural killer cells) en kyrningaforverarnir sérhæfast í átfrumur, rauð blóðkorn, blóðflögur, neutrófila, basófila og eosínófila.

Skilgreining á blóðmyndandi stofnfrumum er eiginleiki þeirra til að byggja upp blóðkerfi og þar með ónæmissvar músa eftir meðhöndlun með yfirmagn af geislavirkni. Geislunin eyðileggur blóðmyndandi vef en ef blóðmyndandi stofnfrumur er sprautað í mýsna getur vefurinn endurnýjast. Blóðmyndandi stofnfrumur tjá ákveðnar gerðir af yfirborðsprótín-um eins og til dæmis c-kit, CD34, og Sca-1. Tjáningu þessara yfirborðsprótína (auk annarra slíkra prótína) er hægt að nota til skilgreiningar á þroskastigi og til einangrunar á blóðmyndandi stofnfrumum. Langlíf- ar blóðmyndandi stofnfrumur tjá einnig virkan telomerasa sem kemur í veg fyrir öldrun þeirra. Tilraunir með að rækta og viðhalda blóðmyndandi stofnfrum-

um utan líkama hafa gengið illa. Enda þótt blóðmyndandi stofnfrumur skipti sér auðveldlega án sérhæfingar *in vivo* þá sérhæfast þær fljótt í rækt og er því erfitt að rækta upp magn af eiginlegum stofnfrumum fyrir ígræðslur.

Mikil áhersla er nú lögð á að skilgreina hvað þarf til að rækta blóðmyndandi stofnfrumur í ósérhæfðu ástandi. Mikilvægir þættir í þroskun stofnfrumna eru tengsl milli frumna og tengsl þeirra við millifrumuefnið. Í beinmerg eru margvíslegir vaxtarþættir og boðefni, svo sem granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) og interleukin-3 (IL-3), sem hafa áhrif á sérhæfingu fruma (18, 19). Beinmergur inniheldur einnig bandvefsfrumur sem eru taldar nauðsynlegar fyrir þroskun blóðmyndandi stofnfrumna.

Nýlega tókst að einangra og rækta stofnfrumur úr beinmerg af bandvefsuppruna (mesenchymal progenitor cells) úr mönnum. Frumur þessar gátu sérhæfst í allar frumtegundir miðlags, svo sem beinfrumur, brjósfrumur, fitufrumur, vöðvafrumur og æðapelsfrumur (20). Ólíkt sérhæfðum frumum í rækt taka þessar frumur ekki öldrunarbreytingum. Stofnfrumur af bandvefsuppruna gætu því komið að gagni við meðhöndlun vefjarýrnunarsjúkdóma sem eiga upptök sín í miðlagi. Nýlega hafa Verfaillie og fleiri sýnt fram á áhugaverða eiginleika svipaðra frumna, svokallaðra „Multipotent Adult Progenitor Cells“, úr beinmergsbandvef músa (21). Í frumurækt undir sérstökum skilyrðum var unnt að sérhæfa þessar fjölhæfu fullorðinsstofnfrumur í frumur allra þriggja kímlaga fóstursins (útlag, miðlag og innlag). Þegar frumunum var komið fyrir í kímbloðru fósturvísis tóku þær þátt í myndun allra vefjagerða fóstursins.

Nýlega fóru fram talsverðar umræður um tilraunir sem sýndu að samruni frumna gæti átt sér stað í samrækt fullorðinsstofnfrumna og fósturstofnfrumna. Niðurstöður þessar þóttu benda til þess að sveigjanleiki fullorðinsstofnfrumnanna til að sérhæfast væri til kominn vegna ríkjandi áhrifa fósturstofnfrumna og að fullorðinsstofnfrumur sem slíkar hefðu því ekki eins mikla stofnfrumueiginleika og áður var talið (22, 23). Þessum áhyggjum hefur að mestu verið eytt með staðfestingu á tilvist fjölhæfra fullorðinsstofnfrumna. Í tilraunum Varfaillie og fleiri (21) voru frumurnar aldrei ræktaðar með öðrum frumum heldur voru ræktunarskilyrðin svipuð og hjá stofnfrumum úr fósturvísu, það er með skilgreindum vaxtarþáttum en án stoðfrumna. Eins og nefnt hefur verið hér að ofan þá geta stofnfrumur úr fósturvísu myndað svokölluð furðuæxli eftir ígræðslu. Þetta gerist ekki (svo vitað sé) við notkun fjölhæfra fullorðinsstofnfrumna. Miklar vonir eru því bundnar við notkun þessara stofnfrumna við meðferð vefjarýrnunarsjúkdóma.

