

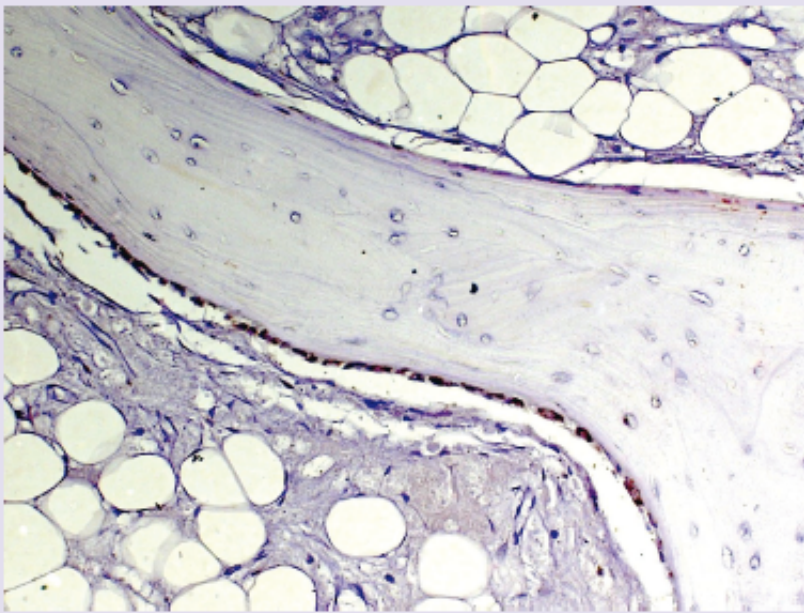
Stammzellenforschung in der Zahnmedizin 2

Realität und Perspektiven (Teil 2)

Stammzellforschung in der Zahnmedizin

Die Forschung in der dentalen Stammzelltechnologie ist weit fortgeschritten. Teil 1 gab einen kurzen Überblick über den aktuellen Stand der zahnmedizinischen Stammzellforschung. Einleitend waren die Hoffnungen und Befürchtungen Thema, und die Bedeutung von embryonalen, induziert pluripotenten, adulten und mesenchymalen Stammzellen wurde erläutert. In Teil 2 stehen weitere, wiederum anders gewonnene Stammzellen im Mittelpunkt und der Einsatz zur Regeneration und in der Zahntechnik wird untersucht.

Knochenstammzellen. Der Einsatz autogener Knochentransplantate oder von Knochenersatzmaterialien in der Oral- und Kieferchirurgie kann mit vielen Problemen behaftet sein (Entnahmemorbidität, Mengenprobleme, Resorption usw.). Inwieweit sich als alternative Zelltherapie am Alveolar- und Kieferknochen die Anwendung von BMSCs (bone marrow stromal cells) durchsetzen wird, bleibt abzuwarten. In der Orthopädie und Unfallchirurgie wird ein Knochenersatz über eine mesenchymale Stammzelltherapie bei verschiedenen muskuloskelettalen Erkrankungen und Knochenheilungsstörungen schon seit mehreren Jahren klinisch erprobt. Viele Details über die osteogene Entwicklung von BMSCs und ihr biologisches Verhalten konnten durch das Studium der Frakturheilung gewonnen werden, bei der es zur Rekrutierung und Aktivierung dieser Stammzellen kommt. Neben extraoralen Quellen wie Knochenmark, Fettgewebe, Blut oder sogar Synovialflüssigkeit bieten sich intraorale Entnahmestellen wie das Periost der Kieferknochen oder extrahierte Zähne an. Auch innerhalb der Kieferknochen findet man Knochenstamm- oder -vorläuferzellen, selbst bei Menschen im höheren Lebensalter (Abb. 6). Interessanterweise wurden auch entsprechende osteogene Stammzellen in der Schneider'schen Membran, also der Mukosa der Kieferhöhle, gefunden. Die osteogene Differenzierung dieser Stammzellen kann über Wachstumsfaktoren wie die Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) oder gentechnologisch erfolgen. In der Literatur sind inzwischen schon zahlreiche Tierversuche sowie einige klinische Fallbeschreibungen veröffentlicht: Im Vordergrund stehen dabei das Aufbringen von Zellen auf diverse Scaffolds oder Knochenersatzmaterialien mit oder ohne Einsatz weiterer osteoinduktiver Faktoren. Die Vermischung mit gelartigen oder pastösen Trägermaterialien führt zur Bildung eines „injizierbaren Knochens“. Berichtet wird z. B. über die Auffüllung von Extraktionsalveolen und von Defekten unterschiedlicher Genese einschließlich des Einsatzes in der Spaltchirurgie, die Anwendung zur Verbesserung der Distraktionsosteogenese oder bei Augmentationsmaßnahmen, wie z. B. im Rahmen des Sinuslifts. Versuche einer italienischen Arbeitsgruppe beim Minischwein belegen eine schnellere Osteogenese und Implantat-Osseointegration, wenn man beim Sinuslift im Vergleich zu Knochenersatzmaterial allein BMSCs, Knochenersatzmaterialien und PRP kombiniert. Finnische Kieferchirurgen konnten bei einem Patienten nach Hemimaxillektomie den Knochen rekonstruieren, nachdem aus patienteneigenen Stammzellen des Fettgewebes ectop ein Knochenstück als Transplantat gezüchtet wurde. Allerdings fehlen bisher für alle stammzellbasierten Knochenersatzverfahren Langzeitbeobachtungen. Darüber hinaus müssen sie sich natürlich hinsichtlich ihres Erfolges und ihres Kostenaufwandes an den herkömmlichen Verfahren mit autogenem Knochen bzw. Knochenersatzmaterialien messen lassen.



