



UPPSALA
UNIVERSITET

Stamcellers utveckling och potential

Emilia Johansson

Independent Project in Biology

Självständigt arbete i biologi, 15 hp, höstterminen 2009

Institutionen för biologisk grundutbildning, Uppsala universitet

Stamcellers utveckling och potential

Emilia Johansson

Självständigt arbete i biologi 2009

Abstrakt

Stamceller, de celler som i grunden bygger upp all den vävnad vi består av, är ett ämne som är lika intressant som det är stort och svårmanövrerat. Embryonala stamceller, de pluripotenta celler som härstammar från innercellmassan i ett ungt embryo (Blau *et al.* 2001), är den stamcellstyp som fått mest uppmärksamhet under tidigare år. På senare år har dock upptäckten av adulta stamceller och deras potential uppmärksamats. De fascinerande studier som nu publiceras visar upp en adult stamcellstyp som man genom olika signaler kan påverka och som man i framtiden hoppas kunna utveckla till precis den typ av cell som man behöver. Redan nu används neurala progenitorceller, en typ av adulta stamceller, vid behandling av Parkinsons (Hovatta *et al.* 2001). Hand i hand med denna upptäckt kommer hela tiden mer forskning som även inriktar sig på den mikromiljö, den nisch, där stamceller bäst utvecklas i. Många modeller har växt fram och med mer kunskap har det visat sig att de nischer som adulta stamceller utvecklas i har ett nära och dynamiskt samspel med stamcellerna. Hematopoetiska stamceller, de celler som ger upphov till alla blodceller, kan förflytta sig ut ur en nisch och in i en annan (Bryder *et al.* 2006) vilket kan påverka resultatet vid en transplantation. Att veta hur stamceller på bästa sätt utvecklas är en viktig del när man sedan vill odla celler i en kontrollerad miljö. Enligt King & Miller, som 2007 gjorde en ingående studie om just detta, sker odling bäst i bioreaktorer där det visade sig att vissa typer av stamceller trivs bäst i lösning medan andra typer växer bättre i en matris som badas i näring. Gemensamt för de många studier som görs inom detta område är att de genererar fler frågor än svar. Insikten att stamceller är så känsliga för en mängd yttre signaler försvårar forskningen men öppnar även upp för en finkänslig kontroll av deras differentiering. Det är just detta som gör detta forskningsområde så intressant och dynamiskt.

Inledning

Stamceller - ett ord laddat med förhoppningar och möjligheter, ett bevis på att man genom forskning kan styra det mest centrala i en cells utveckling. Samtidigt är det ett ord som många inte vet exakt vad det innebär. Framstegen avlöser varandra samtidigt som nya problem och frågeställningar får utvecklingen att backa två steg med varje steg framåt. Via bevakningen i media är det lätt att få en bild av att stamcellsforskning har kommit längre än vad den har och att till exempel kloning av människor snart är möjligt. Så varför är stamceller så intressanta och varför får de så stor uppmärksamhet? Ur forskningssynpunkt beror detta på stamcellers förmåga att utvecklas till många olika typer av celler och därigenom har de ett stort potential inom medicin. Men än är vi inte riktigt där. Ju fler studier som görs med stamceller desto mer komplicerad blir bilden av deras utveckling och vad de är kapabla till, vilket gör att detta forskningsområde snabbt växer och förändras. Målet med stamcellsforskning är dock stort: att kunna bota svåra sjukdomar så som hjärtsvikt, leverskador, neuronala sjukdomar, diabetes, och olika cancertyper. De kan även i framtiden ha en viktig del i läkemedelsstudier och toxicitetsstudier (Hovatta *et al.* 2001).

Svårigheten med att försöka ge en klar bild av stamcellers utveckling och potential ligger i att mycket forskning fortfarande är i ett explorativt stadiet. Resultaten från de många studier som publiceras stämmer inte alltid överrens med varandra vilket kan bero på en mängd faktorer: stamceller är svåra att odla och studera *in vitro*, de är även känsliga för extracellulära

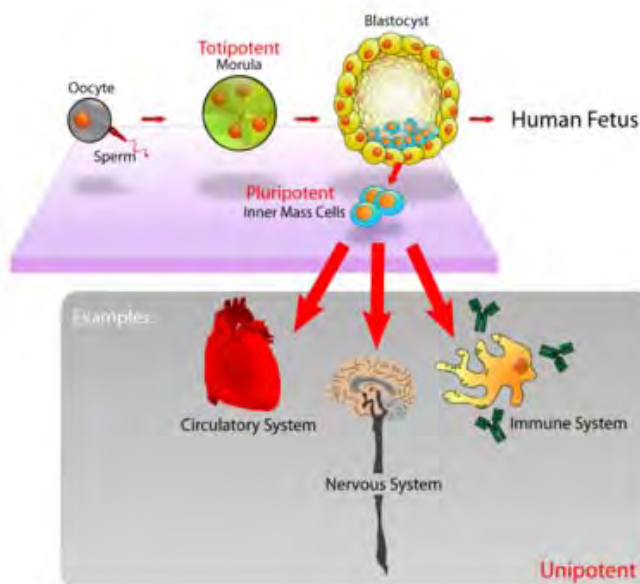
signaler och signalerna i sig kan vara svåra att identifiera. Vissa stamceller är dessutom svåra att få tag på.

Speciellt embryonala stamceller är ett känsligt ämne som drar igång en politisk och etisk debatt som ibland kan försvåra forskningen. The European Group on Ethics in Science and New Technologies (EGE) är en av många rådgivande grupp som, i sin en rapport till Europeiska Kommissionen, rekommenderar att varje medlemsland i EU ska ha en egen lagstiftning angående isolering av stamceller från mänskliga embryon (Hovatta *et al.* 2001). Lagar som dessa ihop med upptäckten att det i många vuxna vävnader faktiskt finns en stamcellspopulation som kanske skulle kunna användas inom forskning har öppnat upp ett nytt område. Dessa adulta stamceller skulle kunna vara nyckel till ett bredare användningsområde inom medicin och många studier visar att mycket kan göras med dessa stamceller som man inte tidigare trott.

Just adulta, eller mer utvecklade stamceller, är ett fantastiskt mål för forskningen och kanske ett säkrare kort eftersom man slipper många av de komplicerade och hårda lagar som embryonala stamceller medför, varför denna uppsats främst kommer att fokusera på adulta stamceller. Vilka aspekter måste tas in i beräkningen när stamceller ska odlas och hur långt har forskningen kommit? Hur mycket vet man om cellers utveckling och vilka kunskaper från detta kan man applicera på att styra en stamcells utveckling till att passa just de kriterier som behövs?

Vad är en stamcell?

Det finns några grundkriterier för att en cell ska få kallas just en stamcell. Det krävs att den är odifferentierad och har förmåga att dela sig oändligt många gånger för att på så sätt kunna



bygga upp en stamcellspopulation. Cellen skall även kunna producera dotterceller som så småningom differentieras till andra typer av celler (Morrison *et al.* 1997). Detta kan till exempel ske genom asymmetrisk celledelning och dottercellen får så småningom morfologiska och fysiologiska karaktärsdrag som ger den behörighet till en viss vävnad. Stamceller måste även kontinuerligt kunna förnya den vävnad de befinner sig i. Man tror nu att de flesta vävnader i kroppen innehåller en liten stamcellspopulation som ersätter de celler som dagligen går förlorade (Bryder *et. al* 2006).

Figur 1. En vanlig kategorisering av stamceller, Jones (2008).

