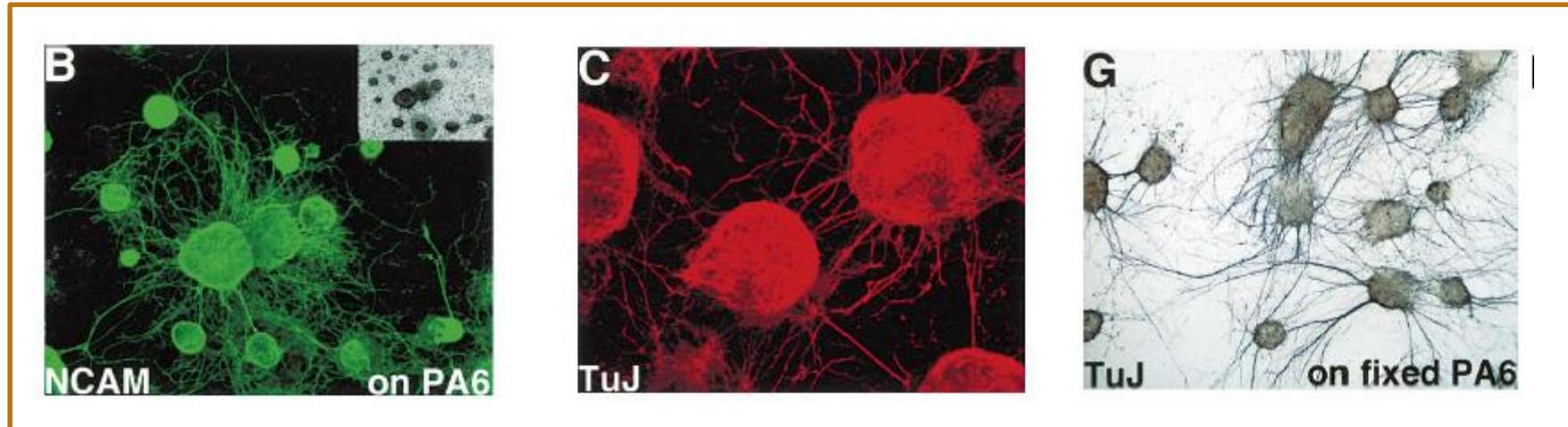


Stammzellen-Stammzellforschung- Stammzellproduktion

Stammzellen



Überblick und Einführung in die Problematik

Historischer Überblick der Stammzellforschung



I. Einführung

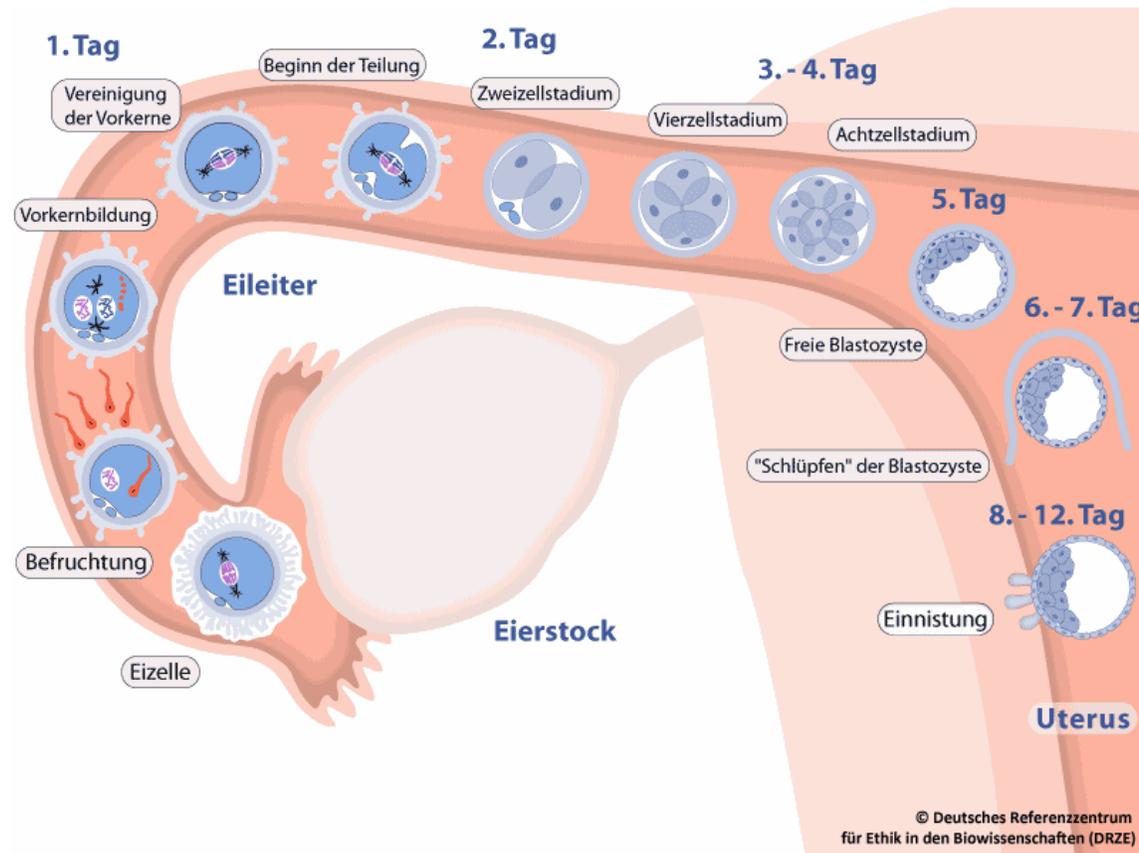
Was sind Stammzellen?

Als „Stammzellen“ wird eine uneinheitliche Gruppe von Zellen zusammengefasst, die mindestens die folgenden Eigenschaften gemeinsam haben:

- Stammzellen sind Vorläuferzellen hoch differenzierter Zellen.
- Nach einer Teilung der Stammzellen können die Tochterzellen wieder zu Stammzellen werden (self-renewal) oder sich spezialisieren.
- Aufgrund der Fähigkeit zur Selbsterneuerung können Stammzellen sich prinzipiell unbegrenzt vermehren.
- Stammzellen können sich gewebespezifisch, z. B. zu Herz-, Nerven-, Haut- oder Muskelzellen, differenzieren.

I. Einführung

Was sind Stammzellen?



Stammzellen treten zuerst in der frühen Embryonalentwicklung auf. Bereits die befruchtete Eizelle (Zygote) stellt eine totipotente Stammzelle dar, die die frühen Embryonalstadien durchläuft und aus der sich später alle Gewebe des menschlichen Körpers bilden. Je weiter die Spezialisierung der Tochterzellen einer Stammzelle voranschreitet, desto stärker wird ihre Differenzierungsmöglichkeit in verschiedene Gewebe eingeschränkt.

I. Einführung

Was sind Stammzellen?

Stammzellen treten zuerst in der frühen Embryonalentwicklung auf.

*Bereits die befruchtete Eizelle (Zygote) stellt eine **totipotente** Stammzelle dar, die die frühen Embryonalstadien durchläuft und aus der sich später alle Gewebe des menschlichen Körpers bilden.*

- Die Begriffe Totipotenz und Pluripotenz werden im wissenschaftlichen Diskurs nicht einheitlich verwendet.
- In der klassischen Embryologie wird mit Totipotenz die Eigenschaft einer Zelle beschrieben, sich unter geeigneten Bedingungen zu einem vollständigen Organismus zu entwickeln.
- Im Kontext der Stammzellforschung bezeichnet Totipotenz dagegen das Vermögen einer Stammzelle, sich in alle Zellarten, d. h. nicht nur in embryonales Gewebe, sondern auch in extraembryonales Gewebe (z. B. plazentares Gewebe) und Zellen der Keimbahn, differenzieren zu können.

I. Einführung

Was sind Stammzellen?

Stammzellen treten zuerst in der frühen Embryonalentwicklung auf.

*Bereits die befruchtete Eizelle (Zygote) stellt eine **totipotente** Stammzelle dar, die die frühen Embryonalstadien durchläuft und aus der sich später alle Gewebe des menschlichen Körpers bilden.*

- Die Begriffe Totipotenz und Pluripotenz werden im wissenschaftlichen Diskurs nicht einheitlich verwendet.
- Da Stammzellen sich im Laufe ihrer Entwicklung immer weiter differenzieren, verlieren sie an Entwicklungspotential. So verlieren sie bald die Möglichkeit, sich in vollständige Organismen zu entwickeln, behalten aber zunächst das Potential, sich in sämtliche Gewebetypen des Körpers zu differenzieren. Dieses Stadium wird als Pluripotenz bezeichnet.

I. Einführung

Was sind Stammzellen?

- Stammzellen treten zuerst in der frühen Embryonalentwicklung auf.
- Bereits die befruchtete Eizelle (Zygote) stellt eine totipotente Stammzelle dar, die die frühen Embryonalstadien durchläuft und aus der sich später alle Gewebe des menschlichen Körpers bilden.
- Je weiter die Spezialisierung der Tochterzellen einer Stammzelle voranschreitet, desto stärker wird ihre Differenzierungsmöglichkeit in verschiedene Gewebe eingeschränkt.
- In vielen Geweben des erwachsenen Menschen existieren zeitlebens Stammzellen, die wichtige Aufgaben bei der Geweberegeneration und -reparatur erfüllen.
- Sie erhalten die Funktionsfähigkeit von Geweben und Organen aufrecht, indem sie differenzierte Zellen nachliefern und beschädigte oder abgestorbene Zellen ersetzen.
- Im allgemeinen Sprachgebrauch hat sich für diese Zellen der Begriff der adulten Stammzelle durchgesetzt.

I. Einführung

Was sind die Ziele der Forschung an Stammzellen?

Grundlagenforschung

- In der Grundlagenforschung an ES-Zellen stehen die Aufklärung von molekularen Mechanismen bei der Spezialisierung einzelner Zellen sowie die Untersuchung der Organisation von Zellen im Gewebeverband und in Organen im Vordergrund.
- Darüber hinaus will man ein verbessertes Verständnis der Entwicklung und Regulation früher Stammzellstadien erreichen und die Mechanismen erforschen, die der Fähigkeit zur Vermehrung und Differenzierung zugrunde liegen.

I. Einführung

Was sind die Ziele der Forschung an Stammzellen?

Translationale Forschung

- Die translationale Forschung zu Stammzellen ist insbesondere auf Fragen aus der Grundlagenforschung ausgerichtet, deren Beantwortung eine Voraussetzung für den therapeutischen Einsatz von Stammzellen darstellt.
- Dabei müssen im Hinblick auf eine mögliche klinische Anwendung eine Reihe von zentralen Kriterien wie etwa die Immunverträglichkeit oder die ausreichende Vermehrbarkeit erfüllt sein.

I. Einführung

Was sind die Ziele der Forschung an Stammzellen?

Forschung zur Differenzierung von humanen embryonalen Stammzellen

- Seit der Gewinnung der ersten humanen ES-Zelllinien im Jahr 1998 sind im Bereich der Forschung mit embryonalen Stammzellen vielfältige Fortschritte zu verzeichnen.
- Im Rahmen der Differenzierungen *in vivo* und *in vitro* von humanen embryonalen Stammzellen ist es gelungen, sowohl verschiedene Vorläuferzellen als auch differenzierte Zellen aus humanen embryonalen Stammzellen zu generieren.
- Forschung in diesem Bereich findet insbesondere an Nervenzellen, Herzmuskel- und Blutgefäßzellen, Blutzellen, Bauchspeicheldrüsen- und Leberzellen sowie an Keimzellen (Eizellen und Spermien) statt.

I. Einführung

Was sind die Ziele der Forschung an Stammzellen?

Forschung zur Entstehung von Krankheiten und neuen Therapiemöglichkeiten

Aufgrund ihrer Differenzierungseigenschaften sind ES-Zellen als Forschungsobjekt besonders geeignet, um eine Vielzahl von Entwicklungsprozessen im Detail zu untersuchen.

Diese können z. B. eingesetzt werden, um die Entstehung bestimmter Krankheiten auf molekularer Ebene zu erforschen.

Ebenso erhoffen sich Forschende Erkenntnisse für die Entwicklung individuell maßgeschneiderter Therapien.

I. Einführung

Was sind die Ziele der Forschung an Stammzellen?

Forschung zur Entstehung von Krankheiten und neuen Therapiemöglichkeiten

Für die Entwicklung neuer oder bereits bestehender medikamentöser Therapien sind stammzellbasierte Modelle interessant, mit welchen sich spezifischere Aussagen über Wirksamkeit und Sicherheit treffen lassen können als im Tierversuch.

Als Modellsysteme spielen hierbei aus Stammzellen hergestellte Organoide eine zunehmend wichtige Rolle.

I. Einführung

Was sind die Ziele der Forschung an Stammzellen?

Forschung zur Entstehung von Krankheiten und neuen Therapiemöglichkeiten

Man erhofft sich zudem von ES-Stammzellen die Möglichkeit zur Schaffung von Gewebeersatz, besonders im Hinblick auf solche Gewebe, die nur ein geringes oder gar kein Regenerationsvermögen aufweisen, wie z. B. Nervengewebe.

Es wird angenommen, dass ES-Zellen aufgrund ihrer Fähigkeit zur unbegrenzten Vermehrbarkeit eine schier unerschöpfliche Quelle zur Gewinnung von Zell- und Gewebeersatz darstellen.

I. Einführung

Was sind die Ziele der Forschung an Stammzellen?

Forschung zur Entstehung von Krankheiten und neuen
Therapiemöglichkeiten

Auf dem Gebiet des Gewebeersatzes spielt auch die Forschung an adulten
Stammzellen und iPS-Zellen eine zentrale Rolle.

Einige therapeutische Verfahren, in denen adulte Stammzellen eingesetzt werden
wie z. B. die Blutstammzelltransplantation, gelten inzwischen als etablierte
Behandlungsmethoden.

I. Einführung

Was sind die Ziele der Forschung an Stammzellen?