Stammzellen aus Kieferknochen. Nachweis von Osteoblastenvorläuferzellen (braune Färbung) an Knochenbälkchen des Unterkiefers eines älteren Patienten; immunhistochemischer Nachweis des Zellmarkers „runx2“ (Abb. 6).

Foto: Prof Dr. Götz

Pulpa. Die Isolierung von Stammzellen aus Pulpen extrahierter Zähne vor fast zehn Jahren hat der dentalen Stammzellforschung erheblichen Auftrieb gegeben. Pulpastammzellen sind zu einem wichtigen Arbeitsfeld der Stammzellforschung geworden. Inzwischen sind sieben verschiedene Arten von Stammzellpopulationen aus der Pulpa beschrieben und werden aus bleibenden Zähnen, Milchzähnen, überzähligen Zähnen und Zahnkeimen isoliert (Abb. 7). Die Zellen, die BMSCs ähneln, sitzen in der Wand oder in der Nähe von Blutgefäßen oder unterhalb der

Odontoblastenzellschicht, vermehren sich sehr schnell und differenzieren sich nach entsprechender Reizung in vitro vor allem in Odontoblasten, Osteoblasten und wahrscheinlich auch Zementoblasten. Transplantiert man sie subkutan z. B. in Mäuse, bilden sich aus ihnen zahnartige Komplexe aus Dentin und Pulpa, allerdings ohne Wurzeln. Diese Eigenschaften könnten besonders für die Zahnerhaltung neue therapeutische Perspektiven eröffnen. Vorstellbar wären Verfahren, bei denen aus extrahierten Weisheitszähnen des Patienten isolierte Pulpastammzellen im Labor autogene Zahnhartgewebe produzieren, die dann für eine „biologische“ Füllungstherapie zur Verfügung stünden.

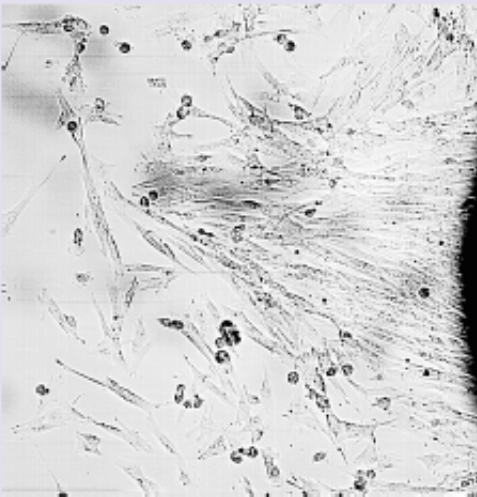


Abb. 7: P.D.Dr. H. Dammrich und Dr. J. Winker, Universität Bonn, Poliklinik für Periodontologie, Zahnerhaltung und präventive Zahnheilkunde

Pulpastammzellen. Auswachsene Stammzellen aus Explantat der Pulpa eines bleibenden Zahns (Abb. 7).

