

Aus dem Institut für Anatomie
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Modelle zur Organisation der Stammzellen und ihrer Nischen in der Mukosa des
Magens

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Zahnmedizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Jan Fiete Kassow
aus Frankfurt am Main

Mainz, 2026

Wissenschaftlicher Vorstand: Univ.-Prof. Dr. med. Philipp Drees

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Tag der Promotion: 18. März 2026

Nachnutzungsrecht: InC-1.0

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
Abbildungsverzeichnis	6
1. Einleitung.....	7
2. Der Stand der Wissenschaft.....	9
2.1 <i>Der Aufbau des Magens.....</i>	9
2.1.1 Anatomischer Aufbau des Magens	9
2.1.2 Histologischer Aufbau des Magens.....	10
2.1.3 Aufbau der Corpusdrüsen und zelluläre Zusammensetzung	12
2.1.4 Aufbau der Antrumdrüsen und zelluläre Zusammensetzung	13
2.2 <i>Entwicklung des Magens.....</i>	14
2.3 <i>Stammzelllokalisation und Signale im Darm.....</i>	17
2.4 <i>Die relevanten Signale im Magen</i>	19
2.4.1 Die Signalkaskade von Wnt zur Steuerung des Stammzellverhaltens	20
2.4.2 Die Wirkung von Hedgehog.....	21
2.4.3 Die Wirkung des Bone Morphogenetic Protein (BMP).....	23
2.4.4 Die Wirkung von Notch.....	25
2.4.5 Die Wirkung von Epidermal Growth Factor (EGF).....	27
2.5 <i>Offene Fragen zu den Stammzellen im Magen.....</i>	29
3. Material und Methoden.....	30
3.1 <i>Konzeptionelle Herangehensweise.....</i>	30
3.2 <i>Recherchemethoden, die zu den Ergebnissen dieser Arbeit führten.....</i>	30
3.3 <i>Überlegungen, die zu den Fokuspunkten der Arbeit geführt haben.....</i>	31
4. Ergebnisse.....	32
4.1 <i>Stammzellen und deren Marker, die im Magen beschrieben wurden</i>	32
4.1.1 Der potentielle Stammzellmarker Lgr5.....	32
4.1.2 Der potentielle Stammzellmarker Mist1	36
4.1.3 Der potentielle Stammzellmarker Sox2.....	37
4.1.4 Der potentielle Stammzellmarker Bmi1	38
4.1.5 Der potentielle Stammzellmarker Lrig1	39
4.1.6 Der potentielle Stammzellmarker eR1	40
4.1.7 Der potentielle Stammzellmarker Cck2r.....	41
4.1.8 Der potentielle Stammzellmarker Troy.....	42
4.1.9 Der potentielle Stammzellmarker Axin2	43
4.2 <i>Das Bindegewebe des Magens als Stammzellnische</i>	44
4.2.1 Der Darm als Vorbild für den Magen.....	44
4.2.2 Signalstoffe und ihre mesenchymale Herkunft	47
4.3 <i>Die Stammzellnische im Epithel.....</i>	52
4.3.1 Der Darm als Vorbild	52
4.3.2 Kandidatenzellen für Nischenbeteiligung im Magenepithel.....	54
5. Diskussion.....	59

<i>5.1 Was sind die tatsächlichen Stammzellmarker unter physiologischen Bedingungen und welche zeigen eine erhöhte Wahrscheinlichkeit von Überschneidung oder Coexpression?</i>	59
<i>5.2 Was bildet tatsächlich die Stammzellnische für die Stammzellen in Antrum und Corpus – bindegewebige Faktoren und epitheliale Faktoren</i>	72
<i>5.3 Einordnung der Forschungsergebnisse aus murinen Versuchen und Organoidversuchen</i>	75
6. Zusammenfassung	77
Literaturverzeichnis	78

Abkürzungsverzeichnis

BMP	Bone Morphogenetic Protein
CBCs	Crypt based columnar cells
DGC	Diffuse-type gastric cancer
DLL	Delta Like Ligand
DVL	Dishevelled
EphB	EphrinB-Ligand
EphBR	EphrinB-Rezeptor
GLI2	Zinc finger transcription factor
Grem1	Gremlin1
ILCs	Innate lymphoid cells
LRP5/6	Low-density lipoprotein receptor-related protein 5/6
Lrig1	Leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domains 1
MSC	Mesenchymal stem cells
Muc 5ac/6	Muzin 5ac/6
NECD	extrazelluläre Domäne des Notch-Rezeptors
NICD	intrazelluläre Domäne des Notch-Rezeptors
NRG	Neuregulin
PTCH	Patched Rezeptor
Rspo	R-Spondin
SMO	Smoothened
SPEM	Spasmolytic polypeptide-expressing metaplasia
TACs	Transient amplifying cells
TCF	T-cell factor
Tff2	Trefoil factor
TM	Transmembrandomäne

Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1 Der anatomische Aufbau des Magens
- Abb. 2 Der histologische Aufbau des Magens
- Abb. 3 Der Aufbau der Magendrüsen
- Abb. 4 Die Entwicklung des Magens der Maus
- Abb. 5 Die Intestinale Krypte: die Stammzellnische
- Abb. 6 Die Wnt-Signaltransduktion
- Abb. 7 Die Hedgehog-Signaltransduktion
- Abb. 8 Die BMP-Signatransduktion
- Abb. 9 Die Notch-Signaltransduktion
- Abb. 10 Die EGF-Signaltransduktion
- Abb. 11 Die Aktivierung von SPEM
- Abb. 12 Das Bindegewebe der Darmmukosa
- Abb. 13 Der Gradient von EGF, Noggin und BMP in einer Corpusdrüse
- Abb. 14 Entwicklung verschiedener Metaplasien oder Krebsarten ausgehend von Mist1⁺ Stammzellen
- Abb. 15 Die Parietalzelle als physische Barriere
- Abb. 16 Die Rspas im Drüsenepithel
- Abb. 17 Die Drüse des Antrums und ihre Stammzellen
- Abb. 18 Die Drüse des Corpus und ihre Stammzellen
- Abb. 19 Zusammenfassende Darstellung der Stammzellorganisation in Antrum und Corpus

1. Einleitung

Die allermeisten Organe des Körpers erfordern im Verlauf des Lebens die Erneuerung oder Regeneration verschiedener Gewebe, um funktionstüchtig zu bleiben. Damit diese Funktionstüchtigkeit erhalten werden kann, benötigen solche Organe Zellen, die alte Zellen erneuern oder beschädigte Zellen ersetzen können. Diese Rolle wird von adulten Stammzellen der spezifischen Gewebe übernommen.

Stammzellen sind mitotisch aktive Zellen, die sich selbst erhalten können. Zudem sind sie in der Lage Zellen hervorzubringen, welche zu spezifischen postmitotischen Zellen des Gewebes ihres Ursprungs differenzieren können. Postmitotische Zellen besitzen unter physiologischen Bedingungen nicht mehr die Fähigkeit sich zu teilen und können deshalb nur von Stammzellen ersetzt werden. Stammzellen im adulten Gewebe werden in zwei Klassen eingeteilt. Multipotente Stammzellen bringen verschiedene differenzierte postmitotische Zellen innerhalb eines Gewebes hervor. Ein Beispiel dafür sind die Stammzellen in den Kryptenböden im Dünndarm. Unipotente Stammzellen bringen hingegen nur eine Art differenzierter postmitotischer Zellen hervor, wie etwa die Spermatogonien nur Spermien hervorbringen. Das Verhalten der Stammzellen und ihrer Nachkommen, ob sie sich teilen oder ruhen oder ob ihre Nachkommen terminal differenzieren und zu welchem Zelltyp, wird von der Stammzellnische gesteuert.

Die Nische wird gebildet von der physischen und biochemischen Umgebung der Stammzelle. Die Lage einer Stammzelle ist in einem Epithel an eine Basallamina gebunden und die Stammzelle wird von ihren Nachbarzellen an ihrem Platz gehalten. Zell-Zell-Kontakte, parakrin oder endokrin sezernierte Signalstoffe können das Verhalten der Stammzelle beeinflussen und die Zellen, deren Signale die Stammzelle zur Teilung leiten oder diese verzögern, sind ebenfalls ein wichtiger Teil der Nische und werden generell als Nischenzellen bezeichnet.

Ein Verständnis von Stammzellen und ihren Nischen ist essentiell für das Verständnis eines Gewebes und übergeordnet für das Verständnis des Organerhaltes. Entartungen der Stammzellen aufgrund von Alter oder Umwelt geschuldeter Mutation können mit Verständnis des physiologischen Zustandes, also dem gesunden Zustand, besser nachvollzogen werden und potentiell in der regenerativen Medizin genutzt werden.

Stammzellen können anhand von Markern, bestimmten Molekülen, die sie exklusiv ausprägen, erkannt und beobachtet werden. Mit Hilfe solcher Marker können Stammzellen über einen längeren Zeitraum verfolgt werden und durch eine immunhistochemische Anfärbung des Markers lassen sich darüber die Stammzellen und ihre Nachfolger im histologischen Präparat sichtbar machen.

Eine wichtige Forschungsmethode um epitheliale Stammzellen zu identifizieren ist die Arbeit mit Organoidkulturen. Organoide sind blasenartige epitheliale Zellverbände, die von einer einzigen Stammzelle unter den richtigen Kulturbedingungen und Medien hervorgebracht werden können. Sie spiegeln dabei das Epithel mit allen differenzierten Zellen ihres Ursprungsgewebes wider und eignen sich damit sehr gut zur Erforschung von Epithelien ohne ein Versuchstier zur Untersuchung töten zu müssen. Auf diese Art und Weise kann man isolierte Zellen darauf testen, ob sie die Eigenschaften von Stammzellen besitzen. Die Fähigkeit Organoide hervorzubringen ist also ein guter Ansatz eine bestimmte Zelle als potentielle Stammzelle in Betracht zu ziehen.

Ziel dieser Doktorarbeit ist es, herauszustellen welche Marker Stammzellen im Magenepithel markieren und welche Zellen und Signalstoffe Teil ihrer Nische sind, um daraus ein Modell des Gewebeerhalts und der Stammzellnische zu entwickeln.

2. Der Stand der Wissenschaft

2.1 Der Aufbau des Magens

2.1.1 Anatomischer Aufbau des Magens

Der Magen ist aufgeteilt in fünf Regionen mit teilweise unterschiedlichen strukturellen und funktionellen Eigenschaften. Oral am Eingang des Magens ist der Bereich der Cardia. Oberhalb der Cardia befindet sich die Region des Fundus und darunter entlang der großen und kleinen Krümmung der Corpus. Corpus und Fundus ähneln sich sehr in ihrer Struktur und werden deshalb in dieser Arbeit unter dem Begriff Corpus zusammengefasst. Der Magenausgang aboral ist die Region des Pylorus mit dem davor befindlichen Antrum, welche ebenfalls ähnliche Strukturen zeigen und deshalb unter dem Begriff Antrum hier zusammengefasst werden.

Interessant sind aufgrund ihrer starken Unterscheidungsmerkmale Antrum und Corpus, welche auch gemeinsam einen Großteil der Magenoberfläche einnehmen. Da über die Cardia wenig bekannt ist bezüglich ihres Selbsterhalts und regenerativen Kapazität und da sie einen nur kleinen Teil der Magenoberfläche einnimmt, wird sie in dieser Arbeit nicht näher in Betracht gezogen.

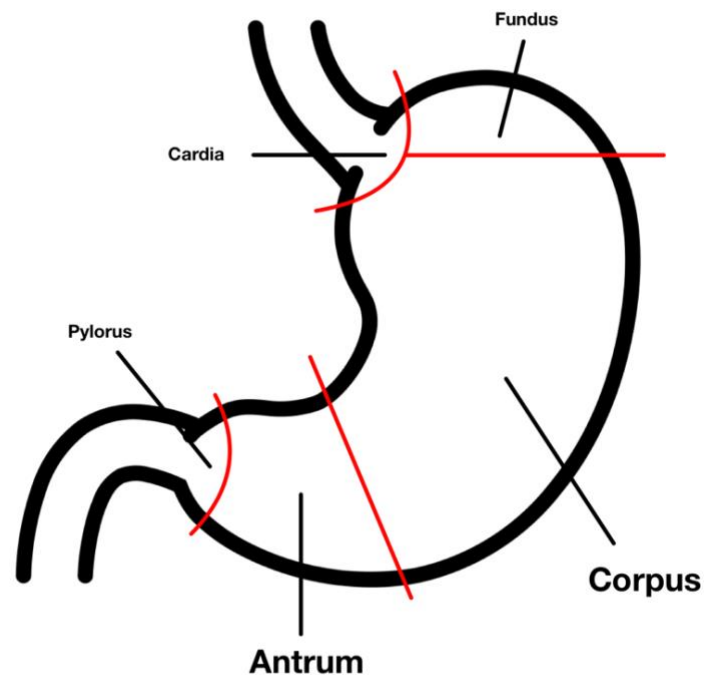


Abb. 1 Anatomischer Aufbau des Magens

Gezeigt ist eine schematische Darstellung des Magens in seiner Längsachse mit Anschnitten des Oesophagus oral und Duodenums aboral. Die roten Linien teilen den Magen in seine unterschiedlichen Regionen auf Cardia, Fundus, Corpus Antrum und Pylorus. Wegen der großen Fläche, die die Gebiete Antrum/Pylorus und Corpus/Fundus einnehmen, werden nur sie betrachtet und die Region Cardia vernachlässigt.

2.1.2 Histologischer Aufbau des Magens

Die Magenwand lässt sich in histologisch unterscheidbare Abschnitte unterteilen, die unterschiedliche Gewebetypen zeigen wie Epithel, Bindegewebe und glatte Muskulatur. Die Grenze zu dem Lumen wird durch die Tunica mucosa gezogen. Die Tunica mucosa wird selbst in drei Schichten unterteilt. Am weitesten zu dem Lumen hin liegend hat man die Lamina epithelialis mit einem einschichtigen hochprismatischem Epithel. Das Epithel ist eingestülpt und bildet dadurch Drüsen. Diese Drüsen werden grundsätzlich in Foveola, Isthmus, Hals und Drüsenboden aufgeteilt. Corpus und Antrum unterscheiden sich trotz des generell gleichbleibenden Drüsenaufbaus in Länge und Verästelung, sowie im Vorkommen verschiedener Zelltypen.

Das einschichtige Epithel liegt einer Basallamina auf. Unterhalb der Basallamina befindet sich die bindegewebige Lamina propria, welche Gefäße enthält, die das umliegende Gewebe versorgen. Darunter liegt eine dünne Schicht glatte Muskulatur, die Lamina muscularis mucosae.

Letztere trennt die Tunica mucosa histologisch von der Tela submucosa, einer Bindegewebsschicht mit größeren Gefäßen und Nerven.

An die Tela submucosa grenzt wiederum die Tunica muscularis mit verschieden orientierten Schichten glatter Muskulatur an, welche dem Magen eine eigene Peristaltik verleiht.

Umhüllt ist der gesamte Magen von einer ebenfalls bindegewebigen Tela subserosa. Das Stroma in dieser Schicht ist im Vergleich lockerer als das in der Tela submucosa. Unterhalb der Tela subserosa liegt eine Schicht Mesothel des Peritoneums, welches den gesamten Magen einhüllt.

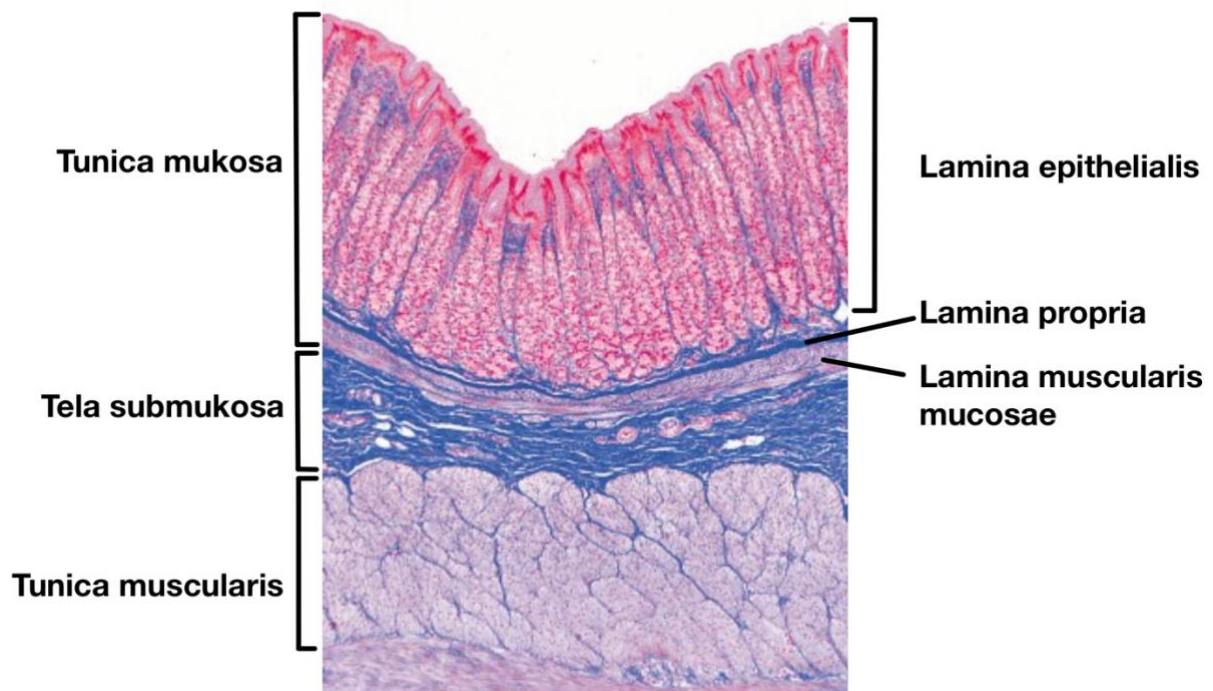


Abb. 2 Histologischer Aufbau des Magens

(LMS Lehrmittel-Service H.Spät GmbH)

Zu sehen ist der Wandaufbau des Magens anhand eines histologischen Präparats in der Azan-Färbung. Die einzelnen Schichten der Magenwand sind links (A) beschriftet und die Tunica mucosa ist rechts (B) nochmals unterteilt in ihre drei Laminae. Die Lamina epithelialis nimmt dabei den größten Teil ein, allerdings sind zwischen den Drüsen Bindegewebeinzüge der Lamina propria. Unter den beiden Laminae liegt die Lamina muscularis mucosae.

2.1.3 Aufbau der Corpusdrüsen und zelluläre Zusammensetzung

Das Epithel des Corpus hat an der Oberfläche Epithelzellen, welche Muzine vom Typ Muc5ac sezernieren, die den Schleimteppich bilden als Schutzschicht vor dem pH-niedrigen Magensaft und Keimen. Diese Zellen werden im Folgenden als Oberflächenmukuszellen bezeichnet. Das Oberflächenepithel zieht sich hinab in die Foveola. Die Foveola ist eine Einstülpung des Epithels, die oben breiter und unten enger wird. Die Stelle, an der es eng wird, nennt man den Isthmus, wo der eigentliche Drüsenausgang liegt.

Man geht laut Standardlehrbuch davon aus, dass sich im Isthmus ein Stammzellreservoir befindet, da dort bei elektronenmikroskopischer Untersuchung granulafreie Zellen beobachtet wurden, die scheinbar keine Funktion hatten außer der Fähigkeit zur Mitose (Karam und Leblond, 1993a). Andere Zellen der Drüse wiesen Granula gefüllt mit Sekreten auf oder Membraneinstülpungen, die sogenannten Canaliculi, weshalb die vermuteten Stammzellen durch ein Fehlen solcher Strukturen herausstachen und respektiv so interpretiert wurden.

Entlang des Drüsenhalses sitzen überwiegend die Canaliculi zeigenden Parietalzellen, welche für die Sekretion des sauren Magensaftes zuständig sind. Neben den Parietalzellen befinden sich auch noch Nebenzellen, welche das Muc6 Muzin sezernieren und deshalb von hier an Halsmukuszellen genannt werden. Zudem finden sich vereinzelt enteroendokrine Zellen im Drüsenhals.

Am Drüsenboden sind vereinzelt sowohl Parietal- als auch enteroendokrine Zellen angesiedelt (Bartfeld und Koo 2017). Überwiegend befinden sich dort aber Hauptzellen, welche Magenlipase und Pepsinogene sezernieren (Arnold et al. 2011).

2.1.4 Aufbau der Antrumdrüsen und zelluläre Zusammensetzung

Das Antrum hat ebenso wie der Corpus an der Oberfläche Mukus sezernierende Epithelzellen mit Mikrovilli, welche auch in der Foveola sitzen. Im Verhältnis zum Corpus sind im Antrum die Foveolae länger, dafür aber die Drüsenhalse kürzer. Insgesamt sind die Antrumdrüsen um einiges kürzer als die Corpusdrüsen in ihrer Länge.

In dem kurzen Drüsenhals einer Antrumdrüse sind enteroendokrine Zellen wie G-Zellen oder D-Zellen zu finden, sowie Parietalzellen und Halsmukuszellen. G-Zellen sezernieren Gastrin, welches sie auf ein Acetylcholin-vermitteltes Signal von dem enterischem Nervensystem oder einer Substanz im Magenumen in das Blut abgeben. Auf diesem Weg gelangt Gastrin zu ECL-Zellen oder Parietalzellen. In ECL-Zellen bewirkt Gastrin die Freisetzung von Histamin, welches wiederum die Parietalzellen stimuliert Magensäure freizusetzen. Gastrin kann auch direkt die Parietalzellen zur Säurefreisetzung anregen, jedoch führt der Weg über die ECL-Zellen zu potenterer Stimulation. D-Zellen können Somatostatin sezernieren, ein inhibitorisches Signal für die Gastrin sezernierende Aktivität von G-Zellen (illustriert im Lehrbuch von Frau Lüllmann-Rauch).

D-Zellen und G-Zellen steuern also gemeinsam antagonistisch die Säureausschüttung der Parietalzellen und damit die Azidität des Magensaftes.

Am Drüsenboden findet man wie im Corpus Hauptzellen, die hier auch vermutete Stammzellen sind (Bartfeld und Koo 2017), worauf im Folgenden ausführlich eingegangen wird.

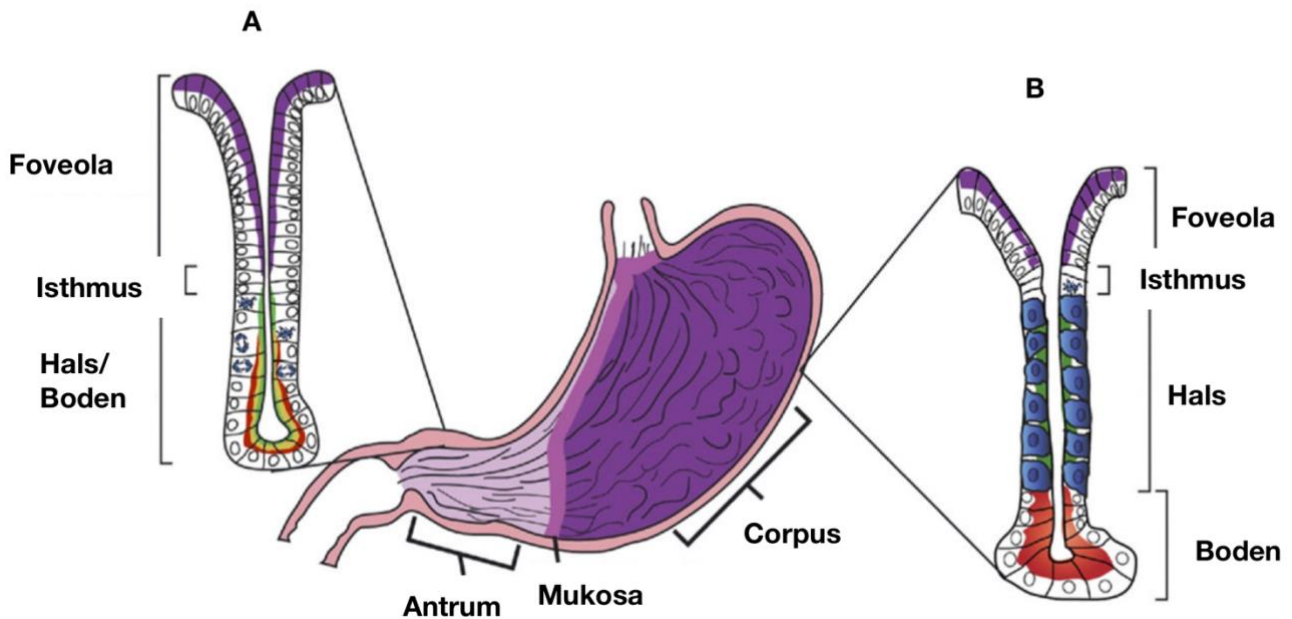


Abb. 3 Aufbau der Magendrüsen

(Adaptiert nach Mills und Shivdasani 2011)

Links sieht man ein Modell einer Antrumdrüse (A) und rechts einer Corpusdrüse (B). In der Mitte zwischen den beiden Drüsen sieht man eine Abbildung des Magens, die unterteilt ist in Antrum und Corpus. Die Drüse des Antrums (A) hat eine längere Foveola und einen kürzeren Hals und Boden als die Corpusdrüse (B). Oberflächenmukuszellen werden hier dargestellt mit lila apikalen Zelloberfläche. Teilungsaktive Zellen sind gekennzeichnet durch kompaktes Chromatin in blau und einen aufgelösten Zellkern. Parietalzellen sind blau dargestellt (B) und enteroendokrine Zellen mit apikaler rot-gelb-grüner Streifung (A). Am Drüsenboden sind in A und B Hauptzellen mit apikal roter Färbung dargestellt.

2.2 Entwicklung des Magens

In der embryonalen Entwicklung bilden sich während der Gastrulation die drei Keimblätter heraus; das Ektoderm, Mesoderm und Endoderm. Für die Entstehung des Verdauungstrakts sind besonders Endoderm und Mesoderm wichtig. Zwei der Keimblätter stülpen sich um das Endoderm herum und bilden dadurch einen Schlauch, bei dem im Querschnitt das Endoderm innen und das Ektoderm außen liegt. Das Magenepithel, also die Magendrüsen, entwickelt sich aus dem Endoderm. Das unmittelbar darunter liegende Gewebe, wie Lamina propria und Lamina muscularis mucosae, entwickelt sich aus dem Mesoderm.

Im Verlauf der embryonalen Entwicklung teilen sich Mesoderm und Endoderm entlang der anterior-posterioren Körperachse in drei Abschnitte, den Vorderdarm, Mitteldarm und Hinterdarm auf. Entlang dieser longitudinalen Achse von oral zu aboral erfolgt die Spezialisierung der Abschnitte, welche durch die Spezifizierung und Expression von

Transkriptionsfaktoren definiert sind. Die Spezialisierung der Abschnitte des Darmrohrs führt zur Differenzierung der Mukosa und damit zum charakteristischen Aufbau der entscheidenden Mukosabereiche.

Der Vorderdarm teilt sich in gemeinsam entwickelnde Bereiche auf. Der Magen entwickelt sich dabei gemeinsam mit dem Oesophagus und dem oralem Anteil des Duodenums.

Der Prozess der Abgrenzung des Magenepithels zum Oesophagusepithel ist entwicklungsgeschichtlich noch nicht ausreichend erforscht (McCracken und Wells 2017).

Die Abgrenzung zum Duodenum ist dagegen klarer verstanden, da zwischen Magen und Duodenum in der Entwicklung ein Übergang von Vorderdarm zu Mitteldarm ist und somit eine klare Grenze gezogen wird. Das eindeutige Unterscheidungsmerkmal hierbei ist die Ausprägung des Transkriptionsfaktors Sox2 im Magen- und Oesophagusepithel und die Ausprägung von Cdx2 im Darmepithel (Mills und Shivdasani 2011). Diese Transkriptionsfaktoren sorgen damit für die Transkription ihrer Zielgene, was zu unterschiedlichen Spezialisierungen und entsprechend differenzierten Epithelien führt. Im Magen führen sie zur Bildung von Drüsen und im Darm zur Entstehung von Villi und Krypten. Zusätzlich reguliert Barx1, ein weiterer Transkriptionsfaktor aus dem Mesoderm, die Wnt-Expression im Endoderm.

Die Wnt-Expression steuert die Darmentwicklung und wird deshalb von Barx1 im Magen unterdrückt (Bartfeld und Koo 2017). BMP treibt ebenfalls aus dem Mesoderm die Entwicklung des glandulären Magens in Mäusen voran, was auch beim Menschen die Abgrenzung zum Oesophagus nahelegt (Kim und Shivdasani 2016). Im Magen der Maus gibt es den „*Forestomach*“ (übersetzt zu Vormagen), den es im Menschen nicht gibt, jedoch findet man im murinen Vormagen mehrschichtiges Plattenepithel wie im Oesophagus. BMP ist das entscheidende Signal für die Differenzierung des Drüsenepithels im Mäusecorpus und Noggin inhibiert das BMP-Signal im Plattenepithel des Vormagens. Die molekulare Spezifizierung und Abgrenzung von Mäusecorpus zu Vormagen könnten also analog zur Grenze zwischen Magen und Oesophagus in der humanen Entwicklung sein (siehe Abb. 4).