Alla stamceller har inte samma differentieringspotential och därför delas de oftast in i tre olika grupper. Klassificering av stamceller kan antingen ske enligt deras utvecklingsbiologiska potential eller baserat på deras ursprung. Grupperingar som är baserade på vilken typ av vävnadsspecifika celler stamcellerna kan ge upphov till, alltså deras utvecklingsbiologiska potential, är den mest vanliga kategoriseringen. Totipotenta,

pluripotenta, och multipotenta stamceller är tre grupper av celler som alla har olika utvecklingspotential, se figur 1. Stamceller som kan utvecklas till alla vävnader i kroppen, vävnader med ursprung från både ektoderm, endoderm och mesoderm, klassificeras som totipotenta. De härstammar från den nyligen befruktade zygoten och fram till 4-8 cellsstadiet (Hovatta *et al.* 2001). Efter detta stadium tappar stamcellen snabbt förmågan att utvecklas till alla typer av vävnader och kallas då istället för pluripotenta. De pluripotenta stamcellerna kan fortfarande ge upphov till en majoritet av kroppens alla celltyper, men inte alla. Till denna grupp hör de embryonala stamcellerna (ES-celler) som härstammar från innercellmassan från ett ungt embryo. Att embryonala stamceller är pluripotenta bekräftas av många studier, både *in vivo* och *in vitro* (Blau *et al.* 2001). Rent utvecklingsmässigt är detta också den fas då celler ska kunna bygga upp en rad olika vävnader och organ. Embryonala stamceller kan dock inte ge upphov till en helt ny individ, det är det bara totipotenta stamceller som kan och dessa förekommer enbart just när ägget befruktas av spermien. De flesta stamceller som undersökts tillhör dock den tredje kategorin, de multipotenta stamcellerna. De kan ge upphov till en mer begränsad repertoar av vävnadsspecifika celler. I denna grupp finner man de hematopoetiska stamcellerna (HS-celler) som ger upphov till alla blodceller och härstammar från benmärgen. De neurala stamcellerna tillhör också till denna grupp och kan ge upphov till olika celltyper i nervvävnad. De unipotenta cellerna som visas längst ner i figur 1 har helt tappat sin differentieringspotential och representerar de normala celler som bygger upp vävnader.

De stamcellstyper som används inom forskning kan delas in i tre typer: embryonala stamceller, stamceller från navelsträngen samt adulta stamceller. Även om embryonala stamceller skulle kunna vara mer användbara för forskning eftersom de är pluripotenta kan de vara svåra att få tag på på grund av den politiska och etiska diskussion som omger dem. Att använda stamceller från navelsträngen är inte lika laddat etiskt sett, men varje navelsträng ger en mindre mängd stamceller. Den lättast tillgängliga typen är stamceller är de adulta och även om de är mer rigida i sin utveckling pågår det, som redan nämnts, mycket forskning på dessa.

Adulta stamceller återfinns i de flesta vävnader och anses även de vara multipotenta. Man har tidigare inte trott att dessa stamceller kan utvecklas till någon annat än just till de vävnadsspecifika celler som de är tänkta att bli och även befinner sig i. Nya studier har däremot visat på en viss plasticitet inom dessa adulta vävnadsspecifika stamceller och mycket forskning med inriktning på att kunna förklara och visa att även adulta stamceller kan utvecklas till fler vävnader än vad man tidigare trott har utförts med stort intresse. Dessa celler skulle vara ett fördelaktigt alternativ vid celltransplantationer eftersom donatorn och mottagaren då kunde vara samma patient och risken av en negativ immunorespons skulle därför elimineras. Adulta stamceller från alla vävnader har ännu inte identifierats, till exempel har inte stamceller från hjärta eller pankreas hittats. Detta behöver inte betyda att de inte existerar. Det är generellt svårt att hitta och isolera adulta stamceller, även för vävnader där de redan hittats i eftersom de förekommer i så låga koncentrationer. Ett annat stort problem är att själva iden med stamceller är att de inte har karaktärer för en speciell typ av cell, de saknar alltså de markörer som urskiljer specialiserade celler åt, vilket gör dem svåra att identifiera. Att karakterisera stamceller utifrån deras funktion, som nämnts ovan, gör att de är svåra att identifiera eller lokalisera i många organ även då man vet att de finns där (Frisén 2000). Detta är ett exempel på en av de många praktiska problem som måste lösas för att adulta stamceller ska kunna användas inom sjukvård. Andra svårigheter med adulta stamceller är att deras tillväxttakt generellt sett är låg *in vitro* vilket gör att deras användbarhet i ett snabbt sjukdomsförlopp sjunker (Hovatta *et al.* 2001).

En del adulta stamceller som finns kvar i vävnader hela livet är dock väl kända. Till dessa hör de stamceller som finns i benmärgen: de hematopoetiska stamcellerna och de mesenkymala stamcellerna, se figur 2 (Leonard, 2008).

Figur 2. Mikroskopisk bild av stamceller från benmärgen. Bild av Leonard (2008), med tillstånd från upphovsrättsinnehavaren.

De mest studerade stamcellerna är de pluripotenta hematopoetiska stamceller då de var de första vävnadsspecifika celler som isolerades (Bryder *et al.* 2006). Dessa stamceller kan ge upphov till alla blodceller, inklusive röda- och vita blodkroppar. Hos möss har man identifierat två klasser av hematopoetiska stamceller: så kallade ”short-term” och ”long-term” hematopoetiska stamceller som har förmåga att återuppbygga blodet på två respektive sex månader (Lagasse *et al.* 2001). Eftersom de flesta av effektorcellerna har en kort livstid utvecklas det en otrolig mängd mogna blodceller via hematopoesen. Studier visar att upp till $1,5 \times 10^6$ blodceller per sekund tillverkas i en vuxen människa (Bryder *et al.* 2006). Detta sätter en enorm press på att upprätthålla homeostasen i kroppen och pressen ligger främst på de hematopoetiska stamcellerna. Man har i många studier använt sig av de hematopoetiska stamcellerna just eftersom relativt mycket om dem än kända.