Því hefur lengi verið haldið fram að taugavefur geti ekki endurnýjast en nú er ýmislegt sem bendir til hins gagnstæða. Taugastofnfrumur hafa fundist á tveimur svæðum í heila fullorðinna músa, annars vegar í

„hippocampus“ og hins vegar í „subventricular zone“ (24, 25). Einnig hafa fundist stofnfrumur á sumum svæðum í mænunni (26). Stofnfrumur í miðtauga-kerfinu eru skilgreindar með tilliti til tjáningar þeirra á merkigenum og hæfileika þeirra til að sérhæfast í taugafrumur, smágríplufrumur (oligodendrocyte) og stjarnfrumur (astrocyte). Stofnfrumur í miðtauga-kerfinu hafa gefið vonir um að í framtíðinni verði hægt að meðhöndla Parkinsons-sjúkdóm og multiple sclerosis (MS) og jafnvel lagfæra skaða sem verða á heila eða mænu eftir slys. Tilraunir með ígræðslu á taugavef í Parkinsons-sjúklinga hafa verið framkvæmdar og gengið misjafnlega. Með einangrun stofnfrumna í heila hefur skapast möguleiki á að þróa aðferðir til að rækta og sérhæfa taugastofnfrumur yfir í dópamín framleiðandi frumur sem nota má til ígræðslu. Eins og bent hefur verið á hér að framan þá hefur verið sýnt fram á að hægt er að rækta stofnfrumur fósturvísa músa og láta þær sérhæfast í dópamínframleiðandi taugafrumur í rækt og græða þær síðan inn í miðheila músa (8). Ígræddu taugafrumurnar náðu að starfa á eðlilegan hátt *in vivo*, sem leiddi til þess að einkenni Parkinsons-sjúkdómsins gengu að einhverju leyti til baka (8).

Brjóstskirtillinn er einstakt líffæri hvað stofnfrumur, frumusérhæfingu og frumudaða varðar. Fram að fyrstu blæðingum kvenna er brjóstskirtillinn tiltölulega óproskaður. Eftir fyrstu blæðingar og í hverjum tíðarhring þar á eftir á sér stað ákveðin hringrás sem felst í frumufjölgun, frumusérhæfingu og stýrðum frumudaða. Þetta bendir til þess að í brjóstskirtli séu stofnfrumur sem viðhalda því dýnamíska ferli sem á sér stað. Það hefur lengi verið grunur þó án nokkurra beinna sannana að brjóstakrabbamein hefjist í stofnfrumum brjóstisins. Því til stuðnings má nefna að konur sem eignast mörg börn eru í mun minni áhættu en aðrar konur á að fá brjóstakrabbamein. Hugsanlegt er að sú hámarks frumusérhæfing sem næst á meðgöngu og í mjólkandi brjósti hafi verndandi áhrif á myndun krabbameins (35). Staðsetning stofnfrumna í brjóstskirtli hefur verið töluvert á reiki. Nýlega hefur annar höfundur þessarar greinar ásamt samstarfsaðilum sýnt fram á tilvist mögulegra stofnfrumna í þekjuvef brjóstskirtils (36). Með því að kortleggja svipgerð ýmissa þekjuvefsfruma í brjóstskirtli með mótefnalitun reyndist mögulegt að einangra á mótefnasúlu frumugerð sem gat bæði sérhæfst í skautaðar kirtilfrumur og vöðvaþekjufrumur. Nú standa yfir rannsóknir sem ætlað er að varpa ljósi á hvort brjóstakrabbamein eigi frekar upptök sín í þessum frumum en hinum meira sérhæfðu frumum.