Eine ganze Reihe von Wachstumsfaktoren ist für die geordnete Differenzierung des Darmrohres also verantwortlich und essentiell. Man kann annehmen, dass die Prozesse, die zur Entstehung der Organe des Darmrohres in der Entwicklung beitragen möglicherweise auch im adulten Gewebe zur Aufrechterhaltung beitragen.

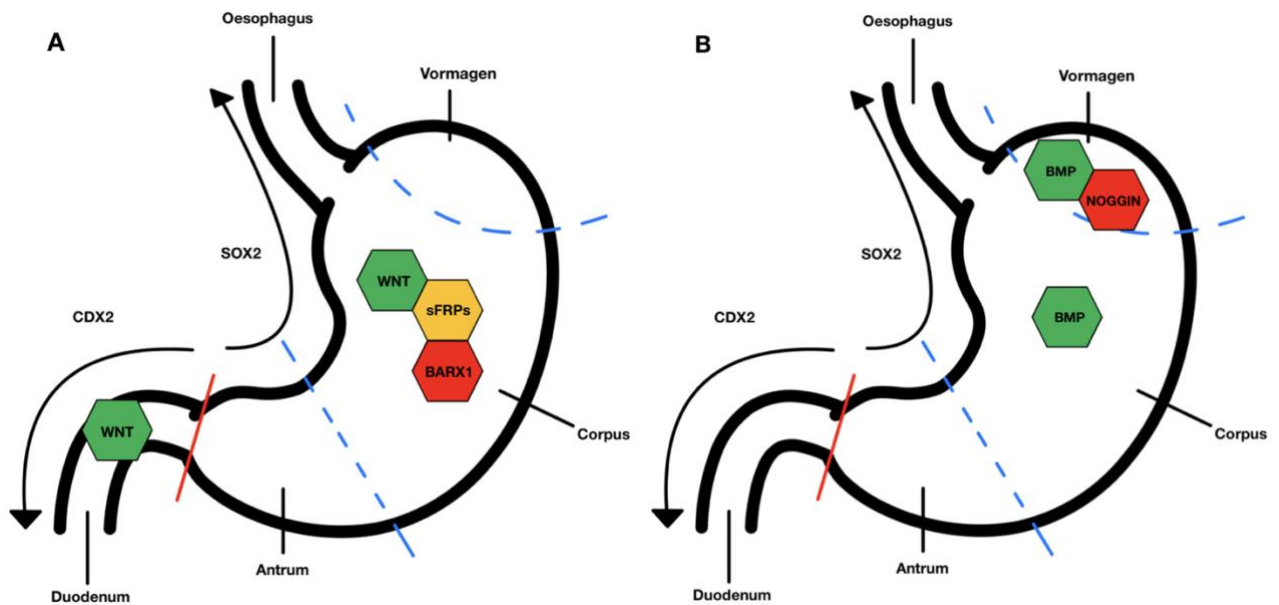


Abb. 4 Entwicklung des Magens der Maus

(inspiriert von Mills und Shivdasani 2011)

A zeigt eine schematische Darstellung des Magens der Maus zum Zeitpunkt E13. B zeigt die schematische Darstellung eines Mäusemagens einer neugeborenen Maus. In A sieht man, dass Wnt im $CDX2^+$ Darmabschnitt wirken kann, während es im $SOX2^+$ Magen indirekt von BARX1 über sFRPs gehemmt wird. A zeigt somit die Signalkaskade die wichtig ist für die Differenzierung zwischen Magen und Duodenum. B zeigt, dass BMP im Corpus wirkt und im Vormagen von NOGGIN gehemmt wird. Die Hemmung von BMP ist der Grund für die Ausprägung von Plattenepithel im Vormagen im Vergleich zu Drüsenepithel im Corpus. Grüne Signale stellen in dieser Abbildung aktivierende Signale dar, während rote Signale Deaktivierung symbolisieren. Gelb steht für den Mediator der Deaktivierung. Die schwarzen Pfeile zeigen an, dass oberhalb der Grenze zwischen Magen und Duodenum (rote Linie) SOX2 ausgeprägt wird und unterhalb CDX2. Die blauen gestrichelten Linien zeigen die Abgrenzung der Magenregionen an, die hier aufgeführt sind.

2.3 Stammzelllokalisierung und Signale im Darm

Da das Feld der Stammzellen im Magen noch vergleichsweise wenig erforscht ist, ist es hilfreich das Stammzellsystem und das umliegende Gewebe des Darmepithels zu betrachten, welches sehr gut erforscht ist und einige konzeptionelle Parallelen zum Magen zeigt. Entdeckungen aus dem Darm könnten auch im Magen gelten, weshalb Wissen aus dem Darm Fragen im Magen beantworten könnte. Der Darm besitzt ebenso wie der Magen eine Tunica mucosa mit einschichtigem hochprismatischem Epithel, welche aber anders gestaltet ist als die des Magens. Während sich im Magen von der Oberfläche in die Tiefe gehende Einstülpungen, die Drüsen, befinden, liegt in der Darmmukosa ein anderes Muster vor. Dort sind lange fingerförmige Ausstülpungen, die Villi, umringt von kürzeren Einstülpungen, den Krypten.

Auf dem Villus befinden sich postmitotische Zellen wie Becherzellen und Enterozyten. Weiter unten an der Villusbasis und dem Kryptenausgang findet man sogenannte Tuft cells und enteroendokrine Zellen (Clevers 2013).

Die Stammzellen im Darm liegen am Boden der Krypten, eingebettet zwischen Paneth-Körnerzellen. Die Stammzellen des Darms sind durch das Gen *Lgr5* markiert (Clevers, Loh und Nusse 2014). Um die Position einzelner Zellen im Kryptenboden genauer zu beschreiben, wird ein numerisches System genutzt, wobei die mittig liegenden Zellen als +1 beschrieben werden. Von diesen Zellen aus wird in Richtung des Lumens weiter durchgezählt, was in Abb. 5 am modellhaften Aufbau einer Krypte leicht zu verstehen ist.

Im Darm ist die Krypte die Stammzellnische und die gesamte Geweberneuerung geht von dort aus. Beeinflusst wird die Proliferation der dort ansässigen Stammzellen von verschiedenen Faktoren. Ein zentraler Faktor ist *Wnt*, der von den Paneth-Körnerzellen sezerniert wird. *Wnt3a* ist das Proliferationssignal für die Stammzellen und eines von 19 bekannten Molekülen der

Wnt-Genfamilie (Kim et al. 2020). Obwohl das *Wnt*-Signal wichtig für die Proliferation der Stammzellen ist, ist es nicht der allein entscheidende Faktor für das Schicksal der Tochterzellen.

Die physische Bindung zur Paneth-Körnerzelle ist entscheidend, da auf ihrer Oberfläche Notch-Liganden ausgebildet sind. Über den Kontakt zum Notch-Rezeptor auf der Stammzelle wird ein Verbleib als Stammzelle signalisiert (Clevers 2013).

Die *Lgr5*⁺ Stammzellen am Kryptenboden teilen sich symmetrisch, wobei beide Töchter entweder zu „*Transit Amplifying Cells*“ (TACs) werden, wenn kein Notch-Kontakt mehr besteht, oder als Stammzellen verbleiben, wenn der Notch-Kontakt nach der Zellteilung weiterhin besteht. TACs sind Stammzellnachkommen, die weiterhin die Fähigkeit besitzen sich zu teilen auf dem Weg zur terminalen Differenzierung, jedoch erhalten sie sich nicht

selbst. Wnt aus Paneth-Körnerzellen ist nicht so essentiell für die Stammzellen wie Notch, da Paneth-Körnerzellen nicht die einzige Quelle von Wnt sind, denn auch Telozyten, der Basallamina auf der Bindegewebsseite anliegende flache Zellen mit langen Zellfortsätzen, sezernieren Wnt (Kim et al. 2020). Zu diesen Wnts gehört unter anderem Wnt2b (Toader et al., 2019), welches ebenso wie Wnt3a ein proliferativ wirkendes kanonisches Wnt-Signal ist. Das Wnt-Signal ist also redundant an der Darmkrypte und deshalb sind die Paneth-Körnerzellen essentiell in Bezug auf die Exposition des Notch-Signals, aber nicht des Wnt-Signals (Clevers 2013).

Nicht nur der Kontakt zur Paneth-Körnerzelle ist ein Differenzierungsdeterminant, sondern auch die Wirkung eines BMP-Signals. BMP wird im Bindegewebe unterhalb des Epithels in der Lamina propria hergestellt und wirkt differenzierend auf die Stammzellen, dementsprechend ist es stärker vertreten außerhalb der Nische. Im Bindegewebe um die Krypte herum wird aus diesem Grund zusätzlich BMP-Inhibitor produziert, was eine erweiterte Regulation des Stammzellschicksals ermöglicht (Clevers 2013), da dieser Inhibitor Stammzellen vor der differenzierenden Wirkung des BMP-Signals schützt.

Diese Kenntnisse der Organisation der Stammzellnische im Darm sind wichtig und werden im späteren Verlauf dieser Arbeit auf den Magen übertragen bzw. verglichen, um einen Eindruck von der Organisation der Magenstammzellnische zu erlangen.

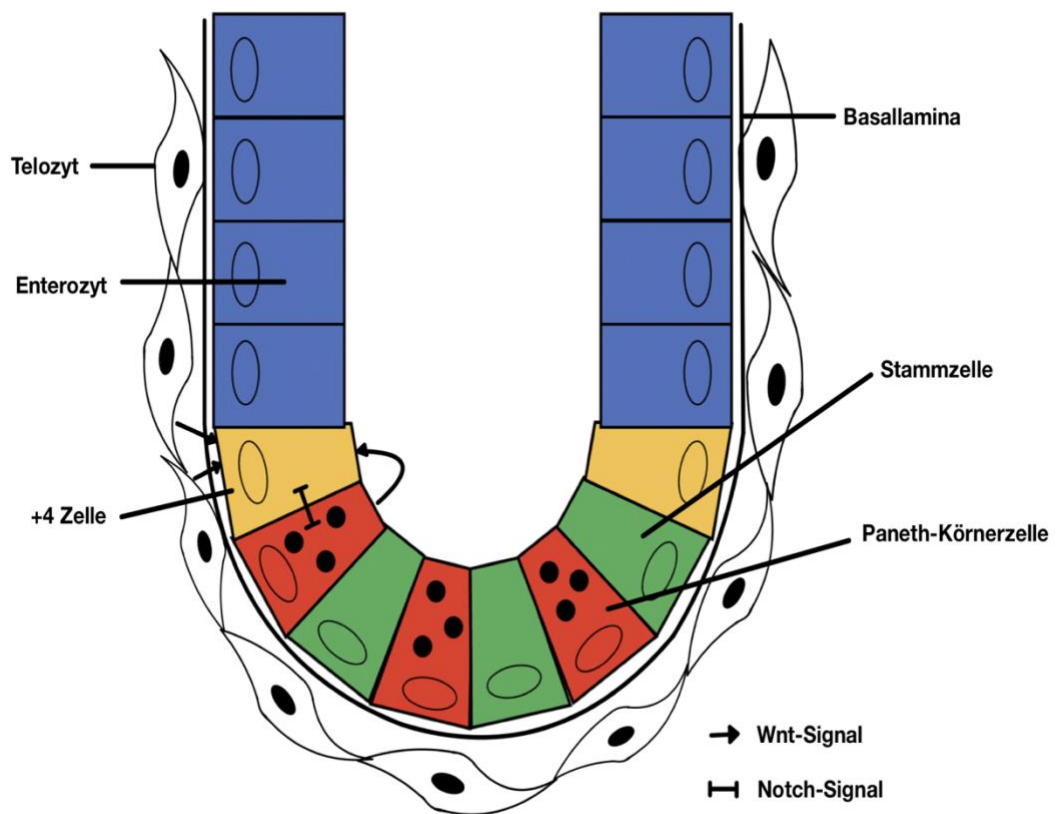


Abb. 5 Intestinale Krypte: Die Stammzellnische

(inspiriert von Clevers, Loh und Nusse 2014)

Abb. 5 zeigt eine schematische Darstellung einer Darmkrypte. Entlang der Krypte befinden sich Telozyten, welche u. a. Wnt sezernieren. Die blauen Zellen sind Enterozyten im terminalen Reifungsprozess und in Richtung der Villusspitze aufsteigen. Die gelben Zellen sind die äußersten Stammzellen der Nische an Position +4. Die roten Zellen sind Paneth-Körnerzellen, welche ebenfalls Wnt sezernieren und Notch-Liganden auf ihrer Zelloberfläche ausprägen, die an die Notch-Rezeptoren der Stammzellen binden können. Die grünen Zellen sind die Stammzellen in der Krypte. Das Epithel liegt einer Basallamina auf (schwarze Linie).

2.4 Die relevanten Signale im Magen

Allen Signalwegen ist gemeinsam, dass sie durch einen Hauptliganden aktiviert werden. Zudem wird deren Aktivität agonisiert oder antagonisiert und auf diese Weise feinjustiert, wie das Signal wirken soll. Nachdem bereits mit Wnt, Notch und BMP herausgestellt wurde, welche Signale im Darm primär auf die Stammzellen wirken, werden hier Signale besprochen, welche im Magen für die Stammzellen eine wichtige Rolle spielen.

Dieser Vergleich eröffnet die Möglichkeit Parallelen zwischen den beiden Organen zu erkennen, die in Kapitel 4 beschrieben und in Kapitel 5 diskutiert werden.

2.4.1 Die Signalkaskade von Wnt zur Steuerung des Stammzellverhaltens

Das kanonische Wnt-Signal führt in Stammzellen zur Zellteilung. Die Wnt-Rezeptor-Bindung an der Plasmamembran initiiert intrazellulär eine β -catenin-Signalkaskade, welche zur Translation der Wnt-Zielgene führt (Clevers, Loh und Nusse 2014). Im menschlichen Körper wurden bisher 19 Wnt-Liganden gefunden. Drei dieser Liganden sind im Magen beschrieben und dort vermutlich relevant. Einerseits findet man den kanonischen Wnt-Liganden Wnt3a (Hayakawa et al., 2015), im Intestinum wird in der Lamina propria Wnt2b produziert, welches potentiell auch im Magen produziert werden dürfte (McCarthy, Kraiczy und Shivdasani, 2020) und andererseits das nicht-kanonische Wnt5a, welches auch in der Lamina propria produziert wird (Nienhüser et al., 2021).

Das Wnt-Signalmolekül wird extrazellulär von den Corezeptoren Frizzled und LRP5/6 gebunden (Abb 6.). Die Bindung des Wnts ist verantwortlich für die Aktivierung von DVL, welches die Phosphorylierung von β -catenin durch Axin stoppt. Bei fehlender Phosphorylierung reichert sich

β -catenin intrazellulär an und wandert in den Zellkern ein. Dort bildet β -catenin einen Komplex mit dem Transkriptionsfaktor TCF, der die Wnt-Zielgene transkribiert (Clevers, Loh und Nusse 2014). Das Wnt-Signal wird danach unterbunden durch den Znr3/Rnf43-Komplex, der sich wie die Wnt-Corezeptoren in der Zellmembran befindet.

Für ein länger bestehendes Wnt-Signal ist ein weiteres Signal erforderlich. Das Rspo-Signal wirkt agonistisch auf das Wnt-Signal, indem es mit dem Lgr5-Rezeptor an der Zellmembran einen Komplex bildet, der für den Abbau des Znr3/Rnf43-Komplexes sorgt (Kumar et al. 2014).

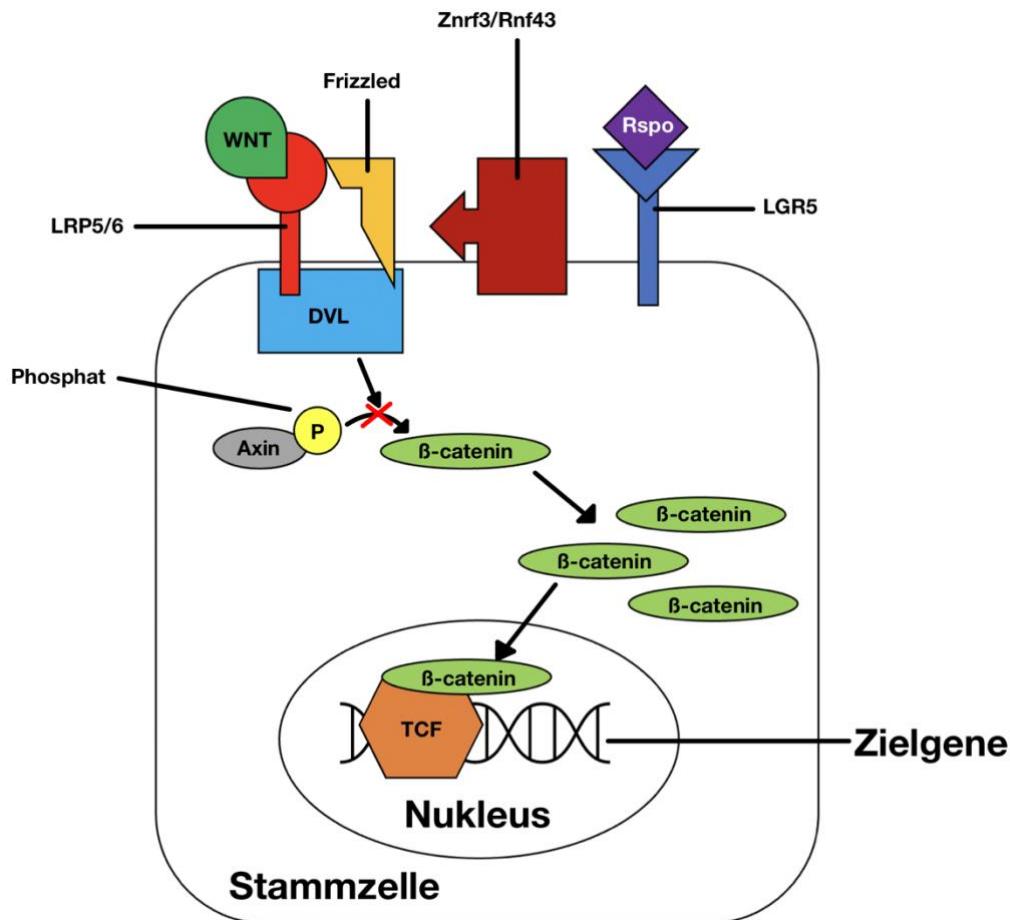


Abb. 6 Die Wnt-Signaltransduktion

(inspiriert von Clevers, Loh und Nusse, 2014)

Abbildung 6 zeigt die schematische Darstellung einer Zelle mit ihrem Zellkern.

In der Membran sitzen die Corezeptoren für das Wnt-Signal LRP5/6 und Frizzled.

Ebenfalls in der Membran verankert sind der inhibitorische Znr3/Rnf43-Komplex

und LGR5. Intrazellulär unterhalb der Corezeptoren befindet sich DVL, welches

nach Aktivierung die Phosphorylierung von β -catenin durch Axin beendet. β -catenin sammelt sich daraufhin im Zytoplasma an und transloziert in den Nukleus.

Im Nukleus bildet β -catenin einen Komplex mit TCF, welcher dann die Wnt-Zielgene

2.4.2 Die Wirkung von Hedgehog

Hedgehog ist ein Signal, welches abhängig von der Zielzelle an, die es bindet, das sowohl die Proliferation als auch die Differenzierung der Zielzelle fördern kann (Donnelly et al., 2014).

Das Hedgehog-Signal wird von seinen Liganden Sonic-Hedgehog, Indian-Hedgehog oder Dessert-Hedgehog übertragen. Diese Liganden binden an die PTCH 1 oder 2 auf der Zelloberfläche der Stammzelle, die sich teilen soll, oder der Vorläuferzelle, die differenzieren soll. Eine Bindung des Hedgehog-Liganden an den PTCH-Rezeptor bewirkt, dass die Hemmung von PTCH auf den 7-transmembranen Domänen Rezeptor Smoothened aufgehoben wird. Die Aktivierung von Smoothened ermöglicht die Dephosphorylierung des

Transkriptionsfaktors GLI2. Transkriptionsfaktoren sind Moleküle, welche die Transkription bestimmter DNA-Abschnitte regulieren. Die Dephosphorylierung von GLI2 ermöglicht die aktive Transkription der Hedgehog-Zielgene im Zellkern (Katoh und Katoh 2005).

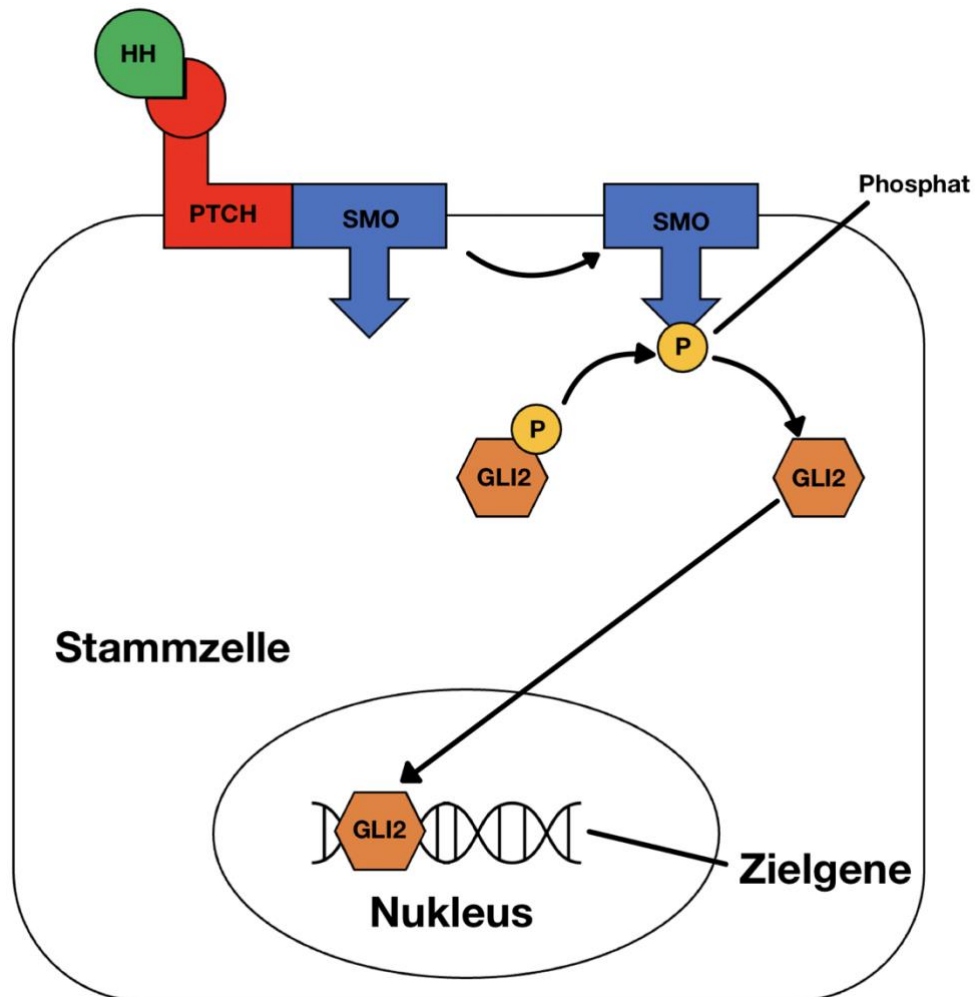


Abb. 7 Hedgehog-Signaltransduktion

(inspiriert von Katoh und Katoh 2005)

Abbildung 7 zeigt die schematische Darstellung einer Zelle mit einem Zellkern. In die Zellmembran sind der Hedgehog-Ligand bindende PTCH-Rezeptor und der daran gebundene Rezeptor Smoothened (SMO) integriert. Bei Hedgehog (HH)-Rezeptor-Bindung wird SMO aktiviert und dephosphoryliert GLI2. GLI2 transloziert daraufhin in den Nukleus, wo es die HH-Zielgene reguliert.

2.4.3 Die Wirkung des Bone Morphogenetic Protein

Das Bone Morphogenetic Protein-Signal (BMP) wirkt differenzierend auf Zellen. Dort, wo das BMP-Signal wirkt, können keine Stammzellen erhalten werden, es sei denn, das BMP-Signal wird von einem Antagonisten lokal gehemmt.

Das Signalmolekül BMP gehört zur TGF- β -Familie, welche an Serin-Threonin-Kinaserezeptoren Typ I und Typ II binden. Im menschlichen Körper kennt man zwölf unterschiedliche BMPs (Zhang und Que 2019). Um das Signal an die Zielzelle zu übertragen, bindet BMP an die

BMP-Rezeptoren I und II (BMPRI und BMPRII), welche für die Bindung des BMP an der Zellmembran zusammengeführt werden müssen. Mit dem Zusammenschluss der BMPRs wird BMPRI zweifach phosphoryliert. Die Bindung von BMP an die zusammengeführten Rezeptoren bedingt darauf die intrazelluläre Phosphorylierung von den Molekülen SMAD 1/5/8. Pro gebundenem BMP werden zwei SMAD 1/5/8 phosphoryliert. Diese phosphorylierten SMADs bilden nun einen Komplex mit dem unphosphorylierten SMAD 4.

Dieser SMAD-Komplex translokiert dann in den Nukleus, wo er für die Transkription der BMP-Zielgene verantwortlich ist (Zhang und Que, 2019).

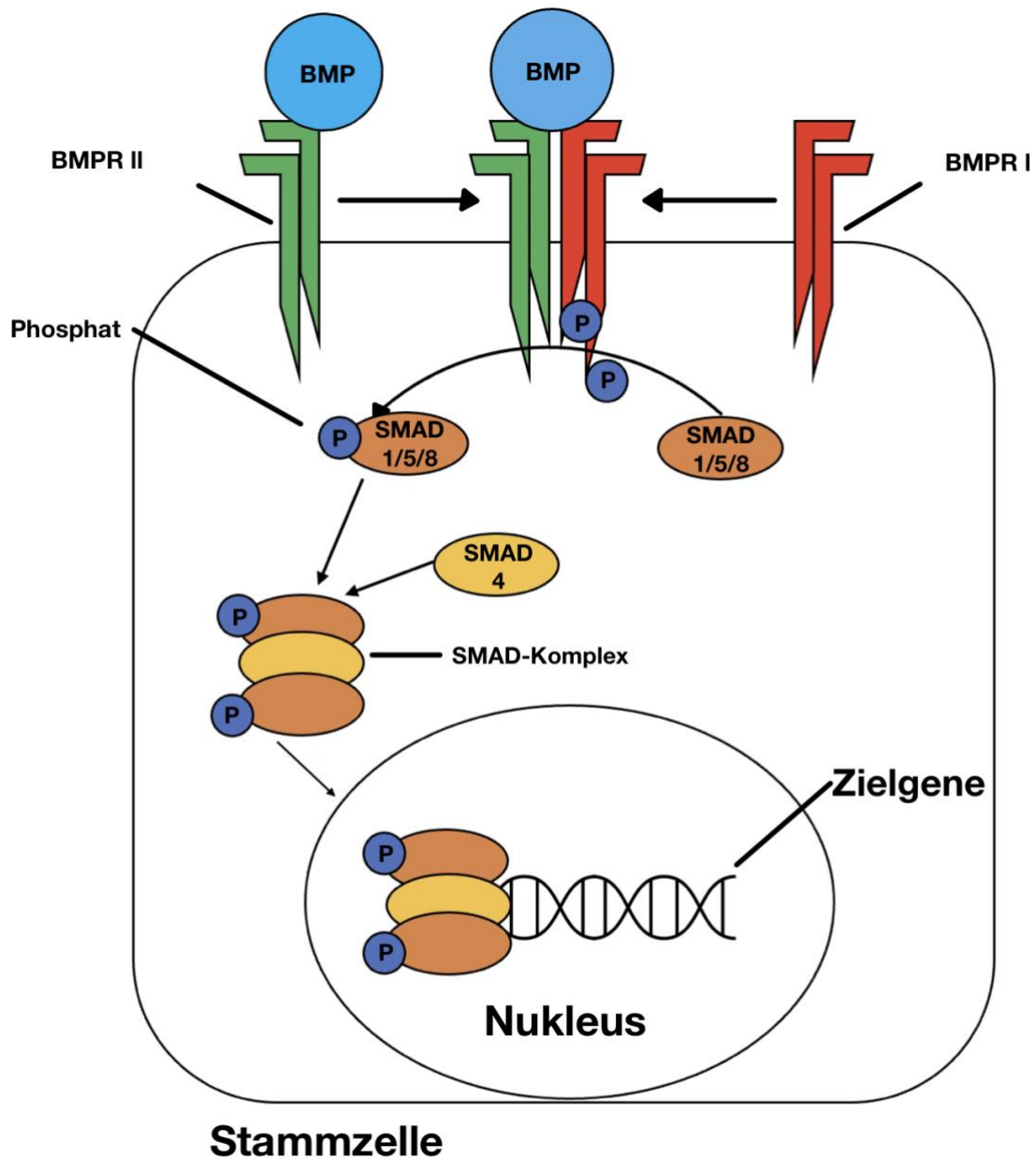


Abb. 8 BMP-Signaltransduktion

(inspiriert von Zhang und Que 2019)

Eine schematische Darstellung einer Zelle mit Nukleus ist gezeigt. In der Zellmembran sitzen die zwei verschiedenen BMP-Rezeptoren I und II, welche jeweils aus zwei Domänen bestehen. BMPR II bindet den BMP-Liganden und schließt sich darauf mit BMPR I zusammen. Bei Zusammenschluss der BMPRs werden die zwei SMAD 1/5/8 phosphoryliert. Die phosphorylierten SMADs bilden mit einem SMAD 4 einen Komplex, der in den Zellkern einwandert. Im Zellkern reguliert der SMAD-Komplex die Transkription der BMP-Zielgene.