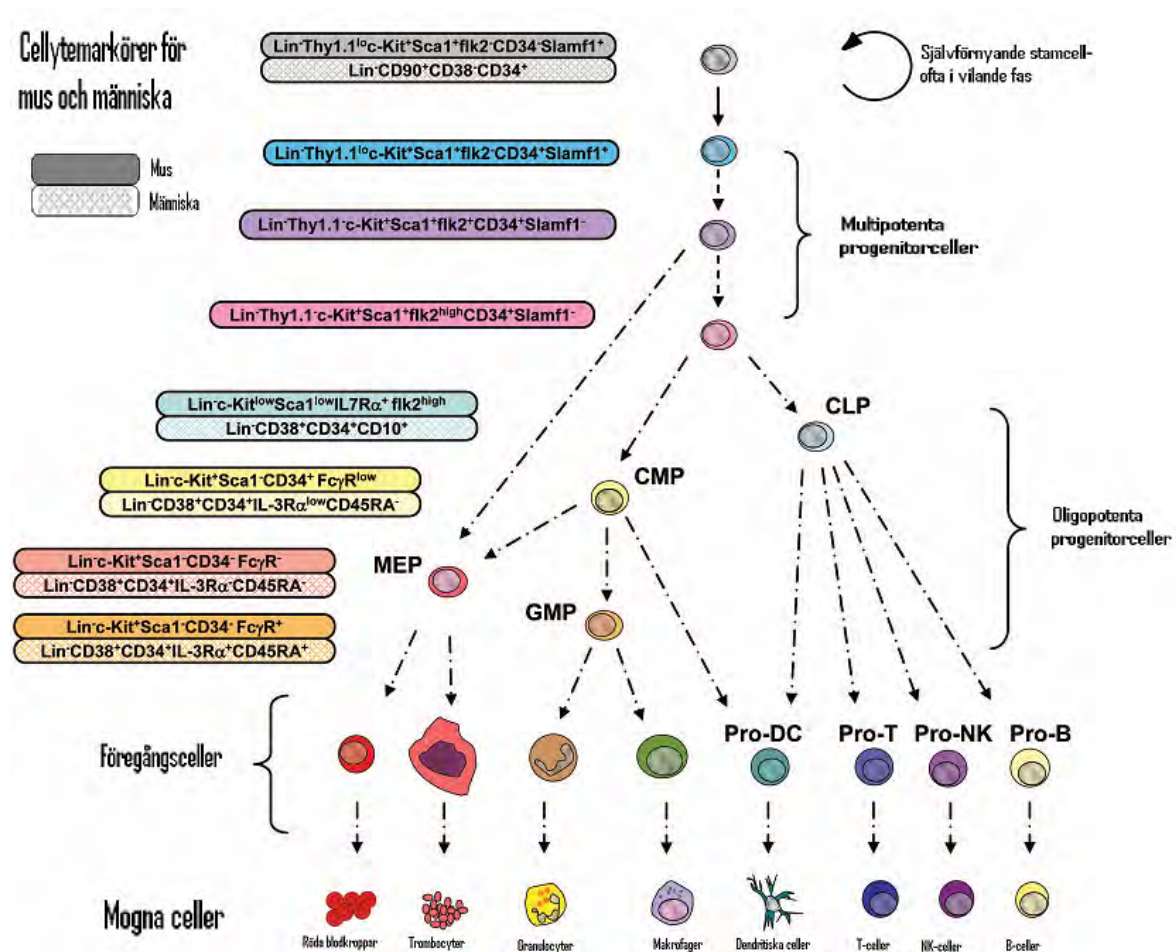
De mesenkymala stamcellerna är en lite svårare grupp att direkt identifiera men de verkar i vissa lägen vara en viktig del för de hematopoetiska stamcellerna. *In vitro*-studier av mesenkymala stamceller har visat att de kan utvecklas till osteoblaster (som ger upphov till ben), adipocyter (som ger upphov till fettvävnad) och chondroblaster (som ger upphov till brosk) (Mareschi *et al.* 2005). Ett kriterium för att en cell ska klassificeras som en mesenkymal stamcell är att den uttrycker cellmarkörerna CD105, CD73 och CD90. Den måste även sakna markörer för CD45, CD34, CD14, CD79 och HLA-DR (Weiss & Troyer 2006). Man har länge vetat att dessa celler är multipotenta, men stora luckor i informationen om dem finns tyvärr fortfarande. Trots att mesenkymala stamceller bara verkar finnas i ett litet antal i benmärgen är de relativt lätta att isolera eftersom de fäster vid plast. Man kan även hitta mesenkymala stamceller i blod och fettvävnad. Mesenkymal-liknande stamceller har även isolerats från navelsträngsblod och placenta (Weiss & Troyer 2006). Odifferentierade mesenkymala stamceller ser morfologiskt ut som fibroblaster och utsöndrar en mängd cytokiner, tillväxtfaktorer och adhesionsfaktorer som är viktiga i mikromiljön för de hematopoetiska stamcellerna (Mareschi *et al.* 2005). Odlade mesenkymala stamceller syntetiserar en extracellulär matris av kollagen typ I och typ IV samt fibronectin. De utsöndrar även cytokiner, varav de viktigaste verkar vara interleukin-7 (IL-7), IL-8, IL-11 och stamcellsfaktor (c-kit ligand) (Prockop 1997). De celler som binder till plasten i ett benmärgsprov utgör en viktig del av den mikromiljö som hematopoetiska stamceller behöver, vilket visades redan i tidiga studier. Hematopoetiska stamceller kan växa i denna miljö och även differentiera till granulocyter och röda blodkroppar (Prockop 1997). Under längre tids odlingar av hematopoetiska stamceller såg man dessutom att de celler som fastnade på plasten

interagerade direkt med de hematopoetiska föregångarna. De utsöndrade även bland annat cytokinerna IL-1, IL-6, CSF-1 och c-kit ligand. Dessa kulturer av hematopoetiska stamceller kan klara sig i 20 veckor eller mer och de celler som tas därifrån kan sedan differentieras, med hjälp av cytokiner, till mogna blodceller (Prockop 1997). De celler som fastnar på platen och stödjer de hematopoetiska stamcellerna i deras underhåll och utveckling har många gemensamma faktorer med mesenkymala stamcellerna men det är inte säkert att de har kvar möjligheten att själva kunna utvecklas till ben, brosk och andra mesenkymala vävnader. De kan tänkas att de har differentierat sig till en annan typ av mesenkymala celler till följd av deras samarbete med de hematopoetiska stamcellerna.

Redan 1992 såg man de första tecknen på att det fanns stamceller i den vuxna hjärnan och idag känner vi till tre områden i hjärnan där neurogenes sker: hippocampus, hjärnbarken och luktbukten (Frisén 2000). För att få kategoriseras som en stamcell i det centrala nervsystemet måste cellen ha potential att differentiera till neuroner, astrocyter och oligodendrocyter samt kunna förnya sig tillräckligt för att ge upphov till det antal celler som behövs i en hjärna (McKay *et al.* 1997). Kloner av neurala stamceller har visat sig ge upphov till alla dessa celltyper, samt visat att de kan migrera till skadade ställen. Längre har man trots att en skadad hjärna inte kan återuppbyggas och att färdigutvecklade neuroner inte kan återskapas. I och med att dessa adulta neurala föregångare har hittats, samt visat sig vara kapabla av att förnya sig själva, öppnas en förhoppning om användning av dessa celler inom sjukvården. Studier av däggdjurs utveckling har visat vissa faktorer som inducerar neuron- eller gliadifferentiering i cellkulturer. ”Fibroblast growth factor 2” (FGF2), ”epidermal growth factor” (EGF), ”Sonic hedgehog” (Shh), ”fibroblast growth factor 8” (FGF8) och ”bone morphogenetic protein 4” (BMGF4) har alla visat sig vara viktiga för utvecklingen av neurala stamceller. Dessa faktorer har använts i studier för att expandera neurala stamceller och för att transformera embryonala stamceller till neuroner (Blau *et al.* 2001).

Utvecklingen av en stamcell

Det differentieringsdiagram man tidigare målat upp visar på en stegvis specialisering fram till en klart utvecklad celltyp (Bryder *et al.* 2006) som sedan inte kan tillbakabildas till en mer ospecificerad celltyp. Den stegvisa utvecklingen av en stamcells dottercell tar den igenom utvecklingsstadier som kan urskiljas med hjälp av vissa specifika cellytemarkörer. För hematopoetiska stamceller, som är en väl studerad stamcellstyp, kan ett förenklat diagram se ut på följande sätt (figur 3).



Figur 3. Utvecklingsdiagram för hematopoetiska stamceller. Med hjälp av cellytemarkörer kan utvecklingen följas från den självförnyande stamcellen ner till den mogna cellen. Bilden modifierad från Bryder. (2006).

Som synes i diagrammet är cellytemarkörerna från både mus och människa markerade, den senare i en ljusare färg. Det man även kan se i diagrammet är att markörer i vissa stadier i utvecklingen inte är kända hos människan. Detta diagram i lite olika variationer finns i många artiklar och många håller fortfarande fast vid det rigida upplägg som föreslagits, med föregångsceller som är begränsade i sin utveckling, så kallade "lineage-restricted progenitors". Men bilden håller på att förändras då nya studier pekar på att denna modell är en grov förenkling. Det utvecklingsförlopp som en stamcell genomgår för att bli en differentierad cell kanske inte är så rigid och enkelspårig. Om en cell skulle kunna tillbakabildas till en mer ospecificerad föregångare skulle detta öppna upp fler möjligheter. Progenitorceller, stamceller som redan utvecklats så mycket att de endast kan bli till en typ av cell finns i många organ. Om dessa progenitorceller skulle kunna tillbakabildas och omprogrammeras skulle detta öppna upp för behandlingar av svåra sjukdomar som man i dag inte kan bota. Redan nu

används neurala progenitorceller i både USA och Sverige vid behandling av Parkinsons (Hovatta *et al.* 2001).

