



## **Dritter Erfahrungsbericht der Bundesregierung über die Durchführung des Stammzellgesetzes**

# **Dritter Erfahrungsbericht der Bundesregierung über die Durchführung des Stammzellgesetzes**

	<b>Inhalt</b>	<b>Seite</b>
1.	Prüfung und Genehmigung von Anträgen auf Einfuhr und Verwendung menschlicher embryonaler Stammzellen zu Forschungszwecken	3
1.1	Berichtsauftrag und Berichtszeitraum	3
1.2	Genehmigte Anträge und Genehmigungsverfahren	3
1.3	Erfüllung der Voraussetzungen nach § 5 StZG	9
1.4	Prüfung und Bewertung durch die Zentrale Ethik-Kommission für Stammzellenforschung	12
2.	Stand der Forschung mit menschlichen Stammzellen	13
2.1	Einleitung	13
2.2	Bestand und Kultur der menschlichen embryonalen Stammzelllinien	13
2.2.1	Stammzellregister und Stammzellbanken	13
2.2.2	Vermeidung tierischer Bestandteile	14
2.2.3	Standardisierung	15
2.3	Ausgewählte Forschungsergebnisse	16
2.3.1	Veränderungen von embryonalen Stammzelllinien in Langzeitkultur	16
2.3.2	Pluripotenz und Verschiedenheit humaner embryonaler Stammzelllinien	16
2.3.3	Verfahren zur gezielten gentechnischen Modifikation humaner embryonaler Stammzellen	17
2.3.4	Verfahren zur Differenzierung von hES-Zellen zu bestimmten Keimblättern für spezifische Anwendungen	17
2.4	Erschließung neuer Quellen menschlicher Stammzellen	19
2.4.1	Gewinnung humaner embryonaler Stammzellen aus arretierten Embryonen	20

2.4.2	Kerntransfer-Verfahren	21
2.4.3	Reprogrammierung von Körperzellen	23
2.4.4	Gewinnung von Stammzellen ausgehend von Keimzellen und deren Vorläuferzellen	25
2.4.5	Fötale Stammzellen	26
2.5	Entwicklung von Therapien mit humanen embryonalen Stammzellen	26
3.	Schlussfolgerungen	27
	Glossar	28
	Ausgewählte Literatur	31
	Ausgewählte Internetadressen	33

## 1. Prüfung und Genehmigung von Anträgen auf Einfuhr und Verwendung menschlicher embryonaler Stammzellen zu Forschungszwecken

### 1.1 Berichtsauftrag und Berichtszeitraum

Dieser Erfahrungsbericht erfolgt aufgrund von § 15 des Gesetzes zur Sicherstellung des Embryonenschutzes im Zusammenhang mit Einfuhr und Verwendung menschlicher embryonaler Stammzellen (Stammzellgesetz – StZG). Er umfasst den Zeitraum vom 1. Januar 2006 bis zum 31. Dezember 2007 (3. Berichtszeitraum). Gegenstand der Berichtspflicht ist eine Sachdarstellung der Durchführung des Gesetzes sowie des aktuellen Forschungsstands zu embryonalen und anderen Formen menschlicher Stammzellen. Durch den Bericht soll der Deutsche Bundestag in die Lage versetzt werden, die mit der bisherigen Regelung gemachten Erfahrungen in seine Meinungsbildung zur Bewertung der Sachlage einzubeziehen.

### 1.2 Genehmigte Anträge und Genehmigungsverfahren

Im vorangegangenen Berichtszeitraum (1. Januar 2004 bis 31. Dezember 2005; 2. Berichtszeitraum) waren **neun** Anträge auf Einfuhr und/oder Verwendung humaner ES-Zellen genehmigt worden.

Im aktuellen Berichtszeitraum wurden im Zusammenhang mit inhaltlich eigenständigen Projekten **neun** Anträge auf Genehmigung der Einfuhr und Verwendung bzw. Genehmigung der Verwendung humaner embryonaler Stammzellen gemäß § 6 StZG an das Robert Koch-Institut (RKI) als zuständige Genehmigungsbehörde gestellt. Es waren ferner **vier** Anträge aus dem 2. Berichtszeitraum anhängig. **Neun** dieser insgesamt 13 Anträge wurden im Berichtszeitraum genehmigt. Zu **vier** Anträgen war das Genehmigungsverfahren am 31. Dezember 2007 noch nicht abgeschlossen. Die im Berichtszeitraum erteilten Genehmigungen gingen an **acht** Forschergruppen, von denen drei bereits im Rahmen zuvor erteilter Genehmigungen mit humanen ES-Zellen arbeiteten. In Deutschland wurden am Ende des Berichtszeitraumes humane ES-Zellen von insgesamt **16** Forschungsgruppen verwendet, die in **23** genehmigten Projekten tätig waren.

Für mehrere bereits genehmigte Vorhaben wurden die Genehmigungen erweitert. In **zwei** Fällen wurden zusätzliche experimentelle Arbeiten an hES-Zellen beantragt, die thematisch zwar nahe an den bislang genehmigten Verwendungen von hES-Zellen lagen, jedoch inhalt-

lich entweder über die genehmigten Forschungsarbeiten hinausgingen oder diese wesentlich modifizierten, so dass es einer erneuten Prüfung des Vorliegens der Kriterien des § 5 StZG und damit auch einer erneuten Prüfung und Bewertung durch die Zentrale Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES) bedurfte. Für **vier** genehmigte Projekte wurde die Einfuhr und Verwendung weiterer humaner ES-Zellen beantragt und genehmigt, die zusätzlich zu schon importierten hES-Zellen für bereits genehmigte Zwecke verwendet werden sollen. Die Registereinträge für die entsprechenden Genehmigungen wurden jeweils angepasst.

Die erste Genehmigung für die Verwendung humaner ES-Zellen im aktuellen Berichtszeitraum war die insgesamt **15.** seit Inkrafttreten des StZG. Sie erging am 11. 01. 2006 an Prof. Heinrich Sauer, Universität Gießen, der bereits im Rahmen eines zuvor genehmigten Projektes die Erlaubnis zur Einfuhr humaner ES-Zellen erhalten hatte. Gegenstand des Vorhabens sind *In-vitro*-Untersuchungen zu Mechanismen der Blutgefäßbildung (Angiogenese) beim Menschen, unter anderem nach Induktion durch Tumoren. Es ist vorgesehen, den Prozess der Differenzierung von Blutgefäßen aus hES-Zellen im *embryoid body* (EB) bezüglich des Auftretens typischer endothelialer Markermoleküle zu analysieren, die Funktionalität der gebildeten Blutgefäße zu untersuchen und die Effekte verschiedener anti-angiogener Substanzen in diesem Prozess zu überprüfen. Ferner soll im Projekt ein sogenanntes Konfrontationsmodell von *embryoid bodies* aus humanen ES-Zellen und Tumor-Sphäroiden etabliert werden, um die Vaskularisierung des Tumors durch sich aus den EBs entwickelnde Blutgefäße sowie die Wirkung anti-angiogener Substanzen auf diesen Prozeß untersuchen zu können. Das Projekt kann im Ergebnis dazu beitragen, die Mechanismen der Blutgefäßbildung im Menschen besser zu verstehen, wobei insbesondere Erkenntnisse darüber gewonnen werden sollen, wie Tumore die für ihr Wachstum nötige Blutgefäßbildung aus dem sie umgebenden Gewebe induzieren und beeinflussen. Mittelfristig kann das Projekt auch einen Beitrag zur Entwicklung neuer und für den Menschen aussagekräftigerer *In-vitro*-Modelle für die Überprüfung von Anti-Angiogenese-Eigenschaften von Pharmaka leisten.