2.4.4 Die Wirkung von Notch

Notch ist ein transmembranes Signalprotein, welches über Zell-Zell-Kontakt den Verbleib als Stammzelle, sowie deren Proliferation signalisiert (Bartfeld und Koo, 2017).

Das Notch-Signal kann über fünf mögliche Liganden an vier verschiedene Notch-Rezeptoren weitergegeben werden. Das besondere an Notch im Vergleich zu den bisher genannten Signalen ist, dass der Notch-Signal-Ligand ebenso wie der Rezeptor in die Plasmamembran integriert ist. Der Ligand ist in die Membran einer Nischenzelle der Stammzellnische integriert, während der Rezeptor in der Membran der Stammzelle integriert ist. Die Liganden des Notch-Signals sind die Proteine DLL1, DLL3, DLL4, Jag1 oder Jag2. Die Notch-Rezeptoren heißen Notch1 bis Notch4, wobei die beiden wichtigsten im Kontext dieser Arbeit Notch 1 und Notch 2 sind, da sie Notch-Signale im Magen übertragen (Demitrack und Samuelson, 2017).

Die Signalübertragung wird durch die Bindung des Notch-Liganden an die extrazelluläre Domäne des Notch-Rezeptors (NECD) initiiert. Auf diese Bindung folgt die erste proteolytische Spaltung, bei der NECD durch die Protease ADAM von der Transmembrandomäne des Notch-Rezeptors abgespalten wird. In der zweiten proteolytischen Spaltung wird die intrazelluläre Domäne des Notch-Rezeptors (NICD) durch die γ -Sekretase von der Transmembrandomäne abgetrennt. NICD transloziert darauf in den Zellkern, wo es einen Komplex mit MAML1 bildet. Dieser Komplex transkribiert die Zielgene des Notch-Signalweges (Takebe et al., 2015).

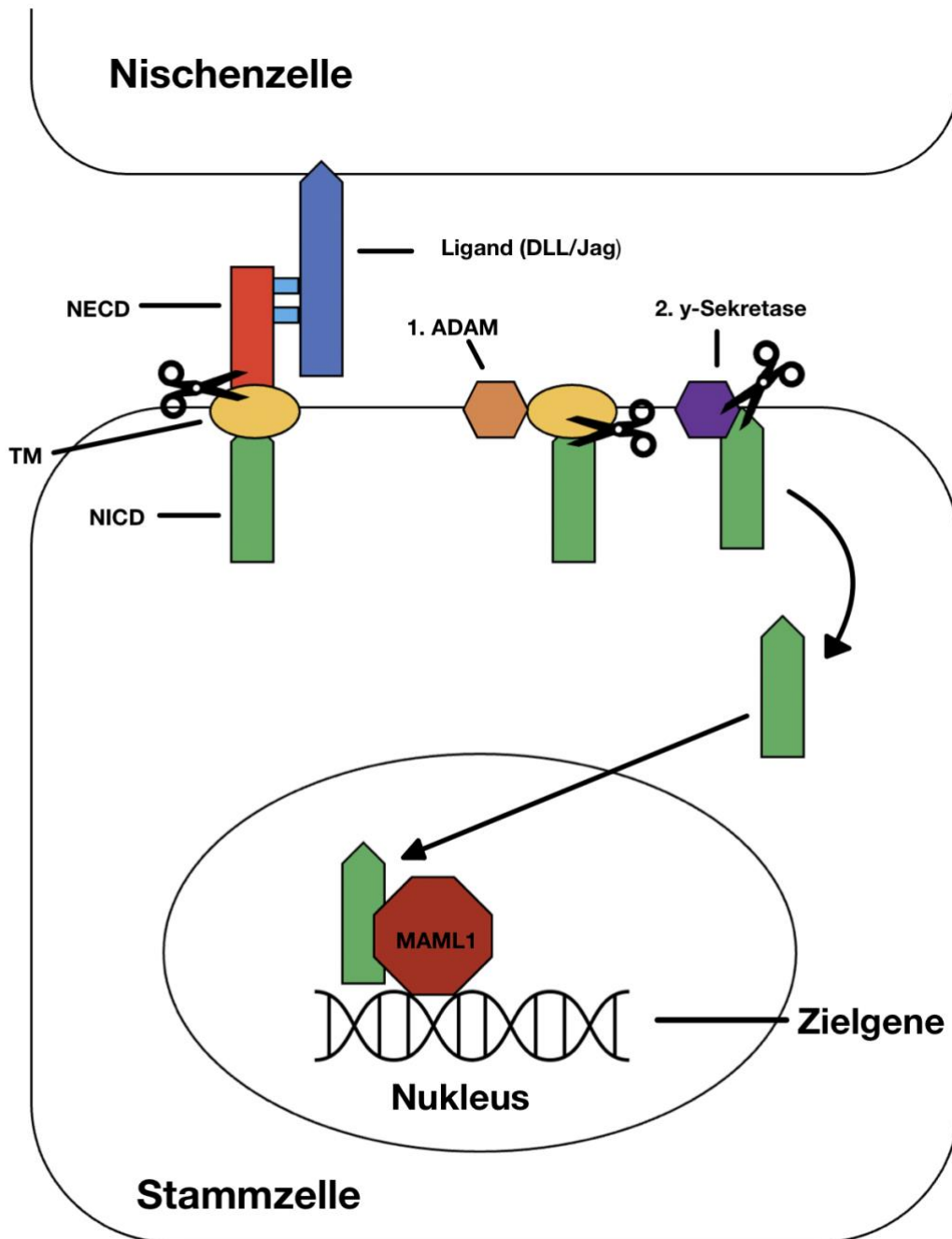


Abb. 9 Notch-Signaltransduktion

(inspiriert von Takebe et al. 2015)

Abbildung 9 zeigt die schematische Darstellung einer Zelle mit Zellkern und den Anschnitt einer benachbarten Zelle. In der Membran der Nischenzelle sitzt der Ligand des Notch-Signals, in der Membran der Stammzelle der Rezeptor. Bei Bindung der NECD an den Liganden wird NECD von der Transmembrandomäne (TM) gelöst. NICD wird durch ADAM von der TM getrennt und von der γ-Sekretase aus der Membran gelöst. Vom intrazellulären Raum translokiert NICD in den Nukleus, wo es einen Komplex mit MAML1 bildet. Der NICD-MAML1-Komplex ist für die Transkription der Notch-Zielgene verantwortlich.

2.4.5 Die Wirkung von Epidermal Growth Factor (EGF)

EGF ist in der Magenmukosa ein differenzierend wirkendes Signal (Wölffling et al., 2021). Neben EGF sind auch TGF α und Neuregulin (NRG) mögliche Liganden für den EGF-Rezeptor (Wölffling et al. 2021; Holloway et al., 2021).

Die Bindung eines EGFR-Liganden führt intrazellulär zur Bindung des Adaptermoleküls GRB2 an den Rezeptor. GRB2 wiederum bindet das SOS-Protein, welches Nukleotide austauschen kann. SOS kann dann das membranassoziierte RAS, welches GDP gebunden hat, mit GTP versehen, wodurch RAS aktiviert wird. RAS-Aktivierung führt zu einer Kaskade von Kinasephosphorylierung, bei der zunächst RAF, dann MEK und schließlich ERK aktiviert wird. Im freien Zytoplasma, also nicht mehr an der Membran, führt die Kinaseaktivität von ERK zu einem Aktivatorproteinkomplex aus c-fos und c-jun, welcher in den Nukleus einwandert. Im Nukleus reguliert dieser Aktivatorproteinkomplex die Transkription der EGF-Zielgene.

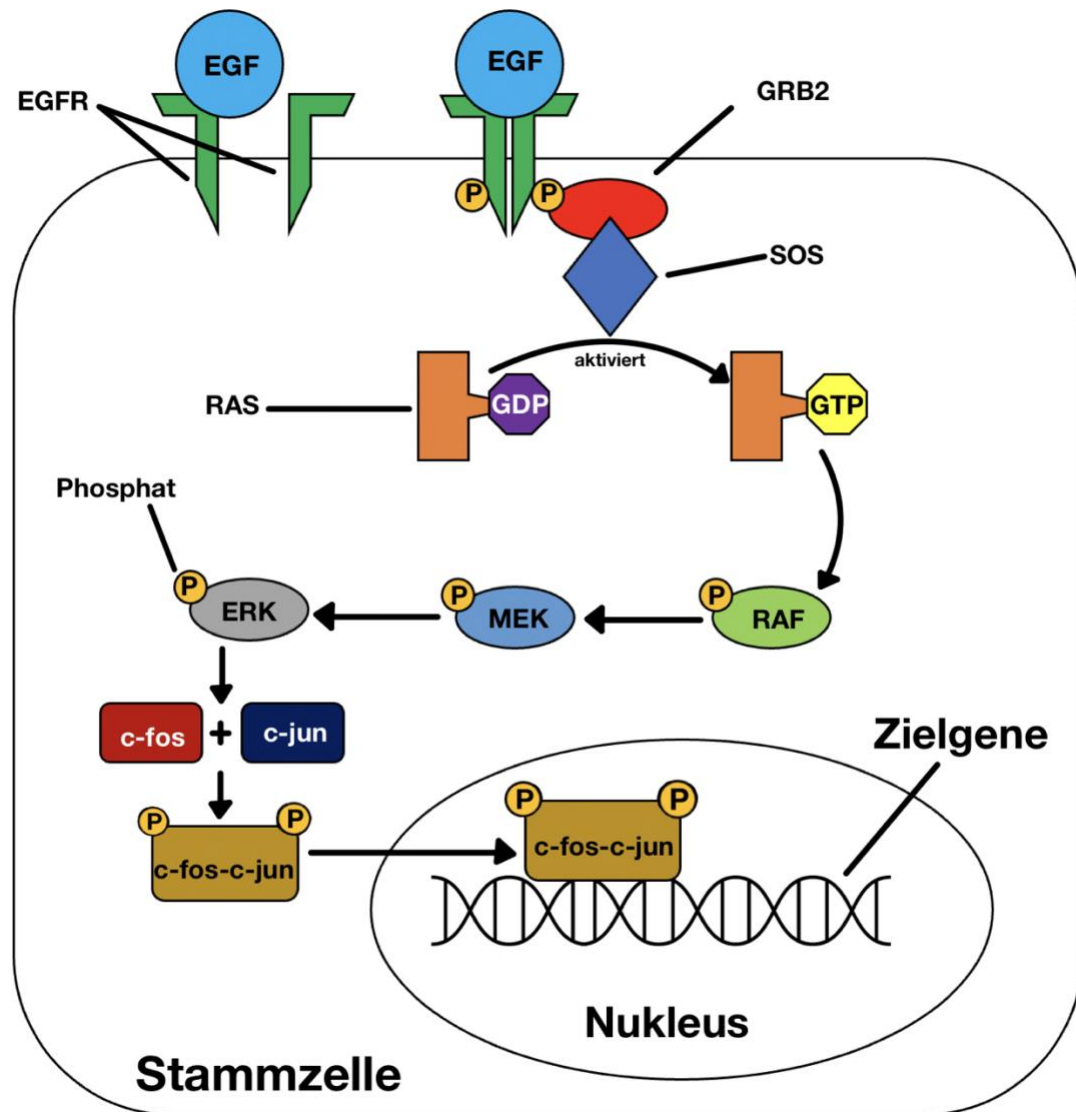


Abb. 10 EGF-Signaltransduktion

Abbildung 10 zeigt die schematische Darstellung einer Zelle mit Zellkern. In der Membran ist der EGF-Rezeptor verankert. Bei EGF-Bindung aktiviert der Rezeptor GRB2. GRB2 bindet das SOS-Protein, welches an RAS GDP durch GTP austauscht und dadurch RAS aktiviert. RAS ist eigentlich ein membrangebundenes Protein, aber zu Darstellungszwecken wird es hier intrazellulär freiliegend gezeigt. Aktiviertes RAS phosphoryliert RAF und MEK, welche durch die Phosphorylierung eine Kinase abgeben. ERK dimerisiert im Zytoplasma c-fos und c-jun. Daraus entsteht ein Aktivatorcomplex, der in den Nukleus translokiert und dort die EGF-Zielgen-Transkription reguliert. Die aktivierten Proteine der Signaltransduktionskaskade sind mit Phosphat (P) markiert.

2.5 Offene Fragen zu den Stammzellen im Magen

Die aktuelle Forschung im Darm unterbreitet bereits viele Erkenntnisse bezüglich der Nischensignale und damit in Verbindung gebrachten Mechanismen bei der Tumorentstehung im Gastrointestinaltrakt. Der Magen ist in dieser Hinsicht vergleichsweise unerforscht. Während die Summe der hier besprochenen Studien suggeriert, dass es nicht nur einen Stammzelltyp und eine Stammzellnische im Magenepithel gibt, bleiben dennoch Fragen ungeklärt: Sind diese potentiell unterschiedlichen Stammzellen unabhängig voneinander, gibt es Coexpression von Stammzellmarkern in einer Zelle oder koordinieren sie die Differenzierung der Tochterzellen zu bestimmten terminal differenzierten Zellen? Was sind die entscheidenden Signalmoleküle, wie in etwa Wnt im Darm, sowie gibt es nur eine Stammzellnische wie etwa die Krypte? Wie wirken die Signalmoleküle und in welchen Zellen? Sind die mitotisch aktiven Zellen im Isthmus nur teilungsaktiv wie TACs oder tatsächlich bona fide Stammzellen? Und natürlich: Woher kommen die Signale und andere Faktoren, die die Stammzellnische für ihre Stammzellen bilden?

Ein besseres Verständnis des physiologischen Status und wie er aufrechterhalten wird, könnte wesentliche Hilfe bei der Magenkrebsforschung und dessen Therapieansätzen leisten.

3. Material und Methoden

3.1 Konzeptionelle Herangehensweise

Während die Stammzellen des Darms und Colons bereits ausgiebig erforscht sind, mangelt es im Magen noch an einem grundlegenden Konsensus darüber, welche Zellen der Magendrüse innerhalb des Epithels Stammzellen sind, wie viele unterschiedliche Typen es gibt und wo sie sich befinden.

Außerdem ist wenig darüber bekannt, welche Signale die Proliferation und Differenzierung der Stammzellen regulieren und welchen zellulären Ursprung diese Signale haben.

All diese Themen sollen in dieser Arbeit erläutert werden und nach Zusammentragen der aktuellen Forschungsergebnisse diskutiert werden, um aussagekräftige Schlüsse zum Thema Stammzellen im Magen ziehen zu können.

3.2 Recherchemethoden, die zu den Ergebnissen dieser Arbeit führten

Die Basis meines Wissens wurde durch die standardisierte Literatur in der Lehre der makroskopischen und mikroskopischen Anatomie gebildet, namentlich das Anatomie Lehrbuch Prometheus und das Taschenlehrbuch der Histologie von Frau Dr. Lüllmann-Rauch, sowie das Lehrbuch aus der englischen Literatur „*Molecular Biology of the Cell*“. Auf der von diesen Lehrbüchern gebildeten Grundlage konnte ich meine weitere Recherche aufbauen.

Die Hauptrecherchequelle für diese Doktorarbeit war das Archiv PubMed des „*National Center for Biotechnology*“, welches als die primäre online Plattform bekannt ist, auf der qualitativ hochwertige, in Fachzeitschriften begutachtete publizierte Arbeiten gelistet und verlinkt werden. Ein Großteil der von mir analysierten wissenschaftlichen Arbeiten wurden dabei von den renommierten Magazinen „*Nature*“, „*Cell*“ und „*Science*“ veröffentlicht.

Für ein bildliches Verständnis und um mich mit dem Aussehen einzelner Zellen vertraut zu machen, nutzte ich ebenfalls die Mainzer Histo Maps, eine Onlinebibliothek von histologischen Präparaten.

3.3 Überlegungen, die zu den Fokuspunkten der Arbeit geführt haben

Im Magendarmtrakt findet ähnlich wie auf der Haut eine konstante Erneuerung des Epithels statt, Diese Erneuerung wird durch ortständige adulte Stammzellen ermöglicht, deren Tochterzellen in der Haut von dem Stratum basale hin zur Oberfläche zunehmend differenzieren. Eine ebenso konstante zelluläre Erneuerung der Oberfläche findet auch im Intestinum statt. Das Intestinum ähnelt von seinem Aufbau mit einschichtiges Epithel dem Magen.

Der Magen hat vorwiegend eine sekretive Funktion, da er zuständig ist für die Freigabe von Verdauungsstoffen wie der Magensäure, Magenlipasen und Pepsinogenen. Dieser zusammengesetzte Magensaft sorgt für die proteolytische Spaltung der aufgenommenen Nahrung. Aufgrund der Sekretion und dem Drüsenaufbau des Epithels könnte man den Magen auch als eine Drüse mit großem Lumen verstehen.

Im Vergleich dazu bezieht der Darm eine überwiegend absorptive Aufgabe, da die Hauptfunktion des Darmtraktes die Aufnahme der Nährstoffe, Mineralstoffe und von Wasser aus der Nahrung ist.

Dementsprechend haben Magen und Darm an ihre jeweiligen Aufgaben angepasste Tunicae mucosae. So hat der Magen ein ebenes Epithel mit Einstülpungen und sich daran anschließende Drüsen. Der Darm hingegen hat ausstülpende Villi und einstülpende Krypten. Zwischen den beiden Organen gibt es also nicht nur funktionelle, sondern auch strukturelle Unterschiede.

Dennoch findet man Gemeinsamkeiten zwischen den beiden Organen, die einen Vergleich als Ansatzpunkt für die Stammzellforschung rechtfertigen.

So haben beide Organe anders als die Haut ein einschichtiges Epithel, in dem der Stammzellnachschub nicht aus tiefer gelegenen Schichten kommen kann. Außerdem sind die Krypten isoliert optisch ähnlich der antralen Magendrüsen. Auch sind die Tunicae mucosae trotz ihrer unterschiedlichen Struktur von den Schichten her gleich angeordnet.

So besitzen die Tunicae mucosae in Magen und Darm jeweils eine Lamina epithelialis, Lamina propria und Lamina muscularis mucosae.

Dieser Fakt ist besonders wichtig für die Überlegung, ob Lamina propria und Lamina muscularis mucosae einen Beitrag zur Stammzellnische des Epithels in beiden Organen haben könnten. Das bereits erlangte Wissen über die Nischenrolle der unteren Mukosaschichten aus dem Darm wäre dann zumindest konzeptionell auf den Magen übertragbar.

Ähnliches gilt auch für das Colon, welches zwar nicht so gut erforscht ist wie das Intestinum, aber trotzdem wertvolle Anhaltspunkte für die Nischengestaltung im Magen haben könnte.

4. Ergebnisse

4.1 Stammzellen und deren Marker, die im Magen beschrieben wurden

Stammzellen, die hier beschrieben werden, wurden entweder im Corpus, Antrum oder in beiden Bereichen gefunden. Dementsprechend werden die Stammzellen in ihrem jeweiligen Bereich als Stammzellen des Corpus oder Antrum beschrieben.

Neben Stammzellmarkern ist auch die schlichte Angabe der Position in der Drüse eine wirksame Methode um Stammzellen im Epithel zu beschreiben. Einige der Studien, die bei dem Erstellen dieser Doktorarbeit geholfen haben, bedienen sich am gleichen System, welches eingangs für die Darmkrypte erklärt wurde. Von der Mitte des Drüsenbodens ausgehend können die Zellen durchgezählt werden. Beispielhaft dafür wäre, dass Yoshioka et al. Beschrieben haben, dass sich $Bmi1^+$ Stammzellen in der Position +5 bis +8 befinden.

4.1.1 Der potentielle Stammzellmarker Lgr5

Leucine-rich G-Protein coupled Receptor 5 ist ein Rezeptor, der R-Spondine binden kann, wobei die Bindung von R-Spondin (Rspo) an Lgr5 eine Abnahme der Suppression, sprich Verstärkung, des Wnt-Signals bewirkt. In der Membran von Wnt-Zielzellen sitzen die Wnt-Signalinhibitoren

Znrf3/Rnf43, welche von dem Lgr5/Rspo-Komplex aus der Membran entfernt werden. Das dadurch weniger abgeschwächte Wnt-Signal kann damit der Zielzelle stärker Proliferation signalisieren (Kumar, Burgess und Gulbis, 2014).

Die Expression von Lgr5 ist in vielen Epithelien des Körpers beobachtet worden, wie etwa im Intestinum. Die Studien zu Lgr5 als Stammzellmarker im Intestinum von Hans Clevers waren bereits sehr aufschlussreich bezüglich der beobachteten Qualitäten einer Stammzelle im Gastrointestinaltrakt (Clevers, 2013).

Auch im Epithel der murinen Magenwand wurden von Leushacke et al. (2017) $Lgr5^+$ Zellen beschrieben. Lineage Tracing, also das Verfolgen der Expression eines spezifischen Gens in Tochterzellen, zeigte, dass sich $Lgr5^+$ Zellen langfristig sowohl im Corpus als auch im Antrum am Drüsenboden erhalten. Die Funktion der $Lgr5^+$ Zellen variiert jedoch zwischen den beiden Magenregionen. Im Corpus fungieren sie als Reservestammzelle und im Antrum als aktive Stammzelle. Die Position der $Lgr5^+$ Zellen ist analog zu denen in der Krypte des Darms, jedoch gelten dort nicht die gleichen Nischenbedingungen, da am Drüsenboden des Corpus und Antrum keine Paneth-Körnerzellen zu finden sind.

Um die Stammzellqualitäten einer Zelle zu überprüfen, kann man versuchen mit so einer isolierten Zelle und den richtigen Kulturbedingungen Organoide zu generieren. Für die Generierung von Corpusorganoiden werden keine Lgr5⁺ Zellen benötigt, im Gegenteil sie tauchen sogar erst im späteren Verlauf der Organoidgenese auf, was ein Abstammungsverhältnis zu einer anderen Stammzelle im Corpus nahelegt (Leushacke et al., 2017; Xiao und Zhou, 2020). Mist1⁺ Zellen im Isthmus zeigen keine Lgr5-Markierung, während die Lgr5⁺ Zellen am Drüsenboden auch Mist1⁺ sind. Mist1 ist ein Transkriptionsfaktor, der in diesen beiden verschiedenen Zellen und Positionen zu finden ist (Hayakawa et al., 2015b). Außerdem konnten Mist1⁺/Lgr5⁻ Zellen aus dem Isthmus die gesamte Drüse als Organoid in vitro hervorbringen, inklusive Lgr5⁺ Zellen, während Mist1⁺/Lgr5⁺ Zellen am Drüsenboden unter gleichen Bedingungen nicht dazu fähig waren (Leushacke et al., 2017; Hayakawa et al., 2015b).

Obwohl die Lgr5⁺ Zellen am Drüsenboden des Corpus demnach keine Stammzellen zu sein scheinen, haben sie dennoch proliferative Fähigkeiten. Auch wenn sie nicht zur Epithelhomöostase beitragen, also dem Selbsterhalt des physiologischen Zustandes, werden sie aber aktiv nach Verletzung oder bei Entzündung (Leushacke et al., 2017). In ihrem teilungsinaktivem postmitotischen Zustand sind diese Lgr5-markierten Zellen des Drüsenbodens Hauptzellen (Leushacke et al., 2017). Diese Hauptzellen reagieren auf eine Verletzung des Epithels mit Proliferation und Differenzierung zu Muc6⁺ und Tff2⁺ Zellen und damit zur Genese von Spasmolytic Polypeptide-Expressing Metaplasia (SPEM). Diese Art der Metaplasie dient zur Reparatur des beschädigten Epithels und wird durch Interleukin 33 initiiert. Interleukin 33 wird von Zellen der Mukosa bei Schaden sezerniert, was vor allem die Innate Lymphoid Cells 2 im Bindegewebe der Lamina propria aktiviert. Innate Lymphoid Cells 2 sezernieren dann Interleukin 13, wodurch Hauptzellen das Phänomen SPEM ausbilden (Meyer und Goldenring, 2018) (siehe Abb. 11).

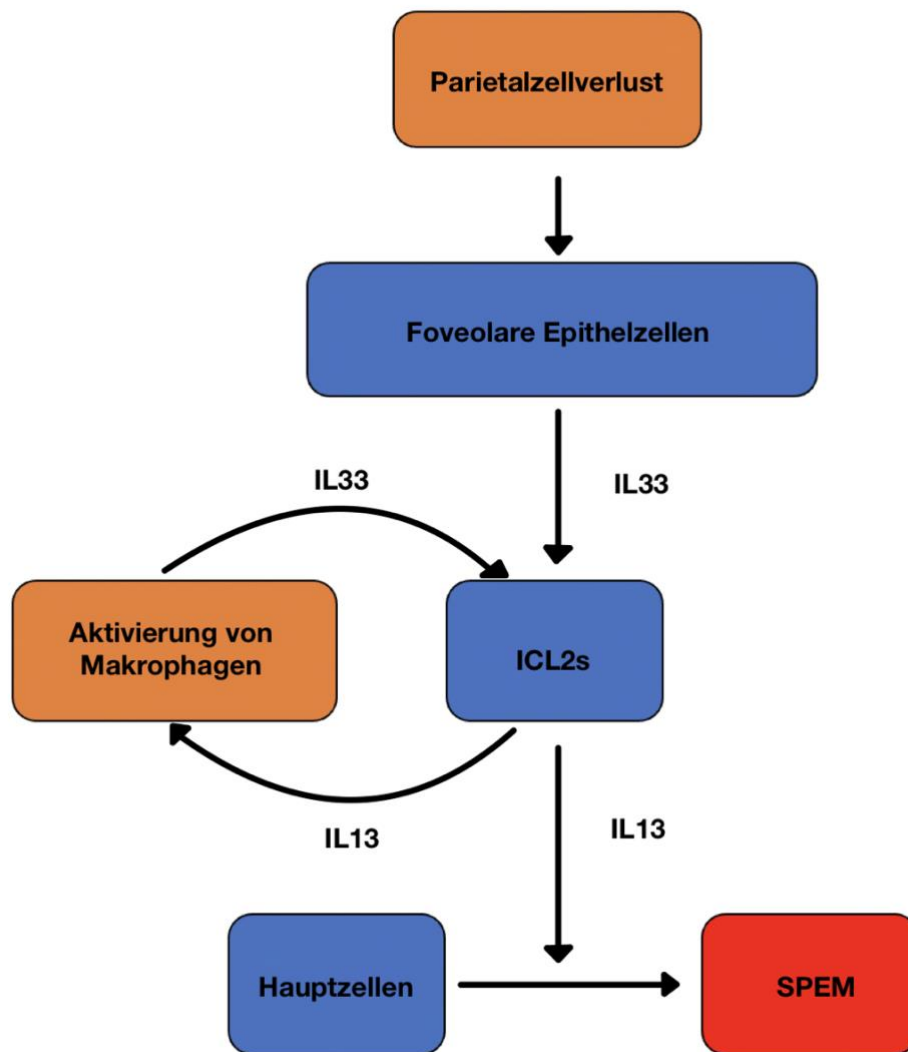


Abb. 11 Die Aktivierung von SPEM

(inspiriert von Meyer und Goldenring, 2018)

Abbildung 11 zeigt ein Flussdiagramm von der Entwicklung von SPEM. SPEM wird initiiert durch Verlust von Parietalzellen in der Drüse. Darauf reagieren foveolare Epithelzellen mit der Ausschüttung von Interleukin (IL) 33. IL33 stimuliert Inate Lymphoid Cells IL13 auszuschütten. IL13 hat zwei Effekte auf die Entwicklung von SPEM. IL13 stimuliert die Transdifferenzierung von Hauptzellen zu SPEM-Zellen und aktiviert Makrophagen, welche wiederum mehr IL33 freisetzen. Makrophagen verstärken also die IL13-Sekretion und damit den Transdifferenzierungsprozess.

Die Lgr5⁺ Zellen des Corpus überschneiden sich mit Troy⁺ Zellen und Troy ist ein weiterer Marker für Reservestammzellen, die bei Verletzung aktiv werden. Troy und Lgr5 sind zudem beides

Wnt-Zielgene (Bartfeld und Koo, 2017). Troy ist ein Inhibitorprotein, welches die Aktivität von Wnt senkt, indem es die Wnt-Rezeptorbindung verstärkt, wodurch kein neuer Signalimpuls gesendet werden kann (Kumar, Burgess und Gulbis, 2014). Da diese Lgr5⁺/Troy⁺ Hauptzellen nach Verletzung beansprucht werden, liegt die Annahme nahe, dass das Wnt-Signal am Drüsenboden eher bei der Epithelregeneration eine Rolle spielt und nicht unter physiologischen Bedingungen.

Die Rolle von Lgr5⁺ Zellen im Antrum ist deutlich anders, da das Antrum von seinen Charakteristika mehr dem Intestinum gleich kommt. Leushacke et al. (2013) konnten via in vivo multicolor lineage tracing auch bereits zeigen, dass Lgr5⁺ Zellen am Drüsenboden des Antrums Ki67 ausprägen. Ki67 ist ein Marker für Proliferation und damit ein Indiz für den Stammzellstatus der Lgr5⁺ Antrumzellen. Ebenso zeigt die Ausprägung von Ki67, dass Lgr5⁺ Zellen im Antrum aktiv proliferierende im Vergleich zu ruhenden inaktiven oder langsam teilenden Stammzellen sind.