Klinische Forschung

- Im Rahmen der klinischen Forschung werden u. a. medizinische Interventionen auf ihre Wirksamkeit, Verträglichkeit und Sicherheit an Patient*innen geprüft.
- Lange galt eine baldige klinische Anwendung der Stammzellforschung als unrealistisch.
- Angebote für stammzellbasierte Therapien wurden allenfalls von dubiosen Privatkliniken in Ländern ohne entgegenwirkende Regulierungen beworben.
- Zwischenzeitlich wurden jedoch verschiedene klinische Forschungsvorhaben u. a. zu Rückenmarksverletzungen sowie Erkrankungen der Netzhaut durchgeführt, die Anlass zu einer Revision der vormaligen Einschätzung geben.

Historischer Überblick der Stammzellforschung

Jahr	Ereignis
1939	1. Explantation von Hasen Blastozysten und erste <i>in vitro</i> Kultur
1963	Nachweis von sich selbst erneuernden Zellen in Maus-Knochenmark
1978	Nachweis humaner hämatopoetischer SC
1981	Embryonale SC werden erstmals isoliert (aus Maus-Blastozyten)
1997	Nachweis, dass Leukämien aus hämatopoetischen SC entstehen
1998	Erstmalige Etablierung humaner ES
2001	Erstmaliges Klonen humaner Embryonen zur ES-Gewinnung
2007	Erzeugung humaner pluripotenter SC aus reifen Fibroblasten
2007	Medizin-Nobelpreis verliehen für Forschung an Maus-ES. Erste Behandlung von Leukämie des Kindes mit Nabelschnurblutzellen.

Historischer Überblick der Stammzellforschung

Jahr	Ereignis
2013	ESCs aus geklonten menschlichen Blastozysten
2014	Mesenchymale Stammzellenpopulationen aus dem Knochenmark für die Kniescheiben-Regeneration; bis heute eher negative Folgen beobachtet.

Historischer Überblick der Stammzellforschung

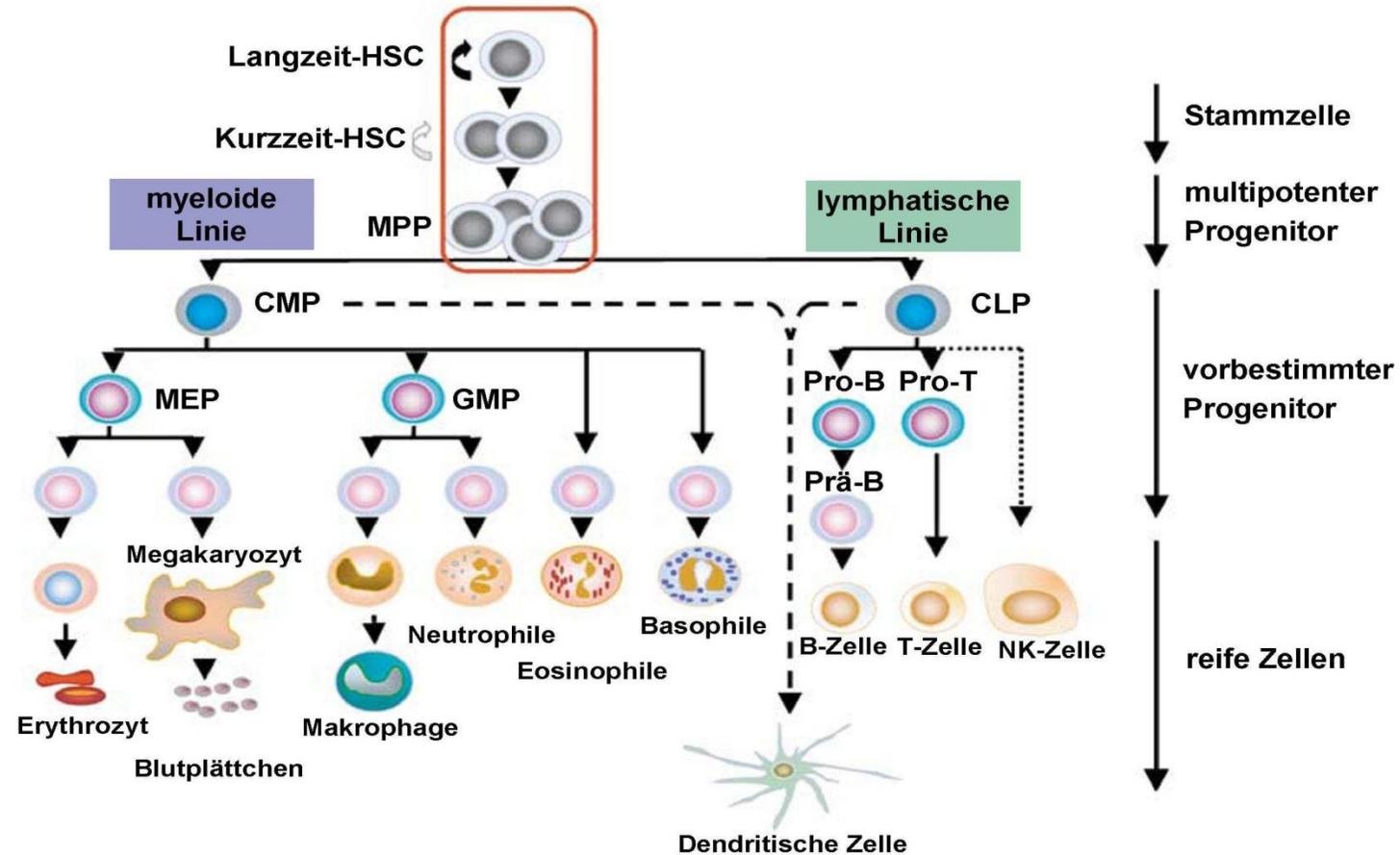
Jahr	Ereignis
induzierte pluripotente Stammzellen (iPSCs)	
2006	iPSCs Shin'ya Yamanaka und Rudolf Jänisch , ... ESC-ähnliche Stammzellen aus Fibroblasten, Magenzellen, Fettzellen, etc. mit Oct4, Sox2, Klf4 und c-Myc transfiziert
2007	laufender Ersatz der Transkriptionsfaktoren durch kleine synthetische Moleküle die verschiedenste Signalübertragungswege und epigenetische Modifikationen der DNA inhibieren. Z.B. RepSox für Sox2
2013	Chemical induced pluripotent stem cells (ciPSCs) aus Fibroblasten; Hongkui Deng, Peking
2017	ciPSCs aus Fettgewebe-Stammzellen

Historischer Überblick der Stammzellforschung

Jahr	Ereignis
1939	1. Explantation von Hasen Blastozysten und erste <i>in vitro</i> Kultur
1963	Nachweis von sich selbst erneuernden Zellen in Maus-Knochenmark
1978	Nachweis humaner hämatopoetischer SC
1981	Embryonale SC werden erstmals isoliert (aus Maus-Blastozyten)
1997	Nachweis, dass Leukämien aus hämatopoetischen SC entstehen
1998	Erstmalige Etablierung humaner ES
2001	Erstmaliges Klonen humaner Embryonen zur ES-Gewinnung
2007	Erzeugung humaner pluripotenter SC aus reifen Fibroblasten
2007	Medizin-Nobelpreis verliehen für Forschung an Maus-ES. Erste Behandlung von Leukämie des Kindes mit Nabelschnurblutzellen.

Modell des Hämatopoeseverlaufs

Hämatopoetische Stamm- und Progenitorzellen (HPC/HSC)



MPP (multipotenter Progenitor),
CMP (allgemeiner myeloider Progenitor), CLP (allgemeiner lymphatischer Progenitor), MEP (Megakaryozyten / Erythrozyten Progenitor), GMP (Granulozyten und Makrophagen Progenitor). Adaptiert aus Larsson und Karlsson, 2005.

Historischer Überblick der Stammzellforschung

Jahr	Ereignis
1963	Nachweis von sich selbst erneuernden Zellen in Maus-Knochenmark
1978	Nachweis humaner hämatopoetischer SC
1981	Embryonale SC werden erstmals isoliert (aus Maus-Blastozyten)
1997	Nachweis, dass Leukämien aus hämatopoetischen SC entstehen
1998	Erstmalige Etablierung humaner ES
2001	Erstmaliges Klonen humaner Embryonen zur ES-Gewinnung
2007	Erzeugung humaner pluripotenter SC aus reifen Fibroblasten
2007	Medizin-Nobelpreis verliehen für Forschung an Maus-ES
2008	Erzeugung humaner ES ohne Zerstörung des Embryos

Entwicklung eines menschlichen Embryos: Embryologie

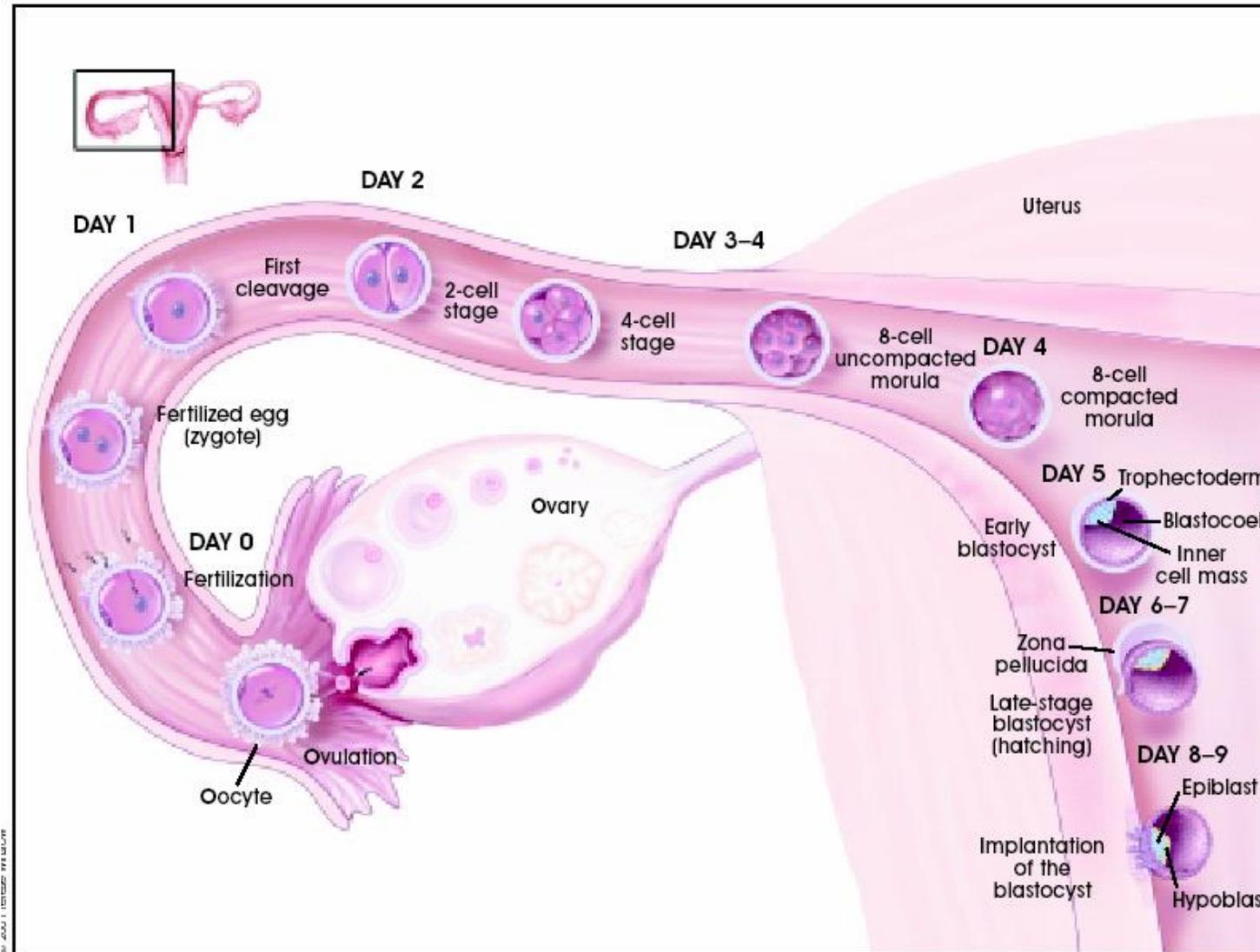
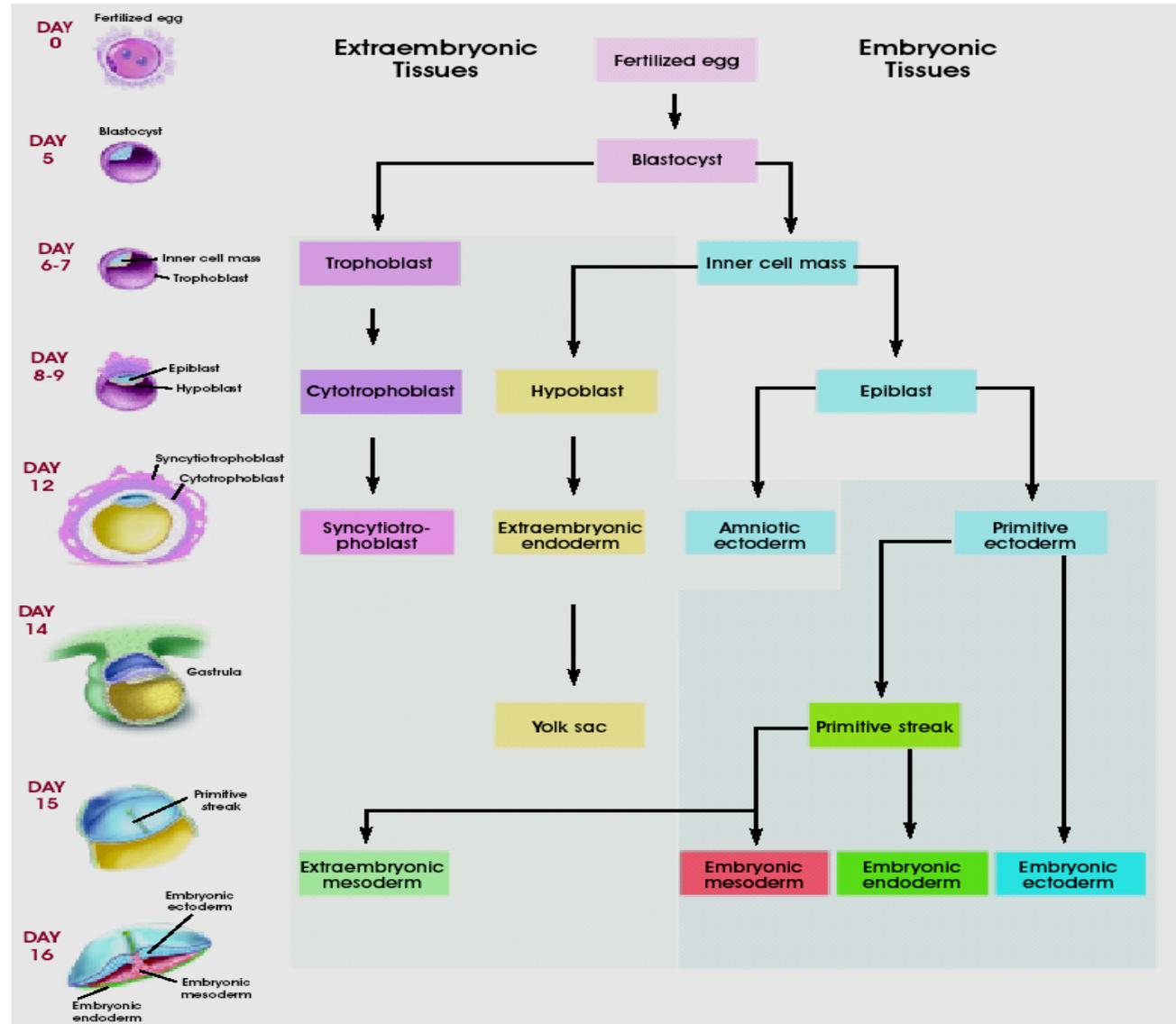
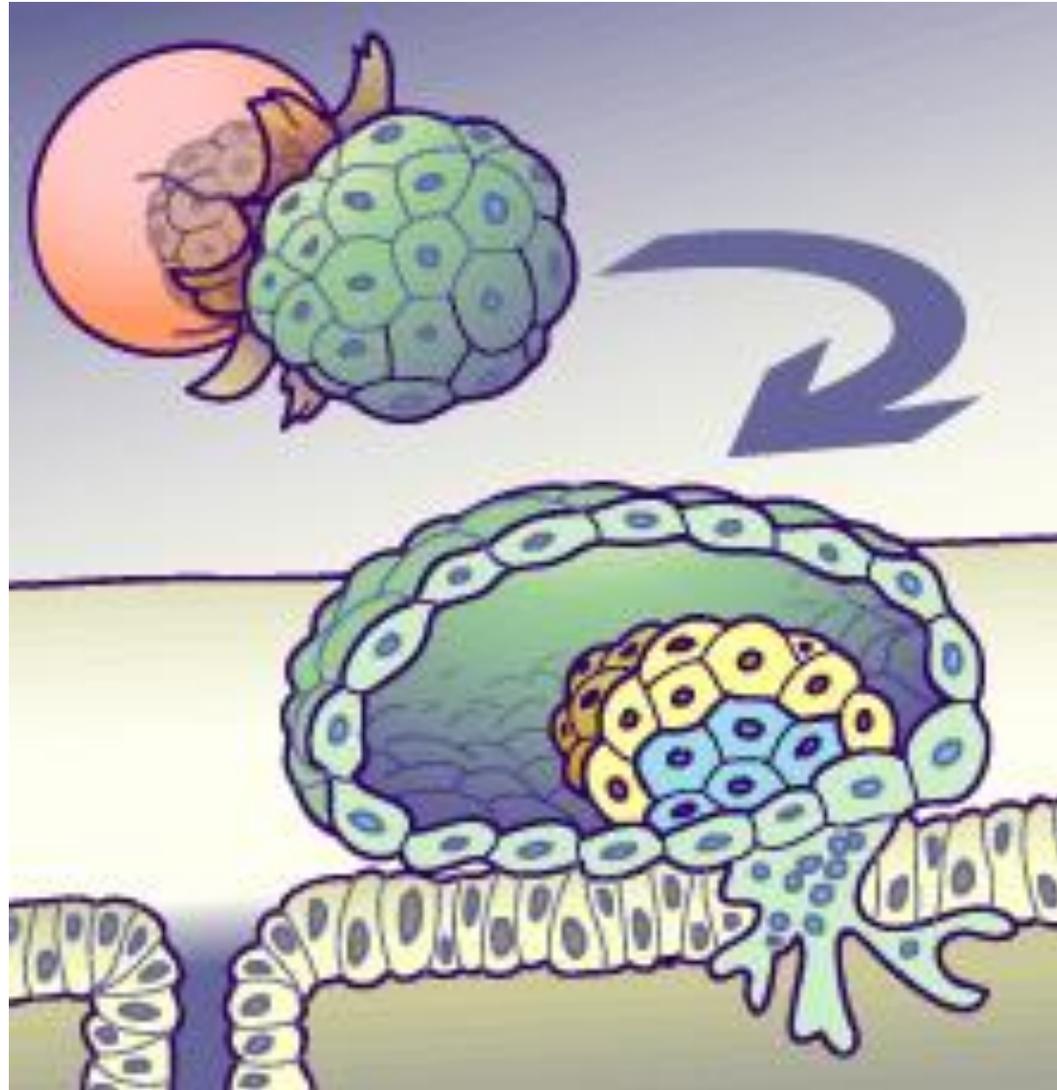