Genom att studera diagrammet (figur 3) kan man se att utvecklingsstegen ger en enorm amplifieringseffekt med tanke på hur många differentierade celler som kan bli till av en enda stamcell. Denna effekt uppnås dels genom den stegvisa mognaden av cellerna men framför allt genom en ökad proliferingspotential. Olika celler har olika proliferingspotential, eller prolifereringsindex, beroende på vilka celler de utvecklas till. Granulocyt-makrofag-föregångaren (GMP) har till exempel ett högt prolifereringsindex då dessa ger upphov till granulocyter och makrofager, en celltyp som har en kort livslängd (Bryder *et al.* 2006). Föregångaren till lymfocyterna (CLP) har ett mycket lägre prolifereringsindex då B-celler och T-celler har en mycket längre livstid än många andra typer av blodceller och alltså inte behöver produceras i så stora mängder. Detta upplägg för även med sig att de påfrestningar som celldelning innebär inte läggs på själva stamcellen. Hematopoetiska stamceller, till exempel, befinner sig oftast i G_0 -fasen som är en metaboliskt inaktiv fas av cellcykeln och detta ger ett skydd från de slaggprodukter som celldelning och aktivering för med sig. Att vara inaktiv skyddar även mot risken för mutationer vid DNA-replikation och celldelning. Studier visar även på att stamceller uttrycker höga nivåer av ABC/MDR-transportergener vars produkter har skyddande funktioner för cytosolen (Rossi *et al.* 2005).

Hematopoetiska stamceller från benmärgen har visat sig kunna inte bara återuppbygga beståndsdelarna av blodet utan även kunna försörja muskler, hjärna, lever och hjärta med nya celler (Balu *et al.* 2001). Upptäckten att adulta stamceller som finns i en viss typ av vävnad kan försörja en annan typ av vävnad tyder på en mycket större utvecklingsmöjlighet hos stamceller än man tidigare trott. Det är tyvärr än så länge få forskningsresultat som otvivelaktigt kan presentera resultat av denna typ av plasticitet, men om de stämmer skulle det betyda att stamceller på något sätt känner igen sin omgivning och kan reagera på den för att förändra sin utveckling. I och med detta nya tankesätt har fler forskningsgrupper börjat närmare studera den mikromiljö, eller nisch, som stamcellerna befinner sig i. Man har även sett att tillväxtfaktorer har en större betydelse för en stamcells differentiering än man förut trott.

Hur utvecklingen av en fullt differentierad celltyp ser ut råder det olika uppfattningar om. Det finns två generella teorier om hur stamceller producerar differentierade avkommor. Dels kan en stamcell via asymmetrisk celldelning ge upphov till en stamcell och en dottercell där dottercellen sen är redo för differentiering. Denna modell har man sett i encelliga organismer samt evertebrater som exempelvis *Drosophila*. En annan mer flexibel modell beskriver stamceller som ger upphov till en dottercell som antingen kan vara en stamcell eller en differentierbar cell. Denna typ av celldelning sker i självförnyande vävnader, som hud, hos däggdjur (Watt & Hogan 2000). I normala fall ger denna typ av celldelning upphov till i genomsnitt en stamcellsdotter och en differentierbar dottercell. Asymmetrin i denna modell sker på populationsnivå och inte på cellnivå vilket skulle göra det lättare för kroppen att klara av olika typer av påfrestningar.

Nischteorin och dess betydelse för utvecklingen

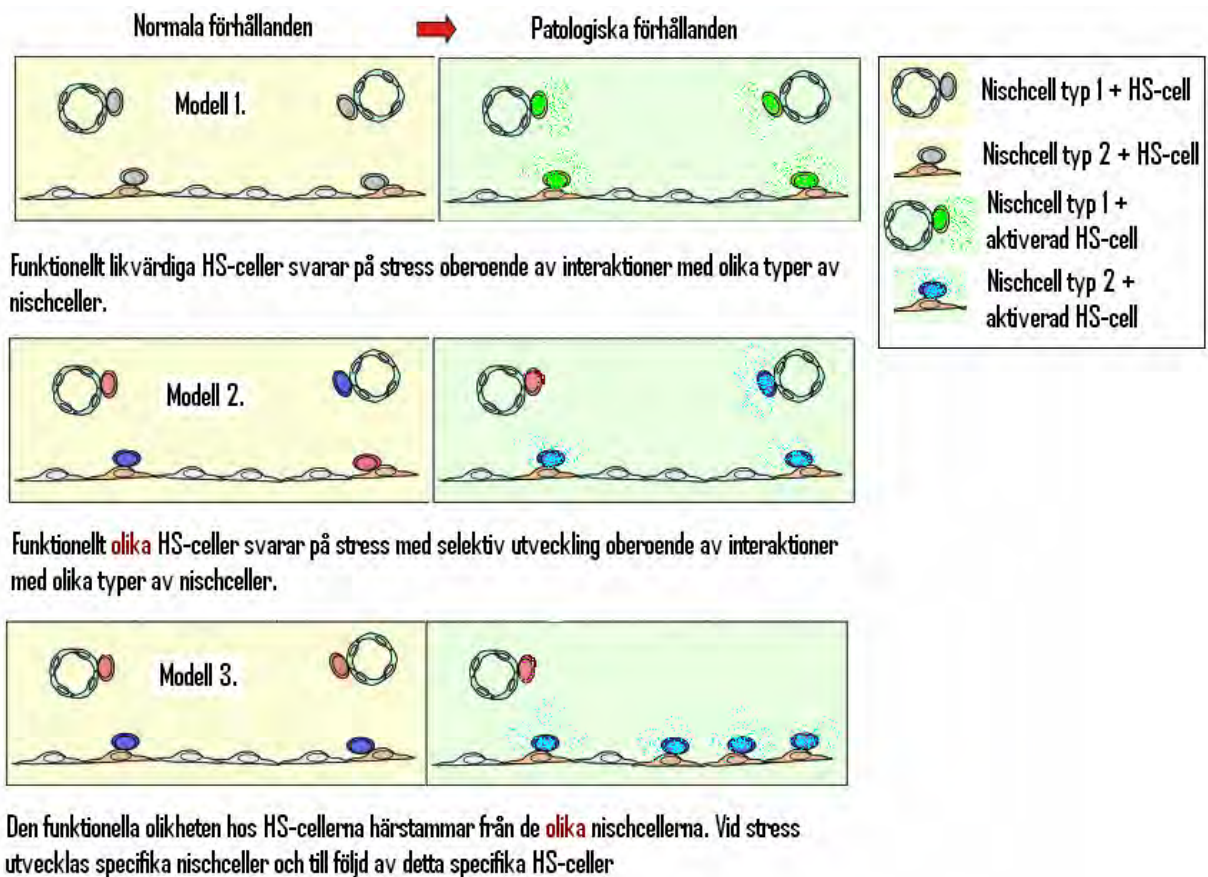
De externa signalerna som kontrollerar stamcellers utveckling utgör deras mikromiljö, så kallad nisch. Signalerna kan utsöndras i den extracellulära omgivningen eller också kräver de en direkt cell-cell-interaktion. I det senare fallet, då celler måste ha en direkt kontakt med den omgivande miljön, skulle en viss celltyp kunna knytas till en specifik nisch. Integriner är kända för just detta och man har sett att ett högt uttryck av integrin $\beta 1$ är viktigt för att bibehålla epidermala stamceller. En förändring eller avsaknad av integriner gör att stamcellen differentierar eller genomgår apoptos och på så sätt lämnar sin tänkta nisch (Quesenberry & Becker 1998). Att nischer är viktiga kan man även se tydliga exempel på vid benmärgstransplantationer där framgången är direkt relaterad till om de transplanterade hematopoetiska stamcellerna kan migrera till och rota sig i bra nischer efter att ha blivit injicerade (Bryder *et al.* 2006). Även om detta koncept är väl dokumenterat är det svårt att med säkerhet identifiera dessa speciella nischer.