Ein wichtiges Signal für die Regulierung von Lgr5⁺ Stammzellen des Antrums ist das Notch-Signal, welches über ein aktives Signal die Proliferation der Stammzellen fördert. Die Lgr5⁺ Zellen teilen sich auf das Notch-Signal hin symmetrisch, beide Töchter haben also das gleiche zelluläre Schicksal. Sie sind beide erneut Stammzellen oder beide TACs. Das Notch-Signal hat auch indirekt einen Effekt auf die Tochterzellen, da ein ausbleibendes Notch-Signal zu ihrer Differenzierung führt (Gifford et al., 2017; Clevers, 2013). Die Lgr5⁺ Zellen des Antrums tragen also wie die Lgr5⁺ Zellen am Kryptenboden des Intestinums zu der normalen Epithelhomöostase bei (Leushacke et al., 2013) und liegen dort an Position +1 bis +3 des Drüsenbodens (Sigal et al., 2017).

Zusammenfassend kann man festhalten, dass die Lgr5⁺ Zellen unterschiedliche Rollen im Corpus und Antrum annehmen. Die Expression von Lgr5 ist ein Indikator, aber kein definitiver Marker für Stammzellen. Während sie im Corpus lediglich als Reservestammzellen funktionieren, dienen sie im Antrum vor allem der Epithelhomöostase. In beiden Regionen können die Lgr5⁺ Zellen aber auf Inflammation oder Infektion bzw. Verletzung mit Proliferation reagieren.

Der Großteil der hier aufgeführten Forschungsergebnisse sind Kenntnisse, die aus murinen Modellen gewonnen wurden, mit Ausnahme von Sigal et al. (2017), die ebenfalls an humanen

Organoiden geforscht haben. Die Bedeutung der murinen Experimente wird in der Diskussion aufgewogen.

4.1.2 Der potentielle Stammzellmarker Mist1

Karam und Leblond beschrieben 1993 bereits die granulafreie Erscheinung von Zellen, die sich im Isthmus befinden. Da ihnen keine Funktion wie den Parietalzellen oder Hauptzellen zuzuordnen war, ging man davon aus, dass der Isthmus die Stammzellnische sei und die granulafreien Zellen die Stammzellen seien. Diese granulafreien Zellen sind, wie sich herausgestellt hat, von Mist1 markiert. Mist1 markiert Stammzellen ausschließlich im Corpus des Magens und wird im Isthmus der Corpusdrüsen lokalisiert. Obwohl der Isthmus nicht der einzige Ort des Epithels ist, wo man eine Mist1 Expression findet, sind dennoch nur die Mist1⁺ Zellen im Isthmus als Stammzellen benannt. Am Drüsenboden des Corpus befinden sich die bereits beschriebenen Lgr5⁺ Zellen, welche ebenfalls Mist1⁺ sind (Hayakawa et al., 2015b). Bei murinen Organoidgeneseversuchen konnte herausgefunden werden, dass Mist1 markierte Zellen eine ganze Corpusdrüse generieren können und diese auch erhalten können (Hayakawa et al., 2015b). Auch wenn die Mist1⁺ Stammzellen das Potential besitzen die gesamte Drüse hervorzubringen, sind sie für die Homöostase des Epithels wahrscheinlich nicht hauptverantwortlich, da sie sich nur sehr selten teilen. Der Proliferationsmarker Ki67 konnte in nur 0,2% der Mist1⁺ Zellen nachgewiesen werden (Nienhüser et al., 2021; Matsuo et al., 2017).

Die Teilungsrate und Teilungsgeschwindigkeit der Mist1⁺ Stammzellen kann aber erheblich durch ein Signal in Form von Wnt5a gesteigert werden. Wnt5a wird von Cxcr4⁺ ILCs im Bindegewebe sezerniert und ist damit eine Komponente der Stammzellnische (Hayakawa et al., 2015b). ILCs sind Immunzellen des angeborenen Immunsystems, die eine wichtige Rolle als Entzündungsmediatoren haben (siehe Abb. 11). Eine der Reaktionsmöglichkeiten ist die Abgabe von Wnt5a, für das in vitro gezeigt wurde, dass es die Zeit, die Mist1⁺ Zellen benötigen um die gesamte Drüse zu generieren, auf ein Drittel reduzieren kann (Nienhüser et al., 2021). Weil Wnt-Signale durch Rspo-Signale verstärkt werden können, liegt die Annahme nahe, dass auch Mist1⁺ Stammzellen von Rspo beeinflusst werden können, insbesondere wenn es darum geht Wnt5a-Signale zu verstärken, beispielsweise bei Inflammation. Ob R-Spondin dabei tatsächlich eine Rolle spielt, ist allerdings noch nicht untersucht (Nienhüser et al., 2021).

Neben den Wnt-bezogenen Signalen scheint auch Notch die Proliferation der Mist1⁺ Zellen zu steuern, da beobachtet werden konnte, wie eine konstante Aktivierung von Notch zur Entwicklung von intestinalem Typ Karzinom, eine Tumorvariante mit epithelialen Charakteristika der Darmschleimhaut, durch die Mist1⁺ Stammzellen führte (Hayakawa et al., 2015b).

Zusammenfassend weiß man anhand des wissenschaftlichen Standes, dass Mist1⁺ Zellen Stammzellen des Corpus sind, welche sich im Isthmus der Drüsen befinden. Passend zu dieser Position wurde beobachtet, dass die Tochterzellen jener Stammzellen bidirektional migrieren, wenn sie ihre Nische verlassen (Burclaff et al., 2020). Außerdem ist aktuell auszuschließen, dass die Mist1⁺ Stammzellen sich mit anderen Stammzellen bzw. deren Markern überschneiden und daher eine eigene Population von Stammzellen darstellen.

4.1.3 Der potentielle Stammzellmarker Sox2

Das Homeobox-Gen Sox2 codiert einen TF, der gemeinsam mit Cdx2 die Abgrenzung zwischen Vorder- und Mitteldarm in der Entwicklung festlegt (Kim und Shivdasani, 2016; siehe Abb. 4). Außerdem weiß man von Sox2, dass es die Pluripotenz früher embryonaler Stammzellen erhält, sowie die epitheliale Formation von Magen und Oesophagus während der fetalen Entwicklung reguliert (Arnold et al., 2011). Im adulten Stadium bleibt Sox2 weiterhin ein Marker multipotenter Stammzellen (Leushacke et al., 2017) und trägt zur konstanten Selbsterneuerung des Magenepithels bei, wie anhand des murinen Modells erkannt werden konnte (Arnold et al., 2011).

Dabei wurden Sox2⁺ Zellen mit einem gelb fluoreszierenden Protein versetzt, welches sich auch auf den Tochterzellen weiterhin zeigt. Nach sechs Monaten Beobachtungszeit waren alle unterschiedlichen Zelltypen der Magendrüse mit dem gelben Marker versehen (Arnold et al. 2011).

Wie bereits erläutert wurde, können Lgr5⁺ Stammzellen ausschließlich im Antrum alle Zellen der Drüse hervorbringen und Mist1⁺ Stammzellen exklusiv im Corpus. Sox2⁺ Stammzellen befinden sich hingegen in sowohl Corpus- als auch Antrumdrüsen im unteren Drüsendrittel und können in beiden Magenregionen die gesamte Drüse als Organoid in vitro hervorbringen (Choi et al., 2018).

Von Demitrack und Samuelson (2017) konnte beobachtet werden, dass das Notch-Signal auch für die Sox2⁺ Stammzellen ein Regulationsmechanismus ist, da sie zeigten, dass eine intrazelluläre Überexpression der NICD-Domäne, einem Teil des Notch-Signalweges, unter anderem bei Sox2⁺ Stammzellen zu einer hyperplastischen Polypenbildung führt.

Ein weiteres Signal, das mit Sox2 in Verbindung steht, ist BMP. Während der frühen Entwicklung inhibiert BMP die Ausprägung von Sox2, vermutlich um die Abgrenzung von Vorderdarm und Mitteldarm zu verzögern (McCracken und Wells, 2017). Ob BMP auch im adulten Stadium einen Einfluss auf Sox2⁺ Stammzellen nimmt, ist bis hierhin nicht erforscht oder veröffentlicht.

Insgesamt ist Sox2 ein Stammzellmarker, der bereits während der Entwicklung beobachtet wird und bis in das adulte Stadium weiterhin Stammzellen markiert, welche dann im Drüsenhals residieren. Dabei ist indiziert, dass besonders Notch ein wichtiges Nischensignal unter adulten physiologischen Bedingungen ist.

4.1.4 Der potentielle Stammzellmarker Bmi1

Bmi1⁺ Zellen sind in den Isthmi der Corpus- und Antrumdrüsen angesiedelt (Xiao und Zhou, 2020). Im Isthmus des Antrums sitzen sie in etwa an Position +5 bis +8 (Yoshioka et al., 2019). Während Bmi1 in den Darmkrypten ruhende, nach Verletzung aktivierte Stammzellen markiert (Clevers, 2013), agieren Bmi1⁺ Zellen im Magen genau entgegengesetzt. Bmi1⁺ Zellen im Magen zeigen nämlich zu 57% den Proliferationsmarker Ki67, was dafür spricht, dass Bmi1⁺ Zellen rapide proliferierende Stammzellen sind (Yoshioka et al., 2019). Bmi1 selbst ist ein Polycomb-Gen, welches für die Stilllegung von Chromatinen verantwortlich ist (Yoshioka et al., 2019).

Nach Parietalzellverlust bewirkt durch orale Tamoxifengabe bringen diese Bmi1⁺ Stammzellen viele Tochterzellen hervor und differenzieren dabei insbesondere zu Tff2⁺ Mukuszellen, ein Marker von SPEM. Dies indiziert wiederum, dass Bmi1⁺ Stammzellen an der Heilung nach Verletzung der Drüse beteiligt sind (Yoshioka et al., 2019). Abseits der Wundheilungsfunktion tragen die Bmi1⁺ Zellen auch zur Epithelhomöostase bei und ein Verlust dieser Zellen kompromittierte die Lamina epithelialis des Magens, da Drüsen aus Antrum und Corpus ohne Bmi1⁺ Stammzellen verletzten Drüsen glichen (Yoshioka et al., 2019).

Zusammenfassend legt die aktuelle Forschung nahe, dass Bmi1⁺ Stammzellen eine eigene Population darstellen. Ihre Funktion unter regulativen Bedingungen und Homöostase macht Bmi1⁺ Stammzellen zu Kandidaten für die Untersuchung auf den Ursprung von Magenkarzinomen.

Da das Wissen, was wir aktuell über Bmi1⁺ Stammzellen haben, aus einer limitierten Anzahl von Quellen stammt, ist es essentiell mehr Forschung in diese Richtung zu betreiben, um mehr Klarheit über die Signifikanz diese Kategorie von Stammzellen zu erhalten.

4.1.5 Der potentielle Stammzellmarker Lrig1

Das Lrig1-Protein (Leucine-rich repeats and immunoglobulin-like domains 1) ist ein Regulator, hauptsächlich von EGF-Rezeptoren, für deren Degradation Lrig1 sorgt. Lrig1 kontrolliert dadurch die Wirkung von EGF auf seine Zelle und dient damit auch als Tumorsuppressor (Choi et al., 2018). Zellen, die Lrig1 ausprägen, lassen sich im Corpus und im Antrum am Drüsenboden finden (Schweiger et al., 2018). Laut Choi et al. (2018) befinden sich Lrig1⁺ Vorläuferzellenzellen auch im Isthmus des Corpus, womit sie dort ebenfalls in der Stammzellnische für den Corpus angesiedelt wären. Es ist noch fraglich, an welcher Position definitiv Lrig1⁺ Zellen mit Stammzellqualitäten sitzen. Schweiger et al. bezogen die Aussagen von Choi et al. in ihre Arbeit mit ein, konnten auf experimentellem Weg aber nicht zu dem gleichen Schluss kommen. Was bekannt ist, ist, dass Lrig1⁺ Zellen den Proliferationsmarker Ki67 ausprägen können und damit die Fähigkeit nachweisen sich teilen zu können (Choi et al., 2018). Dabei scheinen Lrig1⁺ Zellen in besonderer Beziehung zu Parietalzellen zu stehen, da ein Verlust von Parietalzellen in der Drüse zu einer verstärkten Ausprägung von Ki67 in Lrig1⁺ Zellen führt und damit zu mehr Proliferation.

Die Verbindung mit Parietalzellen ist scheinbar bestätigt, dadurch dass Lrig1 nicht nur in Progenitorzellen in Stammzellgebieten, sondern auch in differenzierten Parietalzellen gefunden wurde. Dieser Zusammenhang wird von Choi et al. (2018) erklärt, dass die Lrig1-Regulation von EGF-Rezeptoren sich auch auf TGF α ausweitet, was wiederum die autokrine Säuresekretion der Parietalzellen beeinflusst (Choi et al., 2018). Ein Abstammungsverhältnis zwischen Lrig1⁺ Vorläuferzellen und Lrig1⁺ differenzierten Parietalzellen konnte bisher aber noch nicht nachgewiesen werden (Choi et al., 2018). Neben den Parietalzellen wurde der Marker Lrig1 auch in Hauptzellen und Halsmukuszellen gefunden, also im gesamten unteren Drüsenteil (Schweiger et al., 2018). Obwohl Lrig1⁺ Zellen sich in vitro lange Zeit, bis zu über ein Jahr, erhalten, ist ihr Status als Stamm- oder Vorläuferzelle noch nicht bestätigt.

Mit großer Wahrscheinlichkeit wurde eine Rolle von Lrig1⁺ Zellen in der Entwicklung von SPEM ausgeschlossen (Choi et al., 2018), da SPEM aus einer Hauptzelltransdifferenzierung heraus entsteht und Lrig1 laut Choi et al. nicht in Hauptzellen ausgeprägt ist, gegenteiliges aber von Schweiger et al. nachgewiesen wurde. Dieser Widerspruch bleibt ebenfalls ungeklärt.

Es lässt sich festhalten, dass Lrig1⁺ Zellen an Epithelhomöostase beteiligt sein können. Sie sind auch in der Lage Organoide in vitro in etwa gleichem Maße wie Lgr5⁺ Zellen aus dem Antrum auszubilden (Schweiger et al., 2018).

Allerdings scheinen sie in beiden Magenregionen tendenziell eher eine Reservestammzellfunktion einzunehmen, sprich, dass sie nach Verletzung oder ähnlichem rekrutiert werden (Schweiger et al., 2018).

4.1.6 Der potentielle Stammzellmarker eR1

eR1 ist ein Verstärker des Runx1-Gens. Dabei kommt dem Runx1-Gen in der Entwicklung eine regulative Funktion zu. Im adulten Stadium ist es für die Ausprägung von Transkriptionsfaktoren verantwortlich, welche mit der Bildung von Karzinomen in Verbindung gebracht werden.

Das Runx1-Gen ist nicht exklusiv im Magenepithel zu finden, sondern wird auch in hämatopoetischen Stammzellen, sowie in CD45⁺ Immunzellen exprimiert (Matsuo et al., 2017). Außerdem findet sich Runx1 in Zellen der Haarfollikel, die am Haarwachstum beteiligt sind, sowie in den Lgr5⁺ Zellen der Darmkrypten (Chuang, Osato und Ito, 2020).

Der Verstärker eR1 wurde im Magenepithel sowohl im Antrum- als auch im Corpusisthmus gefunden (Matsuo et al., 2017). Zu einem geringeren Anteil, nur zu 10%, fand man eR1 auch am Drüsenboden im Corpus, wo sie aber nur eine regenerative Funktion innezuhaben scheinen, da nach Beschädigung der Drüse die eR1⁺ Hauptzellen am Boden proliferierten (Matsuo et al., 2017). Zusätzlich hat man den Verstärker von Runx1 eR1 auch noch in der Lamina muscularis mucosae des Magens gefunden.

Die eR1⁺ Zellen zeigten in vitro die Fähigkeit Organoide von Corpus und Antrum zu entwickeln und damit ein wertvolles Kriterium für Stammzellen zu erfüllen. Außerdem zeigten sie eine hohe Ausprägung vom Proliferationsmarker Ki67, nämlich zu 83%, was sie zu sich aktiver teilenden Zellen machen würde, da dies im Vergleich zu den anderen genannten stammzellmarkerpositiven Zellen den höchsten Anteil an proliferierenden Zellen darstellt (Matsuo et al., 2017).

Die im Darm ansässigen Runx1⁺ Zellen waren nicht nur die Stammzellen am Boden, sondern auch TACs am oberen Kryptenende (Chuang, Osato und Ito, 2020), was vermuten lässt, dass die Zellen, die sehr häufig Ki67 im Isthmus ausprägen auch TACs und nicht Stammzellen sein könnten.

Trotz der hohen Teilungsaktivität, einem Charakteristikum von TACs, wurde im Corpusisthmus beobachtet, dass die eR1⁺ Zellen über ein Jahr erhalten bleiben und dabei zu allen Zellen der Drüse differenzieren (Matsuo et al., 2017).

eR1⁺ Zellen erwecken demnach den Eindruck eine Stammzellpopulation zu sein (Nienhüser et al., 2021), die gekennzeichnet durch ihre hohe Proliferationsmarkerausprägung sich häufig teilt und im Antrum und im Corpus vorkommt.

4.1.7 Der potentielle Stammzellmarker Cck2r

Im Antrum befinden sich zwischen Position +3 bis +7 Cck2r⁺ Zellen, die als potentielle Stammzellen betrachtet werden. Cck2r ist ein Rezeptor für Gastrin und Progastrin, der in Zellen ausgeprägt wird, die zwar Lgr5⁺ sind, dieses aber nur schwach exprimieren. Das bedeutet, dass diese Cck2r⁺/Lgr5^{lo} Zellen nicht die Lgr5^{+/hi} Population darstellen, die vorangehend besprochen wurde (Hayakawa et al., 2015).

Progastrin ist eine Vorstufe des Hormons Gastrin, welches von den G-Zellen der antralen Drüsen hergestellt wird und ist ein proliferationsauslösendes Signal für die Cck2r⁺ Zellen.

Der Rezeptor Cck2r ist nicht nur auf die beschriebenen Zellen aus dem Antrum begrenzt, sondern kommt auch in Parietalzellen und ECL-Zellen im Corpus vor, nur mit dem Unterschied, dass Cck2r dort keine Stammzellen markiert (Hayakawa et al., 2015).

Was für das Stammzellstatus der Cck2r⁺ Zellen im Antrum spricht ist, dass sie in vitro alle Zellen der Antrumdrüse in einem Organoidexperiment hervorbringen konnten und eine Langlebigkeit von zwei Monaten in diesem Experiment zeigten. Dagegen waren Cck2r⁻ Zellen nicht fähig Orgnoide auszubilden (Hayakawa et al. 2015). Diese Daten führten Hayakawa et al. (2015) zu der Aussage, dass Cckr⁺ Zellen langlebige Stammzellen im Antrum in vitro und in vivo sind.

Zusätzlich hatten sie auch den Proliferationsmarker Ki67 zu 30% ausgeprägt und dies sogar dreifach höher als ihre tiefergelegenen Nachbarn die Lgr5^{+/hi} Stammzellen mit nur 10%.

Ein Signal von Progastrin führt nicht zwangsläufig direkt zu Proliferation, denn Progastrin scheint in Cck2r⁺ Stammzellen indirekt zu symmetrischer Zellteilung zu führen indem mehr Lgr5-Rezeptoren in die Membran eingelagert werden für eine Verstärkung des Rspo-Signals und damit des Wnt-Signals (Hayakawa et al., 2015). Dementsprechend werden durch Progastrin-Signalisierung Cck2r⁺/Lgr5^{lo} Zellen zu Cck2r⁺/Lgr5^{hi} Zellen konvertiert (Hayakawa et al., 2015).

Solche Cck2r⁺/Lgr5^{hi} Zellen zeigten sich in der Lage mit einem Anteil von 5% Magenorganoide hervorzubringen, während diejenigen mit Lgr5^{lo} dies nur in 0,3% der Fälle zeigten. Demnach wären 5% der Cck2r⁺/Lgr5^{hi} Zellen als Stammzellen anzusehen. Progastrin erhöht also die Organoidformation und damit auch die Stammzellproliferation. Bei zusätzlicher Anwesenheit eines Karzinogens erhöht sich allerdings auch Progastrin und es kommt zur Spaltung der

antralen Drüsen und deren Expansion (Hayakawa et al., 2015). Dieser Befund macht das Signal für die Entwicklung von Karzinomen in den Antrumdrüsen interessant.

Zusammengefasst sind Cck2r⁺ Zellen im Magen nicht im Corpus, sondern im Antrum zu finden. Sie besitzen die Fähigkeit sich zu teilen, indem sie zu Lgr5^{hi} Zellen konvertieren nach Progastrinsignalisierung, wodurch sie empfänglicher für Proliferationssignale sind.

4.1.8 Der potentielle Stammzellmarker Troy

Troy kommt im Magen ausschließlich im Corpus vor, dort aber nicht in der historisch geglaubten Stammzellnische, dem Isthmus, sondern am Drüsenboden (Bartfeld und Koo, 2017). Troy⁺ Zellen sind in erster Linie differenzierte Zellen, denn Troy⁺ Zellen stellen eine Subpopulation von Hauptzellen am Drüsenboden des Corpus dar (Stange et al., 2013). Wie Lgr5 ist auch Troy ein Wnt-Zielgen (Bartfeld und Koo, 2017; Leushacke et al., 2017), was ein Grund dafür sein könnte, dass Troy⁺ Zellen am Drüsenboden angesiedelt sind, ebenso wie die Lgr5⁺ Zellen im Antrum. Das Protein Troy selber ist aber ein Wnt-Antagonist mit der Wirkung die Wnt-Rezeptor-Bindung zu destabilisieren, was das Wnt-Signal reduziert (Kumar, Burgess und Gulbis, 2014).

Was Troy⁺ Zellen außer ihrer Lokalisation, ihrer phänotypischen Erscheinung und Funktion als Hauptzellen besonders macht, ist ihr Proliferationsverhalten. Sie sind im Vergleich zu den Stammzellen des Isthmus in der Regel ruhende Stammzellen, welche sich fast ausschließlich nach Verletzung der Drüse teilen, um den homöostatischen Zustand wiederherzustellen (Han et al., 2019; Stange et al., 2013).

Eine interessante Beobachtung, die von Stange et al. (2013) erfasst wurde, war, dass Troy nicht nur als Stammzellmarker in einer Subpopulation der Hauptzellen zu finden war, sondern auch in nicht proliferativen Parietalzellen, welche zwischen den Troy⁺ Hauptzellen positioniert waren. Dies brachte Stange et al. zu der Vermutung, dass unter Umständen diese Parietalzellen eine Nischenfunktion für die Troy⁺ Hauptzellen übernehmen könnten, jedoch muss eine solche Spekulation weiter überprüft werden.

Zusammengefasst sind Troy⁺ Zellen in erster Linie differenzierte Hauptzellen am Drüsenboden des Corpus, die nach Verletzung als Stammzellen reaktiviert werden können.

4.1.9 Der potentielle Stammzellmarker Axin2

Axin2 ist ebenso wie Lgr5 und Troy ein Wnt-Zielgen (Leushacke et al., 2017). Bei der Wnt-Signalkaskade phosphoryliert Axin das β -catenin und eine Inhibition dieser Phosphorylierung durch DVL ermöglicht dann die Translokation von β -catenin in den Nukleus (Takebe et al., 2015) (siehe Abb.6). Dass Axin2⁺ Zellen Wnt-assoziiert sind, lässt die Annahme zu, dass sie proliferative Zellen sind und damit potentiell als Stammzelle fungieren können. Xiao und Zhou (2020) konnten beobachten, dass Axin2⁺/Lgr5⁻ Zellen die überwiegend Rspo-sensitiven Zellen des Antrums sind, was wieder ihre Verbindung mit Wnt bestätigt. Allerdings fanden sich auch Lgr5 positive und Axin2 coexpressionierende Zellen am Drüsenboden des Antrums (Leushacke et al., 2017), was die Individualität von Axin2 als Stammzellmarker fraglich erscheinen lässt.

Sigal et al. (2017) konnten den Stammzellstatus von Axin2⁺ Zellen weiter erforschen mittels Lineage Tracing nach Tamoxifenbehandlung. Tamoxifen imitiert den Effekt von einer Helicobacter pylori Infektion auf die Drüse, sodass nach Tamoxifenbehandlung die Drüse durch Stammzellen regeneriert werden muss. Sie fanden heraus, dass es im Antrum zwei Axin2⁺ Stammzellpopulationen gibt. Die eine Population ist Lgr5⁺/Axin2⁺ (Lgr5⁺), die andere Lgr5⁻/Axin2⁺ (Axin2⁺). Die Population, die Lgr5 ausprägt, findet sich eher an Drüsenposition +1 bis +3, die Population, die nur Axin2 ausprägt, hingegen befindet sich darüber zwischen +4 bis +7. Damit befinden sich die Axin2⁺ Stammzellen schon im Drüsenboden unmittelbar unterhalb des Isthmus im Antrum (Sigal et al., 2017).

Des Weiteren wiesen sie nach, dass Axin2⁺ Zellen in der Lage sind Antrumorganoide zu generieren, sowie ihr Vermögen Lgr5⁺ Stammzellen hervorzubringen, nachdem letztere durch eine selektive Diphterietoxinbehandlung entfernt wurden (Sigal et al., 2017).

Insgesamt ist Axin2 ein Stammzellmarker, den man in starkem Zusammenhang mit Lgr5 beobachtet. Die Axin2⁺ Zellen zeigen ebenfalls eine Aktivierbarkeit durch Wnt und sind dementsprechend teilungsaktiv, was sich auch durch Tamoxifenbehandlung von in vitro Kulturen gezeigt hat, weil sie sich nach tamoxifeninduzierter Läsion verdoppelt haben und ihre Proliferation im Drüsenboden deutlich erhöht war (Sigal et al. 2017).

4.2 Das Bindegewebe des Magens als Stammzellnische

4.2.1 Der Darm als Vorbild für den Magen

Der Anteil der subepithelialen Mukosaschichten des Darms in der Nischenbildung für die Stammzellen des Darmepithels ist allerdings vergleichsweise gut verstanden. Die Signale, die in Lamina propria und muscularis mucosae des Darms wirken, sind auch in der Mukosa des Magens zu vermuten. Ihre zelluläre Herkunft ist im Magen jedoch unzureichend erforscht, weshalb die Analyse der äquivalenten Strukturen im Darm einen Ansatz für die Identifikation von Signalquellen in der Magenmukosa bietet. Die bekannten Signale aus dem Darm sind BMPs, sein Antagonist Gremlin1, Wnts und deren Agonist Rspo.

BMP-Signalisierung fördert die Differenzierung von Stammzellen und ihren Nachkommen. Dort wo BMP ausgeschüttet wird, differenzieren also Zellen, weshalb das BMP-Signal das Potential einer Stammzelle zu entfalten in seiner physischen Lage eingrenzt. Die Zellen, die BMP in der Lamina propria bilden, sind Telozyten. Telozyten bilden ein funktionelles Synzythium aus über ihre Telopode, dünne Zellfortsätze, die hundert Mikrometer lang sein können. Je nach ihrer Position in Relation zu der Lamina epithelialis sind sie dichter gepackt an einem Ort oder nicht. Während die Telozytendichte am Krypten-Villus-Übergang und entlang des Villus hoch ist, ist die Dichte von Telozyten an der Krypte und vor allem am Kryptenboden gering.

Diese Verteilung ist indikativ dafür, dass die Stammzellnische am Kryptenboden liegt, da dort das BMP-Signal aufgrund der geringeren Anzahl von BMP-Quellen dort schwächer ist. (McCarthy, Kraiczy und Shivdasani, 2020). Dieser Gradient ist wichtig, da so die TACs, die die Nische verlassen, auf ihrem Weg zur Villusspitze differenzieren können, bevor die spezialisierten Tochterzellen nach einer Lebensspanne von drei bis vier Tagen sterben und ins Darmlumen abgestoßen werden (Clevers, 2013).

Gremlin1 (Grem1) ist ein BMP-Antagonist, der im Bereich der Nische die Funktion einnimmt das BMP-Signal der Telozyten zu hemmen, um die Stammzellen vor Differenzierung zu schützen.

Trophozyten sind die Zellen, die den BMP-Antagonisten Grem1 sezernieren, der so damit zulässt, dass proliferative Signale in der Stammzellnische ihre Wirkung entfalten können (McCarthy, Kraiczy und Shivdasani, 2020). Grem1 wird supplementiv auch aus den unter den Trophozyten liegenden glatten Muskelzellen der Lamina muscularis mucosae sezerniert. Da die Kryptenböden die tiefsten Punkte der Lamina epithelialis sind, sind auch nur sie von

der Gremlinsekretion in ihrer unmittelbaren Nähe betroffen (McCarthy, Kraicy und Shivdasani, 2020).