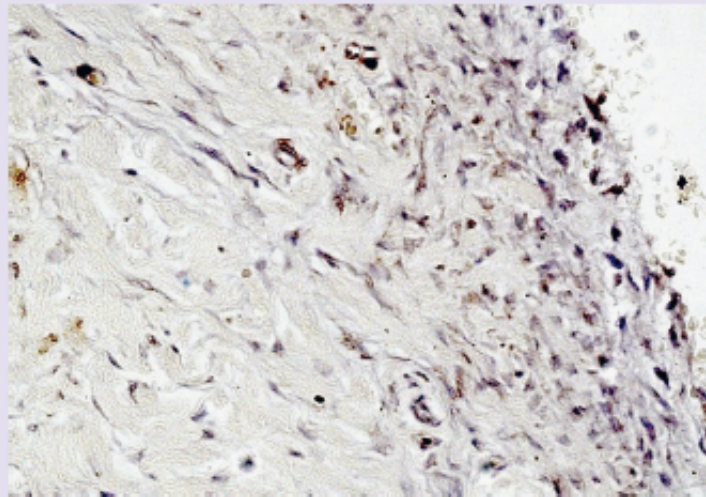


Foto: Prof Dr. Götz

Stammzellen aus der Wurzelhaut. Identifizierung von Stammzellen (braune Färbung) im PDL eines retinierten dritten Molaren; immunhistochemischer Nachweis des Zellmarkers „Stro-1“ (Abb. 8).

Tierversuche haben gezeigt, dass sich Pulpastammzellen auf Kalziumhydroxid als Scaffold aufbringen lassen und auf diesem Werkstoff für diverse regenerative Verfahren in der Pulpenbehandlung brauchbar sind. Eine Kariesbehandlung der Zukunft könnte dann so aussehen, dass Dentin-Pulpa-Komplexe, hergestellt im Labor aus patienteneigenen Stammzellen, die z. B. aus der Pulpa extrahierter dritter Molaren stammen, passgerecht in entsprechend vorbereitete Kavitäten transplantiert werden. Da Pulpastammzellen auch in Osteoblasten differenziert werden

könnten, liegt ihre Nutzung für augmentative Verfahren am Kieferknochen nahe. Der Vorteil einiger pulpaler Stammzellen ist ihre Fähigkeit, auch Gefäß-Endothel zu bilden. So hat eine italienische Arbeitsgruppe aus ihnen Knochengewebe mit Blutgefäßen gezüchtet. In einer klinischen Studie wurden Patienten mit vertikalem Knochenverlust am Unterkiefer in Regio 8 nach weit zurückliegender Extraktion solche Knochen-Gefäß-Konstrukte, die aus eigenen extrahierten dritten maxillären Molaren gezüchtet worden waren, implantiert. Die Ergebnisse zeigten nach einem Jahr einen optimalen Knochengewinn unter Bildung eines regelrechten, gut vaskularisierten Knochens.

Auch zur Besiedlung von Implantatoberflächen sind Pulpastammzellen geeignet. Darüber hinaus scheinen sie „Alleskönner“ zu sein: Im Labor kann man aus ihnen auch z. B. Fettgewebe, Muskulatur, Blutgefäße, Melanozyten, Lebergewebe oder Nervengewebe züchten. Somit wären Szenarien vorstellbar, in denen aus Zähnen gewonnene Stammzellen auch zum Einsatz für regenerative Therapien an allen möglichen inneren Organen des Körpers Verwendung finden könnten. Tierversuche bei Ratte und Maus untermauern diese Optionen: Bestimmte Pulpastammzellen fördern die Gefäßneubildung bei Durchblutungsstörungen in den Extremitäten und können teilweise untergegangenes Myokard nach Herzinfarkt regenerieren. Schließlich wirken sie neuroprotektiv und induzieren im Tierversuch die Regeneration untergegangenen Gehirngewebes bei neurodegenerativen Erkrankungen oder Schlaganfall.