Cellerna som ingår i nischen kan även utsöndra faktorer som hindrar mer utvecklade celler från att dö samtidigt som de stödjer differentiering av nybildade dotterceller. Några av de viktigaste utsöndrade faktorerna tillhör TGF- β -familjen och Wnts och båda har visat sig vara en viktig del i utvecklingsprocessen både genom parakrin och autokrin signalering. Till exempel kan dessa faktorer få embryoniska och somatiska celler att byta från ett utvecklingsförlopp till ett annat, även om de redan har börjat uttrycka speciella karaktärer (Derynck & Akhurst 2007). Mekanismen bakom just TGF- β -familjens proteiners förmåga att kunna ändra en cells utveckling har visat sig vara viktig i många typer av vävnader, speciellt för immun- och hematopoetiska celler. Minst två medlemmar av TGF- β -familjen reglerar differentieringen hos neurala stamceller och de är antagligen viktiga för andra typer av stamcellers differentiering också eftersom man kan hitta dem i nästan alla typer av vävnader (Watt *et al.* 2000). Wnts aktiverar transkription via en mekanism som involverar β -catenin (Peifer 1999). Att Wnts är viktig för transkriptionen vet man sedan länge, dock har man svårt att direkt lokalisera dess position i vävnaderna. Både TGF- β -familjen och Wnts är konserverade i många arter och många olika typer av vävnader (Watt & Hogan 2000). En mängd andra faktorer krävs för att bibehålla en stamcellspopulation i en vävnad och även påverka stamceller som lämnar vävnaden och aktiveras. Interna klockor skulle kunna spela en stor roll i antalet celledelningar en cell gör när den har lämnat sin stamcellsform. Dessa interna klockor skulle teoretiskt kunna kontrollera antalet cellcykler som genomgås (Conlon & Raff 1999) och på så sätt kunna minska eller öka antalet divisioner.

Genom att känna till stamcellers nischer kan man lättare manipulera eller behålla dem i odifferentierat tillstånd *in vitro*. Mycket forskning med inriktning på att hitta de optimala förhållandena för just detta har genomförts och nya metoder utvecklas hela tiden. Att direkt kunna identifiera vilka typer av celler som utgör nischen för en viss typ av stamcell är fortfarande en utmaning. Eftersom det är ett så komplicerat system är det svårt att med säkerhet avgöra vilka signaler som är direkt sammankopplade med utvecklingen av cellerna. Hematopoetiska stamceller har man sett kan förflytta sig ut ur en nisch och in i en annan (Bryder *et al.* 2006). Detta skulle eventuellt kunna betyda att interaktionerna är dynamiska och rörliga vilket gör det ännu svårare att med säkerhet identifiera vilka celler som är vitala för utvecklingen. Eftersom hematopoetiska stamceller är den mest studerade stamcellstypen har man även studerat deras nischförhållanden mest, vilket lett till olika teorier både om vilka celler som faktiskt ingår i nischer och vad de bidrar med. Man har observerat att en speciell grupp osteoblaster utgör en nisch för hematopoetiska stamceller i möss (Bryder *et al.* 2006), se figur 4. Dock finns det andra studier som istället pekar ut sinusoidala endoteliumceller som en lika betydelsefull nisch (Kiel *et al.* 2005) och detta har lett till att man nu tror att olika

anatomiska platser skulle kunna representera olika nischer för hematopoetiska stamceller och dessa skulle kunna påverka dem på olika sätt vid differentiering och utveckling.

Tre olika modeller för cell/nisch-interaktioner visas i figur 4. Modellen visar cell-interaktioner dels under normala förhållanden (till vänster) och under patologiska förhållanden eller där homeostasten är rubbad (till höger). Enligt modell nummer ett, längst upp, har alla hematopoetiska stamceller samma funktion oavsett vilka nischceller de interagerar med. Under en mobilisering av stamceller aktiveras de också likadant oberoende av vilka cell-cell-interaktioner de har med nischcellerna. Olika typer av celler har samma stödfunktion för stamcellerna och spelar ingen aktiv roll i deras utveckling.



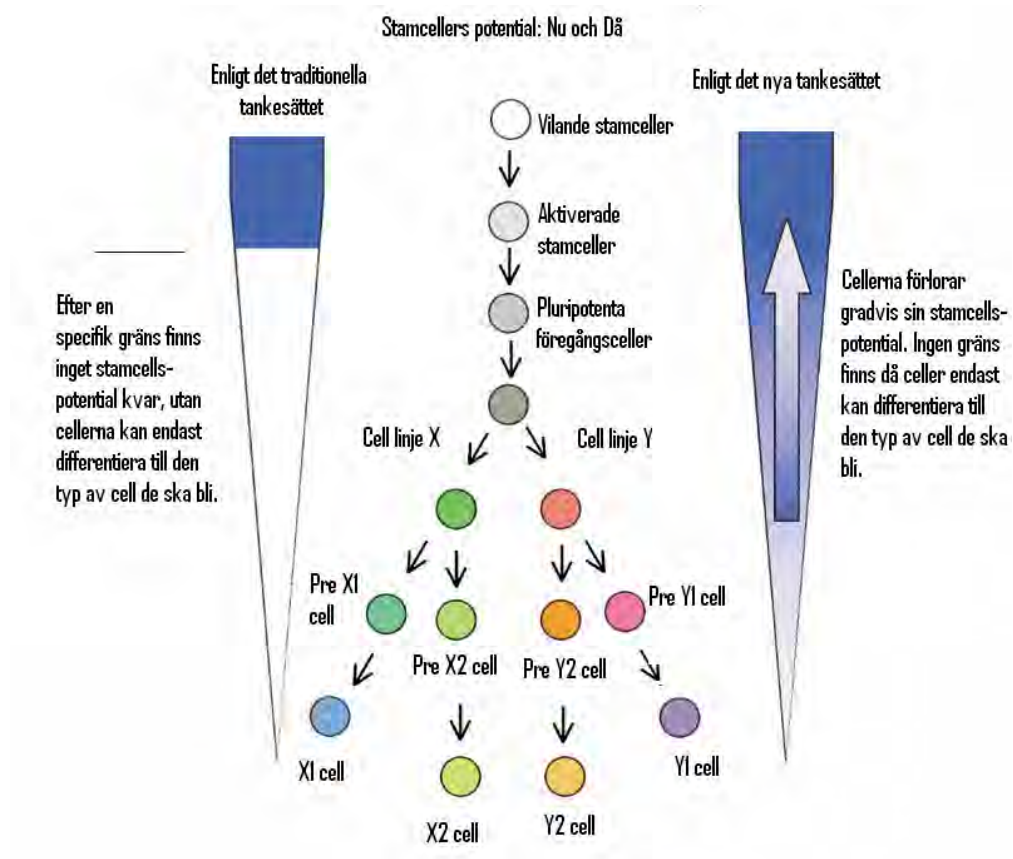
Figur 4. De tre modellerna inom nischteorin. Se texten för detaljer, bilden modifierad från Bryder (2006).

I den andra modellen, i mitten, finns det olika typer av hematopoetiska stamceller med olika utvecklingspotential, morfologiska karaktärer och migrationskapacitet. Dessa olika celler interagerar dock med båda typerna av nischceller och skiljer dem inte åt. Under en mobilisering kommer endast en typ av stamcell att aktiveras oberoende av vilka nischceller de interagerar med. Denna modell bygger på en olikhet mellan stamcellerna men inte mellan stödcellerna i nischen. Den tredje modellen bygger på att distinkta typer av hematopoetiska stamceller föredrar olika nischceller och interagerar exklusivt med dem. Det motsatta skulle då även kunna vara möjligt att det är nischcellen som påverkar stamcellerna att uppvisa en karaktär, snarare än att en typ av stamcell föredrar en viss nischcelltyp. Aktivering av stamcellerna bygger enligt denna modell på en selektiv expansion av specifika nisch/cell-interaktioner (Bryder *et al.* 2006).

Nya utvecklingsmöjligheter

Man har, som tidigare nämnts, trots att den stegvisa utvecklingen av stamceller även betyder en stegvis restriktion av vad cellen kan utvecklas till (se figur 5) och detta stämmer antagligen under normala "steady-state"-förhållanden i kroppen. Traditionellt har stamcellers differentiering setts som en irreversibel process, men med mycket ny forskning som tyder på en större plasticitet hos stamceller håller en ny värld på att öppnas. Man vet dock fortfarande inte hur långt en cell kan differentiera och fortfarande ha kvar kapaciteten att byta utvecklingsväg under förändrade omständigheter.