Nachdem klar ist, dass das differenzierungsfördernde BMP-Signal und sein Antagonist unterhalb des Epithels aus der Basallamina stammen, wird nun auf das proliferationsfördernde, stammzellerhaltende Wnt-Signal und seinen Agonisten Rspo eingegangen. Für die Lgr5⁺ intestinalen Stammzellen ist eines der wichtigsten Proliferationssignale das Wnt-Signal. Im Bindegewebe des Darms werden die Telozyten als wahrscheinliche Wnt-Quelle betrachtet, allerdings gilt dies eher für nicht kanonische Wnts, welche nicht den gleichen proliferativen Stimulus auf die Zelle haben könnten wie kanonische Wnts (McCarthy, Kraicy und Shivdasani, 2020; Kim et al., 2020). Ein kanonisches Wnt-Signal, also ein Wnt-Signal, welches einen proliferativen Effekt auf die Stammzellen ausübt, ist Wnt2b. Nicht-kanonische Wnts haben nicht den Standardeffekt, die Proliferation, auf die Stammzellen, sondern haben einen alternativen Effekt auf die Stammzelle. Wnt2b kommt aus Pdgfr α ^{lo} Stromazellen, welche sich entlang der gesamten Krypten-Villus-Achse befinden (McCarthy, Kraicy und Shivdasani, 2020). Wie das kanonische Wnt-Signal auf die Zelle wirkt wurde bereits in der Einleitung erläutert (Abb. 6).

Das Wnt-Signal alleine ist aber nicht ausreichend, um die Zellteilung auszulösen, dazu ist das Signal an sich zu schwach und wird erst mit dem Signalverstärker R-spondin effizient (McCarthy, Kraicy und Shivdasani, 2020). Rspo bindet als Wnt-Agonist an dessen Rezeptor Lgr5. Dieser geformte Komplex ist dann in der Lage Znr3/Rnf43, welche ein negatives Feedback an das Wnt-Signal geben, aus der Zellmembran abzubauen und damit das Wnt-Signal indirekt zu verstärken (Kumar, Burgess und Gulbis, 2014). Sowohl Rspo1 als auch Rspo2 erlaubt somit die Stammzellproliferation und wird sezerniert von Trophozyten außerhalb des Epithels unterhalb des Kryptenbodens (McCarthy, Kraicy und Shivdasani, 2020). Trophozyten sind der Lamina muscularis mucosae anliegende Bindegewebszellen, welche aber noch verhältnismäßig unerforscht sind. Neben den Trophozyten sind auch Pdgfr α ^{lo} Stromazellen eine Quelle von Rspo (McCarthy et al., 2020).

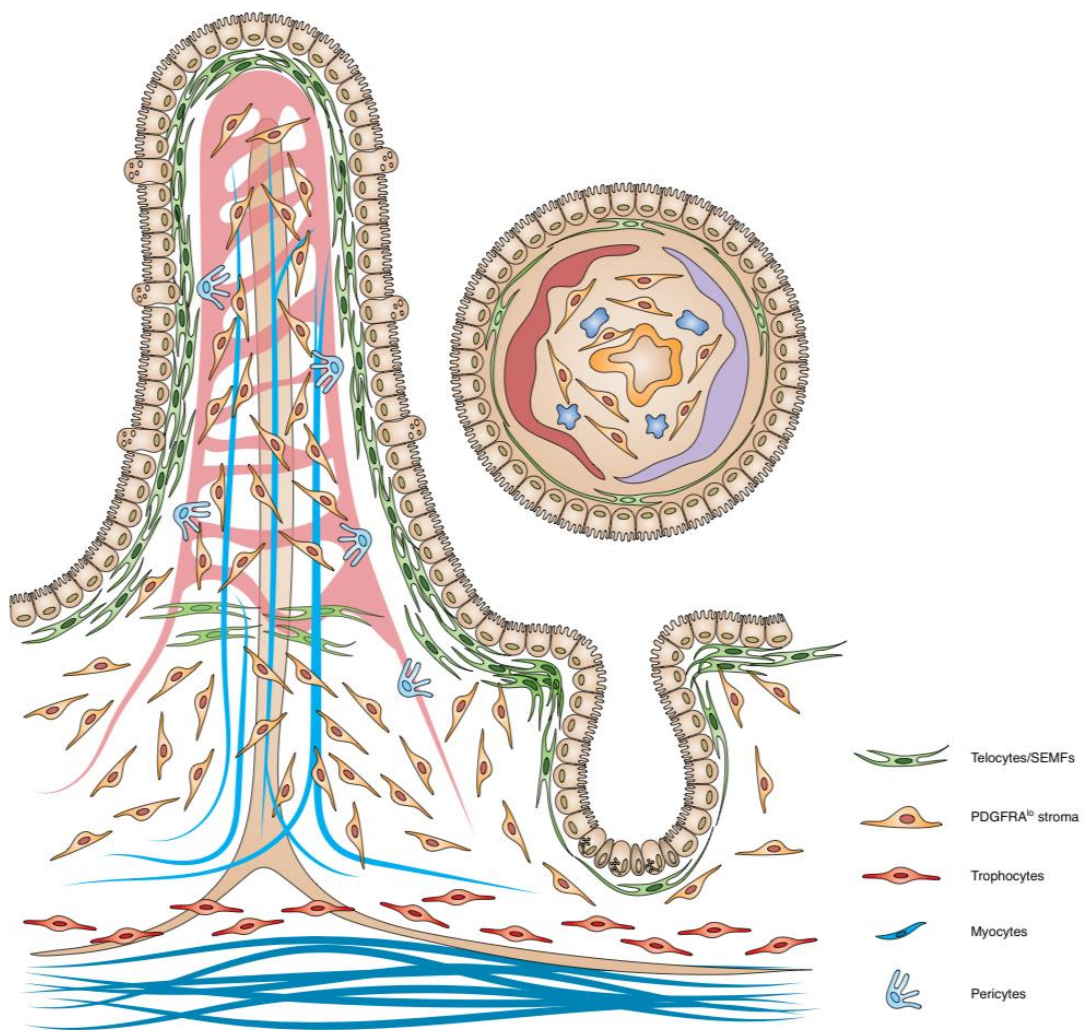


Abb. 12 Bindegewebe der Darmmukosa

(McCarthy, Kraiczky und Shivdasani, 2020)

Abbildung 12 zeigt die schematische Darstellung einer Darmmukosa mit einem exemplarisch dargestellten Villus (links) und einer Krypte (rechts). Rechts oben ist der Villus nochmals in der horizontalen Schnittebene dargestellt. Das Villusepithel besteht aus überwiegend Enterozyten

und Becherzellen. Das Kryptenepithel besteht aus Enterozyten, sowie Paneth-Körnerzellen und Stammzellen am Boden. Im Inneren des Villus sind neben Bindegewebszellen, welche rechts

unten benannt sind, drei Gefäße zu sehen: Arterien (rot), Venen (blau) und Lymphgefäß (beige).

Am Boden der Darstellung ist die Lamina muscularis mucosae abgebildet.

4.2.2 Signalstoffe und ihre mesenchymale Herkunft

Direkte mikroskopische Gemeinsamkeiten zwischen Magen- und Darmmukosa lassen sich auf ersten Blick erkennen. So haben beide Organe eine Lamina epithelialis mit Basallamina aufliegend auf einer Lamina propria und darunter befindlich eine Lamina muscularis mucosae aus glatten Muskelzellen.

Im vorangehenden Abschnitt wurden bereits einige Zellen dieser beiden Schichten mit ihren Beiträgen zu der Stammzellnische des Intestinums herausgestellt. Es stellt sich die Frage, ob diese Zellen aus dem Intestinum auch in der Magenmukosa wiederzufinden sind und ob sie dort potentiell die gleichen Funktionen ausüben.

Die Signale, die im Magen untersucht wurden auf ihren subepithelialen Ursprung, sind BMP, Noggin, EGF, Wnt, Rspo und Hedgehog.

Woher das BMP- und EGF-Signal in der Magenmukosa stammen könnten, ist noch nicht bekannt, aber wie in 4.2.1 erläutert wurde, stammt das BMP-Signal im Darm aus den Telozyten entlang der Krypten-Villus-Achse. Dies lässt die Hypothese zu, dass sich Telozyten oder ein ähnlicher Zelltyp auch in der Lamina propria der Magenmukosa befindet. Eine Studie an der Magenmukosa von Ratten bestätigt, dass es in der Lamina propria des Magens ebenfalls Telozyten gibt (Tamura et al., 2021). Ebenso wie die Telozyten des Darms sind die Telozyten des Magens $Pdgfra^{hi}$ markiert (Toader et al. 2019).

Mit der Anwesenheit von Telozyten im Magen kann man spekulieren, dass diese ebenfalls wie ihr Äquivalent im Darm BMP sezernieren. Wie bereits von Bartfeld und Koo (2017) herausgestellt wurde, weiß man auch, dass sogar innerhalb des Epithels mit den Parietalzellen eine Quelle für sowohl BMP4 als auch Sonic-Hedgehog besteht. Sonic-Hedgehog ist ein Signal, welches auch aus dem Bindegewebe aus den MSCs/Fibroblasten kommt, ob aus der Lamina propria oder tiefer liegenden Schichten wie der Tunica submucosa ist noch nicht bekannt. Eine Redundanz des BMP-Signals aus Epithel und Bindegewebe, also eine duale Quelle wäre also denkbar.

Die Verbindung, die im Fall vom BMP-Signal in der Magenmukosa noch fehlt, ist, dass Telozyten die tatsächliche Quelle von BMP im Bindegewebe sind, denn man weiß von der Existenz von Telozyten und von der Existenz von BMP. Wird die Kausalität zwischen den beiden Elementen einmal bestätigt, wäre eine weitere Parallele zum Darm zu erkennen. BMP ist ein nischeneinschränkendes Signal, da die Signalisierung von BMP in Corpusdrüsen zur Differenzierung von Parietalzellen führt.

Wie den BMP-Antagonist Grem1 im Darm gibt es auch im Magen ein äquivalentes Signal. Das Noggin-Signal übernimmt in der Magenmukosa die Funktion von Grem1 und ist dort der BMP-Antagonist (Barker, Bartfeld und Clevers, 2010).

Die Herkunft von Noggin aus der Lamina muscularis mucosae im Magen wurde von Wölffling et al. (2021) bestätigt. Die glatten Muskelzellen in der Lamina muscularis mucosae sezernieren Noggin unterhalb des Epithels und der Lamina propria. Noggin ist eine kritische Komponente insbesondere für die Formation von Antrumorganoiden (Hayakawa et al., 2015), was damit zusammenhängen könnte, dass am Drüsenboden von Antrumdrüsen ebenso wie am Boden der Krypten im Darm Wnt-rezeptive Zellen sitzen, die eine Signalhemmung von BMP benötigen um zu proliferieren.

EGF ist ein Signal, das zur Differenzierung des oberen Drüsenteils beiträgt (Wölffling et al., 2021). Da die Stammzellen im Corpus des Magens vor allem im Isthmus sitzen, müssen deren Nachfolger bidirektional migrieren, um das Drüsenepithel unterhalb des Isthmus und parallel dazu das Oberflächenepithel der Foveolae zu erhalten. Um unterschiedliche Zellpopulationen in Foveolae und Drüsenhals und Drüsenboden zu erhalten, müssen die differenzierenden Tochterzellen der Stammzellen aus dem Isthmus luminal und basal des Isthmus verschiedene Signale erhalten oder ein Signal nicht erhalten. Für diesen Zweck gibt es luminal vom Isthmus das EGF-Signal, welches dafür sorgt, dass die Mukuszellen der Foveola unterschiedliche Eigenschaften ausprägen im Vergleich zu den Mukuszellen im Hals der Drüse, welche kein EGF-Signal erhalten. Die luminalen Mukuszellen prägen Muc5ac und die Halsmukuszellen Muc6 aus (Wölffling et al., 2021). Genau diese Verteilung der Muc-Gene bewirkt das EGF-Signal oberhalb des Isthmus (Wölffling et al., 2021), wodurch es auch den Isthmus als Nische begrenzt.

Unterhalb des Isthmus ist das schwächere EGF-Signal der adequate Reiz für die Hauptzell- und Parietalzeldifferenzierung (Wölffling et al., 2021). Das EGF-Signal zeigt einen abnehmenden Gradienten von luminal zu basal (siehe Abb. 14). Wölffling et al. (2021) konnten zunächst anhand humaner Organoiden EGF als wichtigen Kulturfaktor identifizieren, jedoch beinhaltet ihre Studie nicht die Ursprungszelle des EGF-Signals in vivo. Der Gradient impliziert, dass die EGF-Quelle in der Lamina propria luminal auf Höhe der Foveola unterhalb des Epithels liegen muss.

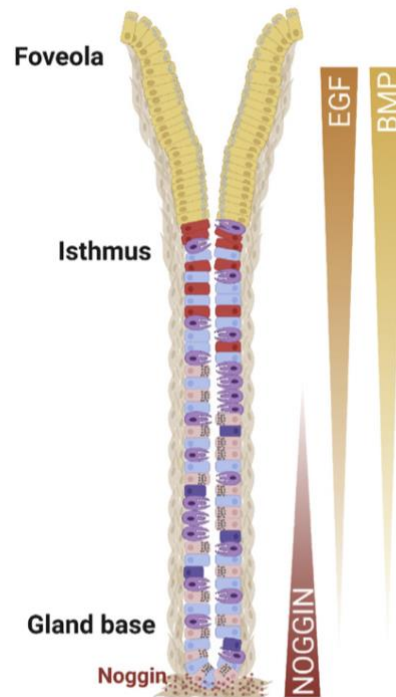


Abb. 13 Der Gradient von EGF, Noggin und BMP in einer Corpusdrüse

(Wölffling et al., 2021)

Abbildung 13 zeigt die schematische Darstellung einer Magendrüse. Luminal in gelb dargestellt sieht man Oberflächenepithelzellen und darunter den Isthmus mit rot dargestellten proliferierenden Zellen, hell-lila dargestellten Parietalzellen und blau dargestellten Nebenzellen. Im unteren Drüsenbereich sieht man dunkel-lila dargestellte enteroendokrine Zellen und beige dargestellte Hauptzellen mit Granula. Um die Drüse herum befindet sich eine Lamina propria und am Drüsenboden eine Lamina muscularis mucosae, welche Granula gefüllt mit Noggin sezerniert. Ebenso wird von luminal nach basal ein EGF- und BMP-Gradient gezeigt und von basal nach luminal ein Noggin-Gradient.

Neben EGF sind Wnt3a und Rspo1 wichtige Komponenten für die Formation von Antrumorganoiden (Hayakawa et al., 2015), welche bereits teilweise bekannte Nischenkomponenten aus dem Darm sind.

Im Antrumisthmus ist der Frizzled-Rezeptor ausgeprägt, der einer der Corezeptoren für Wnt ist (Sigal et al., 2017). Wnt-Signalisierung in diesem Bereich wäre naheliegend, obwohl die im Isthmus liegenden Stammzellen, markiert durch eR1 und Bmi1, bisher nicht mit Wnt in Verbindung gebracht wurden. Außer im Antrumisthmus wurde auch noch der Wnt-

Signalhemmer Rnf43 im Antrumboden gefunden, wo bekannte Wnt-rezeptive Zellen mit Lgr5 und Axin2 sitzen (Sigal et al., 2017).

Obwohl noch nicht genau klar ist, welches Wnt im Antrum wirken könnte, weiß man schon, dass als Agonist für Wnt Rspo3 aus der Lamina muscularis mucosae kommt (Sigal et al., 2017). So wie es im Magen auch die Pdgfra^{hi} Telozyten gibt, existieren in der Magenmukosa auch Pdgfra^{lo} Zellen (Tamura et al., 2021), welche vielleicht die Wnt-sezernierende Funktion übernehmen, wie es auch Pdgfra^{lo} Stromazellen im Darm machen.

Gerade im Bereich des Antrums würde das sehr viel Sinn ergeben, weil dort unteren Drüsendrittel Stammzellen mit Axin2 und darunter Lgr5 sitzen. Axin2 und Lgr5 als Wnt-Zielgene sind dafür ein guter Indikator.

Ein weiterer Zelltyp aus der Lamina propria, der bekannt ist für seinen Einfluss auf das Verhalten von epithelialen Stammzellen, sind die Cxcr4⁺ angeborenen lymphatischen Zellen (ILC) (Hayakawa et al., 2015b). Diese ILCs sind in der Lage das nicht-kanonische Wnt5a zu produzieren. Wnt5a signalisiert den Stammzellen unter physiologischen Bedingungen den Verbleib als Stammzelle. Die ILCs entstammen als lymphatische Zellen der hämatopoetischen Reihe und sind dementsprechend eingewanderte Zellen. Zudem besitzen sie auch die Fähigkeit bis in das Magenepithel einzuwandern und damit direkten Kontakt zu den dort ansässigen Zellen zu haben (Hayakawa et al., 2015b). Einen Enhancer-Effekt auf besagte ILCs haben Cxcl12⁺ Endothelzellen (Hayakawa et al., 2015b). In ihrer Anwesenheit produzieren die ILCs verstärkt Wnt5a (Hayakawa et al., 2015b). Eine Übersignalisierung von Wnt5a führt zu Diffuse-type Gastric Cancer (DGC) und zeigt damit aber auch das Potential als Nischenfaktor, denn die Entwicklung von DGC zeigt die proliferationsfördernde Kapazität eines erhöhten oder entgleisten Wnt5a-Signals.

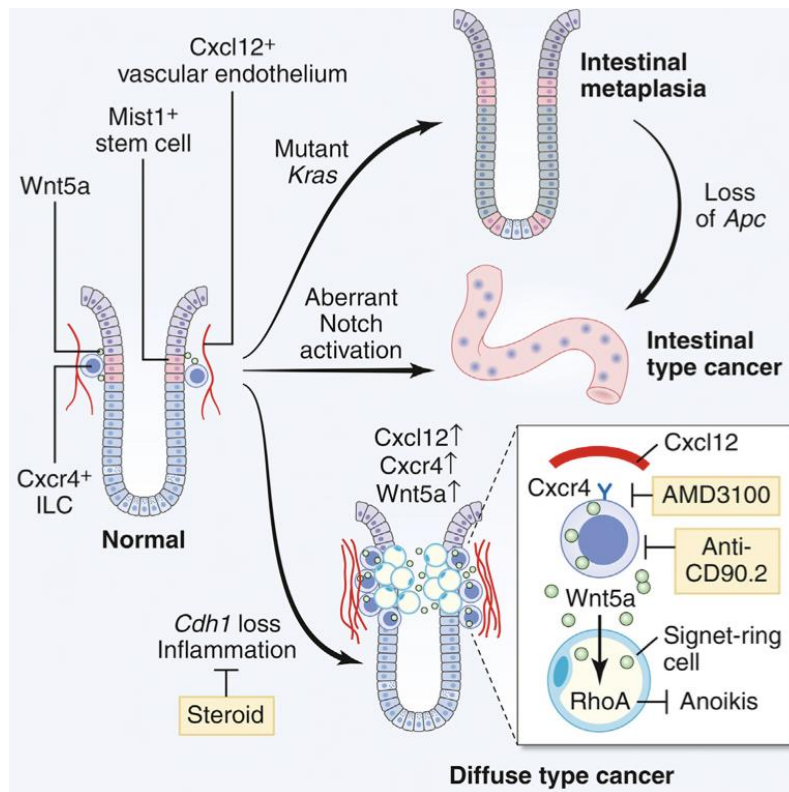


Abb. 14 Entwicklung verschiedener Metaplasien/Karzinome ausgehend von Mist1⁺ Stammzellen

(Hayakawa et al., 2015b)

Abbildung 14 zeigt die schematische Darstellung von einer Magendrüse aus dem Corpus und verschiedene Formen der Entartung dieser Drüse. Links ist die gesunde Drüse abgebildet. Rechts oben zeigt die Drüse nach Mutation des Kras-Gens, wobei die Drüse eine Transdifferenzierung zu einer darmkrypten-ähnlichen Struktur durchmacht. Diese Transdifferenzierung wird intestinale Metaplasie genannt. Rechts mittig wird gezeigt, dass diese Metaplasie bei Notch-Überaktivierung und Verlust des Apc-Gens zu intestinale Typ Krebs entartet. Rechts unten wird die Konsequenz einer Entzündung im Isthmusbereich gezeigt. Dabei erhöht sich die Zahl der Gefäße und ILCs im Isthmus, wodurch die Stammzellen proliferieren und zu Adipozyten differenzieren. Dies wird hier als Diffuse Type Cancer aufgeführt.

Sonic-Hedgehog ist ein Signal im Magen mit unterschiedlichen Charakteristika, da es nicht nur im Bindegewebe sezerniert wird, sondern auch in Parietalzellen (Katoh und Katoh, 2005; Donnelly et al., 2014) und unterschiedliche Funktionen einnimmt. Proliferation von Zellen in Epithel und Bindegewebe sowie Parietalzelldifferenzierung sind die Effekte eines Hedgehog-Signals (Donnelly et al., 2014; Bartfeld und Koo, 2017;; Xiao und Zhou, 2020). In einer Studie hat man herausgefunden, dass Fibroblasten von eingewanderten Stammzellen (MSC) aus dem Knochenmark abstammen (Donnelly et al., 2014). MSCs werden von einem

TGF β -Signal dazu angeregt den Liganden Sonic Hedgehog zu produzieren. Gepaart mit einer Gastritis, einer chronischen Entzündung, führt das Hedgehog-Signal zu einer Differenzierung der MSCs zu Fibroblasten (Donnelly et al., 2014). Bei der Arbeit von Donnelly et al. wurde keine spezifische Magenregion genannt, in der diese Ergebnisse beobachtet wurden, jedoch beschrieben sie, dass die Sekretion von Hedgehog in Kombination mit einer Entzündung zu der Proliferation von CD44⁺ Zellen im Bereich des Isthmus führte. CD44 ist ein β -catenin-Zielgen (Donnelly et al., 2014), welches eine Verbindung mit Wnt-sensiblen Zellen, wie den Lgr5⁺ Stammzellen des Antrums, zulässt.

Die Rolle von Sonic-Hedgehog in der Stammzellhomöostase des Magenepithels ist noch nicht präzise genug erforscht, jedoch weiß man, dass Hedgehog nicht nur einer Quelle entstammt und dass es zu Proliferation in Bindegewebe und Epithel führen kann, sowie Differenzierung in den Drüsen anregt. Der scheinbar entscheidende Faktor dafür welchen Effekt das Hedgehog-Signal hat, ist der Ursprung des Signals. Kommt das Signal aus dem Epithel, so wirkt es proliferativ auf das Bindegewebe und differenzierend auf das Epithel (Katoh und Katoh, 2005; Donnelly et al., 2014). Kommt Sonic-Hedgehog aus dem Bindegewebe wirkt es ausschließlich proliferativ auf das Epithel (Donnelly et al., 2014)

4.3 Die Stammzellnische im Epithel

4.3.1 Der Darm als Vorbild

Nachdem der Einfluss vom Bindegewebe des Magens auf die Stammzellnische betrachtet wurde, müssen auch die Zellen des Epithels auf ihren Beitrag zur Nische untersucht werden. Um zu verstehen welche Signale erwiesenermaßen wichtig sind für die Steuerung des Stammzellverhaltens, wird zunächst wieder der Darm betrachtet.

Die Lgr5⁺ Stammzellen des Darms, die am Kryptenboden liegen, liegen dort nicht alle nebeneinander gelagert, sondern befinden sich jeweils zwischen zwei Paneth-Körnerzellen. Paneth-Körnerzellen sezernieren α -Defensine, Lysozyme und generell antimikrobielle Peptide (Lüllmann-Rauch). Als Beitrag zur Stammzellnische sezernieren sie vor allem kanonisches Wnt3 und prägen Notch-Liganden DLL1 und DLL64 auf ihrer Zelloberfläche aus (Clevers, 2013). Zudem wird von ihnen auch EGF und TGF α sezerniert (Clevers, 2013).

Die Lageposition der Paneth-Körnerzellen begrenzt die Nische in ihrer Entfaltung, da die letzte Stammzelle der Krypte auf der +4 Position liegt. Dies ist vornehmend auf das Notch-Signal zurückzuführen, da das Notch-Signal kein Botenstoff ist, der parakrin oder autokrin

weitergegeben wird, sondern über punktuelle Zell-Zell-Kontakte übertragen wird, also Zell-autonom wirkt.

Dadurch dass sowohl der Notch-Rezeptor als auch der Ligand an die jeweilige Zellmembran gebunden sind, limitiert Notch die Ausbreitung der Nische (Clevers, 2013). Geht der Kontakt zum Notch-Signal verloren durch Migration der Stammzelle führt das zur Differenzierung.

Ein weiterer Grund für die lokale Limitierung der Nische ist, dass die Paneth-Körnerzellen zur Differenzierung gezwungen werden. Paneth-Körnerzellen werden ebenso wie alle anderen Zellen des Darmepithels von den Stammzellen hervorgebracht. Ihre Differenzierung wird durch einen fehlenden Notch-Kontakt ausgelöst, jedoch sind die Paneth-Körnerzellen weiterhin Wnt-rezeptiv.

Damit der Kryptenboden und somit die Nische nicht expandiert, bauen die E3-Ligasen, die von den Wnt-Zielgenen Rnf43 und Znr3 codiert werden, den Fz-Rezeptor für das Wnt-Signal ab, was weitere Proliferation verhindert (Clevers, 2013).

Was die Paneth-Körnerzellen weiterhin am Kryptenboden verankert, ist eine Wechselwirkung zwischen dem EphrinB-Rezeptor (EphBR) und dem EphrinB-Ligand (EphB), bei der sich Ligand und Rezeptor abstoßen.

Paneth-Körnerzellen prägen das Wnt-Zielgen EphB3 aus, welches dafür sorgt, dass Paneth-Körnerzellen in Richtung des Bodens gedrückt werden, während der Ligand EphB1, der in TACs und weiter differenzierten Zellen ausgeprägt wird, dafür sorgt, dass solche Zellen in Richtung der Villusspitze abgestoßen werden (Clevers, 2013). Je weiter differenzierende Zellen migrieren müssen, desto mehr EphB1 prägen sie auf ihrer Zelloberfläche aus.

Paneth-Körnerzellen nehmen somit eine sehr umfassende und wichtige Funktion in der Stammzellnische der Darmstammzellen ein und sind entsprechend als Nischenzellen anzusehen.

4.3.2 Kandidatenzellen für Nischenbeteiligung im Magenepithel

Im Magen gibt es keinen Zelltyp, der solch eine Vielfalt von regulativen Funktionen als Nischenzelle einnimmt wie die Paneth-Körnerzelle in der intestinalen Krypte. Der Ursprung einzelner Signale im Epithel könnte somit ein Faktor für die Verteilung der Stammzellen in den Drüsen des Magens sein. Während im Darm nur eine Stammzellnische existiert, sitzen vermutlich verschiedene Stammzellen des Magenepithels in unterschiedlichen Abschnitten der Drüsen.

Entlang der Drüse müssen Parietalzellen, enteroendokrine Zellen, Muc6⁺ Mukuszellen und Hauptzellen auf ihren Nischenbeitrag untersucht werden.

Die Zelle mit der meisten Nischenbeteiligung ist die Parietalzelle.

Sie ist als Quelle der Signale Sonic-Hedgehog und BMP4 bekannt (Bartfeld und Koo, 2017) und kann damit den Stammzellen in ihrer Nähe ein Differenzierungssignal geben (Katoh und Katoh, 2005; Wölffling et al., 2021).

Eine Regulationsmöglichkeit des BMP-Signals in den Parietalzellen besteht darin, dass Parietalzellen den Cck2-Rezeptor ausprägen, welcher nach Gastrinstimulation in der Lage ist das BMP2-Signal zu dämpfen (Hayakawa et al., 2015). Dies ist insofern relevant, da BMP2 und BMP4 häufig assoziierte Signale sind und somit ein ähnlicher regulativer Effekt von Gastrin auf BMP4 nicht auszuschließen wäre (Zhang und Que, 2020).

Notch ist ein Signal, das in Corpus und Antrum benötigt wird für Stammzellerhalt und -proliferation (Demitrack und Samuelson, 2017). Während im Darm bekannt ist, dass Notch-Liganden von Paneth-Körnerzellen ausgeprägt werden, ist noch nicht erforscht welche Zellen im Magen das Notch-Signal im Magen bereitstellen. Da das Notch-Signal für seine Wirkung direkten Kontakt zur Stammzelle haben muss und da das Signal entlang der gesamten Drüse in Corpus und Antrum gefunden wurde (Hayakawa et al., 2015b; Kim und Shivdasani, 2016; Bartfeld und Koo, 2017), sollte das Notch-Signal von einer Zelle stammen, die sich in allen Bereichen befindet, wo man Stammzellen vermutet.

Die Parietalzelle erfüllt dieses Kriterium, da sie in Isthmus, Hals und Boden zu finden ist und deshalb an jedem Ort den benachbarten Stammzellen das Notch-Signal übermitteln könnte.

Neben den biochemischen Einflüssen der Parietalzellen auf die Stammzellen des Isthmus, haben Parietalzellen zusätzlich einen physischen Beitrag zur Stammzellnische zu leisten. Weil sie nicht nur im Drüsenhals und in geringerem Ausmaß im Drüsenboden zu finden sind, sondern auch vereinzelt im Isthmus (Wölffling et al., 2021), können diese im Isthmus ansässigen Parietalzellen eine physische Barriere für die Stammzellen bilden und verhindern dadurch laterale Expansion der Stammzellen nach Teilung. Das Resultat dieser Blockade ist die Limitierung von Platz in der Nische, was die Stammzelltöchter zur Migration

aus der Nische forciert nach luminal oder basal und ihre fortschreitende Differenzierung begünstigt (Han et al., 2019).