Die **16.** Genehmigung, die am 21. 03. 2006 an Herrn Professor Sigurd Lenzen, Medizinische Hochschule Hannover erging, wurde für ein Projekt erteilt, dessen Ziel in der Bereitstellung von insulinproduzierenden Zellen mit Eigenschaften pankreatischer  $\beta$ -Zellen besteht. Dabei soll ein in embryonalen Stammzellen der Maus erfolgreich etabliertes Protokoll zur Gewinnung derartiger Zellen auf humane ES-Zellen übertragen und überprüft werden, ob und inwieweit die differenzierten Zellen zu humanen pankreatischen  $\beta$ -Zellen vergleichbare Eigenschaften haben. Im Erfolgsfall könnte das Projekt einen Schritt auf dem Weg zur künftig denkbaren Bereitstellung von  $\beta$ -Zellen für eine Zellersatz-Therapie zur Behandlung des Diabetes mellitus darstellen.

Die **17.** Genehmigung wurde am 31. 05. 2006 Herrn Professor A. Francis Stewart für ein Projekt erteilt, in dem Methoden für gezielte genetische Veränderungen von hES-Zellen etabliert bzw. optimiert werden sollen. Das Projekt ist Bestandteil des EU-Verbundprojektes *ES Tools*. Im Projekt soll u. a. die bislang in hES-Zellen wenig effiziente Methodik der homologen Rekombination für diese Zellen optimiert werden. Weiterhin soll ein Locus im Genom von hES-Zellen identifiziert werden, der eine kopiezahlabhängige und positionsunabhängige Expression von in das hES-Zell-Genom inseriertem genetischen Material erlaubt. Mittels der im Projekt zu entwickelnden Methoden könnten Gene in hES-Zellen dann gezielt ausgeschaltet (beispielsweise durch gezielte Mutagenese) oder überexprimiert werden (beispielsweise durch Integration von Gen-Expressionskassetten), was wesentlich für gezielte Untersuchungen zu Selbsterneuerungs- und Differenzierungsmechanismen dieser Zellen sein kann. Die zu etablierenden Methoden können auch zur Schaffung von neuen Zellmodellen für die Untersuchung der Pathogenese bestimmter Erkrankungen beitragen oder zur Entwicklung verbesserter Protokolle für die gezielte Herstellung und Anreicherung bestimmter Zelltypen aus hES-Zellen (für die sog. *linage selection*) genutzt werden.

Die **18.** Genehmigung wurde am 27. 06. 2006 dem Fraunhofer Institut für Biomedizinische Technik (IBMT), St Ingbert, erteilt. Ausgangspunkt des Projektes ist die Tatsache, dass es derzeit nur sub-optimale Protokolle für die Kryokonservierung von hES-Zellen gibt. Die Folge der Verwendung wenig schonender Protokolle für das Einfrieren und Auftauen von hES-Zellen sind geringe Überlebensraten nach dem Auftauen der Zellen, was auch für deutsche Forscher ein erhebliches Problem darstellt. Im Rahmen eines EU-Verbundprojektes (*CRYSTAL*) sollen nun verbesserte Methoden für die Kryokonservierung verschiedener Stammzelltypen, darunter hES-Zellen, etabliert werden. Im genehmigten Projekt, das im Rahmen des erwähnten EU-Projektes durchgeführt wird, sollen die biophysikalischen Vorgänge, die beim Einfrieren und Auftauen von hES-Zellen eine Rolle spielen, näher untersucht sowie besser geeignete Einfriermedien und Medienzusätze entwickelt werden. Da die Prozesse bei der Kryokonservierung in hohem Maße für den verwendeten Zelltyp spezifisch sind, kann die Optimierung von bereits an anderen Zellen etablierten Kryokonservierungs-Protokollen für hES-Zellen nur an hES-Zellen selbst erfolgen. Bei erfolgreicher Etablierung geeigneter Protokolle könnten diese dazu beitragen, die Qualität und Vergleichbarkeit von Forschungen mit hES-Zellen zu verbessern.

Die **19.** Genehmigung, die am 25. 07. 2006 ebenfalls an das Fraunhofer Institut für Biomedizinische Technik (IBMT), St Ingbert, erging, wurde für ein Projekt erteilt, dessen Gegenstand die Etablierung einer neuen Methode zum *Monitoring* der Differenzierung von hES-Zellen zu

Knochenzellen (osteogene Differenzierung) ist. Auch dieses Vorhaben wird im Rahmen eines EU-Projektes (*OsteoCord*) durchgeführt. Im Zuge der genehmigten Arbeiten soll der Fortgang der osteogenen Differenzierung von hES-Zellen mittels eines nicht-invasiven Verfahrens, der Bioimpedanz-Spektroskopie, untersucht und die Resultate mit Ergebnissen verglichen werden, die bei entsprechender Differenzierung unter Nutzung von mesenchymalen Stammzellen aus Knochenmark und Nabelschnurblut erzielt werden. Im Erfolgsfall stünde eine Methode zur Verfügung, mittels derer der Erfolg der osteogenen Differenzierung von humanen ES-Zellen gegebenenfalls ohne Auflösung des differenzierten Zellverbandes bzw. ohne Zerstörung von Zellen oder Zellaggregaten nachgewiesen werden könnte. Dies wiederum könnte auf lange Sicht vorteilhaft für die Bestimmung und Kontrolle des Differenzierungserfolges bei der Herstellung von Material für eine denkbare Transplantation von aus hES-Zellen osteogen differenzierten Zellen sein.