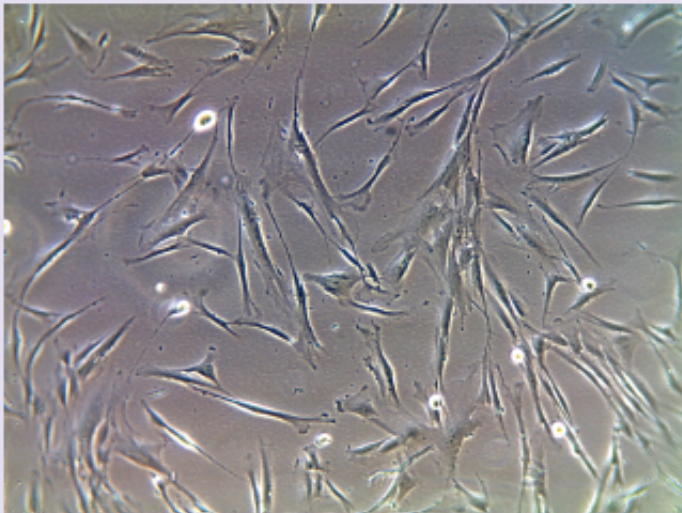
Parodont. Auch innerhalb der Wurzelhaut (Parodontal-Ligament, PDL) lassen sich Stammzellnischen abgrenzen, ebenfalls in unmittelbarer Nähe zu Blutgefäßen oder in der Nachbarschaft zum Alveolarknochen (Abb. 8). Die Isolierung von PDL-Stammzellen gelang nicht nur beim Menschen, sondern inzwischen auch bei anderen Spezies wie z. B. bei Ratte, Schwein oder Schaf. Diese Zellen können alle Anteile des Zahnhalteapparates bilden, bei entsprechender Stimulierung aber auch Zellen extraoraler Gewebe, wie z. B. Nervenzellen. Die Züchtung von PDL-Stammzellen auf Kalziumhydroxid, das in der Zahnheilkunde als mineralisationsfördernde Substanz schon lange in Gebrauch ist, führt dazu, dass sich die Zellen in zementbildende Zementoblasten entwickeln. Die Implantation verschiedener dentaler Stammzellen um apikale Defekte bei Parodontitis des Hundes ergab, dass Stammzellen aus dem PDL die günstigsten Effekte hatten: Es bildeten sich nicht nur neues Wurzelzement und Kollagenfasern, sondern auch Knochen, Gefäße und Nerven. Mit Hilfe von PDL-Stammzellen lassen sich für die Zukunft verschiedene Konzepte für eine regenerative Parodontaltherapie, auch im Rahmen von minimalinvasiven Strategien, entwickeln. Die bisher verfügbaren Behandlungsmaßnahmen unter Zuhilfenahme von Membranen, Wachstumsfaktoren oder Knochenersatzmaterialien könnten mit Stammzellbehandlungen kombiniert werden: Stammzellbesiedelte Scaffolds werden passgenau aufgrund bildgebender Daten vom Patienten z. B. mit Hilfe von CAD-CAM generiert und in entsprechende Defekte implantiert. Geht man einen Schritt weiter, so könnten derartige Implantate auf ihrer der Wurzeloberfläche zugewandten Seite mit PDL-Stammzellen zur Zementregeneration und auf ihrer knochenseitigen Oberfläche mit Knochenstammzellen zur Regeneration des Alveolarknochens bestückt sein. Versuche an Hunden zeigten, dass polymere Membranen, die wurzelseitig mit PDL-Stammzellen und knochenseitig mit einem Knochenersatzmaterial beschichtet waren, in Drei-Wand-Defekten an Molaren zu einer klinisch und radiologisch messbaren Regeneration unter gleichzeitiger Bildung von Zement, Fasern und Knochen führten. Eine erste Studie an drei Patienten mit insgesamt 16 Zähnen, in der ein ganz ähnliches Vorgehen durchgeführt wurde, zeigte nach 32 bis 72 Monaten ebenfalls ein effektives Ergebnis. Ein Schwein war das erste Tier, in dem mit Hilfe von Stammzellen eine Art Zahnhalteapparat in vivo gebildet werden konnte: Eine Mischung aus menschlichen Pulpa- und PDL-Stammzellen wurde zusammen mit einem Implantatkörper aus Hydroxylapatit in eine Extraktionsalveole des Tieres eingebracht und mit einer Porzellankrone versorgt, mit der das Tier drei Monate kaute. CT- und histologische Untersuchungen ergaben, dass sich ein zahnwurzelähnliches Gebilde mit einstrahlenden PDL-Fasern gebildet hatte.