Figure A.2. Development of the Preimplantation Blastocyst in Humans.

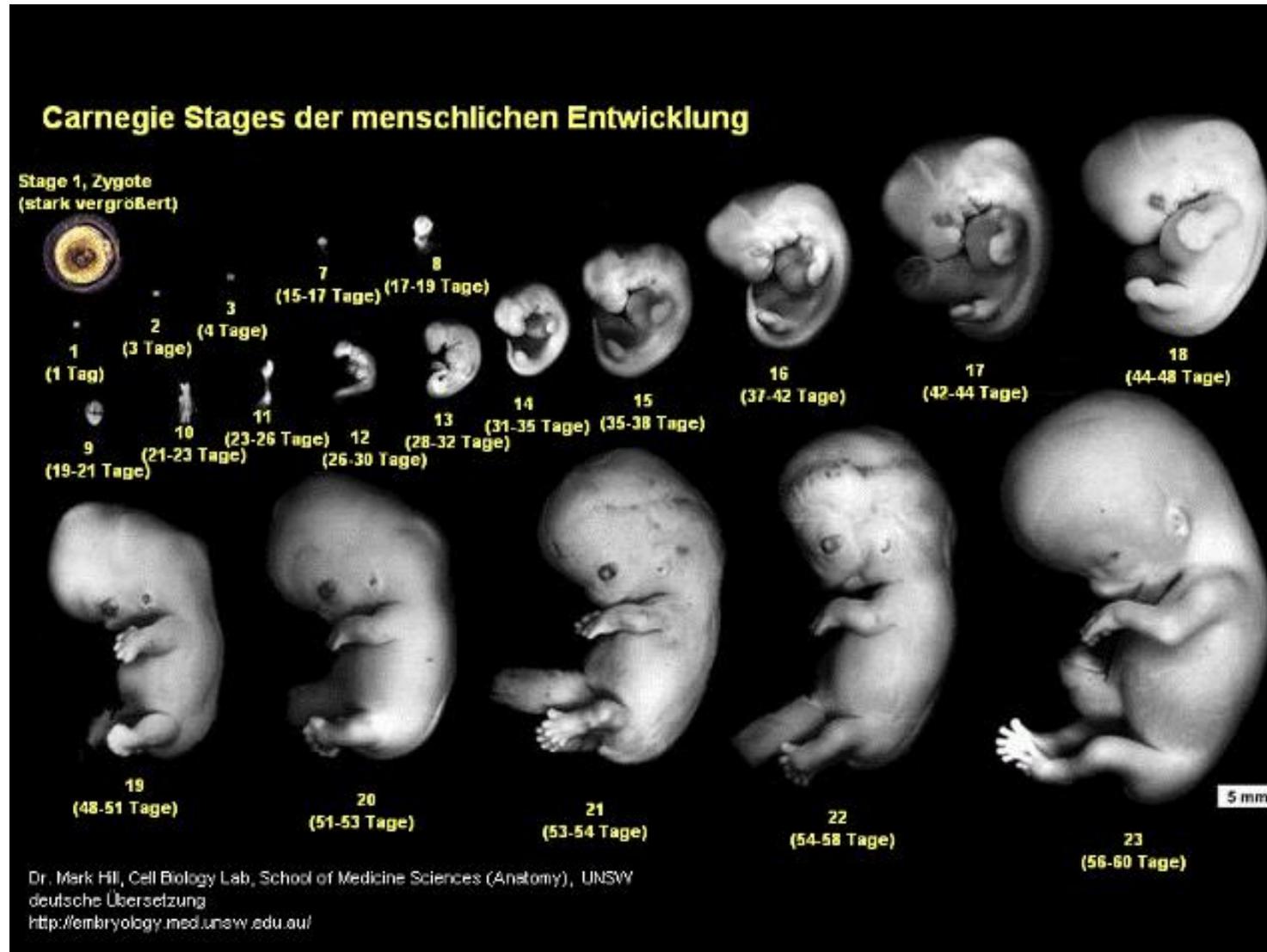
Entwicklung eines menschlichen Embryos: Embryologie



Entwicklung eines menschlichen Embryos: Embryologie



Entwicklung eines menschlichen Embryos: Embryologie



Entwicklung eines menschlichen Embryos: Embryologie

Die vorgeburtliche Entwicklung des Menschen im Überblick:

12 – 24 Stunden nach der sexuellen Vereinigung: Verschmelzung von Ei- und Samenzelle.

5. – 12. Tag: Einnistung in der mütterlichen Gebärmutter Schleimhaut (Nidation). Anfang der engen Beziehung zwischen Mutter und Kind. Die Mutter ernährt ab diesem Moment ihr Kind. Dabei besitzt das Kind aber einen von der Mutter getrennten Blutkreislauf und ist somit ein eigenständiges Wesen.

15. Tag: Die ersten Blutgefäße zeigen sich. Größe des Kindes: 1,5 mm.

18. Tag: Das Gehirn, das zentrale Nervensystem und das Herz werden angelegt.

21. Tag: Der Herzschlag schlägt regelmäßig. Größe: 1,8 mm.

4. Woche: Größe: 4–5 mm. Im Innern besteht bereits eine sehr komplizierte Struktur aus Schilddrüse, Lunge, Gallenblase, Nieren. Auge und Ohren werden sichtbar, der Mund öffnet sich, die Zunge entsteht.

5. – 6. Woche: Größe: 1 cm. Der Verdauungsapparat ist vorhanden, Luftröhre und Bauchspeicheldrüse erkennbar. Das Kind bewegt Arme und Hände.

6. – 7. Woche: Fast alle Organe sind vorhanden. Das Skelett ist in Knorpelchen vorhanden, die Bildung der Muskulatur ist weit fortgeschritten. Das Kind beginnt greifen zu lernen. Es reagiert auf Berührung. Die Nervenzellen bilden ein immer komplizierter werdendes Netz und leiten Reize an das Gehirn weiter, was ein Indiz für das Schmerzempfinden des Kindes ist.

Entwicklung eines menschlichen Embryos: Embryologie

Die vorgeburtliche Entwicklung des Menschen im Überblick:

7. Woche: Die Netzhaut der Augen ist mit dem Gehirn verbunden, die Grundlage für das Sehen angelegt. Im Ohr ist das Gleichgewichtsorgan vorhanden. Das Kind schlägt Purzelbäume.

8. Woche: Das Kind wird nun Fötus genannt (Ende der Embryonalzeit). Größe: 3 cm. Gewicht: 10 gr. Alle Organe sind angelegt. Auch Zehen, Brustwarzen, Augenlieder und Scheitel sind vorhanden. Durch Ultraschall lassen sich Bewegungsmuster festhalten. Atem- und Schluckbewegungen sind auszumachen. Der Geschmacksinn erwacht. Das Kind trinkt das süße Fruchtwasser.

9. Woche: Der Tastsinn ist ausgeprägt. Das Nervensystem wird durch äußere Reize gegliedert. Die Entwicklung von Reflexen findet statt: Der Kopf wendet sich bei Berührung der Wangen dem jeweiligen Reiz zu („Rooting Reflex“), die Hände schließen sich bei Berührung, die Lippen sind schon sensibel und aktivieren das Kind bei ihrer Reizung.

10. Woche: Größe: 6 cm.

12. Woche: Größe: 8 cm. Gewicht: 30 gr. Die Entwicklung der Körperfunktionen ist abgeschlossen. Das Kind kann z.B. die Augenbrauen heben, die Stirn in Falten legen. Das Geschlecht und die Fingernägel sind erkennbar. Das Kind reagiert sensibel auf Empfindungen der Mutter, auf Musik und ist schon lernfähig. Das Kind lutscht am Daumen.