Stofnfrumur og krabbameinsfrumur eiga það sameiginlegt að báðar frumugerðirnar komast hjá öldrun auk þess sem þær geta endurnýjað sjálfar sig. Auk þess eru margar boðleiðir sameiginlegar. Til dæmis finnst oft sterk tjáning á Bcl-2 prótíninu í stofnfrumum og krabbameinsfrumum en Bcl-2 kemur í veg

fyrir stýrðan frumudauða. Aðrar boðleiðir eins og Notch, Sonic-Hedgehog og Wnt sem taka þátt í endurmyndun stofnfrumna eru einnig virkar í krabbameinum en ekki í sérhæfðum vefjum. Það eru aðallega tvær ástæður fyrir því að menn telja að krabbamein eigi upptök sín í stofnfrumum (37). Í fyrsta lagi er hugsanlegt að færri stökkbreytingar þurfi til að gera endurmyndunarferlið sívirkt í stofnfrumum en í sérhæfðum frumum. Í öðru lagi er líftími stofnfrumna mun lengri en margra annarra frumna sem gerir það að verkum að þær eru lengur í návist krabbameinsáreita en aðrar frumur. Þetta kemur hvað skýrast fram í þeim vefjum þar sem ummyndun er mjög hröð eins og til dæmis í blóði, húð og smáþörmum. Í þessum vefjum er líftími hinna sérhæfðu fruma það stuttur að hið langa ferli krabbameinsmyndunar nær ekki að eiga sér stað.

Hvort sem stofnfrumur til ígræðslu eru fengnar frá fósturvísi, fóstri eða fullorðnum einstaklingi er ljóst að skoða verður stofnfrumugjafann vel. Til dæmis verður að athuga hvort frumurnar séu veirusýktar. Auk þess þarf að gera vefjaflokka- og erfðagreiningu á gjafafrumum. Fósturvísir sem fenginn er frá gjafa með fjölskyldusögu um hjartasjúkdóma er ekki besti gjafinn til að mynda hjartavöðvafrumur til viðgerðar á hjartavef. Þó að skimun fyrir öllum mögulegum erfðagöllum sé illfrankvæmanleg er vert að hafa í huga þá galla sem tengjast þeim sjúkdómi sem stofnfrumunum er ætlað að lækna. Einnig er mikilvægt að nota staðlaðar aðferðir við ræktanir stofnfrumna því allar breytingar gætu haft áhrif á sérhæfingarferlið. Enn fremur er spurning hvort óhætt verði að nota áfram kálfasermi í ræktunaræti en slíkt æti gæti hugsanlega borið kúariðu. Miklar rannsóknir standa nú yfir á þróun ræktunarætis, meðal annars sermislausu æti.

## Samantekt

Í þessari grein hefur verið fjallað um helstu eiginleika stofnfrumna og skýrt frá nýjustu rannsóknum á þessu ört vaxandi sviði. Ekki er um tæmandi úttekt að ræða enda er efnið gríðarlega víðfemt og illmögulegt að gera því fullkomin skil. Ekki hefur verið fjallað um síðfræði stofnfrumurannsókna og lagaramma þeirra enda verður því efni gerð sérstök skil í annarri grein.

Ekki leikur nokkur vafi á að rannsóknir á stofnfrumum hafa veitt mikilvægar upplýsingar um þroskun og sérhæfingu frumna. Auk þess er ljóst að miklar vonir eru bundnar við notkun stofnfrumna til lækninga. Vara skal þó við of mikilli bjartsýni enda oft erfitt að yfirfæra niðurstöður sem fást í frumurækt eða í dýramódelum yfir á manninn. Til þess að unnt verði að nota stofnfrumur til lækningar manna er nauðsynlegt að uppfylla ýmis skilyrði. Skilgreining stofnfrumanna þarf að vera skýr. Einkenni sem hægt er að nota eru til dæmis svipgerð frumnanna (smásjárskoðun),