Follikel. Schon seit langem war bekannt, dass auch in Zahnsäckchen (Follikeln) von Zahnkeimen

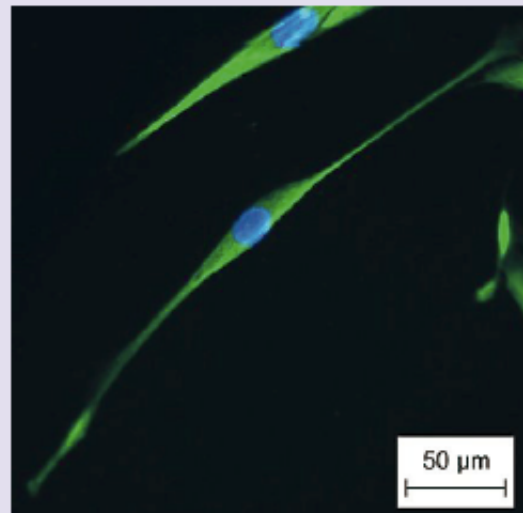
bei Mensch und Tier Vorläufer- und Stammzellen liegen, entwickeln sich doch aus diesem Gewebe große Teile des Zahnhalteapparates. Untersuchungen an chirurgisch entfernten Weisheitszahnkeimen und retinierten Weisheitszähnen in unterschiedlichen Reifestadien haben jetzt gezeigt, dass hier Stammzellnischen nicht nur im anhängenden Follikelgewebe (Abb. 9), sondern auch in der Papille, also dem Vorläufergewebe der Pulpa und sogar im perifollikulären apikalen Gewebe, das apikal des Follikels zum Fundus der Alveole hin liegt, nachzuweisen sind. Inzwischen wurden aus verschiedenen dieser Nischen Stammzellen isoliert, aus denen sich PDL-ähnliche kollagenfaserige Strukturen, Knochen und nach Stimulation mit BMPs und Schmelzmatrixproteinen sogar Zement erzeugen ließen. Auch eine Entwicklung zu extradentalen Zellen, wie z. B. Nervenzellen (Abb. 10), ist möglich.

Ein wichtiger Schritt in Richtung der praktischen Anwendung von dentalen Stammzellen war die Klärung ihrer Konservierbarkeit. Inzwischen steht fest, dass sie sich auch nach längerer Zeit des Einfrierens (Kryokonservierung) noch verwenden lassen. Dies könnte die Schaffung von Zellbanken ermöglichen, ähnlich wie sie für Knochengewebe schon etabliert sind, in denen dentale Stammzellen, z. B. gewonnen aus den Milchzähnen, im Bedarfsfall dem erwachsenen Patienten zur Verfügung stünden.

Auf die Stammzellforschung an anderen orofazialen Geweben kann hier nicht weiter im Detail eingegangen werden. Die Forschungsbemühungen konzentrieren sich hier z. B. auf epitheliale Stammzellen der oralen Mukosa unter dem Aspekt der Schaffung autogener Schleimhauttransplantate oder auf Stammzellen aus dem Knorpel und Diskus von Kiefergelenken, die eines Tages die Herstellung biologisierter Gelenkprothesen oder ganzer Kondylen ermöglichen sollen, sowie Stammzellen in den Speicheldrüsen. Selbst pathologisch veränderte orofaziale Gewebe enthalten noch funktionstüchtige Stammzellen, wie Isolierungen aus Odontomen oder entzündeter Pulpa und bei Parodontitis zeigen. Schwierig gestaltet sich bisher die Erzeugung von schmelzproduzierenden Zellen, sog. Ameloblasten. Kultiviert man jedoch Epithelzellen des Erwachsenen, die aus Haut oder Mundschleimhaut stammen, mit Stammzellen aus der Pulpa oder embryonalen Progenitorzellen aus Zahnkeimen, entwickeln sich die Epithelzellen in Richtung dieser Ameloblasten und produzieren nach Implantation im Tierversuch kronenartige Gebilde mit Schmelzüberzug. Eine andere Strategie verfolgt eine Züchtung schmelzproduzierender Zellen aus Embryonalen Stammzellen (ES) oder induzierte pluripotente Stammzellen (iPS) (siehe Teil 1 des Beitrags).



Stammzellen aus den Zahnsäckchen. Stammzellen aus dem Follikel eines retinierten dritten Molaren in der Zellkultur (Abb. 9).



Nachweis von Nervenzellprotein: In Nervenzellen differenzierte Stammzellen aus dem Follikel (Abb. 10); immunfluoreszenzmikroskopischer Nachweis eines nervenzellspezifischen Proteins (grün).