För att kunna visa att en stamcells utvecklingspotential har förändrats måste vissa kriterier uppfyllas. I artikeln "The evolving concept of a stem cell: Entity or function" (Blau *et al.* 2001) sammanställdes några av de många krav som finns för att framgången av den här typen av forskning lättas ska kunna graderas. Det första av dessa kriterier är att kunna demonstrera påslag av en tidigare tyst gen som är specifik för den nya celltypen. Ju fler uttryck av specifika proteiner, som ett resultat av aktiveringen av den förut tysta genen, desto säkrare kan man vara på att cellen har bytt utvecklingsväg. Ett annat kriterium är att de nya cellerna ska vara integrerade i vävnaden och inte kunna urskiljas morfologiskt från de celler som bygger upp den omkringliggande vävnaden. Om en cell har lyckats ta sig in i en ny vävnad, överlevt där samt uttryckt samma proteiner som dess grannar tyder detta starkt på en omvandling. Det svåraste målet att nå är att kunna visa att dessa celler inte bara klarar av att leva i en ny miljö utan att de även kan medverka i den. Detta kan till exempel göras genom att visa att celler transplanterade från benmärgen till hjärtat inte bara uttrycker hjärtspecifika proteiner utan också kontraherar i takt med hjärtats impulser (Blau *et al.* 2001).



Figur 5. En jämförelse av det traditionella tankesättet och det nya. I det nya tankesättet finns ingen gräns då stamceller slutar vara stamceller och övergår till att enbart kunna differentiera sig till vävnadsspecifika celler, illustrerat i bilden av den gradvis avtagande blåa färgen. Modifierad från Blau (2001).

Varför skulle då en stamcell i en specifik nisch ändra sitt utvecklingsmål och migrera till en annan vävnad? En anledning skulle kunna vara att den behövs någonstans i kroppen. Man vet att skadad vävnad utlöser migrations- och tillväxtfaktorer som gör att stamceller söker sig till dessa vävnader (Watt *et al.* 2000). Antagligen är dessa signaler specifika för olika vävnader, skadans storlek och även för typen av stamcell som behöver aktiveras.

Alla stamceller kan eventuellt alltid ändra sitt utvecklingsmål. I det hematopoetiska systemet har man sett att en enskild stam- eller föregångarcell uttrycker flera gener som tillhör olika utvecklingsvägar innan den väljer en specifik väg. Detta tyder på en promiskuös fas då cellen aktiverar flera gener associerade med flera målceller. I andra studier, där B-cellers differentiering är blockerad, har B-cellföregångare kunnat differentiera till många andra celltyper inom det hematopoetiska systemet (Watt *et al.* 2000). De resultat som visar att adulta stamceller kan omprogrammera sig när de hamnar i en ny vävnad skulle kunna bero på just dessa speciella promiskuösa föregångare. För att en omprogrammering ska kunna genomföras behövs antagligen även andra faktorer. Cellen måste kunna svara på differentieringssignaler och dessa kan vara beroende av granncellernas samtidiga differentiering. Att flytta en stamcell från sin nisch, där den får signaler som håller den i ett skick, har med säkerhet också en stor effekt på uttrycket och aktiveringen av ytreceptorer för en rad olika signalsubstanser varav några skulle kunna behövas i den nya nischen (Watt *et al.* 2000).

Forskning på adulta stamceller

Många experiment som görs för att visa plasticiteten hos hematopoetiska stamceller följer ungefär samma protokoll, med specifika förändringar beroende på i just vilken vävnad man undersöker under vilka förhållanden. En benmärgstransplantation, där hematopoetiska stamceller transplanteras, mellan en frisk mus och en mus vars hela benmärg förstörts är ett experiment som dels är mycket vanlig och relativt lätt att utföra (fig 6). Benmärg från en genetiskt markerad vuxen mus injiceras i en isogenetisk normal vuxen mus vars benmärg har blivit förstörd av till exempel strålning.

Figur 6. Ett typexempel av ett försök med transplanterade stamceller från benmärgen. Efter transplantation av benmärg från en frisk, genetiskt markerad mus (grön) till en mus som utsats för dödlig strålning kan de transplanterade cellerna följas med hjälp av markeringen. Modifierad från Blau *et al.* (2001).

Framgången av transplantationen och integrering av de hematopoetiska stamcellerna kan tydligt avläsas då recipienten snabbt skulle dö om den inte får en benmärgstransplantation som kan bygga upp alla delar av blodet. För att lättare kunna följa donatorcellerna kan donatormusen antingen vara en mus som uttrycker grönt fluorescerade β -galaktosidas i alla celler eller alternativt så kan celler från en hane användas och dessa kan sedan följas baserad på identifiering av Y- kromosomen om recipienten är en hona. Om transplantationen fungerade kommer musen att överleva och blodet kan utvärderas med hjälp av mikroskop eller "fluorescence activating cell sorting" (FACS). Oftast behövs fyra till åtta veckor för att totalt återuppbygga blodet hos en vuxen mus och för att se resultat i vävnader kräver ytterligare två till fyra veckor. Alla studier på möss har hittills visat att celler från benmärgen kan dels migrera, byta fenotyp, och fungera i den nya vävnad som de befinner sig i (Blau *et. al* 2001).

Mycket forskning har även utförts på de mesenkymala stamcellerna. Som tidigare nämnt är de mesenkymala stamcellerna en stor grupp med många snarlika populationer av mesenkymalaktiga stamceller. Jämförande studier har gjort mellan de största grupperna av dessa stamceller: de från fettvävnad, de från benmärgen samt de stamceller som härstammar från navelsträngen.

De mesenkymala stamceller som härstammar från benmärgen är omständliga att få tag på och de minskar inte bara i antal men även differentieringspotential i takt med ålder hos donatorn. De överlever kortast tid i kulturer av de tre olika sorterna och de har även den lägsta prolifereringskapaciteten (Kern *et al.* 2006). Det har dock visat sig att dessa mesenkymala stamceller från benmärgen skulle kunna differentiera till neuroner med elektrofysiologiska karaktärer om de får rätt signaler. Mesenkymala stamceller från benmärg som injicerats i hjärnan hos ett råttembryo har följt neuroners differentieringsmönster och överlevt ända till den postnatale perioden (Weiss & Troyer 2006). Detta gör att dessa stamceller är mycket intressanta.

Isoleringen av stamceller från navelsträngen är betydligt lättare än från benmärgen eftersom ingen operation behövs. Dessa celler kan isoleras från den gelé som omger blodkärlen i navelsträngen, så kallad Wharton's Jelly. Humana mesenkymala celler från navelsträngen möter kriterierna för att klassificeras som mesenkymala stamceller och de kan frysas, tinas och utvecklas (Weiss & Troyer 2006). Man har sett att dessa stamceller, utan att vara exponerade för differentieringssignaler, uttrycker en markör som även uttrycks av neurala föregångare, nämligen nestin. Det verkar alltså som att dessa stamceller, i likhet med de hematopoetiska, genomgår en promiskuös fas. Med hjälp av differentieringssignaler kan humana mesenkymala stamceller utvecklas till neuroner som uttrycker tyrosinhydroxylas (TH) (Fu *et al.* 2004).

Från de jämförande studierna såg man att de mesenkymala stamcellerna från navelsträngen kunde behållas i kultur länge och att de även hade den högsta prolifereringskapaciteten. Det visade sig dock att stamcellerna från navelsträngen inte kunde utvecklas till adipocyter medan nästan alla stamceller från de andra två grupperna kunde detta (Kern *et al.* 2006). De stamceller som härstammar från fettvävnad var lättast att extrahera då de med fördel kan tas från restprodukter av kosmetisk kirurgi. Eftersom det i många fall är svårt att få tag på stamceller är det en otrolig fördel att kunna arbeta med adulta stamceller, där patienten direkt kan godkänna ett eventuellt ingreppet. Om det visar sig att man även kan kringgå ett ingrepp genom att använda mesenkymala stamceller från restprodukter förenklar detta proceduren ännu mer. Det svåra med alla studier av stamceller är att de är så lättpåverkade och det finns många faktorer som är svåra att kontrollera. Att mesenkymala stamceller är en viktig stamcellstyp inom medicin råder det dock ingen tvekan om.