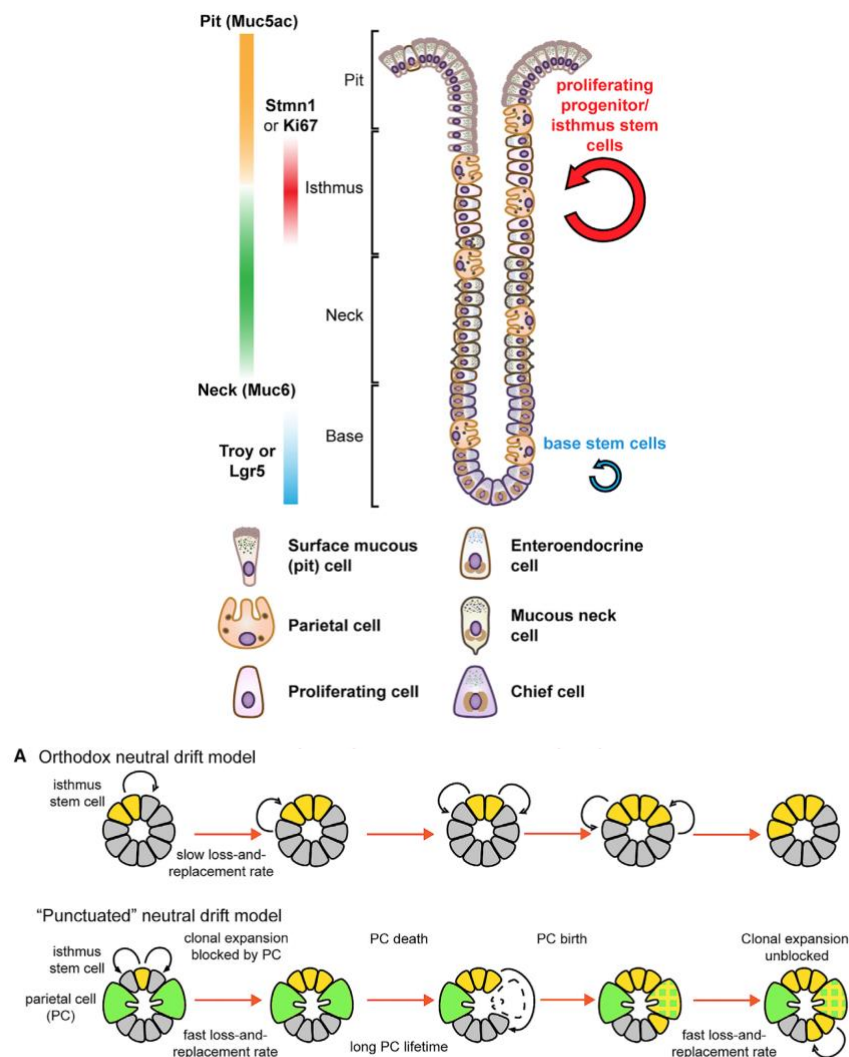


Abb. 15 Die Parietalzelle als physische Barriere

(Han et al., 2019)

Abbildung 15 zeigt einerseits die schematische Darstellung einer Magendrüse und andererseits einen Horizontalschnitt durch den Isthmus dieser Drüse darunter. Die einzelnen Zonen der Drüse sind links aufgeführt mit jeweiligen Markern, die charakteristisch für die Zone sind. Rechts neben dem Isthmus ist gekennzeichnet, dass dort die hauptsächliche Teilungsaktivität in der Drüse stattfindet (roter Pfeil). Darunter ist gekennzeichnet, dass sich die Reservestammzellen aus dem Drüsenboden selbst erneuern können (blauer Pfeil). Der Horizontalschnitt durch den Isthmus zeigt wie sich Stammzelltöchter nach

Teilung im Isthmus verbreiten können ohne die Parietalzelle als physische Barriere und wie sie gestoppt werden von freier Ausbreitung mit anwesenden Parietalzellen. Parietalzellen im Isthmus blockieren also die laterale Expansion der Stammzellen im Isthmus und zwingen sie so aus der Nische nach luminal oder basal.

Die besondere Funktion der Parietalzelle wird auch deutlich, wenn man Experimente betrachtet, bei denen untersucht wurde, was in der Corpusdrüse, passiert, nachdem Parietalzellen durch Behandlung mit Tamoxifen oder DMP-777 abgetötet wurden (Leushacke et al., 2017; Choi et al., 2018). Sinn und Zweck dieser Experimente war nicht zwangsläufig das Ermitteln der Nischenfunktion der Parietalzellen, sondern die Simulation einer Helicobacter pylori Infektion in der Drüse. Dennoch kann man aus diesen Experimenten einige Schlüsse ziehen unabhängig von den Effekten der Infektion, da das Abtöten der Parietalzellen in den Drüsen zur Entwicklung von SPEM führte (Yoshioka et al., 2019). Das Auftreten einer solchen Metaplasie zeigt einen Verlust des homöostatischen Stammzellverhaltens. Daraus kann abgeleitet werden, dass Parietalzellen essentiell sind für den Erhalt des gesunden Drüsenstadiums. Analog zu diesen Beobachtungen konnte ähnliches im Darm bei Verlust der Paneth-Körnerzelle festgestellt werden. Bei einem Deletionsexperiment konnten Parry et al. (2013) feststellen, dass die Krypten bei Paneth-Körnerzellverlust zu Grunde gehen. Das Entfernen der Paneth-Körnerzellen erfolgte durch Deletion des β -catenin-Gens, welches für das Überleben der Paneth-Körnerzellen notwendig ist.

Neben der Parietalzelle als Kandidatenzelle für Nischenbeteiligung gibt es auch noch die enteroendokrinen Zellen. Nicht alle im Magen bekannten endokrinen Zellen haben jedoch einen Einfluss auf Stammzellen. Lediglich einer der Stammzellmarker, die weiter oben besprochen wurden, zeigt eine Beziehung zu einem Typ der enteroendokrinen Zellen.

G-Zellen stellen das Hormon Gastrin, sowie seine Vorstufe Progastrin her, welche an den Cck2-Rezeptor binden. Dieser Rezeptor markiert Stammzellen an der Position +3 bis +7 des Antrums (Hayakawa et al., 2015). Für diese Stammzellen ist Progastrin ein Proliferationssignal (Xiao und Zhou 2020), weshalb dieser endokrine Zelltyp als Teil der Nische in Frage kommt.

Das Progastrin-Signal ist dabei ein förderndes Signal, welches die Proliferation begünstigt, indem es die Ausprägung des Rspo-Rezeptors Lgr5 steigert, was wiederum ein verstärktes Wnt-Signal zulässt (Hayakawa et al., 2015).

Nebenzellen aus dem Hals, welche durch Muc6 markiert sind, sind wie Parietalzellen an der Sekretion von Sonic-Hedgehog beteiligt (Katoh und Katoh, 2005). Damit tragen sie auch zu der Differenzierung der Stammzellnachkommen bei, sobald diese in den Drüsenhals migriert sind.

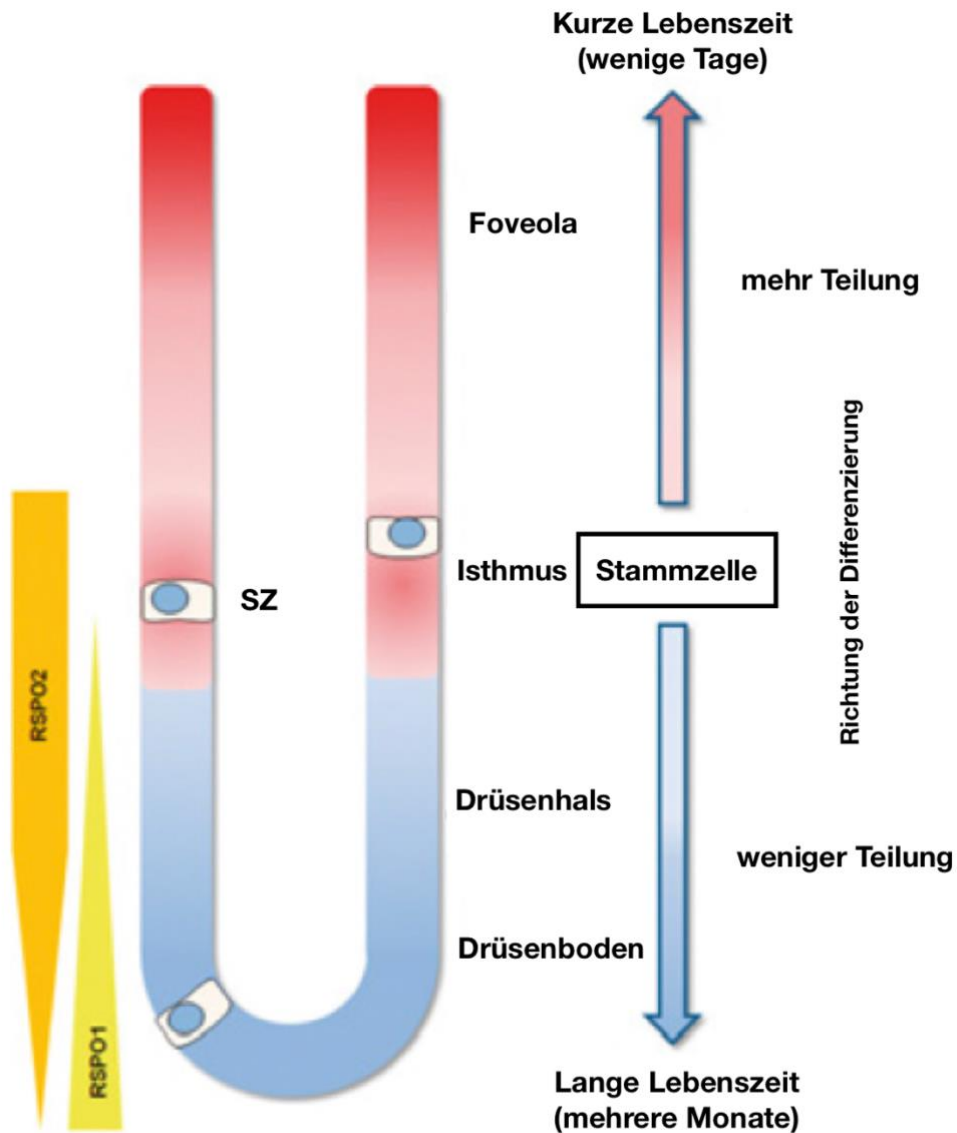


Abb. 16 RSPOs im Drüsenepithel

(adaptiert von Wilhelm et al., 2017)

Abbildung 16 zeigt die schematische Darstellung einer Magendrüse mit nebenstehenden Gradienten von Rspo1 und 2. In blau ist der Drüsenboden gekennzeichnet, in rot der Isthmus und die Foveola. Rechts neben der Drüse wird der Differenzierungsprozess der Isthmusstammzellen vereinfacht dargestellt. Gezeigt wird, dass Stammzellen die in Richtung der Foveola differenzieren eine kürzere Lebenszeit haben als diejenigen, die in Richtung des Drüsenbodens differenzieren. Außerdem sind drei vereinzelt Stammzellen (SZ) in der Drüse abgebildet, welche sich im Isthmus und Drüsenboden befinden.

Hauptzellen sind hingegen Epithelzellen, denen bisher keine Nischenfunktion zugeordnet werden konnte, was jedoch damit zusammenhängen kann, dass Troy markierte Hauptzellen zu Stammzellen transdifferenzieren können und somit nicht ihre eigene Nische bilden.

In einer Studie von Wilhelm et al. (2017) wurde erläutert, dass es auch eine epitheliale Rspo-Expression gibt und zwar im Bereich des Drüsenhalses und Drüsenbodens (Abb. 16). Welche Rolle epitheliale Rspos in der Nische spielen und ihre Herkunft müssen für ein besseres Verständnis der Stammzellen im Magenepithel ermittelt werden.

5. Diskussion

Nachdem in 4.1 diverse potentielle Stammzellmarker vorgestellt wurden, gilt es diese anhand ihrer Charakteristika zu bewerten, sie örtlich einzuordnen und Überschneidungen zu anderen Markern auszuschließen. Im Antrum hat man die möglichen Stammzellmarker Lgr5, Lrig1, Bmi1, Sox2, Axin2, Cck2r und eR1 identifiziert und im Corpus Mist1, eR1, Bmi1, Lrig1, Sox2 und Troy.

Die zu bewertenden Charakteristika sind vor allem die Fähigkeit Organoide zu bilden, diese für lange Zeit zu erhalten, auf Verletzung oder Entzündung der Drüse mit Proliferation zu reagieren, sowie die Drüse unter physiologischen Bedingungen zu erhalten.

Daran anknüpfend wird diskutiert welche Signale aus der Stammzellnische die Stammzellen zum Selbsterhalt oder zu Differenzierung der Tochterzellen bewegen.

Zuletzt wird die Methodik der hier behandelten Studien bewertet und wie aussagekräftig die einzelnen Versuche und Modelle sind in ihrem Bezug auf die physiologische Situation im Menschen.

5.1 Was sind die tatsächlichen Stammzellmarker unter physiologischen Bedingungen und welche zeigen eine erhöhte Wahrscheinlichkeit von Überschneidung oder Coexpression?

Im Antrum wird zuerst der Stammzellmarker Lgr5 betrachtet. Lgr5⁺ Stammzellen wurden in unterschiedlichen Organen gefunden wie dem Intestinum oder der Mamma. Dieser Fakt allein ist jedoch nicht überzeugend genug dafür, dass Lgr5 auch Stammzellen im Antrum des Magens markiert. Um die Stammzellqualitäten einer Zelle zu überprüfen, kann man versuchen mit der isolierten Zelle und den richtigen Kulturbedingungen Organoide zu generieren. Für die Generierung von Corpusorganoiden werden keine Lgr5⁺ Zellen benötigt, im Gegenteil sie tauchen sogar im späteren Verlauf der Organoidgenese auf, was ein Abstammungsverhältnis zu einer anderen Stammzelle im Corpus nahelegt (Leushacke et al., 2017; Xiao und Zhou, 2020).

Ihre Rolle für den langfristigen Erhalt der Drüse ist daher automatisch relativiert zu betrachten. Axin2⁺ Stammzellen können Lgr5⁺ Zellen hervorbringen (Sigal et al., 2017). Somit besteht ein Abstammungsverhältnis zwischen Axin2⁺ und Lgr5⁺ Zellen, wobei Axin2⁺ Zellen die Stammzellen sind. Außerdem ist Axin2 auch in den Lgr5 markierten Zellen ausgeprägt (Sigal et al., 2017), wie auch in 4.1.9 illustriert. Es wäre durchaus zu vermuten, dass Lgr5 nicht bona fide Stammzellen markiert, sondern Progenitoren oder TACs der Axin2⁺ Stammzellen. Was

für die Rolle Lgr5⁺ Zellen als TACs spricht ist, dass sie sich nahezu täglich teilen und jede differenzierte Zelle der Antrumdrüsen hervorbringen (Mills und Shivdasani, 2011).

Axin2 markiert Zellen in der Position +3 bis +7 in den, wobei sich im Schnitt 1,8 bis 1,3 Axin2⁺ Zellen in einer einzelnen Drüse befinden (Sigal et al., 2017), und zeigt in dieser Position teilweise Überschneidung mit Lgr5 und Cck2r, ein Marker der im folgenden diskutiert wird.

Was Axin2 gegenüber diesen beiden anderen Markern hervorhebt, ist dass, beobachtet werden konnte, dass Axin2⁺ Zellen Organoide bilden und aufrechterhalten können für mindestens zwei Monate (Sigal et al., 2017).

Auch nach Eliminierung der Lgr5 positiven Zellen mit Diphtherie Toxin konnten Axin2⁺/Lgr5⁻ Zellen die verlorenen Zellen wieder hervorbringen und so ihr regeneratives Potential unter Beweis stellen (Sigal et al., 2017).

Ob Axin2 Stammzellen im humanen Antrum markiert, ist noch nicht vollends geklärt. Der humane Wnt-Signalverstärker Rspo hatte jedoch im murinen Modell in vivo den Effekt die Proliferation von Axin2⁺ Zellen zu verstärken (Sigal et al., 2017). Dies lässt die Annahme zu, dass auch im Menschen Axin2⁺ Zellen Stammzellen markiert, welche unter physiologischen Bedingungen die Drüse erhalten.

All diese Argumente zusammengenommen sind überzeugend dafür, dass Axin2⁺ Zellen die Stammzellen des Antrums sind. Ob sie jedoch die einzigen Stammzellen, die in antralen Drüsen zu finden sind, sind, wird in den folgenden Abschnitten untersucht.

Ein weiterer Stammzellmarker der hierbei auffällt, ist Cck2r, da er ebenso wie Axin2 nur Zellen im Antrum markiert und das auch in der Position +3 bis +7 (Hayakawa et al., 2015), in genau der Position, wo sich auch Axin2⁺ Stammzellen befinden (Sigal et al., 2017). Neben dieser auffälligen Positionierung wird das Wnt-Signal, für das Axin2⁺ Stammzellen sensibel sind, durch ein Rspo-Signal stabilisiert (Wilhelm et al., 2019), welches wiederum durch die Bindung von Progastrin an Cck2r verstärkt wird. Cck2r ist selbst kein Wnt-Zielgen, Axin2 jedoch schon. Demnach muss Cck2r eine Wnt-rezeptive Stammzelle markieren, die an der beschriebenen Position liegt und das lässt nur den Schluss zu, dass Cck2r die Axin2⁺ Stammzellen markiert und damit die Axin2⁺ und Cck2r⁺ Stammzellen als eine Entität angesehen werden können.

Diese Schlussfolgerung muss aber experimentell via in vitro Costaining oder FACS-Sorting bestätigt werden. Ob Cck2r⁺ Zellen eine eigene Stammzellpopulation darstellen, ist fragwürdig. Sie zeigten ein erhöhtes Potential zur Organoidsynthese als sie Lgr5 verstärkt ausprägten, weshalb eine Überschneidung mit den Lgr5⁺ Stammzellen eine Möglichkeit ist.

Somit ist Cck2r möglicherweise nicht geeignet als definitiver Marker von Stammzellen, da Cck2r sowohl in Stammzellen als auch TACs ausgeprägt werden kann

Von Sox2⁺ Stammzellen konnten Hayakawa et al. 2015 die Cck2r⁺ Stammzellen aber definitiv abgrenzen und Yoshioka et al. konnten auch 2019 eine Überschneidung mit Bmi1⁺ Stammzellen ausschließen, da Bmi1⁺ Stammzellen oberhalb der typischen +4 Position der Cck2r⁺ Zellen in Position +5 bis +8 sitzen und Ki67 zu 71% ausprägen im Vergleich zu 30% in Cck2r⁺ Zellen.

Diese beiden Populationen zeigten also sehr unterschiedlich starkes Proliferationsverhalten. Jedoch muss man im Kopf behalten, dass solch ein Unterschied auch durch diverse Faktoren beeinflusst sein kann.

Lrig1 ist als Stammzellmarker wenig überzeugend. Das weitläufige Auftreten von Lrig1⁺ Zellen entlang der Drüsenachse ist untypisch für Stammzellen, da eine solch breite Nische die Drüse quasi funktionslos machen würde. Auch dass Lrig1 in Parietalzellen, sowie proliferativen Zellen ausgeprägt ist (Choi et al., 2018), zeigt, dass der Marker Lrig1 als Alleinstellungsmerkmal für Stammzellen nicht geeignet ist.

Die Wahrscheinlichkeit, dass Lrig1⁺ Stammzellnachkommen in Form von Progenitoren und TACs markiert und sich als Marker bis in das differenzierte Stadium hält, steigt durch die Verbindungen, die gemacht wurden (Choi et al., 2018; Schweiger et al., 2018), von Lrig1 zu Sox2⁺ Stammzellen, Parietalzellen, Tff2⁺ Mukuszellen und Lgr5⁺ Zellen im Corpus. Im Antrum hingegen fehlen bisher noch ausreichend Forschungsergebnisse, um qualitative Aussagen zu der potentiellen Stammzellrolle von Lrig1⁺ Zellen treffen zu können. Die Verbindungen von Lrig1 zu genannten Zellen müssen jedoch noch bestätigt oder negiert werden. Diese Unsicherheit bezüglich ihres Status als Stammzelle, lässt Lrig1⁺ Zellen nach heutigem Wissensstand nicht als bona fide Stammzellen erscheinen.

Die Sox2⁺ Zellen haben hingegen einige überzeugende Stammzellcharakteristika vorzuweisen. Sox2 ist ein Marker, der auch während der Entwicklung eine wichtige Rolle in der Magenbildung spielt und kaum Überschneidung mit anderen potentiellen Stammzellmarkern, außer vielleicht mit dem fragwürdigen Marker Lrig1 zeigt (Choi et al., 2018). Andere Überschneidungen von potentiellen Stammzellmarkern in den Sox2⁺ Stammzellen wurden bisher noch nicht festgestellt und konnten teilweise sogar ausgeschlossen werden.

So weiß man, dass die Lgr5⁺ Zellen im Drüsenboden des Antrums keine gemeinsame Ausprägung mit Sox2⁺ Stammzellen zeigen (Arnold et al., 2011). Sox2⁺ Stammzellen sind bekannt dafür, dass sie sich im unteren Drüsendrittel in Antrum und Corpus befinden (Choi et

al., 2018). Im Antrum sitzen sie damit ungefähr in einer Position von +1 bis +7, da darüber bereits der untere Isthmus beginnt (Sigal et al., 2017). Eine Studie von Arnold et al. (2011) hat eine Überschneidung von Sox2 mit dem Marker Lgr5 mittels immunhistochemischer Färbung ausgeschlossen. Damit kann ausgeschlossen werden, dass sich Sox2⁺ Stammzellen am Drüsenboden zwischen Position +1 und +3 befinden, da sich dort die Lgr5⁺ Zellen befinden.

Hayakawa et al. (2015) haben des Weiteren eine Überschneidung mit Cck2r ausschließen können. Unter der Annahme, dass Cck2r ein weiterer Marker der Axin2⁺ Stammzellen im Antrum ist, kann man ableiten, dass sich evtl. die Sox2⁺ Stammzellen neben den Axin2⁺ Stammzellen im Bereich +4 bis +7 befinden.

Neben keiner erwiesenen Überschneidung mit anderen Markern besitzen Sox2⁺ Zellen die Fähigkeit sowohl im Antrum als auch im Corpus die gesamte Drüse nach Tamoxifenbehandlung zu regenerieren und sie sind auch bis zu 22 Monate nach Tamoxifengabe noch erhalten (Arnold et al., 2011). Die Teilungsrate ist im Antrum jedoch ungefähr doppelt bis dreifach so hoch wie im Corpus, da im Antrum Sox2⁺ Zellen wesentlich schneller jede Zelle der Drüsen hervorbringen konnten (Arnold et al., 2011).

Dass Sox2 positive Zellen unter physiologischen Bedingungen für den Erhalt von Antrumdrüsen durch homöostatische Teilungsaktivität sorgen (Choi et al., 2018), ist zusammengenommen mit den vorangegangenen Argumenten der Grund, weshalb Sox2⁺ Zellen im Antrum als Stammzellen anerkannt werden sollten.

Bmi1⁺ Zellen sind ebenso wie Sox2⁺ Stammzellen in Corpus und Antrum ausgeprägt (Xiao und Zhou, 2020). Im Antrum sitzen sie im Isthmus zwischen Position +5 und +8 der Drüse (Yoshioka et al., 2019). Nach den Beobachtungen von Karam und Leblond (1993a), dass sich Stammzellen im Isthmus aufhalten, ist dies ein Stammzellindiz. Ob Bmi1⁺ Stammzellen nicht auch von anderen Stammzellmarkern gekennzeichnet wird, steht in Bezug auf den Stammzellmarker Axin2 noch in Frage. Deren Überschneidung wurde noch nicht überprüft, aber die unterschiedliche Positionierung innerhalb der Antrumdrüsen lässt eine Überschneidung der beiden Marker vorerst nicht sehr plausibel wirken. Eine Coexpression mit Lgr5 im Antrum und im Corpus, sowie eR1 wurde klar ausgeschlossen (Yoshioka et al., 2019). Im Antrum fand man ebenfalls keine gemeinsame Ausprägung von Bmi1 mit Troy oder Lgr5 vor (Yoshioka et al., 2019).

Sie haben eine recht hohe Proliferationsrate, was durch die hohe Ausprägung von Ki67 mit 57% nachgewiesen werden konnte (Yoshioka et al., 2019). Auch wenn eine hohe Proliferationsrate gegen die allgemeine Stammzelldefinition spricht, welche besagt, dass Stammzellen wenig teilende Zellen sind, so hat doch Hans Clevers (2013) dagegen argumentiert. Lgr5⁺ Stammzellen in den Darmkrypten haben auch hohe Proliferationsraten

und er bewies, dass sie Stammzellen sind. Die erhöhte Proliferationsrate wird dadurch zu erklärt, dass sowohl der Magen als auch der Darm Epithel ausprägt, welches in hoher Rate konstant erneuert werden muss und die Stammzellen beider Gewebe an diese hohen Anforderung angepasst sein müssen.

Außerdem zeigten Yoshioka et al. (2019) in ihren Experimenten, dass bei Verlust der Bmi1⁺ Zellen die Funktionsfähigkeit von der Lamina epithelialis des Magens kompromittiert ist. Als Reaktion auf Verletzung zeigen Bmi1⁺ Zellen jedoch die Transdifferenzierung zu SPEM, was den Schluss nahelegt, dass sie nicht als Reservestammzellen, die nach Verletzung aktiviert werden, in Frage kommen. Eine homöostatische Funktion ist somit das Einzige, was ihre Existenz begründen kann.

Dafür spricht, dass Bmi1⁺ Zellen alle differenzierten Zelltypen des Antrums und des Corpus hervorbringen können, wie in Organoidkulturen bewiesen werden konnte (Yoshioka et al., 2019). Unter physiologischen Bedingungen ist es vorstellbar, dass die Tochterzellen der Bmi1⁺ Zellen bidirektional Richtung Drüsengrund und Foveola migrieren und so das Drüsenepithel erhalten. Somit können Bmi1⁺ Stammzellen als ein essentieller Teil der Drüsen angesehen werden.

Laut Matsuo et al. (2017) findet man eR1⁺ Zellen im Antrum im Isthmus, wo diese in besagter Studie als Stammzellen identifiziert werden. Dass eR1 angeblich Stammzellen markiert, wurde auch von Nienhüser et al. (2021) festgehalten. Jedoch findet man im Darm eR1 gemeinsam ausgeprägt mit Lgr5 (Chuang, Osato und Ito, 2020). Im Falle einer Überschneidung der Marker in den gleichen Zellen am Drüsenboden, könnte es sein, dass eR1 neben Stammzellen im Isthmus des Antrum auch Progenitoren am Drüsenboden markiert. Überschneidungen mit anderen Stammzellmarkern wurden nicht erfasst.

Hingegen wurden aber im intestinalen Kryptenboden auch eR1 markierte TACs gefunden (Chuang, Osato und Ito 2020). Diese beiden Erkenntnisse lassen ein Modell zu, in dem eR1 nicht nur Stammzellen im Isthmus markiert, sondern auch deren Nachkommen am Drüsenboden. Wäre das auch im Magen der Fall, würde dies eR1 als Stammzellmarker disqualifizieren, da man so anhand des Markers keinen eindeutigen Nachweis über die Stammzellqualität einer Zelle erbringen kann. Deshalb müsste in eR1⁺ Isthmuszellen noch ein weiterer definitiver Stammzellmarker gefunden werden, der die Isthmuszellen von denen im Drüsenboden abgrenzt, und dann könnten sie neben Bmi1⁺ Stammzellen eine zweite Stammzellpopulation im Isthmus darstellen. Eine Überprüfung dieses Befundes ist jedoch noch ausstehend.

Zusammengefasst lassen die hier aufgeführten Argumente nur den Schluss zu, dass allein Axin2, Sox2 und Bmi1 Stammzellen im Antrum des Magens markieren können. Das überzeugendste Argument für diese durch die Marker gekennzeichneten Zellen ist, dass sie unter physiologischen Bedingungen die Drüse erhalten, und damit die definitionsgetreue Funktion von adulten Stammzellen übernehmen. Ebenso ist zu erkennen, dass die drei Stammzellpopulationen nicht alle gleiche Aufgaben haben könnten. Bmi1⁺ Stammzellen im Isthmus sind möglicherweise nicht unbedingt an der Reparatur des Epithels nach Verletzung so stark beteiligt, wie die beiden im Drüsenhals sitzenden Stammzelltypen. Diese Beiden zeigten nach Tamoxifenbehandlung eine stärkere Aktivierung zum Wiederaufbau des Epithels als Bmi1⁺ Zellen.

Was diese drei Stammzellpopulationen gemeinsam haben, ist die Fähigkeit alle differenzierten Zellen des Antrumepithels hervorzubringen. Würden alle drei dies unter physiologischen Bedingungen konstant tun, hätte man zwar ein recht sicheres System in Bezug auf die Gefahr von Mutation und Entartung durch die Redundanz der Reproduktion der differenzierten Zellen aus verschiedenen Stammzellpopulationen, jedoch wäre es auch nicht maximal effizient. Ein effizientes System wäre gegeben, wenn die Nachkommen der Stammzellen sich koordiniert differenzieren, sodass jede Stammzellpopulation für einen oder mehrere Typen von Zellen in den Antrumdrüsen verantwortlich ist. Beispielhaft für diese Rollenverteilung wäre, dass Bmi1⁺ Zellen die Progenitoren für die Epithelzellen der Foveola hervorbringen aufgrund ihrer Lage im Isthmus und damit einhergehenden Nähe zur Foveola. Ein weiteres denkbare Modell wäre, dass nicht jede einzelne Stammzellpopulation auch in jeder Drüse vorhanden ist, sondern dass es Drüsen gibt, die von Axin2⁺ Stammzellen erhalten werden oder eben von Bmi1⁺ oder Sox2⁺ Stammzellen. In diesem Modell würde jede Stammzellpopulation jede differenzierte Zelle der Antrumdrüse hervorbringen. Jedoch wäre es in diesem Modell unklar welche Umgebungsfaktoren darüber entscheiden in welcher Drüse welche Stammzelle residiert oder ob dies kompletter Zufall ist.