Abb. 9, 10: Fotos: PD. Dr. C. Morscheck, Universität Regensburg, Poliklinik für Zahnheilkunde und Parodontologie

Regeneration kompletter Zähne. Sind die bisher dargestellten Stammzellmethoden eher geeignet für regenerative Techniken am noch erhaltenen Zahn oder für den Ersatz oder die

Bildung von Zahnanteilen zum Einsatz zu kommen, bleibt die Frage nach der Züchtung oder der induzierten Neubildung ganzer Zähne. Könnte man zwar mit Hilfe von embryonalen Stammzellen einzelne Gewebe eines Zahns züchten, besteht immer noch das Problem, daraus ein einheitliches Gebilde zu konstruieren, das nach Form und Funktion den Ansprüchen menschlicher Zähne entspricht und sich dauerhaft in einen Kieferknochen verpflanzen ließe. Mit diesem Ziel verfolgt ein Forschungsansatz die Rekombination von Anteilen explantierter vorgeburtlicher Zahnkeime, die Vorläuferzellen enthalten, um diese im Reagenzglas als Organkultur weiter zu züchten. Eine direkte Implantation solcher Zellgemische in Extraktionsalveolen von Ratten auf Scaffolds führte nach zwölf Wochen zur Bildung von Zahnkeimen mit relativ weit entwickelter Kronenbildung, Pulpa und einer Wurzelhaut. Ähnliche Versuche bei Mäusen, denen Gemische aus Einzelzellen von Zahnanlagen nach Kultivierung oder vorübergehender Transplantation in die Nierenkapsel in den Kiefer implantiert wurden, ergaben die Entwicklung eines Zahngelbildes mit primitiver Wurzel, Zahnhalteapparat, allen Zahnhartgeweben sowie einer vaskularisierten und innervierten Pulpa. Neue Forschungen sollen mit Hilfe von dreidimensionalen Zellkulturen die Möglichkeiten eröffnen, transplantierbare Zahnkeime zu formen, die zu normaler Größe mit typischer Zahnform heranwachsen können. In Kombination mit BMSCs oder anderen Knochenstammzellen könnten dadurch sogar Hybridgebilde aus Zahnkeimen mit umgebendem Kieferknochen erzeugt werden. Somit scheint es in absehbarer Zeit möglich, anatomisch korrekte Zahnkeime zu bilden, die fortgeschrittene Entwicklungsstadien repräsentieren. Ein Problem stellte bisher aber ihre Unfähigkeit dar, durchzubrechen, geschweige denn die Okklusionsebene der Nachbarzähne zu erreichen. Eine japanische Arbeitsgruppe aus Zahnmedizinern, Kieferchirurgen und Biotechnologen konnte hier aber vor ca. einem Jahr einen Durchbruch erzielen (Abb. 11): In vitro rekombinierte und gezüchtete Zahnkeime wurden bei der Maus in die nach Extraktion zahnlose Region des ersten Oberkiefermolaren implantiert. Bei über der Hälfte der Versuchstiere erfolgte eine spontane Eruption und ein Erreichen der Okklusionsebene nach ca. 50 Tagen. Histologisch hatten sich einwurzelige Zähne mit vollständig entwickelter Krone, Pulpa, Wurzel und Parodont entwickelt, mit denen das Tier kaute. Außerdem waren Gefäße und sensible Nervenfasern eingesprossen. Die Härtegrade von Schmelz und Dentin entsprachen denjenigen normaler Mäusezähne. Die neuen Zähne ließen sich kieferorthopädisch bewegen und verhielten sich dabei wie normale Kontrollzähne. Eine andere Vorgehensweise beschäftigt sich mit Transplantationsversuchen, auch über Speziesgrenzen hinweg. Hier ist das Ziel, während der vorgeburtlichen Entwicklung in der Mundhöhle die Bildung von Zahnkeimen zu induzieren. Die Aufklärung embryonaler Induktionsvorgänge und ihrer Steuerung durch Signalmoleküle, die zur Zahnbildung führen, ermöglichen quasi eine Nachahmung dieser Vorgänge. Die Implantation von ektomesenchymalen Zellen der Maus, die während bestimmter Zeitabschnitte das Zahnepithel beeinflussen, in die eigentlich zahnlosen Kieferabschnitte eines Hühnerembryos führten tatsächlich zur Bildung von Zahnkeimen. Schließlich sind es genetische Methoden, die eine Zahnbildung in Vivo ermöglichen könnten. Die Erforschung der Entstehungsursachen von Hypo- und Hyperdontien und anderer angeborener Störungen der Zahnentwicklung hat zur Identifizierung von Verdachtsgenen bzw. Mutationen geführt. Mit Hilfe genetischer Manipulationen an diesen Genen könnten die Bildung und Eruption überzähliger Zähne induziert werden, wie dies z. B. in der Maus durch die Überexpression eines Gens namens „Ectodysplasin“ machbar war. Auch das gesteuerte Anschalten von Genen kann zur Zahnbildung führen. Mit dieser Methode konnte die Bildung von Zahnkeimen im normalerweise zahnlosen Hühnchen ermöglicht werden. Fernziel dieser genetischen Studien ist die Induktion einer neuen Zahngeneration im Sinne einer „dritte Dentition“.