## Ýmsar gerðir fullorðinsstofnfrumna

Fullorðinsstofnfrumur eru vel þekktar í vefjum eins og húð og smáþörmum þar sem fram fer gífurleg nýmyndun frumna. Á síðari árum hafa einnig komið fram vísendingar um tilvist stofnfrumna í öðrum vefjagerðum, svo sem vöðvum, miðtaugakerfi, lifur, brisi og brjóstum. Húðin inniheldur að minnsta kosti þrjár gerðir stofnfrumna, í yfirhúð, hársliðri og svitakirtlum. Í yfirhúðinni eru stofnfrumurnar staðsettar á basalsvæði við grunnhinnuna. Frumurnar sérhæfast er þær koma ofar í yfirhúðina. Toma og félagar (27) hafa nýlega einangrað og ræktað fjölhæfar stofnfrumur úr húð. Þeir sýndu fram á að í frumurækt gátu þessar frumur sérhæfst í taugafrumur, glía frumur, sléttvöðvafrumur og fitufrumur. Endurnýjun frumna í þörmum er gífurleg. Talið er að stofnfrumur í þörmum sé að finna í cryptum og að þær geti gefið af sér allar aðrar frumugerðir í þörmunum, svo sem panethfrumur, gobletfrumur, innkirtlafrumur og sérhæfðar þekjuvefsfrumur.

Í vöðvum hafa fundist þrjár frumugerðir sem bera stofnfrumueiginleika. „Satellite“ frumur sem undir eðlilegum kringumstæðum skipta sér ekki en taka við sér þegar vöðvinn verður fyrir skaða eða við þjálfun. Undir þessum aðstæðum mynda frumurnar svokallaðar myogenic forverafrumur sem síðar sérhæfast í hinar eiginlegu vöðvatrefjar. Nýlegar rannsóknir benda til að vöðvastofnfrumur sem meðal annars geta sérhæfst í „satellite“ frumur og æðapelsfrumur sé að finna í dorsal aorta í músafóstrum (28). Frumur sem nefnast „side-population“ (SP) eru einnig nefndar til sögunnar sem hugsanlegar vöðvastofnfrumur (29). Með því að sprauta þessum frumum í bláæð *mdx* stökkbreyttra músa (mýs þessar eru módel fyrir Duchenne muscular dystrophy og bera stökkbreytingu í dystrophin prótíninu) eykst tjáning dystrophins en þó ekki svo að hægt væri að lækna einkennin að fullu.

Tilvist stofnfrumna í brisi og lifur hefur verið óljós. Bæði þessi líffæri eiga uppruna sinn í innlagi fósturþroskun. Í briskirtli eru frumur sem framleiða hormón, svo sem beta-frumur (insulin), alpha frumur (glucagon) og frumur sem framleiða somatostatín. Saman mynda frumurnar svokallaðar Langerhanseyjar en stofnfrumur í fullþroska briskirtli eru taldar vera í brisgöngum eða í Langerhanseyjum. Ýmsar rannsóknir benda til þess að frumur í brisi sem tjá nestin, merkigen fyrir taugastofnfrumur, geti myndað allar frumugerðirnar í Langerhanseyjum (30). Soria og fleiri hafa þróað aðferð til að forrita stofnfrumur úr fósturvísium til framleiðslu á insúlíni (31). Þegar þessar frumur eru græddar í mýs þar sem sýkursyki hefur verið framkölulð leiðréttá þær glúkósamagn í blóðinu. Unnið er að svipuðum rannsóknum með fullorðinsstofnfrumum.