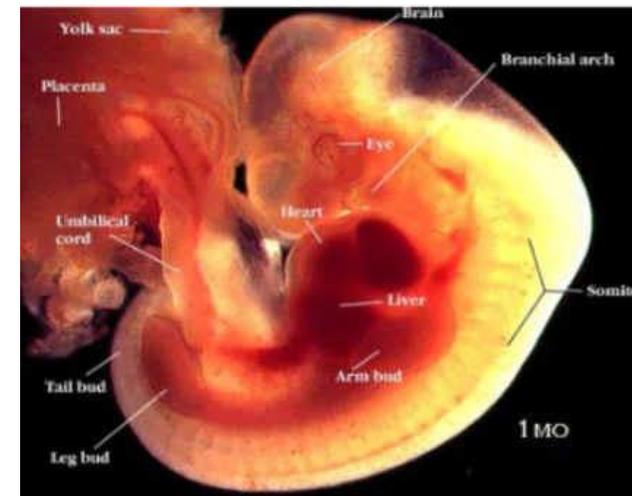
Entwicklung eines menschlichen Embryos: Embryologie

Die vorgeburtliche Entwicklung des Menschen im Überblick:

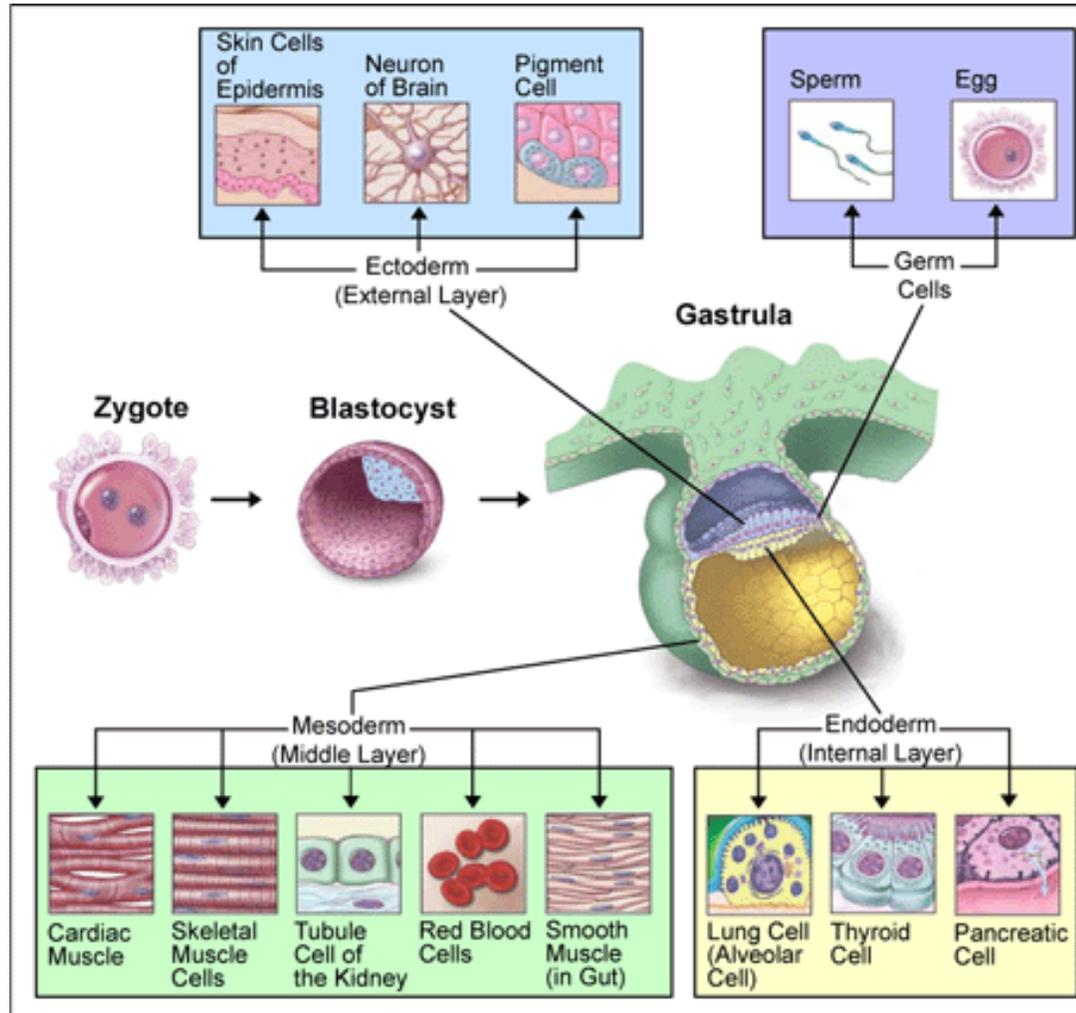
4. Monat: Das Baby kann greifen, schwimmen. Es zieht an der Nabelschnur. Die Bewegungen sind nun für die Mutter spürbar. Entwicklung eines eigenen Schlaf- Wachrhythmus.

6. Monat: Die Haare und Wimpern wachsen. Ab der 26. Woche ist das Kind bereits außerhalb der Gebärmutter lebensfähig, da eine Flüssigkeit gebildet wird, die die Entfaltung der Lungenbläschen ermöglicht.

8. Monat: Gewicht: 1,5 bis 2,2 kg. Größe: 35 bis 40 cm.



Embryonale Stammzellen (ES)



Im Zuge der Gastrulation entsteht aus der Blastula: drei Keimblätter.

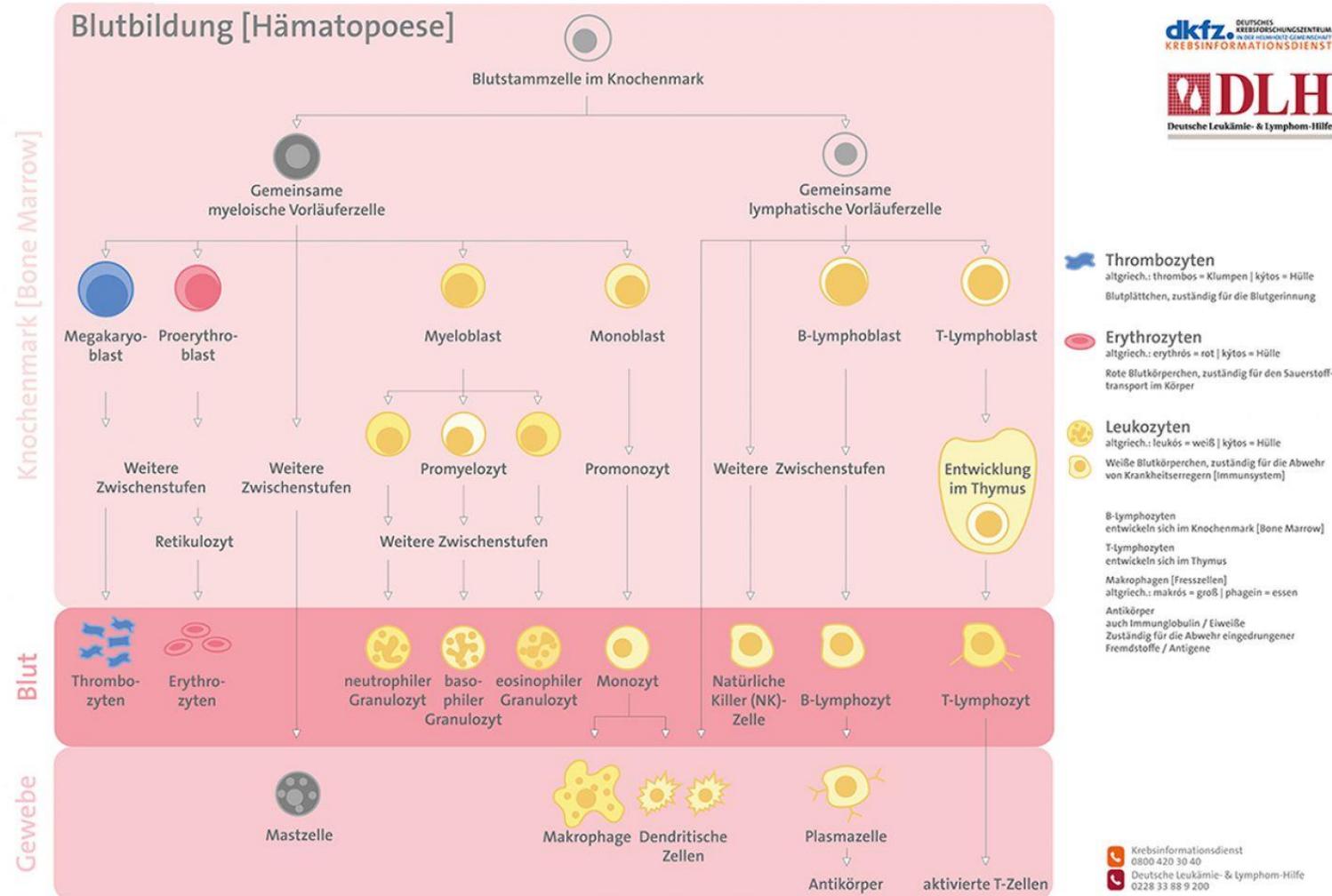
- dreikeimblättrige, *triploblastische* Embryo
- Die drei Keimblätter
 - Ektoderm,
 - Mesoderm und
 - Endoderm.

Historischer Überblick der Stammzellforschung

Jahr	Ereignis
1963	Nachweis von sich selbst erneuernden Zellen in Maus-Knochenmark
1978	Nachweis humaner hämatopoetischer SC
1981	Embryonale SC werden erstmals isoliert (aus Maus-Blastozyten)
1997	Nachweis, dass Leukämien aus hämatopoetischen SC entstehen
1998	Erstmalige Etablierung humaner ES
2001	Erstmaliges Klonen humaner Embryonen zur ES-Gewinnung
2007	Erzeugung humaner pluripotenter SC aus reifen Fibroblasten
2007	Medizin-Nobelpreis verliehen für Forschung an Maus-ES
2008	Erzeugung humaner ES ohne Zerstörung des Embryos

Modell des Hämatopoeseverlaufs

Hämatopoetische Stamm- und Progenitorzellen (HPC/HSC)



Die folgenden Zellarten gehören zu den Leukozyten:

B-Lymphozyten (B-Zellen) bilden Antikörper gegen fremde Strukturen, zum Beispiel gegen Krankheitserreger und auch gegen körpereigene auffällige Zellen.

T-Lymphozyten (T-Zellen) erfüllen unterschiedliche Aufgaben: Eine Form der T-Zellen zerstört unter anderem von Viren befallene Zellen oder Tumorzellen. Andere geben Signalstoffe ab, die die Immunantwort regulieren.

Natürliche Killerzellen (NK-Zellen) greifen defekte oder veränderte Körperzellen an, zum Beispiel virusinfizierte Zellen oder, wenn sie diese als solche erkennen, auch Tumorzellen.

Monozyten sind die Vorläufer von Makrophagen. Makrophagen erkennen körperfremde Strukturen, nehmen diese in sich auf und zerstören sie in ihrem Zellinneren.

Dendritische Zellen entstehen aus Monozyten oder aus Vorläuferzellen der B- und T-Lymphozyten. Ihre Aufgabe ist es, Fremdstoffe aufzunehmen, diese in kleine Stücke zu zerteilen und diese Bruchstücke an ihrer Zelloberfläche für die Lymphozyten zu präsentieren.

Granulozyten erkennen und wehren Bakterien und Parasiten ab. Es gibt verschiedene Arten: neutrophile, eosinophile und basophile Granulozyten, mit unterschiedlichen Aufgaben bei der Immunabwehr.

Mastzellen kommen nicht nur im Blut, sondern überall im Körper vor, vor allem in den Schleimhäuten der Atemwege und des Darms. Sie bilden und speichern Signalstoffe und setzen sie bei Kontakt mit körperfremden Stoffen frei. Dies löst eine Immunantwort aus.

"Leukämie"

- Leukämien wird umgangssprachlich auch als *Blutkrebs* genannt.
- Leukämien sind Erkrankungen des blutbildenden Systems (nicht nur das Blut, sondern vor allem das Knochenmark oder die lymphatischen Organe sind betroffen).
- Wenn eine Leukämie entsteht, tritt in einer Vorläuferzelle im Knochenmark eine Mutation auf.
- Nicht erblich bedingt!
- Die mutierte Vorläuferzelle teilt sich viel zu rasch und reift unter Umständen nicht mehr richtig aus. Im Knochenmark entsteht eine zu große Anzahl unfertiger oder unreifer weißer Blutzellen, die meist nicht funktionstüchtig sind. Diese Leukämiezellen können vom Knochenmark ins Blut gelangen und sich im Körper verteilen.

"Leukämie"

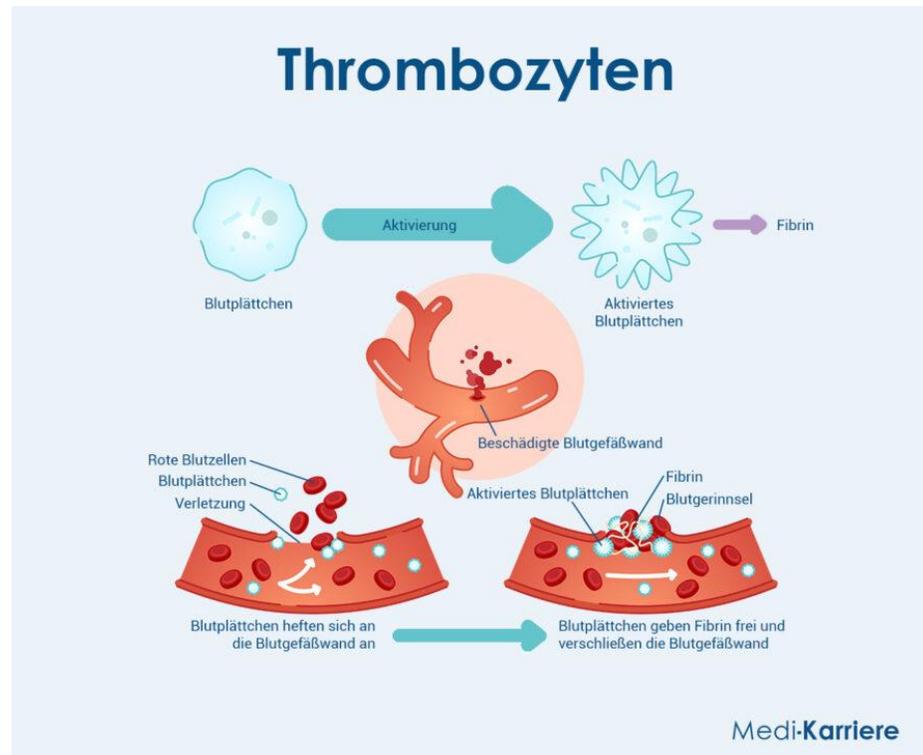
Indem sich die Leukämiezellen vermehren, verschiebt sich das Verhältnis der Blutzellen: Patienten haben immer mehr unreife weiße Blutzellen. Gleichzeitig werden immer weniger reife weißen Blutzellen, roten Blutkörperchen und/oder Blutplättchen gebildet.