Inhaber der **20.** Genehmigung, die am 06. 10. 2006 erteilt wurde, ist Professor Hescheler, Universität Köln. Dieses Projekt wird, wie das bereits oben beschriebene 18. genehmigte Vorhaben, im Rahmen des o. g. EU-Verbundprojektes *CRYSTAL* durchgeführt. Ziel der genehmigten Arbeiten ist zunächst die Etablierung von Parametern, die eine zuverlässige Bestimmung des Erfolges der Langzeit-Kultivierung sowie des Einfrierens/Auftauens von hES-Zellen ermöglichen. So soll beispielsweise untersucht werden, welche Eigenschaften der hES-Zellen durch das Einfrieren und das Auftauen Veränderungen unterliegen und demnach bei der im Projekt vorgesehenen Entwicklung neuer optimierter Kryokonservierungsprotokolle besonders berücksichtigt werden müssen. Ferner sollen Verfahren für die serumfreie und *feeder*-Zell-freie Kultivierung sowie für die Einzelzell-Klonierung von hES-Zellen erarbeitet bzw. optimiert und die Fragestellung untersucht werden, in welchem Differenzierungs- bzw. Zellzyklus-Stadium die Kryokonservierung von hES-Zellen bzw. daraus abgeleiteten Zellen besonders schonend durchgeführt werden kann. Ziel des Projektes ist es, zu optimierten und standardisierten Protokollen für die Kultivierung und Kryokonservierung von hES-Zellen zu gelangen, die eine bessere Vergleichbarkeit von Forschungsergebnissen an hES-Zellen zulassen. Solche Protokolle könnten überdies auch von Relevanz für die Kultivierung/Konservierung von hES-Zellen im Rahmen denkbarer Anwendungen, sowohl *in vitro* als auch langfristig zu Transplantationszwecken, sein.

Die **21.** Genehmigung, die am 12. 04. 2007 an die Universität Rostock erging, betrifft ein Projekt zur Entwicklung eines Hochdurchsatzverfahrens, mit dem eine große Zahl niedermolekularer Substanzen (*small molecules*) hinsichtlich ihres Vermögens untersucht werden soll, die Differenzierung von hES-Zellen zu dopaminergen Neuronen zu induzieren bzw. zu beeinflussen. Durch die Untersuchung der Signalübertragungswege, die von in diesem System

wirksamen *small molecules* moduliert werden, erhofft man sich Aufschlüsse über die zellbiologischen Vorgänge während der dopaminergen Differenzierung sowie gegebenenfalls Hinweise auf die molekularen Grundlagen pathologischer Prozesse im dopaminergen Nervensystem. Ferner kann das Projekt auch zur Etablierung verbesserter Protokolle für die dopaminerge Differenzierung von hES-Zellen führen, um funktionstüchtige Zellpopulationen für den Einsatz beispielsweise in der pharmakologisch-toxikologischen Forschung zu gewinnen. Weiterhin besteht die Möglichkeit, dass kleine, zellpermeable Moleküle – wie sie im genehmigten Projekt identifiziert und bezüglich ihrer Wirkmechanismen untersucht werden sollen – auf lange Sicht auch direkt für die Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen eingesetzt werden könnten, beispielsweise aufgrund des Vermögens, endogene Stammzellpopulationen zu mobilisieren oder zur Differenzierung anzuregen.

Die **22.** Genehmigung erging am 01. 08. 2007 an die Max-Planck-Gesellschaft, Institut für Molekulare Biomedizin, Münster. Gegenstand des genehmigten Vorhabens ist die Untersuchung der molekularen Vorgänge, die der Reprogrammierung von somatischen Zellen infolge der Fusion mit embryonalen Stammzellen zugrunde liegen. Im Verlaufe des Vorhabens sollen die Bedingungen für die Reprogrammierung infolge von Zellfusion optimiert und gegebenenfalls für die Reprogrammierung menschlicher Zellkerne relevante Faktoren (Reprogrammierungsfaktoren) identifiziert und charakterisiert werden. Künftig könnten durch die Herstellung von Fusionszellen aus somatischen Zellen eines Patienten mit bekanntem Krankheitsverlauf und hES-Zellen gegebenenfalls auch pluripotente Zellen zur Verfügung gestellt werden, die zur Untersuchung der Pathogenese-Mechanismen der betreffenden Krankheit oder für die Entwicklung neuer Wirkstoffe gegen diese Krankheit genutzt werden könnten. Zum Zeitpunkt der Genehmigung lagen bereits Erkenntnisse über die Reprogrammierbarkeit muriner Zellen, nicht jedoch humaner Zellen, durch viralen Transfer und Expression von Genen vor, deren Produkte mit Pluripotenz assoziiert sind. Bis zum heutigen Zeitpunkt sind die molekularen Vorgänge, die einer Reprogrammierung somatischer Zellen zu Grunde liegen, jedoch nur wenig verstanden, und aus Untersuchungen der Fusion zwischen somatischen und ES-Zellen hofft man auf ein tieferes Verständnis über die an der Reprogrammierung beteiligten Faktoren.

Inhaber der **23.** Genehmigung, die am 28. 08. 2007 erteilt wurde, ist das Universitätsklinikum Bonn, Institut für Rekonstruktive Neurobiologie. Im genehmigten Projekt sollen hES-Zellen zu Zellen der Mikroglia differenziert werden, die derzeit weder in ausreichenden Mengen aus primärem Gewebe noch *in vitro* aus Vorläuferzellen hergestellt werden können. Die gewonnenen Mikroglia-Zellen sollen charakterisiert und bezüglich ihres Vermögens zur Integration in Schnittkulturen aus Maushirnen untersucht werden. Ferner soll ein in Mikrogliazellen auf-

tretendes, humanspezifisches Molekül (Siglec-11) hinsichtlich seiner potentiellen Funktion bei der Modulation entzündlicher Vorgänge im ZNS untersucht werden. Der Genehmigungsinhaber verspricht sich zum einen Erkenntnisse über die Bedingungen mikroglialer Differenzierung im Menschen. Zum anderen besteht die Erwartung, dass Erkenntnisse zur grundlegenden Biologie von Siglec-11 und seinem vermutlich entzündungshemmenden Potential auch Einblicke in molekulare Ursachen von entzündlichen neurodegenerativen Erkrankungen des Nervensystems geben könnten, die vielfach eng mit Entzündungsmediatoren der Mikroglia assoziiert sind.

Für folgende bereits genehmigte Forschungsvorhaben wurde die Genehmigung auf Antrag inhaltlich erweitert und der Registereintrag entsprechend modifiziert:

**Erweiterung der 2. Genehmigung nach dem StZG** (erteilt am 27. 01. 2003, Erweiterung der Genehmigung am 10. 09. 2007). Das Vorhaben beschäftigt sich mit der Differenzierung humaner ES-Zellen zu kardialen Zellen und deren umfassender Charakterisierung. Im Rahmen der Erweiterung der Genehmigung sollen diese kardial differenzierten Zellen nun genutzt werden, um zu überprüfen, ob sich aus hES-Zellen abgeleitete kardiale Zellen und Zellen, die aus ES-Zellen des Affen bzw. der Maus gewonnen wurden, unter dem Einfluss von Substanzen mit bekannter Kardio-Toxizität identisch verhalten.