Rannsóknir benda til þess að blóðmyndandi stofnfrumur geti tekið sér bólfestu í lifrinni og myndað hepatocýta (sjá yfirlitgrein (32)). Svokallaðar Oval-frumur hafa verið nefndar sem mögulegar stofnfrumur í lifur þar sem þær geta myndað hepatocýta og þekjufrumur gallganganna (32). Einnig er vel þekkt að undir ákveðnum skilyrðum geta hepatocýtarnir endurmyndað sjálfa sig (33). Loks hefur verið sýnt að þegar sterahormónið dexamethasone er notað á briskirtilsfrumur í rækt geta þær umbreytt í lifrarfrumur (34).

tjáning á sérhæfðum yfirborðspróttinum, skilgreining á starfrænni svipgerð (svo sem tjáning á vefjasérvirku- um ensímum) og tjáning á genum sem einskorðast við viðkomandi frumugerð. Einnig þurfa menn að vera vissir um að stofnfrumurnar myndi ekki krabbamein eftir ígræðslu. Áður en stofnfrumur eru notaðar til ígræðslu er þeim haldið í frumurækt undir skilgreindum ræktunarskilyrðum sem annaðhvort miða að fjölgun stofnfrumnanna eða að myndun svokallaðra forverafrumna. Eftir ígræðslu frumnanna í tiltekið líffæri á sér stað fínstilling á sérhæfingarferli frumnanna sem afleiðing af boðum frá umhverfinu (microenvironment). Sem stendur er ómögulegt að svara spurningunni um það hvort frekar eigi að nota stofnfrumur úr fósturvísium eða fullorðinsstofnfrumur til lækninga enda eru frekari rannsóknir nauðsynlegar áður en þeirri spurningu verður svarað. Enn fremur er enn ekki ljóst hvort hentugra verði að

græða stofnfrumurnar sjálfar í sjúklinga eða leyfa þeim að sérhæfast að hluta eða öllu leyti í rækt fyrir ígræðslu.

### Þakkir

Við þökkum Þórunni Rafnar, Sveini Guðmundssyni, Sigríði Sigurjónsdóttur, Þórði Óskarssyni og Magnúsi Karli Magnússyni fyrir yfirlestur handrits og góð-  
ar athugasemdir.