Mangel an roten Blutkörperchen (Erythrozyten): Erythrozyten sind die häufigste Zellart im Blut: Ungefähr 99 von 100 Blutzellen sind Erythrozyten. Sie transportieren Sauerstoff von der Lunge in den Körper und auch einen Teil des im Gewebe entstehenden Kohlendioxids zurück in die Lunge. Sind zu wenig rote Blutkörperchen vorhanden → Anämie. Die Symptome sind unter anderem Blässe, verminderte Leistungsfähigkeit und Atemnot.

"Leukämie"

Mangel an Blutplättchen (Thrombozyten):

- Die Blutplättchen spielen eine wichtige Rolle bei der Blutstillung.
- Wird ein Gefäß verletzt, lagern sie sich an der entstandenen Öffnung an und bilden eine Art Pfropfen.
- Gleichzeitig geben die Thrombozyten Stoffe ab, die dafür sorgen, dass das Blut gerinnt.
- Ein Symptom für einen Thrombozytenmangel sind kleine Hautblutungen.
- Bei einem starken Thrombozytenmangel neigen Patienten und Patientinnen verstärkt zu Blutungen.



“Leukämie“

Mangel an weißen Blutkörperchen (Leukozyten):

- Die Leukozyten sind Teil des körpereigenen Immunsystems.
- Sie erkennen körperfremde Stoffe, wehren Krankheitserreger ab und beseitigen gealterte oder defekte körpereigene Zellen.
- Bei einem Mangel an Leukozyten kann sich der Körper nicht richtig gegen Krankheitserreger verteidigen, als Folge treten vermehrt Infektionen auf.

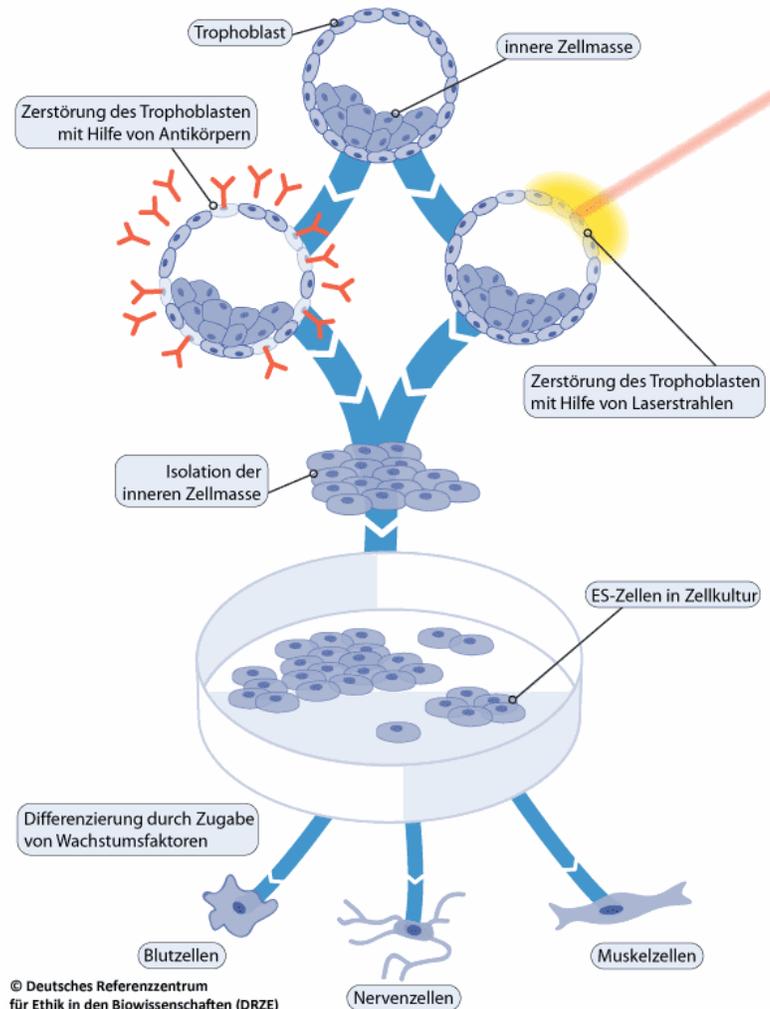
Historischer Überblick der Stammzellforschung

Jahr	Ereignis
1963	Nachweis von sich selbst erneuernden Zellen in Maus-Knochenmark
1978	Nachweis humaner hämatopoetischer SC
1981	Embryonale SC werden erstmals isoliert (aus Maus-Blastozyten)
1997	Nachweis, dass Leukämien aus hämatopoetischen SC entstehen
1998	Erstmalige Etablierung humaner ES
2001	Erstmaliges Klonen humaner Embryonen zur ES-Gewinnung
2007	Erzeugung humaner pluripotenter SC aus reifen Fibroblasten
2007	Medizin-Nobelpreis verliehen für Forschung an Maus-ES
2008	Erzeugung humaner ES ohne Zerstörung des Embryos

Erzeugung humaner ES ohne Zerstörung des Embryos

- **bis 2007** gab es keine schonenden Methoden der Stammzellgewinnung.
- Um eine gesunde Zellkolonie heranzüchten zu können, mussten Wissenschaftler einer Blastozyste ihre komplette innere Zellmasse entnehmen.
- Dieser etwa 200 Zellen große Embryo konnte dann nicht mehr zum Mensch heranwachsen, sondern zu einer Stammzelllinie.
- der Embryo wurde dabei also getötet – was laut den Urteilen der Gerichtshöfe sittenwidrig ist.

Gewinnung menschlicher embryonaler Stammzellen



© Deutsches Referenzzentrum
für Ethik in den Biowissenschaften (DRZE)
© DRZE

<https://www.drze.de/de/forschung-publikationen/im-blickpunkt/stammzellen/module/gewinnung-menschlicher-embryonaler-stammzellen>

- Zur Gewinnung der Stammzellen wird der Trophoblast durch Antikörper oder durch Laserstrahlen zerstört.
- Die innere Zellmasse wird in einer Zellkulturschale in einem speziellen Nährmedium aufgenommen und kultiviert.
- Die Zellen können sich unter den Zellkulturbedingungen zu ES-Zellen entwickeln.
- Diese können sich entweder unbegrenzt weiter teilen oder durch Zugabe von spezifischen Wachstumsfaktoren zur Differenzierung in verschiedene Gewebetypen angeregt werden.

Präimplantationsdiagnostik (PID)

- Als Präimplantationsdiagnostik (PID) bezeichnet man die genetische Untersuchung von Zellen eines nach künstlicher Befruchtung gezeugten Embryos in vitro vor seiner Übertragung in die Gebärmutter.
- Dazu werden dem Embryo zu einem sehr frühen Zeitpunkt einzelne Zellen entnommen, die dann auf das Vorliegen bestimmter Erkrankungen (z. B. Chromosomenstörungen oder durch Genveränderungen verursachte und ererbte genetische Erkrankungen) hin untersucht werden.
- Nach dem Embryonenschutzgesetz (ESchG) darf die PID nur an pluripotenten Zellen des Embryos durchgeführt werden, das heißt an solchen Zellen, die sich auch bei Vorliegen der dafür erforderlichen weiteren Voraussetzungen nicht mehr zu einem Individuum zu entwickeln vermögen.

Präimplantationsdiagnostik (PID)

- bekannteste Verfahren stammt von einem Forscherteam um den amerikanischen Mediziner Robert Lanza . Lanza und seinen Mitarbeitern war es 2007 gelungen, aus einer einzelnen Zelle eines Embryos eine Stammzellkolonie zu züchten.
- Entnommen wird von einem acht bis zehn Zellen großen Embryo **eine einzelne Zelle**.
- Bei der PID wird die entnommene Zelle zerstört, um das darin enthaltene Erbgut auf Anomalien, Krankheiten oder Fehlbildungen untersuchen zu können.
- Herausforderung 1.: die Zelle möglichst unbeschädigt zu entnehmen.
- Herausforderung 2.: die einzelne Zelle zur Teilung zu bewegen.
"Eine einzelne Zelle würde normalerweise in der Nährflüssigkeit sitzen und nichts tun,,
ist die Zelle im Nährmedium mit einer bereits existierenden Stammzellkolonie umgeben, können die anderen Stammzellen Signalmoleküle frei setzen , die die Zelle zum Teilen anregen"
- Mit dieser Methode gelang es den Forschern, eine wachsende und gesunde Zellkolonie zu erschaffen, **ohne** dabei einem Embryo Schaden zu müssen.

"Embryonen dürfen gemäß dem Embryonenschutzgesetz nicht zu einem Zweck verwendet werden, der nicht ihrer Erhaltung dient",



Alternatives Verfahren:

arretierten Embryonen Zellen zu entnehmen. Diese durch künstliche Befruchtung entstandenen Embryonen haben aufgrund von genetischen Fehlern aufgehört, sich weiter zu teilen. Da sie also ohnehin nicht mehr zu einem Menschen heranwachsen könnten, käme ihre Zerstörung keiner Tötung gleich.

Nachteil der Methode:

Die Anzahl von Stammzellen, die so gewonnen werden kann, ist sehr gering. Viele der Stammzellen sind genetisch geschädigt und eignen sich somit nicht für jedes Experiment.

Gesetzeslage

- Nach dem Urteil des EuGH (Europäischer Gerichtshof in Brüssel) dürfen keine technischen Verfahren patentiert werden, für die **Stammzellen aus Embryonen gewonnen** wurden.
- Unter **Embryonen** verstehen die Richter nun auch frühe Zellstadien befruchteter Eizellen (Blastozysten) sowie unbefruchtete Eizellen, die auf andere Weise (Parthenogenese) zur Teilung und Weiterentwicklung angeregt wurden.
- Eine Ausnahme bilden technische Verfahren, mit denen **dem Embryo selbst** – und dem Menschen, der daraus theoretisch heranwachsen könnte – geholfen würde.
- Das Urteil bezieht sich nur auf Verfahren mit embryonalen Stammzellen.
- Forscher, die **adulte oder rückprogrammierte** Zellen verwenden, könnten ihre Forschungstechniken weiterhin auch in Europa patentieren lassen.

II. Ethische Aspekte

1. Die Frage nach der Schutzwürdigkeit des menschlichen Embryos

zwei unterschiedliche Grundpositionen

Die erste Grundposition

- spricht dem Embryo von Beginn an - das heißt bereits mit Abschluss der Kernverschmelzung - dieselbe Schutzwürdigkeit zu, die dem geborenen Menschen aufgrund seines Personseins zu eigen ist.
- Der moralische Status des frühen Embryos wird daher ausgehend vom autonomen Subjekt, zu dem er sich der Möglichkeit nach entwickeln kann, bestimmt.
- Ein Embryo, gleich welcher Entwicklungsstufe, darf demnach niemals für fremde Zwecke, so hochrangig sie auch sein mögen, instrumentalisiert werden.

II. Ethische Aspekte

1. Die Frage nach der Schutzwürdigkeit des menschlichen Embryos

Die erste Grundposition: Argumente

- Zum einen besitze der Embryo von Anfang an das Potenzial zu einer Person zu werden (Potenzialitätsargument).
- Zudem entwickle sich der Embryo nach Abschluss der Kernverschmelzung in einem kontinuierlichen Prozess zur Person. Deshalb könne der Beginn der Schutzwürdigkeit, wolle man willkürliche Setzungen vermeiden, auch nur an diesem Zeitpunkt festgemacht werden (Kontinuitäts- und Identitätsargument).
- Außerdem widerspreche es dem Grundgedanken der Menschenwürde, den Würdeschutz von einer anderen Eigenschaft abhängig zu machen als allein der, ein menschliches Lebewesen zu sein (Argument der Spezieszugehörigkeit).

II. Ethische Aspekte

1. Die Frage nach der Schutzwürdigkeit des menschlichen Embryos

zwei unterschiedliche Grundpositionen

Die zweite Grundposition

- setzen unterschiedliche Entwicklungsstufen als maßgeblich an.
- Einige halten die Einnistung in den Uterus für entscheidend.
- Andere plädieren für die Ausbildung des Primitivstreifens als Kriterium.
- Wieder andere halten das Vorhandensein der neuronalen Voraussetzungen für solche Vermögen wie Schmerzempfindung oder Interessensfähigkeit für zentral.
- Diese seien erforderlich, um überhaupt Ansprüche unterhalten und darauf bezogene Schutzansprüche begründen zu können.

II. Ethische Aspekte

1. Die Frage nach der Schutzwürdigkeit des menschlichen Embryos

zwei unterschiedliche Grundpositionen

Die erste Position liegt dem deutschen Embryonenschutzgesetz zugrunde, das die Herstellung von Embryonen zu Forschungszwecken wie auch die Verwendung von Embryonen zu einem nicht ihrer Erhaltung dienenden Zweck verbietet.

Auf der zweiten Position baut das britische Regelungsmodell und der *Human Fertilisation and Embryology Act von 2008* auf. Dieser zufolge ist es - unter bestimmten zusätzlichen Voraussetzungen - nicht nur erlaubt, „überzählige“ Embryonen für definierte Forschungsziele bis zur Ausbildung des Primitivstreifens zu verbrauchen, sondern auch Embryonen eigens zu diesem Zweck herzustellen.

II. Ethische Aspekte

2. Die Frage nach der Zulässigkeit der Forschung mit sogenannten überzähligen Embryonen

In zahlreichen Ländern, in denen *In-vitro-Fertilisations-Behandlungen* erlaubt sind und durchgeführt werden, gibt es sogenannte überzählige Embryonen. Damit sind Embryonen gemeint, die bei einer *In-vitro-Fertilisation (IVF)* erzeugt, aber nicht in den Uterus übertragen wurden und von den Eltern auch nicht mehr für eine Übertragung gebraucht werden - etwa weil eines der Elternteile erkrankt oder verstorben ist, oder weil die Eltern keine weiteren Kinder bekommen möchten.