**Erweiterung der 9. Genehmigung nach dem StZG** (erteilt am 14. 02. 2005, Erweiterung der Genehmigung am 06. 12. 2007). Vorrangiges Ziel des Forschungsvorhabens ist es, mit Pluripotenz assoziierte Gene und deren Produkte in hES-Zellen zu identifizieren, zu charakterisieren und ihre Rolle in grundlegenden Transkriptionsnetzwerken, die für die Aufrechterhaltung von Pluripotenz von hES-Zellen verantwortlich sind, zu bestimmen. Die im Rahmen der Erweiterung des Projektes genehmigten Arbeiten zielen auf die ergänzende Untersuchung epigenetischen Grundlagen von Pluripotenz, insbesondere auf der Ebene von DNA-Methylierung. Im Mittelpunkt stehen dabei Veränderungen im Methylierungsmuster der zellulären DNA während der frühen Differenzierung von hES-Zellen. Außerdem soll auf Grundlage von bislang im Projekt gemachten Beobachtungen geklärt werden, welche Unterschiede im Expressionsmuster und im Epigenom von hES-Zellen infolge ihrer Kultivierung in chemisch definierten im Vergleich zu herkömmlichen Medien auftreten.

Im Rahmen der Genehmigungserweiterung war hier zu prüfen, ob die seit November 2007 vorliegenden Daten über die Reprogrammierbarkeit menschlicher Zellen der Verwendung von hES-Zellen entgegensteht. Bei den im Zuge der Reprogrammierung entstehenden induzierten pluripotenten Zellen (iPS-Zellen) handelt es sich um Zellen, deren Eigenschaften

noch weitgehend ungeklärt sind. Es ist derzeit nicht belegt, ob und inwieweit eine Identität mit hES-Zellen vorliegt und inwiefern sich die Transkriptome und Epigenome von hES- und iPS-Zellen gleichen. Der Antragsteller konnte folglich nicht darauf verwiesen werden, die geplanten Untersuchungen zu epigenetischen Veränderungen, die in hES-Zellen infolge der Nutzung bestimmter Kultivierungsmethoden bzw. infolge der Induktion von Differenzierung auftreten, an iPS-Zellen durchzuführen. Das Projekt soll in seiner Gesamtheit ferner dazu beitragen, neue Erkenntnisse über molekulare Vorgänge von Zell-Differenzierung während der frühen menschlichen Entwicklung zu gewinnen. hES-Zellen sind für solche Vorgänge ein anerkanntes Modellsystem, während gegenwärtig nicht geklärt ist, ob und in welchem Maße Prozesse der frühen menschlichen Differenzierung auch unter Nutzung von iPS-Zellen nachvollzogen werden können. Ferner ist nicht geklärt, inwieweit Differenzierungsprozesse in hES- und iPS-Zellen identisch ablaufen. Dies ist erst Gegenstand künftiger Untersuchungen. Der Einsatz von hES-Zellen war zur Erreichung der Projektziele nach anerkanntem Stand von Wissenschaft und Technik folglich erforderlich.

Weitere Angaben zu den erteilten Genehmigungen sind im Register nach § 11 StZG auf den Internetseiten des RKI veröffentlicht

([http://www.rki.de/DE/Content/Gesund/Stammzellen/Register/register\\_node.html](http://www.rki.de/DE/Content/Gesund/Stammzellen/Register/register_node.html) oder über den Pfad [www.rki.de](http://www.rki.de) > Gesundheit A-Z > Stammzellen > Genehmigungsverfahren nach dem Stammzellgesetz > Register genehmigter Anträge nach § 11 Stammzellgesetz).

Sämtliche genehmigten Anträge betreffen die Einfuhr von Stammzell-Linien, die im Register der National Institutes of Health (NIH) des U.S. Department of Health and Human Services registriert sind.

### **1.3 Erfüllung der Voraussetzungen nach § 5 StZG**

Die Mehrzahl der genehmigten Anträge betrifft Forschungsvorhaben, die hochrangige Forschungsziele für den wissenschaftlichen Erkenntnisgewinn in der Grundlagenforschung verfolgen. In einem Teil dieser Forschungsvorhaben werden auch mittel- bis langfristige Zielsetzungen zur Erweiterung medizinischer Kenntnisse bei der Entwicklung diagnostischer, präventiver oder therapeutischer Verfahren zur Anwendung bei Menschen formuliert. Zwei Forschungsvorhaben wurden überwiegend aufgrund hochrangiger Forschungsziele im letztgenannten Bereich genehmigt.

Für den Bereich der Grundlagenforschung lassen sich die Forschungsziele der im Berichtszeitraum genehmigten Vorhaben im wesentlichen in drei Gruppen wissenschaftlicher Fragestellungen unterteilen, wobei Überschneidungen auftreten können: Erstens sollen die Bedin-

gungen für die Kultivierung, die Kryokonservierung sowie für die genetische Modifizierbarkeit von hES-Zellen näher untersucht und optimiert werden. Dies ist vor allem zunächst für die Forschung an hES-Zellen selbst von Bedeutung, da die auf Grundlage dieser Forschungen entwickelten verbesserten Protokolle zu stärker vereinheitlichten Verfahren beim Umgang mit den Zellen und somit zu einer stärkeren Vergleichbarkeit und Reproduzierbarkeit von Forschungsergebnissen führen können. Zweitens steht in der deutschen Forschung an hES-Zellen nach wie vor die Differenzierung von hES-Zellen zu spezifischen Zelltypen, die sich nicht oder nur in ungenügendem Ausmaß aus anderen Zellen herstellen lassen, im Fokus des Interesses. Dabei geht es vor allem um die Optimierung von Verfahren für eine effiziente Differenzierung mit dem Ziel, Erkenntnisse über die Faktoren und Signalwege zu gewinnen, die für die Auslösung und das Voranschreiten bestimmter Differenzierungsprozesse in hES-Zellen relevant sind. Dies kann gegebenenfalls Rückschlüsse auf entsprechende Prozesse während der Embryonalentwicklung des Menschen, aber auch Aussagen über Mechanismen bei der postnatalen Regeneration dieser Zelltypen oder bei der Entstehung krankhafter Veränderungen der untersuchten Zelltypen, ermöglichen. Drittens schließlich werden im Rahmen der im Berichtszeitraum genehmigten Projekte Untersuchungen zu den Grundlagen der Pluripotenz embryonaler Stammzellen durchgeführt, was ihr Vermögen entschließt, gegebenenfalls stärker differenzierte Zellen in einen pluripotenten Zustand zurückzusetzen.

Ein Teil der Projekte zielt bereits auf die Schaffung von Grundlagen für die Entwicklung neuer therapeutischer und präventiver Verfahren – entweder zusätzlich zur Beantwortung von Fragestellungen der Grundlagenforschung oder primär auf diese nach § 5 StZG mögliche Zielstellung. Einerseits könnten sich beispielsweise aus den Untersuchungen zur Differenzierung von hES-Zellen zu Endothelzellen in den geplanten Konfrontationsmodellen zwischen *embryoid bodies* und Tumorsphäroiden neben Erkenntnissen über molekulare Vorgänge während der Tumor-induzierten Blutgefäßbildung auch Testsysteme für die Überprüfung von anti-angiogenen Eigenschaften von Wirkstoffen ergeben. Ferner könnte die Entwicklung eines Testsystems zur Untersuchung des Einflusses niedermolekularer Substanzen auf die dopaminerge Differenzierung mittelfristig zur Etablierung von Hochdurchsatz-Verfahren führen, die dann für die Identifizierung neuronal wirksamer Substanzen eingesetzt werden könnten. Andererseits geht es in den beiden oben beschriebenen Projekten, die sich mit Differenzierung von hES-Zellen zu Knochenzellen bzw. zu Zellen mit Eigenschaften pankreatischer  $\beta$ -Zellen befassen, in erster Linie um die Erzeugung möglichst reiner Populationen differenzierter Zellen für künftig denkbare Zellersatztherapien. Von Interesse sind hier weniger die molekularen Grundlagen von Differenzierung und Entwicklung als vielmehr die Optimierung von Technologien für eine effiziente Differenzierung von hES-Zellen in den jeweiligen Zelltyp.