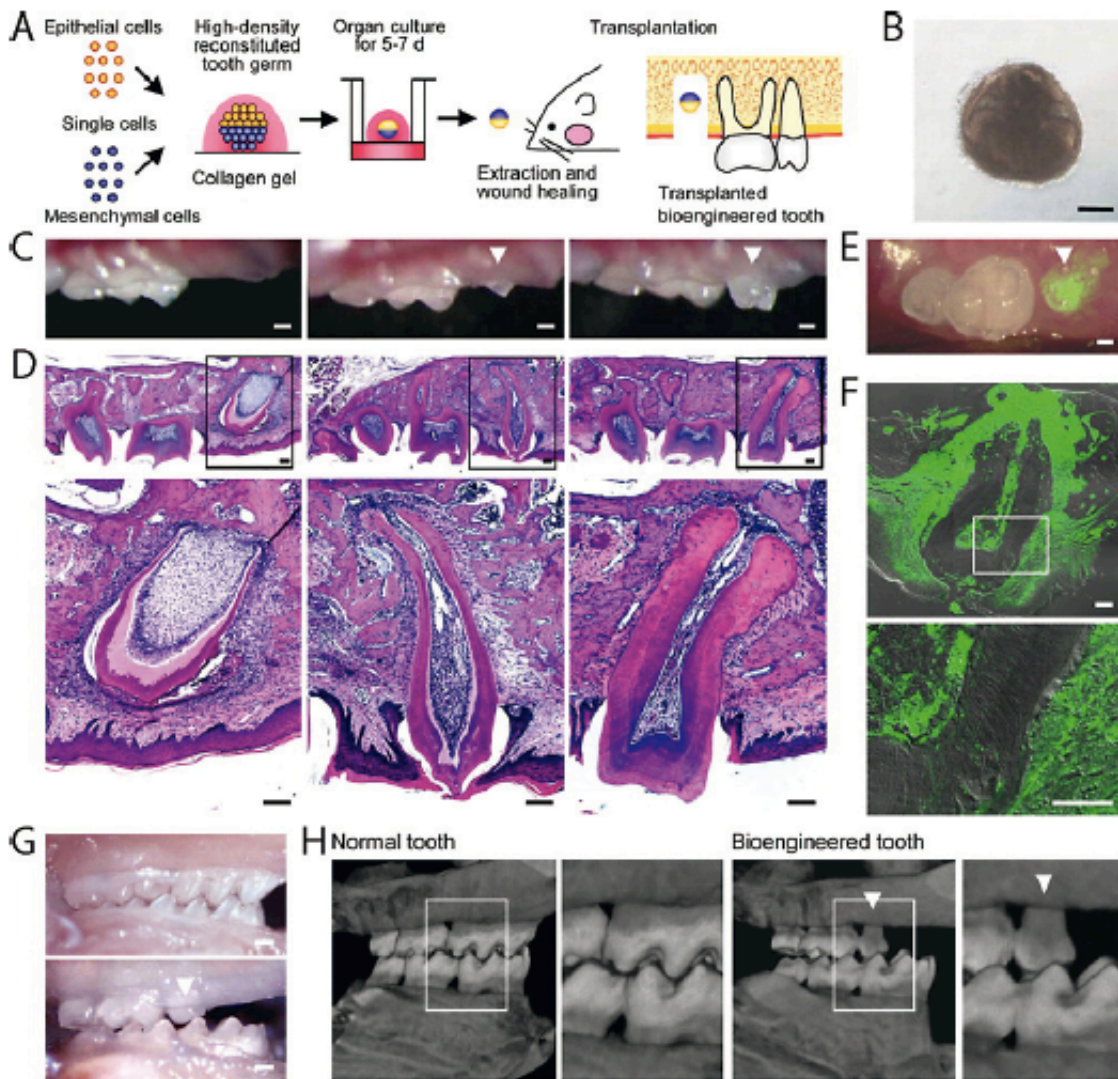


Abb. 11: Fig. 1 axis: Neida E et al.: "Fully functional bioengineered tooth replacement as an organ replacement therapy". PNAS 106 (2009), no. 32, pp. 13475-80