Für ihre Verwendung gibt **es legal zwei Optionen**: das Verwerfen der Embryonen oder das Spenden an ein anderes Paar.

Als eine dritte Option wird die Nutzung der Embryonen durch die Forschung (wie z. B. zur Gewinnung von embryonalen Stammzellen) diskutiert.

II. Ethische Aspekte

2. Die Frage nach der Zulässigkeit der Forschung mit sogenannten überzähligen Embryonen

Die *Befürwortenden* (Gewinnung von Stammzellen aus so genannten überzähligen Embryonen) halten dem entgegen, dass eine künstliche Herstellung sogenannter überzähliger Embryonen durch entsprechende Gesetze verhindert werden könne.

Die Leopoldina schlägt als Befürworterin in ihrer Stellungnahme für den Fall einer Legalisierung der Forschung eine Kontrolle durch eine Bundesbehörde zusammen mit einer Ethikkommission vor.

Die Embryooption wird von den Befürwortenden unter anderem mit dem Argument abgelehnt, dass sie eine Spaltung der Elternschaft bedingt, da die Person, die die Eizelle spendet, nicht dieselbe Person ist wie diejenige, die den Embryo austrägt und anschließend die soziale Rolle des Elternteils ausfüllt (sogenannte „gespaltene Mutterschaft“). Dabei sei diese Spaltung mit erheblichen Risiken für das Kind verbunden.

II. Ethische Aspekte

3. Die Frage nach der Zulässigkeit der Forschung mit Kerntransfer-Embryonen und ihrer Erzeugung

4. Die Frage nach den Alternativen zur Forschung mit humanen embryonalen Stammzellen

Alternative adulte Stammzellen?

Alternative iPS-Zellen?

Alternative Transdifferenzierung von Zellen?

Alternative Forschung am Tiermodell?

Zusammenfassung Stammzellen

- menschliche Körper besteht aus ca. 100 Billionen Zellen, die im Körper die unterschiedlichsten Funktionen übernehmen und dafür spezialisiert sind (z.B. Leberzellen, Haarzellen, Hautzellen, Muskelzellen usw.).



- Ca. 220 sind spezialisierte Zell- bzw. Gewebetypen.



- Organisiert sind sie in hierarchisch aufgebauten Zellsystemen mit den spezialisierten, ausdifferenzierten Zellen an der Spitze und den wenig differenzierten Stammzellen an der Basis.



- Pro Sekunde gehen im menschlichen Körper ca. 50 Millionen Zellen zugrunde, die durch neue Zellen ersetzt werden müssen.
- Für diese Neuproduktion der Zellen ist ein spezieller Zelltyp zuständig:
Stammzellen

Zusammenfassung Stammzellen

SZ/SC zeichnen sich durch zwei besondere Fähigkeiten aus:

1. Stammzellen können durch Zellteilung neue Stammzellen erzeugen,
2. sie können sich in spezialisierte Zellen entwickeln bzw. differenzieren.



Durch diese beiden besonderen Eigenschaften verleihen Stammzellen den Geweben die Fähigkeit, verbrauchte Zellen zu ersetzen und Schäden zu reparieren.

Zusammenfassung Stammzellen

1. lässt sich durch die Erforschung der Stammzellen wichtiges medizinisches Grundlagenwissen gewinnen,

z.B. über die Prozesse

- der Zellentwicklung und – differenzierung,
- über die Funktion von Genen und
- über die Entwicklung von Krankheiten.

Zusammenfassung Stammzellen

2. können Stammzellen in der **Gewebeersatztherapie** zur Reparatur und zum Ersatz von beschädigtem und abgestorbenem Gewebe verwendet werden.

→ Dies kann, wie z.B. bei der Blutstammzelltherapie dadurch geschehen, dass die Stammzellen direkt in den kranken Organismus eingefügt werden (*in vivo*), um dort die beschädigten Stammzellen zu ersetzen und für eine Neuproduktion der notwendigen differenzierten Zellen (z.B. Blutzellen) zu sorgen.

→ Oder es kann dadurch geschehen, dass aus Stammzellen im Labor diejenigen differenzierten Zellen gezüchtet werden, die für die Therapie benötigt werden.
In diesem Fall werden nur die differenzierten Zellen transplantiert.

Arten von Stammzellen

- **embryonale Stammzellen (ES-Zellen)**
- **embryonale (fetale) „Keim“-Stammzellen
(EG-Zellen, von „*embryonic germ cells*“)**
- **adulte Stammzellen (adSC)
z. B. hämatopoetische Stammzellen aus Knochenmark**
- **Induzierte pluripotente Stammzellen**



verschiedene Stammzellen werden nach ihrer Herkunft benannt



- ES-Zellen werden aus frühen Embryonen (Blastozyste) gewonnen
- EG-Zellen werden aus primordialen Keimzellen aus Embryonen/Foeten isoliert
„*embryonic germ cells*“
- „Adulte“ Stammzellen werden aus verschiedenen Organen (Knochenmark, Gehirn, Blut, Leber, Retina etc) gewonnen

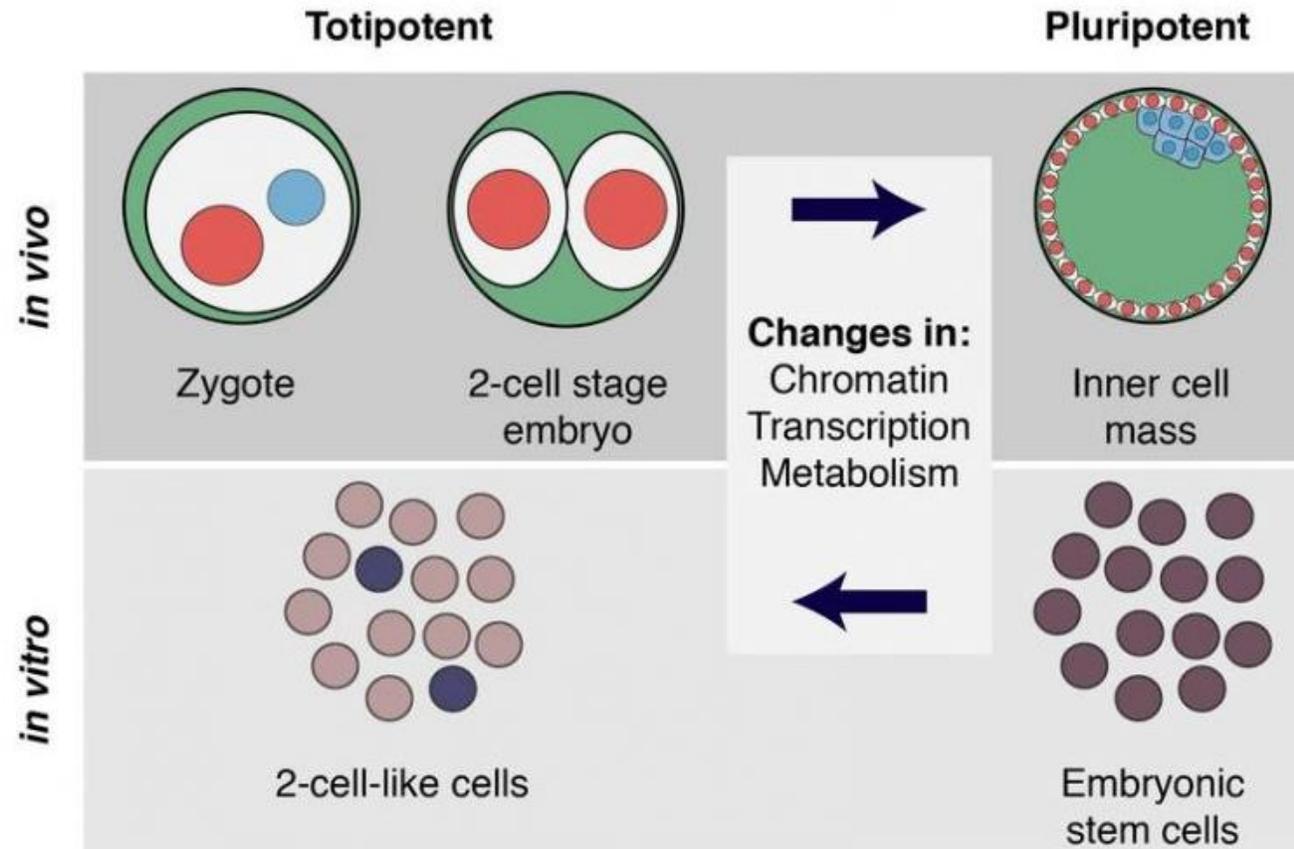
Stammzellen

Totipotenz? Pluripotenz?

- **Totipotenz:** Totipotente Zellen besitzen die Fähigkeit, einen vollständigen Organismus zu erzeugen. Im Embryo findet man sie nur in den ersten beiden Entwicklungsstadien kurz nach der Befruchtung (bis zum *2-cell status*). Die Zellen sind in der Lage sich in **alle in einem Organismus jemals vorhandene Zellen** zu differenzieren (z. B. auch in Trophoblastenzellen)
→ : aus solchen Zellen kann sich ein Mensch entwickeln
- **Pluripotenz:** die Zellen können sich noch in sehr viele verschiedene Zellen differenzieren, **aber nicht mehr in alle** (z. B. nicht mehr in Trophoblasten-Zellen)

Stammzellen

Totipotenz? Pluripotenz?

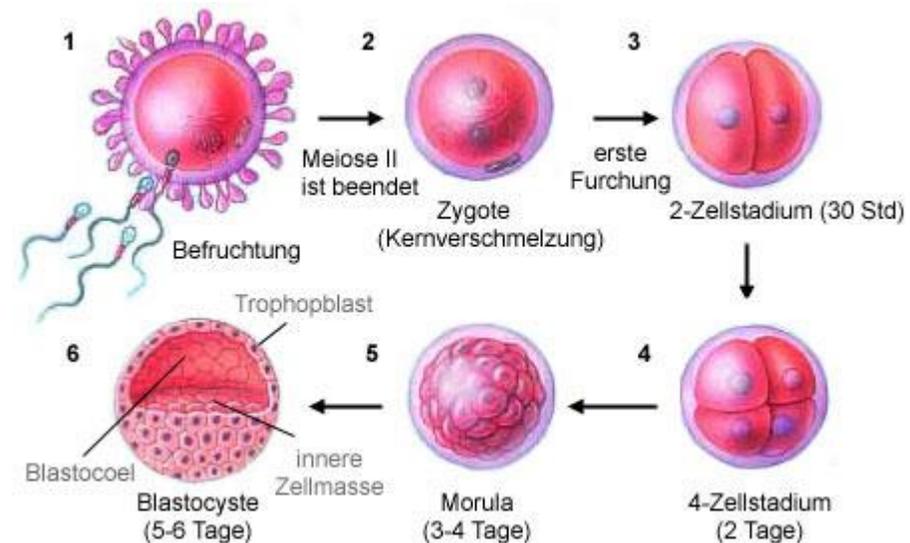
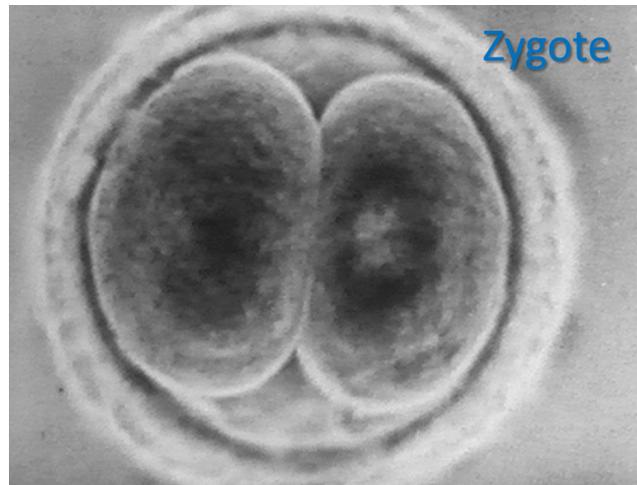


Die Reprogrammierung des Zellpotenzials hängt mit vielen molekularen Veränderungen zusammen. ©Helmholtz Zentrum München

<https://www.helmholtz-munich.de/newsroom/news/artikel/grenzenloses-potenzial-forschende-erzeugen-totipotent-aehnliche-zellen-auf-neue-weise>

Totipotente Stammzellen

Die befruchtete Eizelle, d.h. die Zygote, und die Zellen der frühen Morula (ca. zwei Tage nach der Befruchtung) besitzen die Fähigkeit, einen kompletten Embryo zu erzeugen. Diese Zellen werden aus diesem Grund totipotente (von lateinisch totus - ganz) Stammzellen genannt



Pluripotente Stammzellen

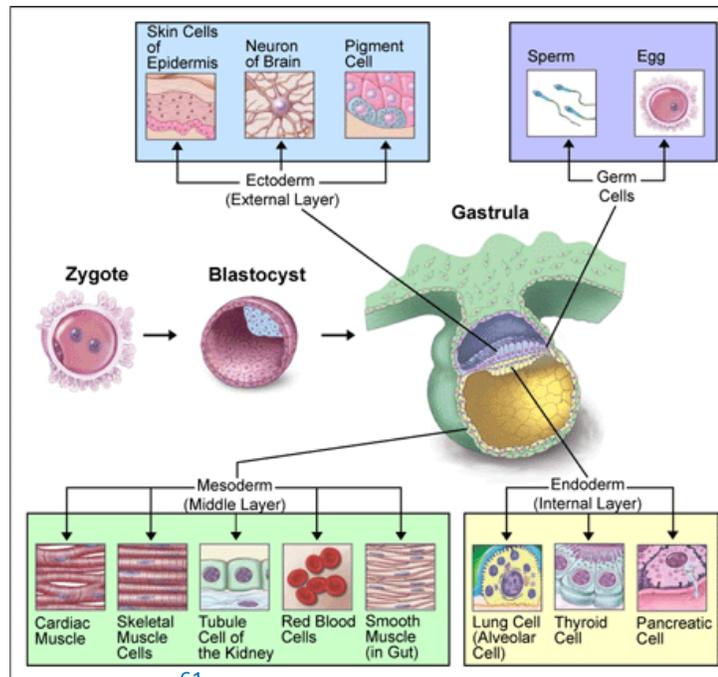
Drei bis vier Tage nach der Befruchtung hat sich die Zygote über das Morulastadium zu einer Blastozyste entwickelt.