In allen im Berichtszeitraum entschiedenen Antragsverfahren haben die Antragsteller dargelegt, dass die von ihnen geplanten Vorhaben an tierischen Zellen oder in Tiermodellen vor-geklärt worden waren, wofür sowohl Ergebnisse eigener Arbeiten als auch Resultate von Voruntersuchungen anderer Gruppen angeführt wurden. Die jeweiligen Darlegungen haben nach Auffassung der Genehmigungsbehörde den gesetzliche Voraussetzung des § 5 Nr. 2 a) StZG entsprochen und konnten den Übergang zur Nutzung humaner embryonaler Stammzellen rechtfertigen. In mehreren Fällen waren für das Vorhaben relevante Untersuchungen auch schon an humanen ES-Zellen außerhalb Deutschlands durchgeführt worden. Angesichts der raschen Entwicklung auf dem Feld der hES-Zell-Forschung werden international zunehmend Fragestellungen direkt an humanen ES-Zellen untersucht, ohne dass dabei in jedem Fall zuvor auf tierische Zellen zurückgegriffen wird. Sinn der Vorklärung ist es, durch Untersuchung der wissenschaftlichen Fragestellung an tierischen Materialien vor Genehmigung sicherzustellen, dass das Vorhaben den Einsatz von hES-Zellen rechtfertigt. Dies dient dazu, eventuelle erhebliche Schwächen des jeweiligen Versuchsansatzes bereits infolge der Untersuchungen an tierischen Materialien zu erkennen und somit einen unnötigen Einsatz von hES-Zellen zu vermeiden. Sofern ein Vorhabensansatz jedoch nicht nur plausibel ist, sondern bereits auch durch entsprechende internationale Forschung an hES-Zellen als wissenschaftlich tragfähig angesehen werden kann, kann sich eine zusätzliche Voruntersuchung der Fragestellung an tierischen Zellen oder im Tierversuch gegebenenfalls erübrigen.

Die gesetzliche Voraussetzung nach § 5 Nr. 2 b) StZG, dass der mit dem Forschungsvorhaben angestrebte wissenschaftliche Erkenntnisgewinn sich voraussichtlich nur mit humanen embryonalen Stammzellen erreichen lässt, wurde von der Genehmigungsbehörde bei den genehmigten Anträgen jeweils auf der Basis der wissenschaftlich begründeten Darlegung des Antragstellers und im Hinblick auf die konkrete wissenschaftliche Fragestellung anhand des aktuellen Forschungsstandes geprüft. Dabei wurden Eignung und Verfügbarkeit möglicher Alternativen zu humanen embryonalen Stammzellen einzelfallbezogen bewertet. Im November 2007 wurden erstmals über die erfolgreiche Reprogrammierung menschlicher Zellen zu induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS-Zellen) berichtet. Dabei wurde durch Transfer und Expression bestimmter Gene in diesen Zellen ein pluripotenz-ähnlicher Zustand erreicht. Die derzeit vorliegenden Ergebnisse dieser Forschung fanden im Rahmen der Prüfung der Erforderlichkeit der Verwendung von hES-Zellen Eingang in die Bewertung des jeweiligen Vorhabens. Da es bislang nicht geklärt ist, in welchem Ausmaß iPS-Zellen Eigenschaften von hES-Zellen haben, gab es keinen Anlass, Antragsteller auf die Durchführung der beantragten Forschungsarbeiten mit diesen Zellen anstelle von hES-Zellen zu verweisen.

Im Rahmen der Prüfung der Genehmigungsvoraussetzungen nach § 6 Abs. 4 Nr. 2 StZG hat die Genehmigungsbehörde bei allen genehmigten Anträgen in Übereinstimmung mit den jeweiligen Stellungnahmen der ZES die ethische Vertretbarkeit der betreffenden Forschungsvorhaben im Sinne der Erfüllung der gesetzlichen Voraussetzungen nach § 5 StZG bejaht.

#### **1.4 Prüfung und Bewertung durch die Zentrale Ethik-Kommission für Stammzellenforschung**

Die unabhängige, interdisziplinär zusammengesetzte Zentrale Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES) nach § 8 StZG, die von der Bundesregierung zum 1. Juli 2002 erstmalig und zum 01. Juli 2005 erneut berufen wurde, hat die gesetzliche Aufgabe, Anträge auf Einfuhr und Verwendung humaner embryonaler Stammzellen zu Forschungszwecken anhand der eingereichten Unterlagen daraufhin zu prüfen und zu bewerten, ob die betreffenden Forschungsvorhaben die gesetzlichen Voraussetzungen nach § 5 StZG erfüllen und in diesem Sinne ethisch vertretbar sind. Sie hat hierzu gegenüber der Genehmigungsbehörde eine schriftliche Stellungnahme abzugeben. Die Stellungnahme der ZES ist nach § 6 Abs. 4 Nr. 3 StZG eine Voraussetzung für die Genehmigung eines Antrags auf Einfuhr und Verwendung humaner embryonaler Stammzellen zu Forschungszwecken.

Die ZES hat in ihren begründeten Stellungnahmen zu den Forschungsvorhaben, die Gegenstand der acht genehmigten Anträge sowie der beiden Erweiterungen genehmigter Anträge sind, die gesetzlichen Voraussetzungen nach § 5 StZG als erfüllt und die Forschungsvorhaben in diesem Sinne als ethisch vertretbar bewertet. Sie hat die Wahrnehmung ihrer Aufgaben in ihren Tätigkeitsberichten nach § 14 der ZES-Verordnung (ZESV) vom 18. Juli 2002 (BGBl. I S. 2663) für den Zeitraum vom 1. Dezember 2005 bis 30. November 2006 (4. Tätigkeitsbericht der ZES) und für den Zeitraum vom 1. Dezember 2006 bis 30. November 2007 (5. Tätigkeitsbericht der ZES) dargestellt. Die Tätigkeitsberichte sind unter anderem auf den Internetseiten des Bundesministeriums für Gesundheit veröffentlicht (<http://www.bmg.bund.de//DE/Themenschwerpunkte/Gesundheit/Biomedizin-Stammzellenforschung/biomedizin-stammzellenforschung-node.param=.html>) oder über den Pfad [www.bmg.bund.de](http://www.bmg.bund.de) > Themenschwerpunkte > Gesundheit > Biomedizin/ Stammzellenforschung).