Stamceller i den vuxna hjärnan hittades redan 1992 genom att undersöka celler från vuxna mushjärnor i olika cellodlingsmedel. Man fann att under vissa förhållanden, som till exempel efter tillsats av tillväxtfaktorn EGF eller FGF, delade sig endast en viss typ av celler medan andra hjärnceller dog. De celler som delade sig visade sig vara stamceller som kunde bilda nervceller, astrocyter och oligodendrocyter *in vitro* (Frisén 2000). Intresset för hur nervceller bildas i vuxna hjärnor satte igång en mängd studier främst på vävnader från gnagare. Vilken sorts relevans denna information hade för vävnader hos däggdjur, och då främst humana hjärnor, var länge inte känt. År 1999 kom resultat som visade på stamceller i den vuxna humana hjärnan som är mycket snarlika de stamceller som studerats i möss och råttor. Cellerna odlades från vävnad som avlägsnats från patienter med svår epilepsi då man vid behandling tar bort en sektion av temporalloben (Johansson 1999). Sen dess har ependymceller identifierats som stamceller i den vuxna humana hjärnan och ryggmärgen. Dessa celler har i flera experiment visat sig kunna bilda neuroner, astrocyter och oligodendrocyter (Frisén 2000). Ependymceller är i vanliga fall mest kända som specialiserade gliaceller som har en viktig funktion att separera cerebrospinalvätskan och hjärnvävnad och ingår i blod-hjärn barriären. Genom olika studier har dessa stamcellers egenskaper testats. Dels har deras utveckling följts genom att odla cellerna enskilt och man har på så sätt kunna följa en klon som blir till genom delning och deras utveckling till neuroner, astrocyter eller oligodendrocyter. En cellpopulation har även kunnat renats fram med hjälp av antikroppar som selekterar en speciell cellytemarkör, Notch 1. *In vivo* har man med hjälp av markörer även kunnat visa att dessa ependymceller ger upphov till nya neuroner i hjärnor och att det inte bara är i kontrollerade *in vitro* studier som cellerna delar sig och utvecklas (Frisén 2000).

Isolering och odling av stamceller

För att stamceller ska kunna användas inom sjukvården krävs att man kan generera ett högt antal celler med väldefinierade karaktärer. Stamceller måste kunna odlas så att hela kulturen av expanderade celler har samma egenskaper. Man måste även kunna differentiera stamceller på ett kontrollerat sätt mot ett bestämt mål och fortfarande ha en relativt hög homogenitet. När detta kan göras kommer stamceller på allvar kunna användas inom sjukvården.

Man kan odla stamceller storskaligt i olika typer av bioreaktorer. Under utvecklingen av dessa bioreaktorer har det visat sig vara fördelaktigt med omrörning eller syreperfusion i jämförelse med statiska reaktorer eftersom omrörningen gör att miljön blir mer homogen och lättare att manipulera. Detta måste vägas mot att det i reaktorerna med omrörning också uppstår mer hydrodynamisk stress än i en kultur som är stilla (King & Miller 2007). De optimala förhållandena i en bioreaktor är dock olika för olika typer av stamceller eftersom de i vanliga fall habituerar olika mikromiljöer.

Hematopoetiska stamceller är den stamcellstyp som tidigast började odlas storskaligt i bioreaktorer. Nya studier visar att de expanderar snabbare i en omrörd eller suspenderad kultur. Detta har sannolikt att göra med att restprodukter från metabolismen lättare kan transporteras bort och tillväxtfaktorer lättare kan spridas till alla celler i kulturen. Även cytokiner med inhiberande verkan, som produceras av mer differentierade stamceller, kan lättare forslas bort i en bioreaktor med omrörning. Dessa cytokiner hämmar då inte utvecklingen av de celler som ännu inte hunnit differentiera lika långt. Mesenkymala stamceller verkar däremot utvecklas bättre i en modell där de sitter på en porös tredimensionell matris omgivna av mediet (King & Miller 2007). Många forskargrupper har försökt använda bioreaktorer för att storskaligt expandera och differentiera även embryonala stamceller. I vanliga fall expanderas odifferentierade embryonala stamceller med hjälp av ett

lager av supporterceller, men i stor skala är det ingen lämplig metod. I omrörda bioreaktorer har man fått goda resultat för stamceller från möss (mESC) även utan supporterceller men då krävs att man tillsätter leukemia inhibitory factor (LIF). Humana embryonala stamceller är dock svårare att expandera då det visat sig att LIF kan inte ersätta ett lager av supporterceller i storskaliga kulturer.

För att framgångsrikt kunna odla stamceller *in vitro* strävar man efter att kunna efterlika de förhållanden som råder *in vivo*. Som tidigare nämnts spelar mikromiljön en stor roll men utöver dessa finns en mängd olika faktorer som behövs kontrolleras. Kroppen har många interna system som reglerar temperatur, pH och koncentration av olika gaser i vävnaderna. Traditionellt använder man sig av 5-7% CO₂ i vävnadskulturer och dessa värden reflekterar även förhållanden *in vivo* (Csete 2005). Under många år har man dock inte kontrollerat O₂-koncentrationen, antagligen på grund av praktiska problem, utan man har använt inkubatorer som släpper in luft från rummet och buffrar detta med 5% CO₂ för att ge en O₂-koncentration av 20%. Detta värde skiljer sig markant från de värden som kan mätas *in vivo*. I arteriellt blod finns ungefär 12% syre och i vävnader kan syre koncentrationen sjunka till endast omkring 3% (Csete 2005). Eftersom man har sett att många av stamcellers karaktärer förändras genom att drastiskt sänka syrenivån används nuförtiden inkubatorer där man kan kontrollera syrenivån. Cellerna kan dock fortfarande skadas av de syreförändringar de utsätts för då de tas ur inkubatorn för att studeras. Syrekoncentrationen i inkubatorn kan även visa ett annat värde än cellerna i vävnaden känner av, då den faktiska syrekoncentrationen på cellnivå beror på vävnadens densitet, mediets tjocklek samt celandningen. De studier som gjort visar att nästan alla stamceller som odlats vid lägre syre koncentrationer prolifererar mer än i den traditionella miljön bestående av 20% syre. Man har även sett att stamceller som får växa i syrefattiga miljöer prolifererar under en längre tid och antalet DNA skador minskar drastiskt (Csete 2005). I den typen av bioreaktorer som nämnts ovan har en låg syrenivå visat sig vara viktig i kulturer av humana embryonala stamceller med en klar minskning av kromosomskador som följd. Dessa humana embryonala stamceller visar en ökad känslighet för skador om cellerna sedan får växa i den vanliga syrekoncentration på 20% (King & Miller 2007).

Något ännu mer intressant är studier som pekar på att vissa stamceller följer olika differentieringsvägar beroende på syrekoncentrationen. Både skelettmuskel-stamceller och mesenkymala stamceller genomgår mycket hellre myogenes (utveckling till muskler) än adipogenes (utveckling till fettvävnad) i lägre syrekoncentrationer än i 20%. Man vet att "tumor necrosis factor alpha" (TNF- α) påverkas av reaktiva syremolekyler och är en väldigt stark inhibitor för skelettmuskeldifferentiering. Man vet även att den viktigaste kontrollfaktorn för adipogenes, PPAR-gamma, uppreguleras av en hög syre koncentration och kan då aktivt hindra MyoD aktivitet (Csete 2005). Detta betyder alltså att syre skulle spela en stor roll i mekanismen bakom aktiveringen av vissa differentiationsvägar, som till fettvävand, och samtidigt kunna hindra andra utvecklingsvägar, som utvecklingen av muskler. Detta skulle kunna ha stor betydelse även i annan forskning då man kopplar samman en stigande ålder med en ökad stress från de reaktiva syremolekylerna, fria radikaler, och en ökad procent fett i skelettmuskulerna, benmärg och lever (Krikland *et al.* 2002). Skulle dessa stamceller kunna skyddas från reaktiva syre molekyler under en längre tid i kroppen kanske vissa delar av åldrandet skulle kunna hindras eller saktas ner.