- Die Blastozyste ist eine Zellkugel aus etwa 100-200 Zellen. Sie besteht aus einer inneren Zellmasse, einer sie umgebenden äußeren Zellschicht, dem sogenannten Trophoektoderm, und der flüssigkeitsgefüllten Blastozystenhöhle.
- Aus der inneren Zellmasse entwickelt sich der Embryo, während das Trophektoderm an der Bildung der Plazenta und dem Dottersack teilnimmt.
- Die Zellen der inneren Zellmasse, aus denen sich der Embryo entwickelt, sind die sogenannten embryonalen Stammzellen. Sie besitzen die Fähigkeit, alle Zellen eines Körpers zu bilden und werden daher als pluripotent (von lateinisch pluris – mehr) bezeichnet. Im Unterschied zu den totipotenten Stammzellen können sie aber keinen intakten Organismus mehr erzeugen, sondern entwickeln sich nur noch im Kontext des entstehenden Embryos.

Arten von Stammzellen

Embryonale Stammzellen (ES)

- ✓ sind ethisch umstritten, weil sie aus frühen Embryonen stammen, die bei ihrer Gewinnung zerstört werden.
- ✓ Sie sind noch nicht auf eine endgültige Aufgabe festgelegt → pluripotent

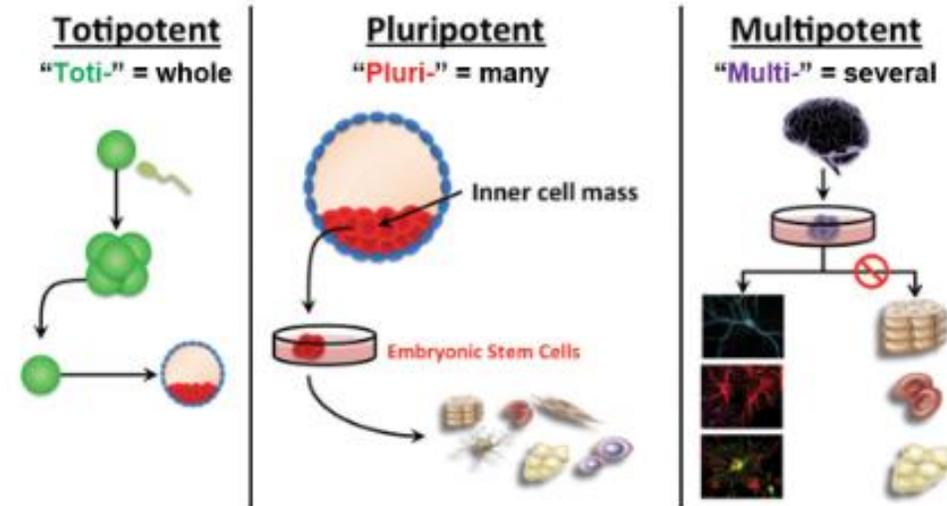
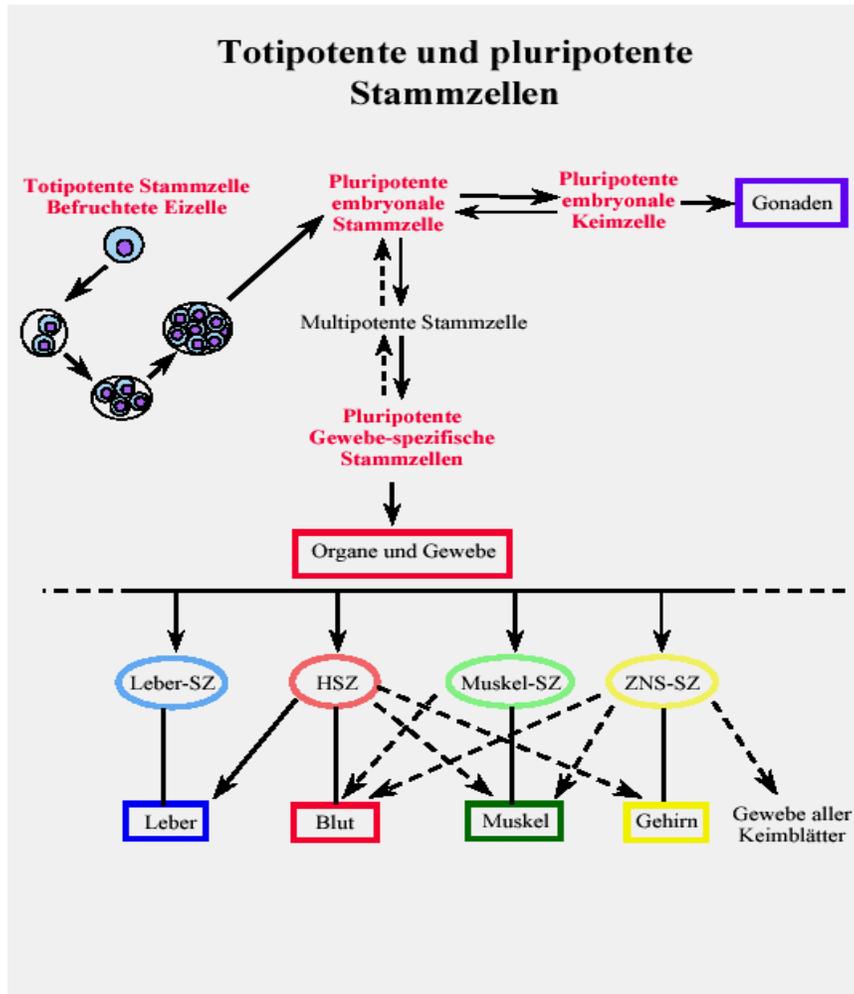


Im Zuge der Gastrulation entsteht aus der Blastula: drei Keimblätter.

→ dreikeimblättrige, *triploblastische* Embryo

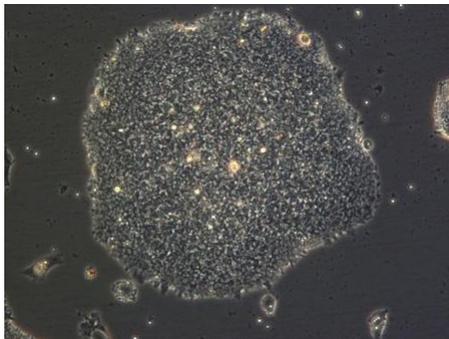
→ Die drei Keimblätter

→ Ektoderm, Mesoderm und Entoderm.



Die früheste Differenzierung der embryonalen Stammzellen:

- ethischen Gründen sind menschliche Embryonen nicht oder nur sehr eingeschränkt für Forschungszwecke zugänglich.
- Die Verwendung von hES-Zellen



Kolonie von menschlichen embryonalen Stammzellen (100fache Vergrößerung) © Bild: Jonathan Göke/Genome Institute of Singapore

- hES-Zellen können *in vitro* unbegrenzt vermehrt werden (*self-renewal*) und sind zudem jederzeit in der Lage, in Derivate der drei Keimblätter Entoderm, Mesoderm und Ektoderm zu differenzieren (**Pluripotenz**), und zwar unter Differenzierungsbedingungen *in vitro* als auch durch Teratombildung *in vivo*

Risiken des ES - Einsatzes

Embryonale Stammzellen

- ✓ sind ethisch umstritten
- ✓ Der Einsatz birgt Risiken:
 - ✓ Wegen des enormen Teilungs- und Entwicklungspotenzials kann es zu unkontrollierten Wucherungen (Teratomen) kommen.
 - ✓ Ob man die Zellen dazu bringen kann, dass sie im Körper nur und genau das tun, was sie sollen, muss sich noch erweisen.
 - ✓ Sind die Zellen nicht *körpereigen* – können sie bei einer Transplantation abgestoßen werden (Immunantwort!!)

Risiken des ES - Einsatzes

ES-Zellen: Der Einsatz birgt Risiken:

- ✓ Wegen des enormen Teilungs- und Entwicklungspotenzials kann es zu unkontrollierten Wucherungen (Teratomen) kommen.

= Tumor, der sich aus pluripotenten Stammzellen (Keimzellen) entwickelt und somit Komponenten aller drei Keimblätter enthalten kann.

- ➔ reife und unreife Teratome
- ➔ Reife Teratome enthalten differenziertes Gewebe, wie z.B. Haut, Haare, Zähne, Muskel- und Nervengewebe
- ➔ selten können Teratome komplexe Gebilde wie Augen, Hände, Füße oder andere Gliedmaßen und Organe enthalten.
- ➔ Teratome sind meist zystisch abgekapselt,



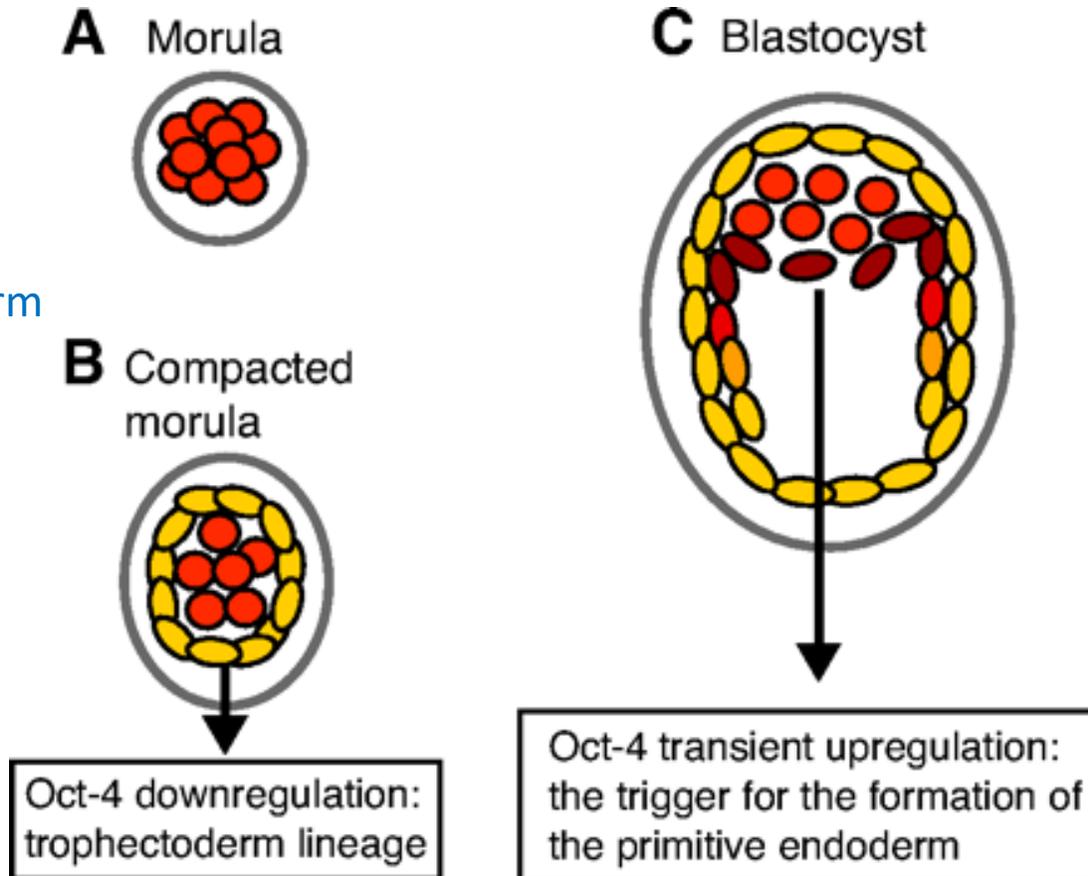
© Institut de pathologie, CHUV, Lausanne

Die früheste Differenzierung der embryonalen Stammzellen:

Welche Gene sind verantwortlich für
den Erhalt der embryonalen
Stammzellen –
Wie ist das Signaling?

Die früheste Differenzierung der embryonalen Stammzellen:

Erste Differenzierung in Trophoektoderm und primitives Endoderm wird durch differenzielle Oct4-Genexpression erreicht



Die früheste Differenzierung der embryonalen Stammzellen (Unterdrückung der O4 Genexpression durch siRNA):



OCT4-Suppression in hES-Zellen.

A, hES-Zell-Morphologie nach Transfektion mit siRNAs gegen GFP (Negativkontrolle) und OCT4.