## **2. Stand der Forschung mit Stammzellen**

### **2.1 Einleitung**

Der erste Erfahrungsbericht der Bundesregierung zur Durchführung des Stammzellgesetzes stellte die Rahmenbedingungen, Ergebnisse und Ausblicke der Grundlagenforschung und mögliche zukünftige Einsatzgebiete von embryonalen und adulten Stammzellen in der modernen Medizin bis einschließlich 2003 dar (Drucksache 15/3639 der 15. Wahlperiode vom 03. August 2004).

Der zweite Erfahrungsbericht beschreibt wichtige seit dem ersten Bericht erzielte Fortschritte, Beispiele noch offener Fragen im Bereich der Forschung bis einschließlich 2005 sowie Perspektiven eines möglichen therapeutischen Einsatzes von embryonalen und adulten Stammzellen (Drucksache 16/4050 der 16. Wahlperiode vom 11. Januar 2007).

Anknüpfend an diese beiden Berichte werden mit dem vorliegenden dritten Erfahrungsbericht weitere wissenschaftliche Erkenntnisse bis einschließlich 2007 zusammengefasst. Forschung mit embryonalen Stammzellen (ES-Zellen) ist weltweit breit etabliert, ES-Zellen werden als wichtige Forschungsressource genutzt. Dabei stehen neben Arbeiten mit Maus-ES Zellen die Charakterisierung, Standardisierung und der experimentelle Einsatz von humanen embryonalen Stammzellen (hES-Zellen) im Vordergrund. Zudem zeigt sich, dass auch auf dem Gebiet der alternativen Verfahren und Techniken zur Generierung pluripotenter Zellen Erfolge zu verzeichnen sind. Diese könnten die Basis für weitere Entwicklungen sein. In Deutschland wurden bis zum 31.12.2007 insgesamt 23 Genehmigungen zum Import von humanen ES-Zellen erteilt. Da dies nur ein geringer Anteil der weltweiten Forschungsaktivitäten in diesem Bereich ist, schließt die Darstellung des Forschungsstandes auch internationale Arbeiten ein. Die fachlichen Grundlagen werden nicht erneut dargestellt, hierzu wird vielmehr auf die beiden vorangegangenen Berichte verwiesen.

### **2.2 Bestand und Kultur der menschlichen embryonalen Stammzelllinien**

Seit 1998 werden in verschiedenen Ländern menschliche embryonale Stammzellen in Kultur genommen und als stabile Zelllinien etabliert.

#### **2.2.1 Stammzellregister und Stammzellbanken**

Anfang 2008 waren ca. 500 humane Embryonale Stammzelllinien (hES-Zelllinien) bekannt, davon war etwa die Hälfte wissenschaftlich publiziert. Diese Zelllinien sind für die breite wissenschaftliche Gemeinschaft dann von besonderem Nutzen, wenn die Herstellung der Zelli-

nien gut dokumentiert, die Eigenschaften charakterisiert, ihre Vermehrungsfähigkeit überprüft und diese Zelllinien auch für Wissenschaftler verfügbar und verwendbar sind, die nicht selbst Zelllinien herstellen. Kontinuierlich kommen neue Zelllinien hinzu, und die aktuellen Informationen werden in verschiedenen Stammzellregistern gesammelt und der Öffentlichkeit zur Verfügung gestellt.

Als Beispiel ist das *International Stem Cell Forum* (ISCF) zu nennen, ein internationales Konsortium, an dem verschiedene Forschungs-Förderinstitutionen beteiligt sind; aus Deutschland ist dies die Deutsche Forschungsgemeinschaft. In der vom ISCF lancierten *International Stem Cell Characterisation Initiative* (ISCI) haben sich 18 Labors zusammengeschlossen und eine Reihe bekannter hES-Zelllinien mit molekularbiologischen Standardmethoden charakterisiert und in einem Register aufgeführt (ISCF Register). In einer im Juni 2007 publizierten Studie wurden im Laufe einer einjährigen Testphase beispielsweise Informationen zur genetischen Stabilität von etablierten und neuen hES-Zelllinien erhoben und ausgewertet (Andrews P. W. et al. 2007).

Weitere viel genutzte Stammzellregister (Adressen der Internetseiten im Kapitel Ausgewählte Literatur) sind:

- NIH-Register
- European Human Embryonic Stem Cell Registry
- Australian Stem Cell Centre (ASCC).

Internationale und nationale Stammzellbanken sammeln, charakterisieren und vermehren Zelllinien, um sie auf Anfrage zu versenden. Führend sind hier u.a.:

- UK Stem Cell Bank
- National Stem Cell Bank (NSCB, Zelllinien des NIH-Registers)
- Singapore Stem Cell Bank (SSCB) Singapore Stem Cell Consortium.

Bei der Gewinnung von hES-Zellen werden in verschiedenen Laboren unterschiedliche Verfahren eingesetzt, die sich in den letzten Jahren kontinuierlich weiterentwickelt haben. Hier stehen zwei Aspekte im Vordergrund: Vermeidung potentieller Kontaminationen durch tierische Bestandteile und Standardisierung der Gewinnungs- und Charakterisierungsmethoden.

### **2.2.2 Vermeidung tierischer Bestandteile**

Tierische Seren oder Nährzellen („Feeder cells“) werden zunehmend durch humane Nährzellen oder synthetische Medien ersetzt. Dies ist von entscheidender Bedeutung für Sicherheitsaspekte bei der Entwicklung möglicher therapeutischer Anwendungen, da Stammzellen,

die mit tierischen Bestandteilen („Xenogenen“) in Kontakt gekommen sind, aufgrund möglicher Kontamination mit tierischen Krankheitserregern (z.B. Viren) für den Einsatz am Menschen nur eingeschränkt geeignet erscheinen.

In 2007 existierten nach publizierten Angaben eine Reihe von Zelllinien, die offenbar unter Vermeidung des Einsatzes tierischer Zellen und Seren abgeleitet und kultiviert wurden. Allerdings erfordert die Etablierung absolut „xenogen-freier“ Zelllinien die Vermeidung jeglicher tierischer Substanzen, nicht nur bei der Kultivierung, sondern auch bereits bei der Isolierung der pluripotenten Zellen aus der Blastozyste. Bisher sind nur wenige solcher Zelllinien dokumentiert, die vollständig ohne Verwendung tierischer Zellen bzw. Seren und sonstiger tierischer Bestandteile isoliert, abgeleitet und kultiviert wurden.

Die meisten dieser Zelllinien werden in öffentlichen europäischen Registern bzw. Stammzellbanken geführt. Über ihre tatsächliche Verfügbarkeit sowie über die konkreten Bedingungen, zu denen die genannten hES-Zelllinien für die Forschung überlassen werden, können derzeit jedoch keine Aussagen gemacht werden. Einige Linien werden im Rahmen der Aufnahme in die entsprechenden Stammzellbanken derzeit geprüft, so dass mit einer künftigen Verfügbarkeit zu rechnen ist.