Zahnkeime bei einer Maus. Induziertes Zahnwachstum im zahnlosen Oberkiefer der Maus: Nach Züchtung eines Transplantats aus Vorläuferzellen von Zahnkeimen (A-B) Entwicklung eines einwurzeligen, durchbrechenden Zahns (C-G) mit Erreichen der Okklusionsebene (H) (Abb. 11).

Zahntechnik und Stammzellen. Die Realität der dentalen Stammzellforschung im Jahre 2011 stellt sich also so dar, dass zwar die experimentelle Forschung sehr weit fortgeschritten ist, dass aber die Übertragung in die klinische Anwendung wahrscheinlich noch in weiter Zukunft liegt, vor allem was den Ersatz ganzer Zähne anbelangt. Dennoch sei hier ein Ausblick auf weitere Entwicklungen gewagt, die sich auch in der Zahntechnik auswirken werden. Am Übergang zur klinischen Anwendung steht heute schon die Knochenstammzell- Technologie, die vor allem für augmentative Zwecke zu einem wichtigen chirurgischen Eckpfeiler werden wird. In der Zahnerhaltung, der zahnärztlichen Prothetik und Implantologie wird die Stammzellforschung wahrscheinlich zu einer fortschreitenden „Biologisierung“ regenerativer Techniken führen, aber nicht zu einem Ersatz herkömmlicher, erprobter Behandlungsmethoden. Für die dentale Implantologie könnte dies z. B. dazu führen, dass einerseits die Osseointegration von Implantaten aus herkömmlichen Materialien verbessert oder beschleunigt wird, andererseits aber auch die Bildung eines neuen Zahnhalteapparates um einen Implantatkörper durch biomimetische oder zelluläre Beschichtungen ermöglicht werden könnte. In zahlreichen Forschungslabors werden inzwischen diverse Implantatmaterialien und -oberflächen mit allen möglichen Stammzellen beschichtet, um deren Adhäsion und biologisches Verhalten zu studieren. Versuche an zahnlosen Kieferabschnitten von Hunden zeigten z. B., dass ein gemeinsames Einbringen von Implantat mit körpereigenen BMSCs auf Fibrin oder mit DPD eine Verbesserung des Knochen- Implantat-

Körper-eigenen DRCS auf TiBM oder mit TiF eine Verbesserung des Knochen-Implantat-Kontaktes erbringt.

Für die Zahnerhaltung und Prothetik sind Szenarien vorstellbar, bei denen aus stammzellbasiert hergestellten autogenen Zahnhartsubstanzen und herkömmlichen dentalen Werkstoffen Hybridkonstrukte hergestellt werden. Dies könnte auf der Grundlage einer Synthese zwischen Zahntechnik und Biotechnologie im Sinne eines „zahntechnischen Bioengineering“ geschehen. Damit würden sich für die Dentaltechnik neue Berufsfelder eröffnen, bei der der Zahntechniker auch als Bio-Ingenieur fungiert. Voraussetzungen für diese Zukunftsszenarien sind allerdings eine engere Verflechtung von Grundlagenforschung, Klinik, Zahntechnik und Dentalindustrie als bisher. Die Grundlagenforschung wird sich in Zukunft auch mehr an den Möglichkeiten und Bedürfnissen der Praxis orientieren müssen. Auf einem vollkommen anderen Blatt steht darüber hinaus die Frage nach der zukünftigen Finanzierbarkeit dentaler Stammzelltherapien und ihrer gesundheitsökonomischen Bedeutung.

Prof. Dr.med. Werner Götz, Bonn

Literaturverzeichnis beim

Informationszentrum

Zahngesundheit

Baden-Württemberg

Tel: 0711/222966-14

Fax: 0711/222966-21

E-Mail: info@zahnaerzteblatt.de

Diese Seite kommt von <http://www.zahnaerzteblatt.de/>