Egal in welcher Konfiguration die Stammzellen tatsächlich im Antrum vorliegen, kann man mit Überzeugung sagen, dass die drei Marker Axin2, Sox2 und Bmi1 Stammzellen im Antrum des Magens kennzeichnen.

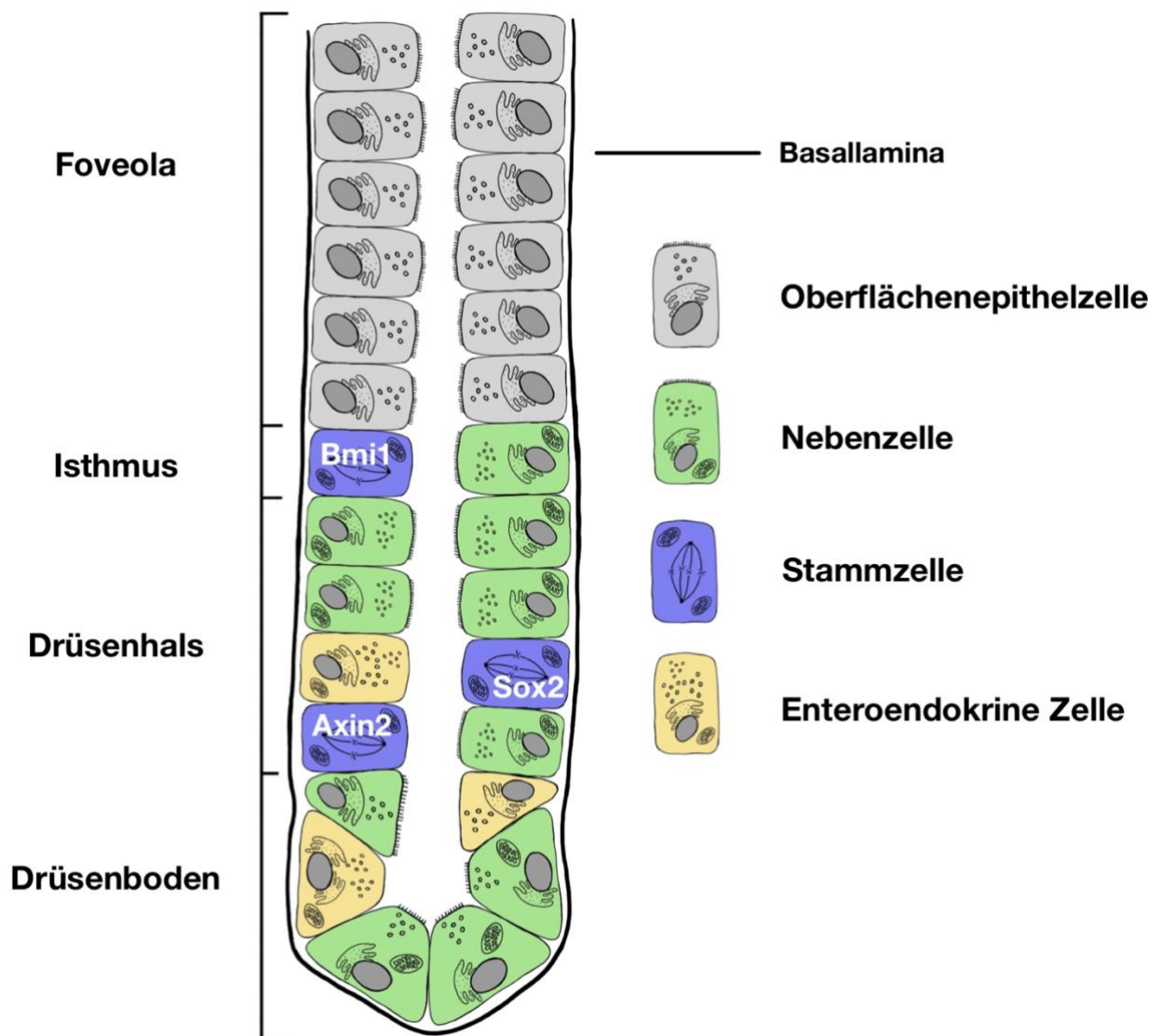


Abb. 17 Die Drüse des Antrums und ihre Stammzellen

Abbildung 17 zeigt die modellhafte Darstellung einer antralen Magendrüse mit ihren Stammzellen, welche in blau besonders hervorgehoben sind. In den Stammzellen sind ihre Marker eingetragen, sodass man zwischen ihnen unterscheiden kann. Die Stammzellen sind in ihrem jeweils physiologischen Drüsenabschnitt. Auf der linken Abbildungsseite sind die Drüsenabschnitte bezeichnet. Auf der rechten Seite befindet sich eine Legende bezüglich der verschiedenen Zelltypen.

Im Corpus hat man Mist1, eR1, Bmi1, Lrig1, Sox2 und Troy als potentielle Stammzellmarker gefunden, deren Überschneidung und Stammzellstatus es einzuordnen gilt. Wie auch im Antrum müssen die Fähigkeiten potentiellen Stammzellen Organoide zu produzieren, eine Langlebigkeit in der Drüse zu zeigen und unter physiologischen Bedingungen die Drüse zu erhalten untersucht werden, um eine qualitativ hochwertige Aussage über den Stammzellstatus einer Zelle treffen zu können.

Mist1 ist ein Marker, der ausschließlich im Corpus des Magens ausgeprägt wird. Die Population, die im Isthmus residiert, ist mit großer Wahrscheinlichkeit eine eigenständige bona fide Stammzellpopulation.

Diese These wird dadurch unterstützt, dass Mist1⁺ Zellen im Isthmus keine Überschneidung mit anderen dort gefundenen potentiellen Stammzellmarkern wie eR1 und Bmi1 zeigt (Matsuo et al., 2017; Yoshioka et al., 2019). Zusätzlich besitzen die Mist1⁺ Zellen die Fähigkeit Organoide der Corpusdrüsen in vitro hervorzubringen (Hayakawa et al., 2015b) und zeigen eine Ausprägung vom Proliferationsmarker Ki67, allerdings nur zu 0,2%, was sie besonders macht, da die anderen Zellen, die als Stammzellen beschrieben wurden, wesentliche höhere Ki67-Ausprägung zeigten (Nienhüser et al., 2021; Matsuo et al., 2017).

Obwohl Hayakawa et al. (2015b) zeigen konnten, dass Mist1⁺ Zellen an der Homöostase des Epithels beteiligt sind, so sind sie eher ruhende Stammzellen. Dieses Verhalten der Zellen entspricht der klassischen Stammzelldefinition.

Neben Mist1⁺ Stammzellen im Corpusisthmus wird Mist1 auch am Drüsenboden von Lgr5⁺ differenzierten Hauptzellen ausgeprägt (Hayakawa et al., 2015b). Diese Mist1 markierten Zellen sind keine Stammzellen, sondern nur Mist1⁺/Lgr5⁻ Zellen im Isthmus, da sie nach Diphtherietoxinbehandlung verschwinden und durch Lgr5⁻ Zellen aus dem Isthmus wieder hervorgebracht werden können.

eR1 wurde noch nicht mit anderen potentiellen Stammzellmarkern gemeinsam ausgeprägt erfasst. Dies ist die aktuelle Faktenlage zu diesem Marker. Wie jedoch schon im Paragraphen zu eR1 im Abschnitt über das Antrum erläutert wurde, gibt es eine positionelle Überlagerung von eR1⁺ Zellen und anderen diskutierten Stammzellkandidaten. Im Corpus sind nämlich eR1⁺ Zellen nicht nur im Isthmus, sondern auch am Drüsenboden zu finden, wo sich auch Lgr5⁺ TACs befinden (Chuang, Osato und Ito, 2020). Zudem zeigten die eR1⁺ Zellen eine starke Antwort auf die durch Tamoxifen induzierte Drüsenschädigung, indem sie darauf mit starker Proliferation reagierten und alle differenzierten Zelltypen der Corpusdrüse wieder hervorbringen konnten (Chuang, Osato und Ito, 2020).

Für die eR1⁺ Zellen als Stammzellen spricht, dass sie Organoide in vitro hervorbringen können und zumindest nach regenerativer Aktivität ein Jahr lang beobachtet werden konnten und

damit auch Langlebigkeit nachwiesen (Matsuo et al., 2017; Chuang, Osato, und Ito, 2020; Nienhüser et al., 2021).

Wie sich eR1⁺ Zellen unter physiologischen Bedingungen verhalten ist noch nicht ganz klar. Es ist zwar erwiesen worden von Chuang, Osato und Ito (2020), dass eR1⁺ Zellen auf Wnt- und Notch-Signale in Organoidexperimenten anspringen, aber zurzeit fehlen noch experimentell fundierte Aussagen bezüglich des Verhaltens von eR1⁺ Zellen in vivo.

Aus diesem Grund ist an dieser Stelle festzuhalten, dass eR1⁺ Zellen durchaus den Eindruck machen bona fide Stammzellen zu sein. Jedoch ist man mit dem Problem konfrontiert, dass nicht unbedingt alle eR1⁺ Zellen Stammzellen sein könnten, sondern zum Beispiel TACs am Drüsenboden in manchen Fällen. Wenn eR1 somit nicht ausschließlich Stammzellen markiert, ist eR1 als Marker nicht geeignet und es muss ein anderer definitiver Stammzellmarker für die Zellen gefunden werden, die das oben aufgeführte Verhalten zeigen.

Deshalb kann eR1 nicht in das Modell der Stammzellen im Corpus mit aufgenommen werden.

Bmi1⁺ Zellen sind neben eR1⁺ Zellen weitere Zellen, die bereits für das Antrum als Stammzellen diskutiert wurden. Sie zeigen aber keine definitive Überschneidung mit eR1 (Yoshioka et al., 2019). Bmi1⁺ Zellen zeigten Langlebigkeit in vitro in Organoidversuchen, sowie die Ausprägung des Proliferationsmarkers Ki67 (Matsuo et al., 2017; Yoshioka et al., 2019; Nienhüser et al., 2021). Eine Überschneidung mit Mist1 konnte im Corpus von Matsuo et al. (2017) aufgrund der hohen Proliferationsmarkerausprägung argumentativ ausgeschlossen werden, da Mist1⁺ Stammzellen nur zu 0,2% Ki67 und Bmi1⁺ Stammzellen zu 57% Ki67 ausprägen (Yoshioka et al., 2019), obwohl die Verteilung der eR1⁺ und Bmi1⁺ Zellen in der Corpusdrüse der Verteilung von Mist1⁺ Zellen ähnelt.

Ansonsten fand man für Bmi1⁺ Zellen die gleichen Ergebnisse bezüglich ihres Stammzellcharakters unter physiologischen Bedingungen im Corpus wie im Antrum, weshalb sie auch im Corpus als Stammzellen zu betrachten sind.

Im Corpus fand man Lrig1⁺ Zellen auch im Isthmus, aber diese wurden nicht als Stammzellen, wie es ihr Fundort vermuten lassen könnte, sondern als Progenitorzellen identifiziert (Choi et al., 2018). An der Drüsenbasis wurde ebenfalls Lrig1 gefunden, was eine Coexpression von Lrig1 und Troy dort theoretisch zulässt. Diese Theorie konnte bisher weder bestätigt noch verworfen werden (Schweiger et al., 2018; Choi et al., 2018). Die Untersuchung von Lrig1 als Stammzellmarker muss klarere und ausführlichere Forschungsergebnisse hervorbringen, um Lrig1 als Vorläuferzellmarker, Stammzellmarker oder Marker von TACs zu klassifizieren. Die Ergebnisse der bisher durchgeführten Studien von dem potentiellen Stammzellmarker Lrig1 sind inkonklusiv und Lrig1⁺ Zellen können deshalb nicht vollends als Stammzellen anerkannt

werden, obwohl sie in der Lage sind Organoide zu bilden und Langlebigkeit von über einem Jahr zeigten (Schweiger et al., 2018; Choi et al., 2018). Organoidkulturen fehlen aber möglicherweise inhibitorische Signale aus der Lamina propria und muscularis mucosae, sodass es zu unterschiedlichen Ergebnissen kommt zwischen Organoidversuchen und in vivo Versuchen.

Lrig1⁺ Zellen haben also Stammzellpotential in vivo, aber tragen unter physiologischen Bedingungen nicht zwangsläufig zum Erhalt des Drüsenepithels bei, was sie als Stammzellen disqualifiziert.

Sox2 ist ein Stammzellmarker, der bereits für das Antrum als Stammzellmarker erkannt wurde. Für den Corpus gelten die gleichen Ergebnisse. Sox2⁺ Zellen zeigen keine Überschneidung mit anderen Stammzellmarker im Antrum und wurden im Corpus lediglich von Choi et al. (2018) mit Lrig1 in Verbindung gebracht. Angesichts der Tatsache, dass Sox2 aber ein Stammzellmarker ist, der bereits in der Entwicklung vorzufinden ist, kann man gleiches nicht für Lrig1 behaupten. Zudem ist Lrig1 auch noch in anderen Bereichen der Corpusdrüse ausgeprägt als Sox2, da dieser Marker sich auf das untere Drüsendrittel beschränkt, während Lrig1 auch im Isthmus zu finden ist (Choi et al., 2018). Diese beiden Marker sind somit nicht gleichwertig und Sox2 scheint nach aktuellem Stand der Marker zu sein der ausschließlich Stammzellen markiert.

Am Drüsenboden findet man Hauptzellen, die durch Transdifferenzierung zu Stammzellen werden können und nach Verletzung beginnen sich zu teilen. Diese Subpopulation von Hauptzellen wird durch Troy markiert und gilt laut Stange et al. (2013) als Stammzelle. Obwohl Troy⁺ Zellen Corpusorganoide hervorbringen können (Stange et al., 2013; Schweiger et al., 2018), beteiligen sie sich kaum an der Epithelhomöostase, weshalb sie lediglich als Reservestammzellen angesehen werden können. Stange et al. (2013) unterstützten diese Hypothese durch einen Versuch, bei dem sie Stammzellen des Isthmus durch 5-Fluoruracil abtöteten, worauf der Anteil der aktiv proliferierenden Troy⁺ Zellen von 3,2% auf 10,9% stieg.

Insgesamt erhält man nach Diskussion der potentiellen Stammzellmarker im Corpus ein nach aktuellem Wissensstand eindeutiges Modell, welche Stammzellen sich im Corpus befinden. Im Isthmus befinden sich langsam teilende ruhende Mist1⁺ Stammzellen und die stärker proliferierenden Bmi1⁺ Stammzellen. Im Drüsenhals befinden sich dann die Sox2⁺ Stammzellen. Je nach Auslage der Definition einer Stammzelle kann man die Troy⁺ Zellen zusätzlich als Reservestammzellen bezeichnen, aufgrund ihrer regenerativen Kapazität nach Transdifferenzierung, jedoch werden sie in dieser Arbeit nicht in das Modell der Corpusdrüse als Stammzellen mit aufgenommen, da sie unter physiologischen Bedingungen nicht der Epithelhomöostase dienen.

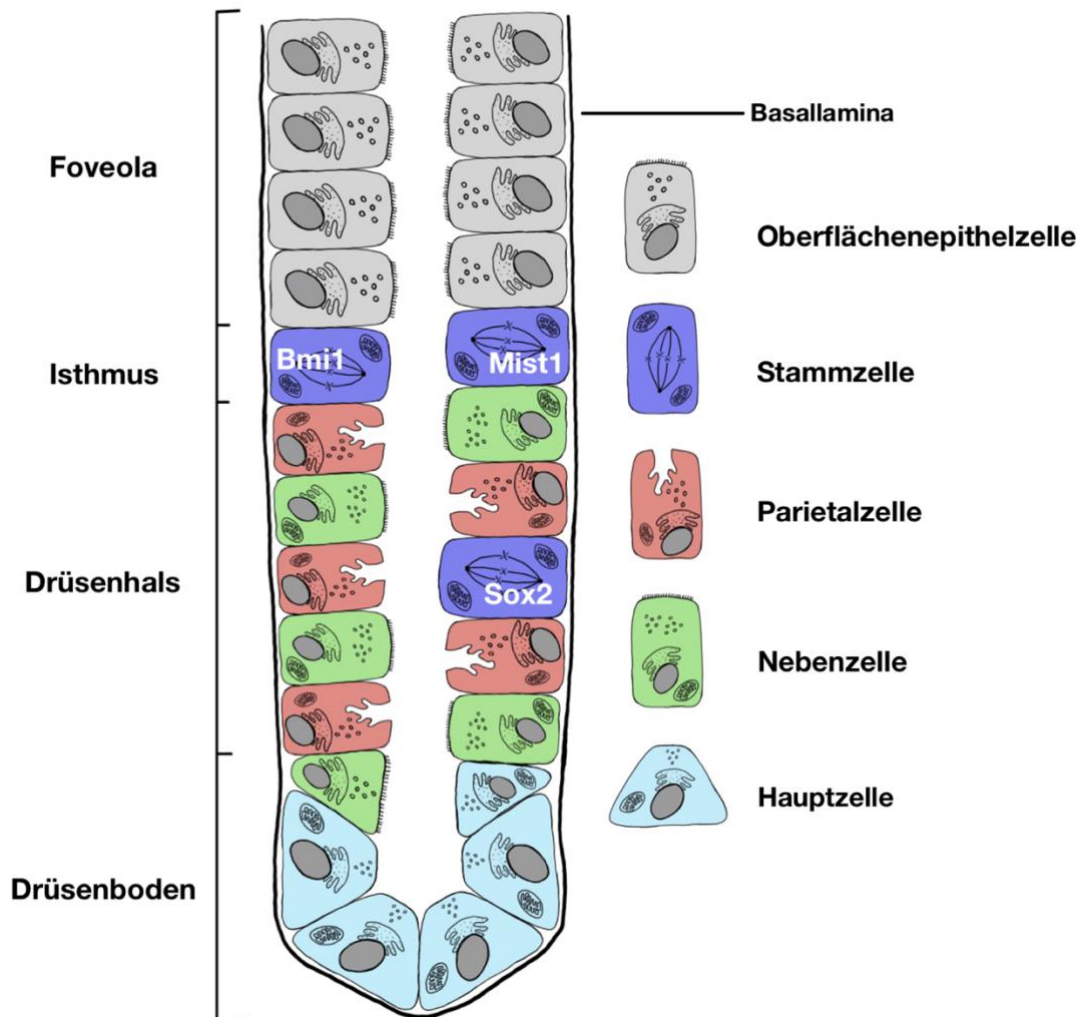


Abb. 18 Die Drüse des Corpus und ihre Stammzellen

Abbildung 18 zeigt die modellhafte Darstellung einer Magendrüse im Corpus mit ihren Stammzellen, welche in blau besonders hervorgehoben sind. In den Stammzellen sind ihre Marker eingetragen, sodass man zwischen ihnen unterscheiden kann. Die Stammzellen sind in ihrem jeweils physiologischen Drüsenabschnitt. Auf der linken Abbildungsseite sind die Drüsenabschnitte bezeichnet. Auf der rechten Seite befindet sich eine Legende bezüglich der verschiedenen Zelltypen

Vergleicht man nun die Ergebnisse, die bei Antrum und Corpus herausgestellt wurden, wird direkt klar, dass man in beiden Teilen des Magens Sox2⁺ und Bmi1⁺ Stammzellen findet. Diese beiden Stammzellen sind deshalb möglicherweise für die konstante Erneuerung der gleichen Zelltypen in Antrum und Corpus verantwortlich. Auch wenn beide Stammzellen das Potential dazu besitzen alle differenzierten Zelltypen der Magendrüse hervorzubringen, könnten sie unter physiologischen Bedingungen aufeinander abgestimmt sein.

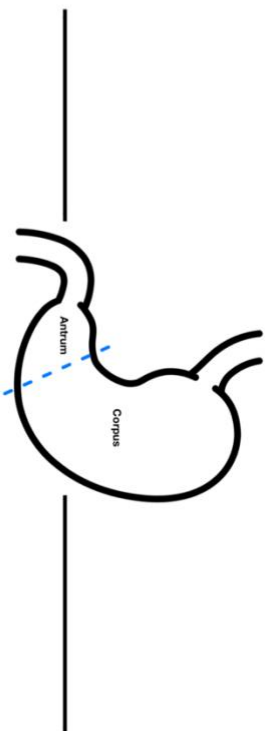
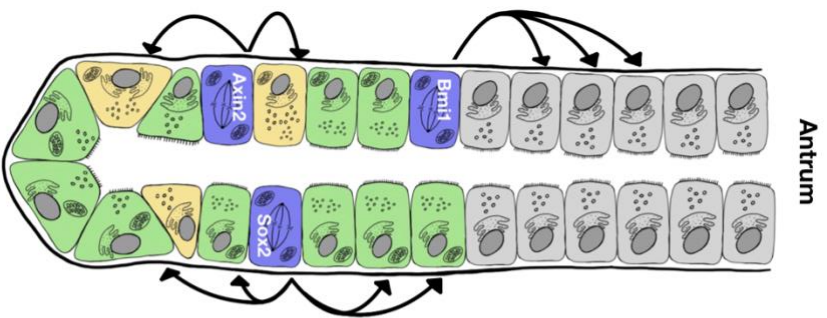
Ein Modell wäre plausibel, in dem Bmi1⁺ Stammzellen vorwiegend die Oberflächenepithelzellen erneuern, da diese Zellen eine kurze Lebensdauer haben und somit eine hohe Proliferationsanforderungen an ihre Stammzelle stellen. Bmi1⁺ Stammzellen haben wie bereits erwähnt eine hohe Proliferationsmarkerexpression, weshalb sie diesen Anforderungen gewachsen sind. Auch ihre physische Nähe zur Foveola unterstützt ein solches Modell. Die bidirektionale Migration der Tochterzellen aus dem Isthmus ist eine Theorie, die im Laufe dieser Dissertation mehrfach erwähnt wurde, allerdings würde eine unidirektionale Migration nach der Aufführung dieser Argumente zumindest für die Bmi1⁺ Stammzellen wesentlich mehr Sinn ergeben unter physiologischen Bedingungen.

Sox2⁺ Stammzellen können in Antrum und Corpus Nebenzellen hervorbringen, denn dies ist ein Zelltyp, der im Drüsenhals und Drüsenboden in beiden Teilen des Magens vorkommt. Dementsprechend würde es nur logisch sein, wenn Zellen aus diesen Drüsenabschnitten der Stammzelle aus diesen Abschnitten entstammen. Ob Sox2⁺ Stammzellen weitere Zelltypen unter physiologischen Bedingungen hervorbringen ist durchaus denkbar. Jedoch gilt dies mehr für die Corpusdrüsen, da Sox2⁺ Stammzellen dort im Hals- und Bodenbereich keine weitere Stammzelle an ihrer Seite haben um den Erhalt von Parietalzellen und Hauptzellen zu übernehmen.

Im Antrum hingegen stehen den Sox2⁺ Stammzellen die Axin2⁺ Stammzellen zur Seite. Im Antrum besteht die Möglichkeit, dass Sox2⁺ Stammzellen ausschließlich die Nebenzellen hervorbringen und Axin2⁺ Stammzellen die enteroendokrinen Zellen hervorbringen. Für solch ein Modell würde zusätzlich sprechen, dass Axin2⁺ Stammzellen auch in Verbindung gebracht wurden mit dem Marker Cck2r, welcher auch in enteroendokrinen Zellen als Progastrinrezeptor ausgeprägt ist.

Die letzten Stammzellen, die noch nicht eingeordnet wurden in ihrer Funktion, sind die Mist1⁺ Stammzellen. Aufgrund ihrer geringen Proliferationsrate sind sie schwieriger einzuordnen als beispielsweise Bmi1⁺ Stammzellen. Da sie sich selten teilen, wäre es möglich, dass sie ausschließlich langlebige Zelltypen wie die Hauptzellen hervorbringen. Es besteht eine Verbindung zwischen Mist1⁺ Stammzellen und Hauptzellen, da Lgr5⁺ Hauptzellen auch Mist1 ausdrücken. Deshalb bringen Mist1⁺ Stammzellen eventuell langlebige differenzierte Reservestammzellen hervor und dienen somit der Vorbereitung auf eine Verletzung der Drüse. Unter physiologischen Bedingungen können diese zur Transdifferenzierung fähigen Hauptzellen aber ganz normal ihrer Funktion nachgehen.

Zur Veranschaulichung dieser Rollenaufteilung der Stammzellen wird mit Hilfe von Abb. 19 ein Modell illustriert, wie sich die Magendrüsen unter physiologischen Bedingungen erhalten könnten.



Stammzelle	Antrum	Corpus
Bmi1	Oberflächenepithelzellen	Oberflächenepithelzellen
Sox2	Nebenzellen	Nebenzellen Parietalzellen Hauptzellen
Axin2	Enteroendokrine Zellen	-
Mist1	-	Hauptzellen

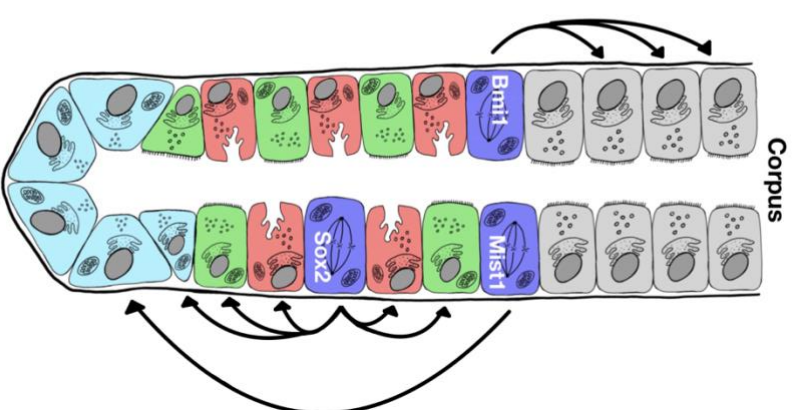


Abb. 19 Zusammenfassende Darstellung der Stammzellorganisation in Antrum und Corpus

Abbildung 19 fasst die Ergebnisse aus 5.1 zusammen. Links ist die Antrumdrüse aus Abb. 17 gezeigt. Die schwarzen Pfeile zeigen einerseits in welche Richtung sich die TACs der Stammzellen bewegen und andererseits zu welchem Zelltyp ihre Nachkommen differenzieren. Auf der rechten Seite ist das Gleiche für den Corpus festgehalten mit seinen entsprechenden Stammzellen. Um einen Vergleich und Überblick zu erhalten sind die beiden Magenregionen in der Tabelle in der Mitte gegenübergestellt. Die Tabelle zeigt welchen Zelltyp welche Stammzelle in den beiden Magenregionen jeweils hervorbringt.

5.2 Was bildet tatsächlich die Stammzellnische für die Stammzellen in Antrum und Corpus – bindegewebige Faktoren und epitheliale Faktoren

Die Nische kontrolliert das Verhalten der Stammzellen und schränkt sie in ihrer physischen Ausbreitung ein durch differenzierende Signale und physische Barrieren wie die Basallamina und Nachbarzellen. Die Stammzellen des Magenepithels erhalten ihre regulativen Signale aus den subepithelialen Schichten Lamina propria und Lamina muscularis mucosae, sowie aus benachbarten Epithelzellen. Ein Verständnis dieser Signale, die zur Proliferation oder Reifung der Stammzellen führen, ist essentiell, um den Zellumsatz und den Gewebeerhalt zu verstehen und um den krankhaften Zustand in Form von Tumoren zu verstehen und zu therapieren.

BMP ist einer der differenzierungsfördernden Nischenfaktoren. Ein BMP-Signal wirkt der Proliferation von Stammzellen in der Magenmukosa entgegen, und wo man es findet liegen die Grenzen der Stammzellennische (Barker, Bartfeld und Clevers, 2010; Wölffling et al., 2021; Zhang und Que, 2020). BMP kommt potentiell aus Telozyten der Lamina propria (Toader et al., 2019; McCarthy, Kraiczky und Shivdasani, 2020; Tamura et al., 2021; Wölffling et al., 2021) und aus den Parietalzellen, welche vor allem im Corpus eine Rolle spielen in ihrer Nischenbegrenzung (Wölffling et al., 2021). Die Relevanz von einem BMP-Signal als inhibitorischer Regulator der Stammzellen ist immens, da ein Kontrollverlust der Proliferationsrate der Stammzellen in eine Metaplasie bis hin zu Krebs führen kann. Die Wichtigkeit von BMP im Darm als Teil der Stammzellnische wurde herausgestellt (McCarthy, Kraiczky und Shivdasani, 2020) und eine ähnliche Bedeutsamkeit im Magenepithel ist entsprechend anzunehmen. Damit am Antrumboden die Stammzellen nicht durch BMP zur Differenzierung angeregt werden, wird aus der Lamina muscularis mucosae der BMP-Antagonist Noggin sezerniert, der dann die Wirkung von BMP im unteren Drüsenbereich aufhebt (Wölffling et al., 2021).