### **2.2.3 Standardisierung**

Neben der Vermeidung von Kontamination durch tierische Bestandteile ist die Standardisierung von Verfahren eine entscheidende Voraussetzung für die Verwendung von Stammzellen. Standardisierte und damit reproduzierbare Gewinnung von ES-Zellen ist grundsätzlich wichtig für die Vergleichbarkeit und Übertragbarkeit der Ergebnisse aus verschiedenen Laboratorien. Daher werden aktuell internationale Standards für die Gewinnung, Kultivierung und vor allem Charakterisierung von hES-Zellen mit dem Ziel einer Vereinheitlichung erarbeitet. Die Qualität der Stammzellen, die unter anderem von den Herstellungs- und Kulturbedingungen abhängt, wird dabei anhand von Merkmalen wie Teilungsfähigkeit, Wachstumsgeschwindigkeit, Differenzierungsfähigkeit, Genexpressionsmuster, Methylierungsmuster und Abwesenheit von genetischen Veränderungen bewertet. Zusätzlich zur Verbesserung der Qualität von hES-Zelllinien für Forschungszwecke ist die Einhaltung verbindlicher Qualitätsstandards (good manufacturing practice, GMP, und Good Laboratory Practice, GLP) bei der Gewinnung von hES-Zellen auch wichtig als Voraussetzung für die arzneimittelrechtliche Zulassung bei Medikamenten- und Therapie-Entwicklungen. Bis Ende 2007 wurden wenigstens sechs publizierte hES-Zelllinien nach GMP-Standards hergestellt (ESI-014, ESI-017, ESI-035, ESI-049, ESI-051 und ESI-053).

Mit den beschriebenen Entwicklungen werden embryonale Stammzellen im internationalen Raum zunehmend zu einem Standardwerkzeug der Grundlagenforschung und der präklinischen Forschung.

## **2.3 Ausgewählte Forschungsergebnisse**

### ***2.3.1 Veränderungen von embryonalen Stammzelllinien in Langzeitkultur***

Forschungsergebnisse aus den letzten Jahren zeigen die möglichen Schwächen und Gefahren von „älteren“ embryonalen Stammzelllinien auf, die bereits lange kultiviert oder gelagert wurden. Eine Analyse von 15 der derzeit verfügbaren 21 NIH-konformen Zelllinien erbrachte, dass solche älteren hES-Zellen in manchen Eigenschaften differenzierten Zellen gleichen und ein unterschiedliches Differenzierungspotential für das Ableiten von somatischen Zelltypen zeigen (Ware et al. 2006). Außerdem wurde in einem Vergleich von hES-Zellen aus frühen und späten Passagen gezeigt, dass bei den älteren Zellen genetische und epigenetische Veränderungen auftreten, die sich auch bei Krebszellen finden. Eine weitere Studie konnte nachweisen, dass die Langzeitkultur von hES-Zellen eine maligne Transformation (Veränderung) dieser Zellen in embryonale carcinoma-ähnliche Zellen bewirkt (Maitra et al. 2005). Diese Befunde zeigen, dass es noch einen erheblichen Bedarf an Forschung zur Kultivierung und Vermehrung humaner embryonaler Stammzellen gibt, um unerwünschte Nebeneffekte zu vermeiden oder zu minimieren, und dass vor dem Einsatz von Stammzellen in klinischen Studien bereits im Vorfeld intensive Tests deren Sicherheit gewährleisten müssen.

### ***2.3.2 Pluripotenz und Verschiedenheit humaner embryonaler Stammzelllinien***

Ein wichtiger Nachweis der Pluripotenz bei tierischen ES-Zellen ist die Fähigkeit, Keimzellen zu bilden, nachdem ES-Zellen in Empfängerblastozysten aus der gleichen Art injiziert wurden (Bildung so genannter „Intraspezies-Chimären“). Entsprechende Versuche sind jedoch mit humanen embryonalen Stammzellen aus prinzipiellen ethischen Erwägungen nicht möglich. Somit ist nicht definitiv zu klären, ob alle so genannten humanen embryonalen Stammzellen „gleich“ pluripotent sind. Der Nachweis der Pluripotenz mit humanen ES-Zellen ist daher auf weniger aussagekräftige Tests beschränkt; hier zeigte sich eine erhebliche Heterogenität bei den unterschiedlichen Zelllinien. So gibt es Stammzelllinien, die eine gewisse Vorprägung für Derivate eines Keimblattes haben und Derivate eines anderen Keimblattes kaum oder gar nicht mehr bilden können.

Im Berichtszeitraum wurden wichtige Erkenntnisse darüber gewonnen, welches die molekularen Mechanismen der Pluripotenz sind und wie diese durch Umgebungsfaktoren beeinflusst werden. Um embryonale Stammzellen in Kultur zu bringen und als Zelllinie zu vermeh-

ren, müssen die nötigen Signal- und Botenstoffe der so genannten Inneren Zellmasse (inner cell mass, ICM) der Blastozyste möglichst perfekt imitiert werden. Arbeiten an Stammzellen verschiedener Tierarten zeigten, dass interessanterweise die Regulation der Pluripotenz-Gene zwischen embryonalen Stammzellen unterschiedlicher Spezies durchaus vergleichbar zu sein scheint; allerdings sind die dafür notwendigen Kulturbedingungen von Spezies zu Spezies völlig unterschiedlich. So ist es z.B. bisher nicht gelungen, für Zellen von Ratten<sup>1</sup> und Schweinen Kulturbedingungen zu etablieren, die eine volle Pluripotenz der Zellen unterstützen.

### ***2.3.3 Verfahren zur gezielten gentechnischen Modifikation humaner embryonaler Stammzellen***

Aufbauend auf den grundlegenden Erkenntnissen, die aus Arbeiten mit tierischen ES-Zellen gewonnen wurden, konnten verschiedene Verfahren zur gezielten genetischen Modifikation von ES-Zellen erfolgreich auf humane ES-Stammzellen übertragen werden.

Für grundlegende entwicklungsbiologische Fragestellungen, die an humanen embryonalen Stammzellen untersucht werden sollen, ist es von großer Bedeutung, dass Reporter- oder Selektionskonstrukte<sup>2</sup> stabil eingebracht werden können. Durch gezieltes An- und Ausschalten bestimmter zu testender Gene („gain of function“, „loss of function“) können das Zusammenspiel dieser Gene und deren Regulationsmechanismen analysiert werden. Für diese Untersuchungen wurden mittlerweile international wie auch in Deutschland wichtige Weiterentwicklungen geleistet. So wurden Verfahren zur Transformation mit retroviralen Vektoren sowie zur gezielten Integration von Reportergenen an spezifischen Stellen im Genom der hES-Zellen entwickelt (Nolden et al. 2006; Koch et al. 2006). Weiterhin wurden andere Verfahren optimiert, Gene in die Zellkerne zu importieren (Siemen et al. 2005).