Även andra typer av stamceller, såsom celler från det centrala och perifera nervsystemet, visar drastiska differentierings förändringar när de exponeras till låga syre förhållanden. Stamceller från det centrala nervsystemet utvecklas i större utsträckning till dopaminproducerande neuroner och även serotoninproducerade neuroner är gynnade under låga syrekoncentrationer (Csete 2005). Stamceller *in vivo* påverkas antagligen mycket av syrenivåer och svarar på förändringar i koncentration på samma sätt som andra

signalsubstanser. Syrekonzentration är antagligen viktig i migrationen av stamceller när en skada uppstår och också vid transplantationer. Tillväxtfaktorer som man vet är viktiga för mobilisation av vissa stamceller från benmärgen till cirkulationen är VEGF och erythropoietin och dessa är båda syrerreglerade (Csete 2005). Skador som får stamceller att migrera från märgen innefattar ofta oxidativ stress och dessa skadade områden skulle alltså genom olika syre koncentrationer indirekt via tillväxtfaktorer påverka antalet och typen av stamceller som migrerar till skadeområdet.

En annan svårighet med att utvinna stamceller som senare ska kunna användas i sjukvården är att de är relativt svåra att identifiera. Hematopoetiska stamceller är den grupp av stamceller som används flitigast och de flesta protokoll för att utvinna dessa innefattar FACS, det vill säga att man sorterar celler genom identifiering av specifika cellytemarkörer. De flesta metoder kombinerar detta med användningen av "lineage depletion panels" för att exkludera celler med oönskade ytmarkörer. Dessa metoder ger en population där 80% av cellerna har potential att helt återuppbygga blod (Lagasse *et al.* 2001). Något som används relativt ofta inom sjukvården är att på kemisk väg få stamceller att i större skala förflytta sig till blodet för att på så sätt lättare kunna samla upp dem. Redan under 1980-talet hade två viktiga cytokiner för hematopoetiska stamceller upptäckts: "granulocyte-macrophage colony-stimulating factor" (GM-CSF) och "granulocyte colony-stimulating factor" (G-CSF). Dessa kan mobilisera hematopoetiska stamceller och föregångarceller till blodomloppet och göra dem mer lättillgängliga för forskning och transplantation. Sedan dess har fler cytokinkombinationer använts för att mobilisera de hematopoetiska stamcellerna som till exempel "stem cell factor" (SCF) som agerar på primitiva hematopoetiska stamceller och som, när den kombineras med G-CSF, ger en mycket hög mobilisering (Kessinger & Sharp 2003). Även om dessa metoder fungerar kan man ändå inte få ett prov där 100% av cellerna i population är hematopoetiska. Problemet ligger i att uttrycket av ytmarkörer kan vara subtil och skillnaden mellan ett negativt uttryck och ett där några ytmarkörer faktiskt finns är svår att skilja åt. Även de mest avancerade protokoll som används i dag resulterar i en heterogen population av stamceller där vissa celler inte är pluripotenta eller ens har återuppbyggande egenskaper. Ett annat problem är att de ytmarkörer som används för att identifiera och sortera hematopoetiska stamceller inte säkert är viktiga för stamcellsfunktionen, så uttrycket av dem kanske inte alltid går hand i hand med stamcellspotentialen. Till exempel har det visat sig att uttrycket av CD34 på de så kallade "long term" hematopoetiska stamcellerna verkar vara reversibel och beroende inte bara på stamcellens aktivering utan också på åldern på donatorn (Blau *et al.* 2001). Målet för mycket av den forskning som pågår är att kunna få hematopoetiska stamceller att proliferera sig *in vitro* så att en stor population av odifferentierade celler kan odlas upp och sedan användas inom sjukvården. Flera specifika hematopoetiska cytokiner har identifierats så som kit-ligand, thrombopoietin och medlemmar inom gp-130 familjen (Bryder *et al.* 2006). Flera andra signalämnen som har visat sig vara viktiga för stamceller i andra typer av vävnader har också visat sig vara viktiga för proliferering av hematopoetiska stamceller vilket tyder på gemensamma signalvägar.

Slutsats

I den mängd av artiklar som finns om ämnet framkommer det relativt snabbt att det är mycket man ännu inte vet om stamceller. Den stora upptäckten, att adulta stamceller besitter en prolifereringskapasitet av tidigare oanad storlek och i och med detta en framtid inom sjukvård, gjorde att forskningen tog ett hopp framåt. Att stamceller är ett svårt forskningsområde syns tydligt då entydig information om de hematopoetiska stamcellerna, den typ av stamceller som blivit undersökta mest och under längst tid, ändå är svår att få tag på.

Att stamceller besitter en promiskuös fas, som så många artiklar visar, öppnar upp en helt ny värld för vad enskilda stamceller kan utvecklas till. Om alla de faktorer som styr en stamcells utveckling kan identifieras och manipuleras skulle många obotbara sjukdomar kunna botas. I en perfekt värld skulle adulta stamceller kunna utvinnas från patienten själv, manipuleras på det sätt man vill, och återinföras igen. Dessa stamceller skulle då kunna migrera till det ställe de behövs och utveckla friska celler för att bygga om den sjuka vävnad som behöver bytas ut. De mesenkymala stamcellerna, som enligt många studier kan differentiera till neuroner, skulle kunna vara ett sätt att bota fler av de sjukdomar som slår till mot det centrala nervsystemet.

Även om denna uppsats endast har skrapat ytan av allt det som finns att läsa om stamceller, uppenbarar sig att det är ett otroligt intressant område. En känsla av oändliga möjligheter och lösningar på så många problem väller över en, om man bara kunde få ett grepp om alla de signaler som stamcellerna använder sig av för att utvecklas till det de gör.

Referenser

Blau, H.M., Brazelton, T.R. & Weimann, J.M. 2001. The Evolving Concept of a Stem Cell: Entity or Function? *Cell* 105: 829-841.

Bryder, D., Rossi, D.J. & Weissman, I.L. 2006. Hematopoietic stem cells. *The American Journal of Pathology* 169: 338-346.

Csete, M. 2005. Oxygen in the cultivation of stem cells. *Annals New York Academy of Sciences* 1049: 1-8.

Derynck, R. & Akhurst, R.J. 2007. Differentiation plasticity regulated by TGF- β family proteins in development and disease. *Nature Cell Biology* 9:1000-1004.

Frisén, J. 2000. Upp- och nervända världen: glia gör nervceller! *Läkartidningen* 97: 2962-2966.

Jones, M. 2008. Stem cell. WWW-dokument: Schools-wikipedia.org/images/735/73539.png. Hämtad 2008-01-05.

Kern, S., Eichler, H., Stoeve, J., Klüter, H. & Bieback, K. 2006. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells* 24: 1294-1301.

Kessinger, A. & Sharp, J.G. 2003. The whys and hows of hematopoietic progenitor and stem cell mobilization. *Bone Marrow Transplantation* 31: 319-329

King, J.A. & Miller, W.M. 2007. Bioreactor development for stem cell expansion and controlled differentiation. *Current Opinion in Chemical Biology* 11: 1-5.

Leonard, A.P. . Andrew Paul Leonard, APL Microscopic. WWW-dokument : <http://www.aplmicro.com/home.html>. Hämtad 2008-01-05.

Mareschi, K., Ferrero, I., Rustichelli, D., Ascher, S., Gammaitoni, L., Aglietta, M., Madon, E. & Fagioli, F. 2006. Expansion of Mesenchymal Stem Cells Isolated From Pediatric and Adult Donor Bone Marrow. *Journal of Cellular Biochemistry* 97: 744-754.

McKay, R. 1997. Stem cells in the central nervous system. *Science* 276: 66-71.

Morrison, S.J., Shan, N.M. & Anderson, D.J. 1997. Regulatory mechanisms in the stem cell biology. *Cell* 88: 287-298.

Prockop, D.J. 1997. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science* 276: 71-74.

Watt, F.M. & Hogan, B.L.M. 2000. Out of Eden: stem cells and their niche. *Science* 287: 1427-1430.

Weiss, M.L & Troyer, D.L. 2006. Stem cells in the umbilical cord. *Stem Cell Reviews* 2: 155-162.