EGF ist ebenso ein nischenbegrenzendes Signal, da es die Differenzierung der Muc5ac Mukuszellen der Foveola fördert (Wölffling et al., 2021). Ab dem Punkt, wo BMP- oder EGF-Signale zu stark werden, beginnt die Differenzierung der Vorläuferzellen und damit die Grenze der Stammzellnische.

Wnt ist dagegen eines der primären Proliferationssignale für eine Vielzahl von epithelialen Stammzellen in unterschiedlichen Geweben wie der Glandula mammaria, dem Intestinum und dem Colon (Takebe et al., 2015). Anhand von Wnt-Zielgenen wie Axin2 und Lgr5 können die Wnt-rezeptiven Zellen auch direkt ausgemacht werden, allerdings können diese trotzdem

teilungsinaktiv sein, da der Wnt-Signalweg durch negative Regulatoren wie das BMP-Signal überschrieben werden kann. Diese Zielgene markieren dementsprechend auch proliferative Zellen wie die Axin2⁺ Stammzellen des Antrums (Sigal et al., 2017). Im Epithel des Magens hat man noch keine Quelle für Wnt gefunden wie die Paneth-Körnerzellen im Darm. Weder in Antrum noch im Corpus, aber dafür spekuliert man auf Wnt-Quellen im Bindegewebe unterhalb der Lamina epithelialis. Eben so eine Wnt-Quelle könnten die Pdgfra^{lo} Zellen der Lamina propria darstellen, deren Anwesenheit in der Magenmukosa von Tamura et al. (2021) bestätigt wurde und im Dünndarm laut McCarthy, Kraiczy und Shivdasani (2020) die stromale Wnt-Quelle sind. Auch wenn im Magen die Verbindung zwischen Wnt-Sekretion und Pdgfra^{lo} Zellen noch bestätigt werden muss, erscheinen sie dennoch als die wahrscheinlichste Quelle eines kanonischen Wnt-Signals in der Magenmukosa angesichts der multiplen Gemeinsamkeiten zwischen den Laminae propriae des Magen und Darms. Besonders im Antrum werden diese Bindegewebszellen ihren Effekt entfalten können, da dort eine Wnt-rezeptive Stammzellpopulation und wahrscheinlich deren Tochterzellen angesiedelt sind, Axin2⁺ Stammzellen und Lgr5⁺ Progenitoren, die auf ein Wnt-Signal mit Proliferation reagieren können. Im Corpus hingegen, hat man Stammzellpopulationen, die überwiegend keine Wnt-Zielgene ausdrücken. Die Ausnahme davon sind die Troy⁺ Reservestammzellen (Stange et al., 2013; Bartfeld und Koo, 2017), welche jedoch keinen Beitrag zur Epithelhomöostase leisten und somit unter normalen Umständen auch kein Wnt-Signal erhalten sollten. Die wenig proliferierenden Mist1⁺ Stammzellen des Corpus empfangen zwar ein Wnt-Signal, welches aber nicht-kanonisches Wnt5a ist. Wnt5a vermittelt den Stammzellen ein Überlebenssignal, aber in vitro wurde auch beobachtet, dass die Organoidgenese ausgehend von Mist1⁺ Stammzellen auf ein Drittel der Genesezeit durch Wnt5a-Signalisierung verkürzt wurde (Hayakawa et al., 2015b).

Aufgrund der Verteilung von Wnt-rezeptiven teilungsfähigen Zellen zwischen Antrum und Corpus kommt man zu dem Erkenntnis, dass ein Wnt-Signal wesentlich wichtiger für das Antrum für die normale Epithelhomöostase ist, während es für den Corpus erst oder nur an Bedeutung nach einer Verletzung der Lamina epithelialis gewinnt, da dort die Wnt-rezeptiven Troy⁺ Reservestammzellen am Drüsenboden residieren.

Ein stimulierendes Signal für den Wnt-Signalweg ist das bereits mehrfach erwähnte Rspo-Signal, dessen zellulärer Ursprung in der Lamina muscularis mucosae liegt (Sigal et al., 2017). Eine abermalige Verstärkung dieses Signals geht wiederum von dem Hormon Gastrin bzw. seiner Vorstufe Progastrin aus, da dieses Hormon über eine Bindung an den Cck2-Rezeptor die Rspo-Wirkung steigert, indem mehr Lgr5 in die Zellmembran eingelagert wird. Dadurch erhalten Rspo-Moleküle mehr Bindungsmöglichkeiten (Hayakawa et al., 2015; Kumar, Burgess und Gulbis, 2014). Gastrin und Progastrin kommen aus den nach ihnen benannten G-Zellen (Hayakawa et al., 2015). Die Signale Rspo und Progastrin sind ausschließlich für die

Stammzellen relevant welche auch rezeptiv für den Wnt-Signalweg sind, da diese beiden Signale Verstärker des Wnt-Signals sind und nicht Wnt-unabhängig wirken.

Notch ist ebenfalls ein aus dem Darm bekanntes Signal, welches dort die Stammzellen aus ihren direkten Nachbarzellen, den Paneth-Körnerzellen, beeinflusst und für diese Stammzellen ein entscheidendes Nischensignal ist (Clevers, 2013). Hayakawa et al. (2015b) haben einen Effekt von Notch auf Mist1⁺ Stammzellen im Corpus verzeichnen können. In einem ihrer Versuche stellten sie eine Entwicklung von intestinale Typ Metaplasie im Corpus fest nach konstanter Notch-Aktivierung in Mist1⁺ Stammzellen. Obwohl die Wirkung von Notch durch zwei Experimente beobachtet wurde, konnte nicht ermittelt werden, woher ein Notch-Signal in vivo kommt. In einem der Experimente wurde Notch durch Diabenzazepin gehemmt, wodurch die Proliferation im Isthmus reduziert wurde. Im zweiten Experiment wurde der Notch-Signalweg konstant aktiviert, wodurch sich Magenkarzinome vom intestinalen Typ entwickelten (Hayakawa et al., 2015b). Es müsste eine Nachbarzelle sein, die direkten physischen Kontakt zur Stammzelle aufnehmen kann, um das Signal zu übermitteln. Ähnliches ließ sich auch in Sox2⁺ Stammzellen beobachten, welche Polypenbildung nach Überexpression von NCID, einem Teil des Notch-Signals, förderten (Demitrack und Samuelson, 2017). Polypen sind Geschwülste, die sich in Schleimhäuten bilden können und in Magen und Darm entarten können. Eine Zelle, die sowohl neben Mist1⁺ als auch neben Sox2⁺ Stammzellen liegt und als potentielle Signalquelle dienen könnte, wäre die Parietalzelle, da sie sowohl im Hals als auch im Isthmus zu finden ist. Da Parietalzellen auch BMP sezernieren, könnten sie also eine genaue Regulation dieser beiden Stammzelltypen vornehmen und damit ein Teil der Isthmusnische und Halsnische sein.

Das Sonic-Hedgehog-Signal aus den Parietalzellen hingegen ist ein Faktor, der die Stammzellnische indirekt beeinflusst, weil eine basale Sekretion von Hedgehog in die Lamina propria dort einen stimulierenden Effekt auf Stromazellen hat. Diese sind für Wnt-Sekretion verantwortlich (Kim et al., 2020). Das Hedgehog-Signal wäre somit ein vertikales Signal zwischen Epithel und Bindegewebe statt eines planaren Signals innerhalb des Epithels wie das Notch-Signal.

Somit ist nach heutigem Kenntnisstand bekannt, dass es fünf Hauptsignale gibt, die die Stammzellnische der im Magenepithel ansässigen Stammzellen bilden. BMP, EGF, WNT, Notch und Hedgehog sind für die Stammzellnischen essentielle Signale, die Antagonisten oder Agonisten in Form von Noggin, Rspo und Progastrin an ihre Seite gestellt bekommen, um die Stammzellaktivität fein abzustimmen.

Über Wnt-rezeptive Stammzellen und Notch-rezeptive Stammzellen konnten bereits einige Erkenntnisse bezüglich ihrer Nischensignale gesammelt werden. Die Differenzierung ihrer Tochterzellen wird wahrscheinlich von BMP und EGF gesteuert, allerdings ist dies eine reine Hypothese und bedarf einer experimentellen Überprüfung.

5.3 Einordnung der Forschungsergebnisse aus murinen Versuchen und Organoidversuchen

Nachdem in diesem Kapitel diskutiert wurde, welche potentiellen Stammzellmarker tatsächlich eigenständige Stammzellen markieren und welche Zellen einen Teil der Stammzellnische mit ihren jeweiligen Signalen ausmachen, ist es noch essentiell diese Ergebnisse in den humanen, physiologischen Kontext einzuordnen.

Die Experimente, die in den hier betrachteten Studien aufgeführt wurden, wurden entweder an Mäusen oder an Organoiden von Mensch und Maus durchgeführt, weshalb man auf Basis dieser Ergebnisse ein gutes theoretisches Modell aufbauen kann. Jedoch ist noch nicht klar, ob dieses Modell auch der tatsächlichen physiologischen Situation im Menschen entspricht. Alle Stammzellen mit den in Abb. 19 gezeigten Markern besitzen in Organoidkulturen die Fähigkeit die gesamte Drüse hervorzubringen. Diese Fähigkeit besitzen sie jedoch ohne den Einfluss der subepithelialen Schichten Lamina propria und Lamina muscularis mucosae. Auch wenn die Signale, die den Zellen in Organoidkulturen zur Verfügung gestellt werden, in vivo ebenfalls vertreten sind, so ist das in vitro Modell unfähig unbekannte Inhibitoren der Signale mit einzubeziehen. Unter physiologischen Umständen kann es zu lokalen Hemmungen kommen, welche aus den subepithelialen Schichten kommen, die aktuell noch nicht am Organoid nachgeahmt werden können. Die Vielfalt der Stammzellen in Corpus- und Antrumdrüsen würde ein Modell unterstützen, bei dem all diese multipotenten Stammzellen der Drüsen in ihrem Potential durch ihre Nische eingeschränkt werden.

Eine solches Modell ist allerdings mit den heute verfügbaren Organoidexperimenten nicht überprüfbar. Organoide bei denen die gesamte Tunica mukosa kultiviert wird, würden die Möglichkeit bieten das tatsächliche Stammzellverhalten der menschlichen Magenstammzellen zu verstehen und die hier entwickelte Hypothese zu bestätigen.

Das Thema dieser Doktorarbeit ist sehr komplex und bedarf wesentlich mehr Forschung angesichts der gesundheitlichen Bedeutung weiterer Erkenntnisse. Das Modell, das hier erarbeitet wurde, ist anhand des aktuellen wissenschaftlichen Standes der Goldstandard dafür, wie unser Verständnis von Stammzellen im Magenepithel auszusehen hat. Allerdings ist dieses Verständnis zu Teilen gestützt auf argumentativem Ausschluss von

Stammzellkandidaten und anderen Theorien. Bei einer teils fehlenden Evidenzbasis ist dies unumgänglich. Aus diesem Grund ist es wichtig die in dieser Doktorarbeit gestellte Hypothese, das Modell von Stammzellen im Magenepithel und ihren Nischen experimentell zu überprüfen.

6. Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde erläutert, dass der Magen ein sich ständig erneuerndes Epithel besitzt, das durch konstant teilende Stammzellen erhalten werden muss. Jedoch findet man kein einheitliches Stammzellprofil im Magen vor, sondern ein regional organisiertes. Damit unterscheidet sich der Magen vom Darm, in dem man eine Stammzellpopulation für alle Epithelzellen vorfindet. Antrum und Corpus haben unterschiedliche Aufgaben und damit ein daran angepasstes Stammzellprofil.

Eine Vielzahl von potentiellen Stammzellmarkern wurde von diversen Studien proklamiert, die das Feld der Stammzellforschung im Magen sehr unübersichtlich machten. Diese Marker wurden in dieser Arbeit erneut überprüft, um festzustellen welche von ihnen tatsächlich den Kriterien für bona fide Stammzellen im Magen entsprechen. Nach eindringlicher Evaluation konnte nur zu dem Schluss gekommen werden, dass basierend auf dem aktuellen Verständnis von Stammzellen im Magen nur Zellen mit den Markern Bmi1, Sox2, Axin2 und Mist1 bona fide Stammzellen sind.

Im Antrum sind Axin2⁺ Stammzellen die charakteristischen Stammzellen, welche für die konstante Erneuerung von antrumspezifischen Epithelzellen verantwortlich sind. Äquivalent dazu sind Mist1⁺ Zellen die charakteristischen Stammzellen des Corpus, welche für die konstante Erneuerung der corpuspezifischen Epithelzellen verantwortlich sind. Abseits der charakteristischen Stammzellen für Antrum und Corpus gibt es auch Stammzellen, welche Epithelzellen hervorbringen, die in beiden Magenregionen residieren. Dies sind die mitotisch sehr aktiven Bmi1⁺ Stammzellen und eher langsam teilenden Sox2⁺ Stammzellen. Ihr Proliferationsverhalten ist bedingt durch die Anforderungen und die Lebensdauer der Zellen, die sie konstant ersetzen.

Das Verhalten all dieser Stammzellen wird gesteuert durch die Nischen, die von Zellen mesodermaler Herkunft in Lamina propria und Lamina muscularis mucosae, sowie von benachbarten Epithelzellen gebildet wird.

Die erste Nische ist der Isthmus. Er beherbergt Bmi1⁺ Stammzellen in Antrum und Corpus und im Corpus zusätzlich noch Mist1⁺ Stammzellen. Die zweite Nische ist der Drüsenhals. Dort befinden sich in Antrum und Corpus die Sox2⁺ Stammzellen und nur im Antrum zusätzlich die Axin2⁺ Stammzellen.

Mit diesen Forschungsergebnissen erlangt man ein besseres Verständnis von der Organisation der Stammzellen und ihrer Nischen in der Mukosa des Magens.

Literaturverzeichnis

1. Arnold K, Sarkar A, Yram MA, Polo JM, Bronson R, Sengupta S, Seandel M, Geijsen N, Hochedlinger K. Sox2(+) adult stem and progenitor cells are important for tissue regeneration and survival of mice. *Cell Stem Cell*. 2011 Oct 4;9(4):317-29. doi: 10.1016/j.stem.2011.09.001. PMID: 21982232; PMCID: PMC3538360.
2. Barker, N., Bartfeld, S. & Clevers, H.. 2010. Tissue-resident adult stem cell populations of rapidly self-renewing organs. *Cell Stem Cell* 7: 656-70. doi: 10.1016/j.stem.2010.11.016.
3. Bartfeld, S. & Koo, B. K. Adult gastric stem cells and their niches. *Wiley Interdiscip. Rev. Dev. Biol.* 6, e261 (2017).
4. Burclaff, J., Willet, S. G., Sáenz, J. B. & Mills, J. C.. 2020. Proliferation and Differentiation of Gastric Mucous Neck and Chief Cells During Homeostasis and Injury-induced Metaplasia. *Gastroenterology* 158: 598-609.e5. doi: 10.1053/j.gastro.2019.09.037.
5. Choi, E., Lantz, T. L., Vlacich, G., Keeley, T. M., Samuelson, L. C., Coffey, R. J., Goldenring, J. R. & Powell, A. E.. 2018. Lrig1+ gastric isthmal progenitor cells restore normal gastric lineage cells during damage recovery in adult mouse stomach. *Gut* 67: 1595-1605. doi: 10.1136/gutjnl-2017-313874.
6. Chuang, L. S. H., Osato, M. & Ito, Y.. 2020. The RUNX1 Enhancer Element eR1: A Versatile Marker for Adult Stem Cells. *Mol Cells* 43: 121-125. doi: 10.14348/molcells.2019.0250.
7. Clevers, H. (2013). The intestinal crypt, a prototype stem cell compartment. *Cell* 154, 274-284.
8. Clevers H, Loh KM, Nusse R. Stem cell signaling. An integral program for tissue renewal and regeneration: Wnt signaling and stem cell control. *Science*. 2014 Oct 3;346(6205):1248012. doi: 10.1126/science.1248012. Epub 2014 Oct 2. PMID: 25278615.
9. Demitrack ES, Samuelson LC. Notch as a Driver of Gastric Epithelial Cell Proliferation. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2017 Feb 14;3(3):323-330. doi: 10.1016/j.jcmgh.2017.01.012. PMID: 28462374; PMCID: PMC5404025.
10. Donnelly JM, Engevik A, Feng R, Xiao C, Boivin GP, Li J, Houghton J, Zavros Y. Mesenchymal stem cells induce epithelial proliferation within the inflamed stomach. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2014 Jun 15;306(12):G1075-88. doi: 10.1152/ajpgi.00489.2012. Epub 2014 May 1. PMID: 24789207; PMCID: PMC4059978.
11. Gifford, G. B., Demitrack, E. S., Keeley, T. M., Tam, A., La Cunza, N., Dedhia, P. H., Spence, J. R., Simeone, D. M., Saotome, I., Louvi, A., Siebel, C. W. & Samuelson, L. C.. 2017. Notch1 and Notch2 receptors regulate mouse and human gastric antral epithelial cell homeostasis. *Gut* 66: 1001-1011. doi: 10.1136/gutjnl-2015-310811.
12. Han, S., Fink, J., Jörg, D. J., Lee, E., Yum, M. K., Chatzeli, L., Merker, S. R., Josserand, M., Trendafilova, T., Andersson-Rolf, A., Dabrowska, C., Kim, H., Naumann, R., Lee, J.

- H., Sasaki, N., Mort, R. L., Basak, O., Clevers, H., Stange, D. E., Philpott, A., Kim, J. K., Simons, B. D. & Koo, B. K.. 2019. Defining the Identity and Dynamics of Adult Gastric Isthmus Stem Cells. *Cell Stem Cell* 25: 342-356.e7. doi: 10.1016/j.stem.2019.07.008.
13. Hayakawa, Y., Jin, G., Wang, H., Chen, X., Westphalen, C. B., Asfaha, S., Renz, B. W., Ariyama, H., Dubeykovskaya, Z. A., Takemoto, Y., Lee, Y., Muley, A., Tailor, Y., Chen, D., Muthupalani, S., Fox, J. G., Shulkes, A., Worthley, D. L., Takaishi, S. & Wang, T. C.. 2015. CCK2R identifies and regulates gastric antral stem cell states and carcinogenesis. *Gut* 64: 544-53. doi: 10.1136/gutjnl-2014-307190.
 14. Hayakawa Y, Ariyama H, Stancikova J, Sakitani K, Asfaha S, Renz BW, Dubeykovskaya ZA, Shibata W, Wang H, Westphalen CB, Chen X, Takemoto Y, Kim W, Khurana SS, Tailor Y, Nagar K, Tomita H, Hara A, Sepulveda AR, Setlik W, Gershon MD, Saha S, Ding L, Shen Z, Fox JG, Friedman RA, Konieczny SF, Worthley DL, Korinek V, Wang TC. Mist1 Expressing Gastric Stem Cells Maintain the Normal and Neoplastic Gastric Epithelium and Are Supported by a Perivascular Stem Cell Niche. *Cancer Cell*. 2015 Dec 14;28(6):800-814. doi: 10.1016/j.ccell.2015.10.003. Epub 2015 Nov 12. PMID: 26585400; PMCID: PMC4684751.
 15. Holloway, E. M., Czerwinski, M., Tsai, Y. H., Wu, J. H., Wu, A., Childs, C. J., Walton, K. D., Sweet, C. W., Yu, Q., Glass, I., Treutlein, B., Camp, J. G. & Spence, J. R.. 2021. Mapping Development of the Human Intestinal Niche at Single-Cell Resolution. *Cell Stem Cell* 28: 568-580.e4. doi: 10.1016/j.stem.2020.11.008.
 16. Karam, S. M. & Leblond, C. P.. 1993. Dynamics of epithelial cells in the corpus of the mouse stomach. I. Identification of proliferative cell types and pinpointing of the stem cell. *Anat Rec* 236: 259-79. doi: 10.1002/ar.1092360202.
 17. Katoh Y, Katoh M. Hedgehog signaling pathway and gastric cancer. *Cancer Biol Ther*. 2005 Oct;4(10):1050-4. doi: 10.4161/cbt.4.10.2184. Epub 2005 Oct 18. PMID: 16258256.
 18. Kim, JE., Fei, L., Yin, WC. et al. Single cell and genetic analyses reveal conserved populations and signaling mechanisms of gastrointestinal stromal niches. *Nat Commun* 11, 334 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14058-5>
 19. Kim TH, Shivdasani RA. Stomach development, stem cells and disease. *Development*. 2016 Feb 15;143(4):554-65. doi: 10.1242/dev.124891. PMID: 26884394; PMCID: PMC4760317. Lg
 20. Kumar KK, Burgess AW, Gulbis JM. Structure and function of LGR5: an enigmatic G-protein coupled receptor marking stem cells. *Protein Sci*. 2014 May;23(5):551-65. doi: 10.1002/pro.2446. Epub 2014 Mar 19. PMID: 24677446; PMCID: PMC4005707.
 21. Leblond, C. P., Stevens, C. E., and Bogoroch, R. (1948). Histological localization of newly-formed desoxyribonucleic acid. *Science* 108, 531–533. doi: 10.1126/science.108.2811.531
 22. Karam SM, Leblond CP. Dynamics of epithelial cells in the corpus of the mouse stomach. I. Identification of proliferative cell types and Pinpointing of the stem cell. *Anat Rec* 1993;236:259–79.

23. Leushacke, M., Ng, A., Galle, J., Loeffler, M. & Barker, N.. 2013. Lgr5(+) gastric stem cells divide symmetrically to effect epithelial homeostasis in the pylorus. *Cell Rep* 5: 349-56. doi: 10.1016/j.celrep.2013.09.025.
24. Leushacke, M., Tan, S., Wong, A. et al. Lgr5-expressing chief cells drive epithelial regeneration and cancer in the oxyntic stomach. *Nat Cell Biol* 19, 774–786 (2017)
25. Taschenlehrbuch Histologie 6. Auflage von Renate Lüllmann-Rauch und Esther Asan
26. Matsuo, J., Kimura, S., Yamamura, A., Koh, C. P., Hossain, M. Z., Heng, D. L., Kohu, K., Voon, D. C., Hiai, H., Unno, M., So, J. B., Zhu, F., Srivastava, S., Teh, M., Yeoh, K. G., Osato, M. & Ito, Y.. 2017. Identification of Stem Cells in the Epithelium of the Stomach Corpus and Antrum of Mice. *Gastroenterology* 152: 218-231.e14. doi: 10.1053/j.gastro.2016.09.018.
27. McCarthy, N., Manieri, E., Storm, E. E., Saadatpour, A., Luoma, A. M., Kapoor, V. N., Madha, S., Gaynor, L. T., Cox, C., Keerthivasan, S., Wucherpfennig, K., Yuan, G. C., de Sauvage, F. J., Turley, S. J. & Shivdasani, R. A.. 2020. Distinct Mesenchymal Cell Populations Generate the Essential Intestinal BMP Signaling Gradient. *Cell Stem Cell* 26: 391-402.e5. doi: 10.1016/j.stem.2020.01.008.
28. McCarthy, N., Kraiczy, J. & Shivdasani, R. A.. 2020. Cellular and molecular architecture of the intestinal stem cell niche. *Nat Cell Biol* 22: 1033-1041. doi: 10.1038/s41556-020-0567-z.
29. McCracken KW, Wells JM. Mechanisms of embryonic stomach development. *Semin Cell Dev Biol*. 2017 Jun;66:36-42. doi: 10.1016/j.semcdb.2017.02.004. Epub 2017 Feb 24. PMID: 28238948; PMCID: PMC5474362.
30. McCracken, K. W., Aihara, E., Martin, B., Crawford, C. M., Broda, T., Treguier, J., Zhang, X., Shannon, J. M., Montrose, M. H. & Wells, J. M.. 2017. Wnt/ β -catenin promotes gastric fundus specification in mice and humans. *Nature* 541: 182-187. doi: 10.1038/nature21021.
31. Meyer AR, Goldenring JR. Injury, repair, inflammation and metaplasia in the stomach. *J Physiol*. 2018 Sep;596(17):3861-3867. doi: 10.1113/JP275512. Epub 2018 Mar 24. PMID: 29427515; PMCID: PMC6117566.
32. Mills, J. C. & Shivdasani, R. A.. 2011. Gastric epithelial stem cells. *Gastroenterology* 140: 412-24. doi: 10.1053/j.gastro.2010.12.001.
33. Nienhüser, H., Kim, W., Malagola, E., Ruan, T., Valenti, G., Middelhoff, M., Bass, A., Der, C. J., Hayakawa, Y. & Wang, T. C.. 2021. Mist1+ gastric isthmus stem cells are regulated by Wnt5a and expand in response to injury and inflammation in mice. *Gut* 70: 654-665. doi: 10.1136/gutjnl-2020-320742.
34. Nusse R. Wnt signaling and stem cell control. *Cell Res*. 2008 May;18(5):523-7. doi: 10.1038/cr.2008.47. PMID: 18392048.
35. Prometheus innere Organe 5. Auflage, LernAtlas der Anatomie, Michael Schünke, Erik Schulte, Udo Schumacher, Markus Voll, Karl Wesker

36. Parry L, Young M, El Marjou F, Clarke AR. Evidence for a crucial role of paneth cells in mediating the intestinal response to injury. *Stem Cells*. 2013 Apr;31(4):776-85. doi: 10.1002/stem.1326. PMID: 23335179; PMCID: PMC3744757.
37. Schweiger, P. J., Clement, D. L., Page, M. E., Schepeler, T., Zou, X., Sirokmány, G., Watt, F. M. & Jensen, K. B.. 2018. Lrig1 marks a population of gastric epithelial cells capable of long-term tissue maintenance and growth in vitro. *Sci Rep* 8: 15255. doi: 10.1038/s41598-018-33578-6.
38. Sigal, M., Logan, C. Y., Kapalczynska, M., Mollenkopf, H. J., Berger, H., Wiedenmann, B., Nusse, R., Amieva, M. R. & Meyer, T. F.. 2017. Stromal R-spondin orchestrates gastric epithelial stem cells and gland homeostasis. *Nature* 548: 451-455. doi: 10.1038/nature23642.
39. Stange, D. E., Koo, B. K., Huch, M., Sibbel, G., Basak, O., Lyubimova, A., Kujala, P., Bartfeld, S., Koster, J., Geahlen, J. H., Peters, P. J., van Es, J. H., van de Wetering, M., Mills, J. C. & Clevers, H.. 2013. Differentiated Troy+ chief cells act as reserve stem cells to generate all lineages of the stomach epithelium. *Cell* 155: 357-68. doi: 10.1016/j.cell.2013.09.008.
40. Takebe N, Miele L, Harris PJ, Jeong W, Bando H, Kahn M, Yang SX, Ivy SP. Targeting Notch, Hedgehog, and Wnt pathways in cancer stem cells: clinical update. *Nat Rev Clin Oncol*. 2015 Aug;12(8):445-64. doi: 10.1038/nrclinonc.2015.61. Epub 2015 Apr 7. PMID: 25850553; PMCID: PMC4520755.
41. Tamura, Y., Takata, K., Eguchi, A., Maeda, M. & Kataoka, Y.. 2021. Age-related changes in NG2-expressing telocytes of rat stomach. *PLoS One* 16: e0249729. doi: 10.1371/journal.pone.0249729.
42. Toader OD, Rusu MC, Mogoantă L, Hostiuc S, Jianu AM, Ilie AC. An Immunohistochemical Study of Gastric Mucosa and Critical Review Indicate that the Subepithelial Telocytes are Preliminary Endothelial Cells. *Medicina (Kaunas)*. 2019 Jun 27;55(7):316. doi: 10.3390/medicina55070316. PMID: 31252668; PMCID: PMC6680827.
43. Wölffling, S., Daddi, A. A., Imai-Matsushima, A., Fritsche, K., Goosmann, C., Traulsen, J., Lisle, R., Schmid, M., Reines-Benassar, M. D. M., Pfannkuch, L., Brinkmann, V., Bornschein, J., Malfertheiner, P., Ordemann, J., Link, A., Meyer, T. F. & Boccillato, F.. 2021. EGF and BMPs Govern Differentiation and Patterning in Human Gastric Glands. *Gastroenterology* 161: 623-636.e16. doi: 10.1053/j.gastro.2021.04.062.
44. Wilhelm, F., Simon, E., Böger, C., Behrens, H. M., Krüger, S. & Röcken, C.. 2017. Novel Insights into Gastric Cancer: Methylation of R-spondins and Regulation of LGR5 by SP1. *Mol Cancer Res* 15: 776-785. doi: 10.1158/1541-7786.mcr-16-0472.
45. Xiao S, Zhou L. Gastric Stem Cells: Physiological and Pathological Perspectives. *Front Cell Dev Biol*. 2020 Sep 17;8:571536. doi: 10.3389/fcell.2020.571536. PMID: 33043003; PMCID: PMC7527738.
46. Yoshioka, T., Fukuda, A., Araki, O., Ogawa, S., Hanyu, Y., Matsumoto, Y., Yamaga, Y., Nakanishi, Y., Kawada, K., Sakai, Y., Chiba, T. & Seno, H.. 2019. Bmi1 marks gastric stem cells located in the isthmus in mice. *J Pathol* 248: 179-190. doi: 10.1002/path.5244.
47. Zhang Y, Que J. BMP Signaling in Development, Stem Cells, and Diseases of the Gastrointestinal Tract. *Annu Rev Physiol*. 2020 Feb 10;82:251-273. doi: 10.1146/annurev-physiol-021119-034500. Epub 2019 Oct 16. PMID: 31618602