### Heimildir

1. Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind A J, Campbell KH. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997; 385: 810-3.
2. Odelberg SJ, Kollhoff A, Keating MT. Dedifferentiation of mammalian myotubes induced by *msx1*. *Cell* 2000; 103: 1099-109.
3. Kahan BW, Ephrussi B. Developmental potentialities of clonal *in vitro* cultures of mouse testicular teratoma. *J Natl Cancer Inst* 1970; 44: 1015-36.
4. Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 7634-8.
5. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos. *Nature* 1981; 292: 154-6.
6. Matsui Y, Zsebo K, Hogan BL. Derivation of pluripotential embryonic stem cells from murine primordial germ cells in culture. *Cell* 1992; 70: 841-7.
7. Resnick JL, Bixler LS, Cheng L, Donovan PJ. Long-term proliferation of mouse primordial germ cells in culture. *Nature* 1992; 359: 550-1.
8. Kim JH, Auerbach JM, Rodriguez-Gomez JA, Velasco I, Gavin D, Lumelsky N, et al. Dopamine neurons derived from embryonic stem cells function in an animal model of Parkinson's disease. *Nature* 2002; 418: 50-6.
9. Rideout WM3rd, Hochedlinger K, Kyba M, Daley GQ, Jaenisch R. Correction of a genetic defect by nuclear transplantation and combined cell and gene therapy. *Cell* 2002; 109: 17-27.
10. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282: 1145-7.
11. Xu C, Inokuma MS, Denham J, Golds K, Kundu P, Gold JD, et al. Feeder-free growth of undifferentiated human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol*, 2001; 19: 971-4.
12. Shambloott MJ, Axelman J, Wang S, Bugg EM, Littlefield JW, Donovan PJ, et al. Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 13726-31.
13. Kaufman DS, Hanson ET, Lewis RL, Auerbach R, Thomson JA. Hematopoietic colony-forming cells derived from human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 10716-21.
14. Zhang SC, Wernig M, Duncan ID, Brustle O, Thomson JA. *In vitro* differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2001; 19: 1129-33.
15. Drukker M, Katz G, Urbach A, Schuldiner M, Markel G, Itskovitz-Eldor J, et al. Characterization of the expression of MHC proteins in human embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 9864-9.
16. Humpherys D, Eggan K, Akutsu H, Hochedlinger K, Rideout WM3rd, Biniszkiwicz D, et al. Epigenetic instability in ES cells and cloned mice. *Science* 2001; 293: 95-7.
17. Negrin RS, Atkinson K, Leemhuis T, Hanania E, Juttner C, Tierney K, et al. Transplantation of highly purified CD34+Thy-1+ hematopoietic stem cells in patients with metastatic breast cancer. *Biol Blood Marrow Transplant* 2000; 6: 262-71.
18. Gordon MY, Riley GP, Watt SM, Greaves MF. Compartmentalization of a haematopoietic growth factor (GM-CSF) by glycosaminoglycans in the bone marrow microenvironment. *Nature* 1987; 326: 403-5.
19. Roberts R, Gallagher J, Spooner E, Allen TD, Bloomfield F, Dexter TM. Heparan sulphate bound growth factors: a mechanism for stromal cell mediated haemopoiesis. *Nature*; 1988; 332: 376-8.
20. Reyes M, Lund T, Lenvik T, Aguiar D, Koodie L, Verfaillie CM. Purification and *ex vivo* expansion of postnatal human marrow mesodermal progenitor cells. *Blood* 2001; 98: 2615-25.
21. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418: 41-9.
22. Ying QL, Nichols J, Evans EP, Smith AG. Changing potency by spontaneous fusion. *Nature* 2002; 416: 545-8.
23. Terada N, Hamazaki T, Oka M, Hoki M, Mastalerz DM, Nakano Y, et al. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature* 2002; 416: 542-5.
24. McKay R. Stem cells in the central nervous system. *Science* 1997; 276: 66-71.
25. Gage FH. Mammalian neural stem cells. *Science* 2000; 287: 1433-8.
26. Temple S. The development of neural stem cells. *Nature* 2001; 414: 112-7.
27. Toma JG, Akhavan M, Fernandes KJ, Barnabe-Heider F, Sadikot A, Kaplan DR, et al. Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin. *Nat Cell Biol* 2001; 3: 778-84.
28. De Angelis L, Berghella L, Coletta M, Lattanzi L, Zanchi M, Cusella-De Angelis MG, et al. Skeletal myogenic progenitors originating from embryonic dorsal aorta coexpress endothelial and myogenic markers and contribute to postnatal muscle growth and regeneration. *J Cell Biol* 1999; 147: 869-78.
29. Gussoni E, Soneoka Y, Strickland CD, Buzney EA, Khan MK, Flint AF, et al. Dystrophin expression in the mdx mouse restored by stem cell transplantation. *Nature* 1999; 401: 390-4.
30. Lechner A, Leech CA, Abraham EJ, Nolan AL, Habener JF. Nestin-positive progenitor cells derived from adult human pancreatic islets of Langerhans contain side population (SP) cells defined by expression of the ABCG2 (BCRP1) ATP-binding cassette transporter. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 293: 670-4.
31. Soria B. *In vitro* differentiation of pancreatic beta-cells. *Differentiation* 2001; 68: 205-19.
32. Vessey CJ, de la Hall PM. Hepatic stem cells: a review. *Pathology* 2001; 33: 130-41.
33. Þorgeirsson SS, Grisham JW. Molecular pathogenesis of human hepatocellular carcinoma. *Nat Genet* 2002; 31: 339-46.
34. Shen CN, Slack JM, Tosh D. Molecular basis of transdifferentiation of pancreas to liver. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 879-87.
35. Sivaraman L, Medina D. Hormone-Induced Protection Against Breast Cancer. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2002; 7: 77-92.
36. Guðjónsson P, Villadsen R, Nielsen HL, Ronnov-Jessen L, Bissell MJ, Petersen OW. Isolation, immortalization, and characterization of a human breast epithelial cell line with stem cell properties. *Genes Dev* 2002; 16: 693-706.
37. Reya T, Morrison SJ, Clarke MF, Weissman IL. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *Nature* 2001; 414: 105-11.