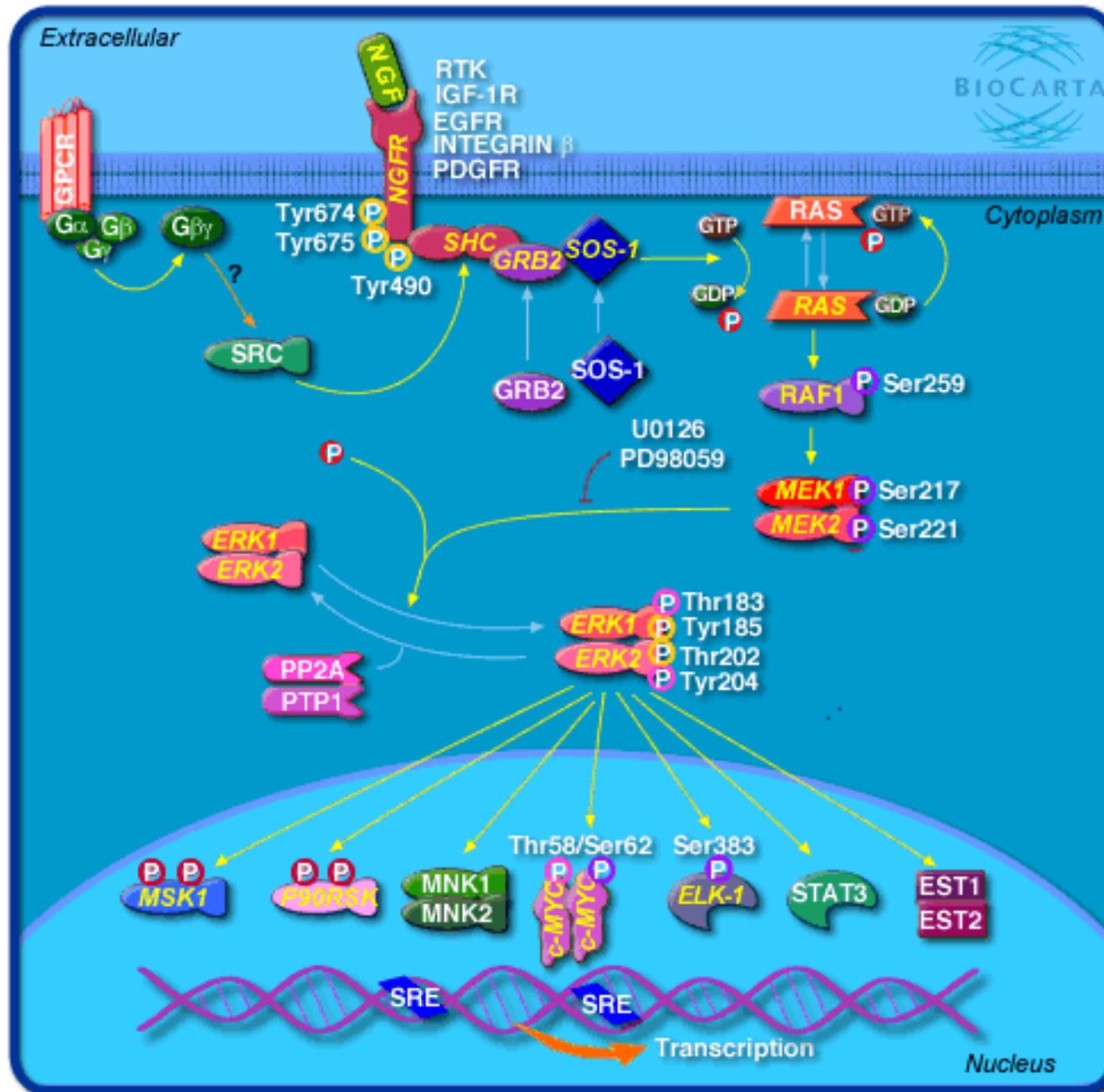
B, Reduktion des OCT4-Pegels in siRNA-behandelten hES-Zellen (Western blot). SHP-2: Ladekontrolle.

hES-Zellen: Kommunikationsnetzwerk entdeckt

Für die Aufrechterhaltung der **Pluripotenz** sind eine Reihe unterschiedlicher Faktoren erforderlich, zu denen unter anderem auch die Verwendung von Kommunikationswegen innerhalb der Zelle gehört



Die Kommunikationssignale, die in hES-Zellen verwendet werden, aktivieren eine Kettenreaktion, den sogenannten **extrazellulär-regulierten Kinase (ERK1/2 oder p42/44 MAPK)-Pathway**. Dieser führt dazu, dass in jeder Zelle genetische Informationen aktiviert werden.



pathways/biocarta/h_erkPathway.gif

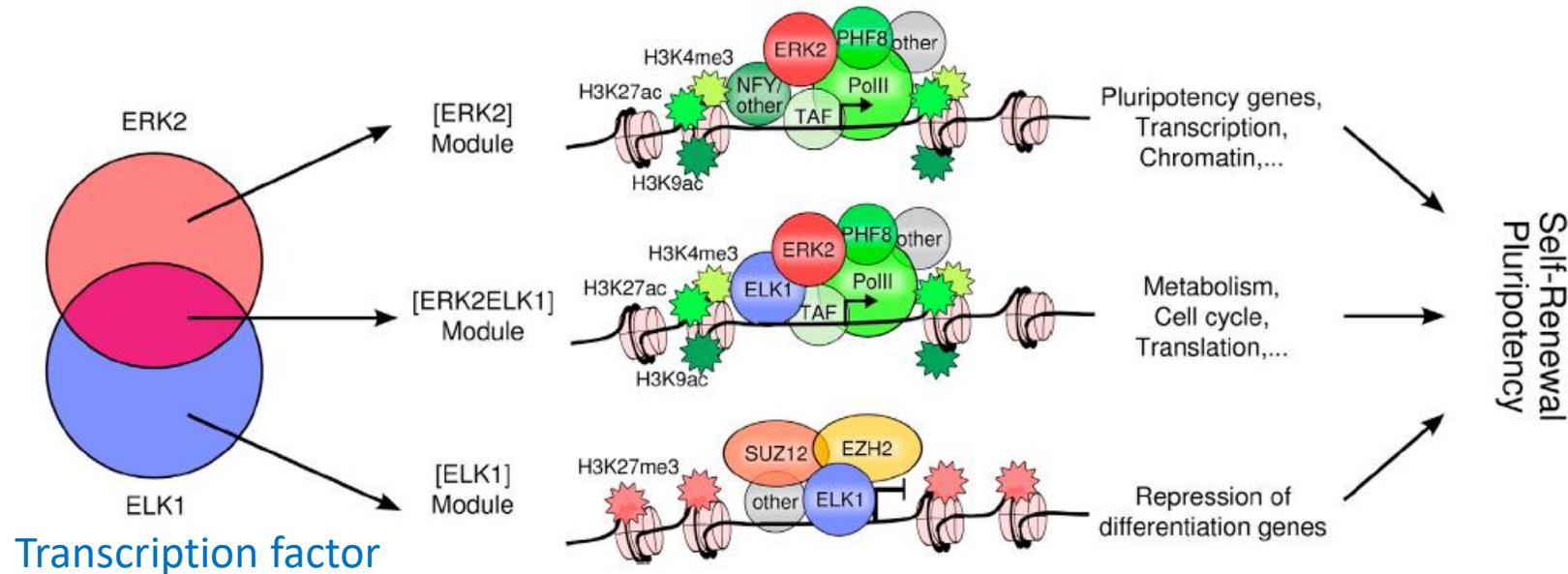
hES-Zellen: Kommunikationsnetzwerk entdeckt

ERK2 aktiviert gezielt nicht-kodierende Gene, Histone sowie spezifische Gene für den Zellzyklus, den Stoffwechsel und die Aufrechterhaltung der Pluripotenz der Stammzellen.

Der ERK-Signalweg enthält außerdem einen Transkriptionsfaktor, **ELK1**, der mit ERK2 interagiert und dadurch genetische Informationen aktiviert.

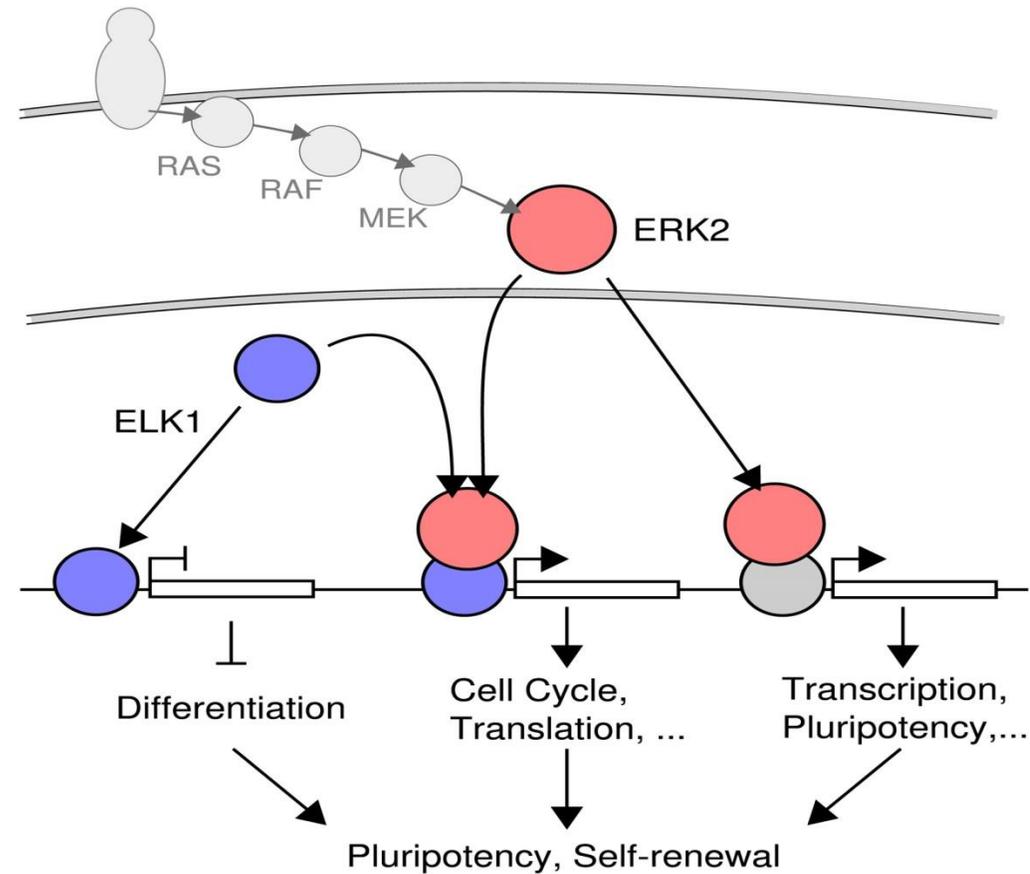
An denjenigen Positionen im Genom, die nicht durch ERK2 aktiviert werden, unterdrückt **ELK1** die genetische Information und erhält dadurch die Zelle in ihrem undifferenzierten Zustand.

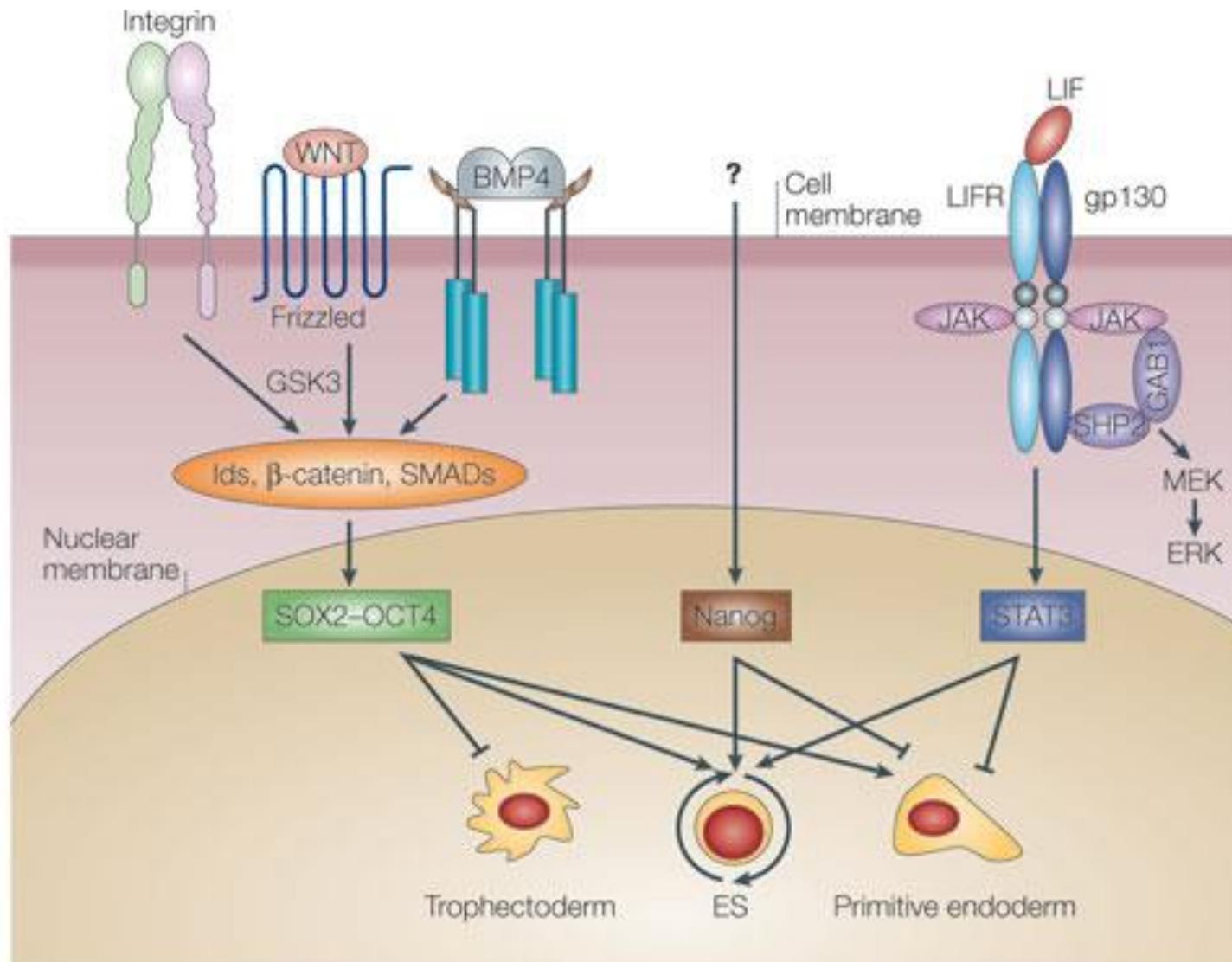
Model of the Transcriptional Regulatory Network of ERK2 Signaling in hESCs



Transcription factors such as ELK1 link ERK2 to sequence-specific regulation of gene expression. ERK2 and ELK1 colocalization defines three distinct modules that target different sets of genes. In this model, combinatorial binding of ERK2 and ELK1 with transcription factors, chromatin regulators, and the basal transcriptional machinery integrates external signaling into the cell-type-specific regulatory network. In hESCs, ERK2 and ELK1 participate in the regulation of pluripotency and self-renewal pathways, whereas differentiation genes are repressed.

Model of the Transcriptional Regulatory Network of ERK2 Signaling in hESCs





Copyright © 2005 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Distinct Lineage Specification Roles for NANOG, OCT4, and SOX2 in hES