### ***2.3.4 Verfahren zur Differenzierung von hES-Zellen zu bestimmten Keimblättern für spezifische Anwendungen***

#### *Differenzierung von hES in endodermale Zellen*

Besonderes Interesse besteht in der Herstellung von Insulin-produzierenden Zellen aus humanen embryonalen Stammzellen als Möglichkeit für eine zukünftige Behandlung von Diabetikern. Verschiedene Arbeitsgruppen haben im Berichtszeitraum die bekannten Differenzierungsprotokolle weiterentwickelt, um funktionell aktive Zellen generieren zu können. Im We-

---

<sup>1</sup> Ratten ES-Zellen wurden zwischenzeitlich (Dezember 2008) publiziert.

<sup>2</sup> Ein Reporterkonstrukt wird über eine Genfähe („Vektor“) in die Erbinformation von Zellen eingebracht und erlaubt einen einfachen biochemischen oder optischen Nachweis bestimmter Zelleigenschaften. Ein Selektionskonstrukt, ebenfalls über eine Genfähe („Vektor“) in die Erbinformation der Zelle eingebracht, erlaubt unter bestimmten Bedingungen nur Zellen mit bestimmten Eigenschaften das Überleben. Ein Beispiel hierfür ist die Resistenz gegen ein Antibiotikum.

sentlichen zielen die neueren Protokolle darauf ab, die anfängliche Differenzierung von embryonalen Stammzellen in Vorläuferzellen des Endoderms zu optimieren. Aus diesen werden dann durch Änderungen der Zellkulturbedingungen Insulin-produzierende Zellen abgeleitet, die sowohl *in vitro* (also in Zellkultur-Tests) als auch *in vivo* (nach Transplantation in Tiermodelle) funktionell aktiv sind. So konnte gezeigt werden, dass eine Diabetes-Maus mit aus humanen embryonalen Stammzellen abgeleiteten Zellen genauso effizient behandelt werden konnte, wie durch die Transplantation von „Inseln“ der Bauchspeicheldrüse aus einem geeigneten Spenderorgan (D'Amour et al. 2006; Kroon et al. 2007).

Bei der Differenzierung von ES-Zellen in Leberzellen haben sich Vorarbeiten aus Experimenten mit Mäusezellen nun auch auf humane embryonale Stammzellen übertragen lassen. Derzeit werden zwei unterschiedliche Herangehensweisen verfolgt: Zum einen lässt man eine spontane oder induzierte Aggregation humaner embryonaler Stammzellen in so genannte „Embryoid Bodies“ zu, wobei sich unter unterschiedlichen Bedingungen eine dreidimensionale Struktur mit ausdifferenzierten Zellen bilden kann. Zum anderen werden die undifferenzierten embryonalen Stammzellen auch als Zellrasen (Monolayer) kultiviert und durch die Gabe von spezifischen Wachstumsfaktoren zur Ausbildung des Endoderms angeregt. In weiteren Differenzierungsschritten werden die Zellen dann in Leber-Vorläuferzellen differenziert. Hierdurch kann ein Leber-Phänotyp generiert werden, der z.B. in pharmakotoxikologischen Untersuchungen zur Anwendung kommen kann (Hay et al. 2007; Cai et al. 2007).

#### Differenzierung von hES in mesodermale Zellen

Ein weiterer Schwerpunkt der Arbeiten mit humanen embryonalen Stammzellen ist die Etablierung und Optimierung von Protokollen zur Generierung von Herzmuskelzellen (Kardiomyozyten), welche unter anderem verwendet werden könnten, um z.B. nach einem Herzinfarkt die Funktionalität des Herzmuskels wieder herzustellen. International, aber auch in Deutschland (Sachinidis et al. 2006; Assmus et al. 2007), sind hierzu bemerkenswerte Fortschritte erzielt worden. So konnten aus humanen embryonalen Stammzellen abgeleitete Kardiomyozyten mit Herzmuskelgewebe von Mäusen kultiviert werden, das – analog zu dem Effekt eines Infarkts - durch Sauerstoffmangel geschädigt war. Das Mausgewebe zeigte keine Kontraktionen mehr und war funktionell inaktiv, bevor die aus humanen ES-Zellen abgeleiteten Kardiomyozyten dazugegeben wurden. Die humanen Zellen wanderten in das Gewebe ein und ließen den funktionell inaktiven Herzmuskel wieder kontrahieren. Diese Arbeiten sind ein wichtiger erster Schritt für die Entwicklung einer Zelltherapie des Herzinfarkts mit Kardiomyozyten, die aus hES-Zellen abgeleitet wurden (Pillekamp et al. 2007).

Neben der effizienteren Differenzierung von humanen embryonalen Stammzellen in Kardiomyozyten und deren Aufreinigung stellt auch das langfristige Überleben transplanteder Zellen im Infarktgewebe eine wichtige Herausforderung für mögliche zukünftige Therapien eines Herzinfarkts dar. Auch hier konnten Fortschritte erzielt werden: Im Herzinfarktmodell der Ratte konnte eine beachtliche Zeitverlängerung funktionell aktiver, aus hES-Zellen abgeleiteter Kardiomyozyten erreicht werden (Nussbaum et al. 2007; Laflamme et al. 2007).

Neben Protokollen zur Kardiomyozytendifferenzierung sind auch Verfahren weiter entwickelt worden, mit denen aus hES-Zellen multipotente mesenchymale Vorläuferzellen gebildet und dann weiter in Skelettmuskelzellen differenziert werden können. Eine Transplantation solcher Zellen in Muskelgewebe von Mäusen konnte etwa zeigen, dass die Zellen im Empfänger-muskel funktionell aktiv sind und dass die Aufreinigung der Zellen ausreichend selektiv war, um eine Entstehung von so genannten Teratomen oder anderen Tumoren aus nicht differenzierten Zellen zu verhindern (Barberi et al. 2007).

#### Differenzierung von hES in neuroektodermale Zellen

Auch für die Forschung mit Zelltypen des Nervensystems werden humane embryonale Stammzellen als Zellressource genutzt. Dabei müssen die bestehenden Differenzierungsprotokolle für Neuronen (Nervenzellen) und Begleitzellen kontinuierlich optimiert werden, damit die abgeleiteten Zellen als Ausgangsmaterial für mögliche Therapien in Betracht kommen. Wie bei Zellen anderer Keimblätter werden auch hier Verfahren zur spontanen Differenzierung in „Embryoid Bodies“, aus denen entsprechende Zelltypen angereichert werden, mit Kulturbedingungen zur gerichteten Differenzierung kombiniert. Hierbei können durch Zugabe bestimmter Wachstumsfaktoren zwischenzeitlich spezifische Neurone, z.B. des Rückenmarks, induziert werden. Experimente zur Transplantation solcher aus hES-Zellen abgeleiteten Neuronen in querschnitts-geschädigte Ratten bewirkten eine deutliche Verbesserung der bestehenden Lähmungserscheinungen. Weiterhin wurden für die Behandlung der Parkinson'schen Krankheit mit Dopamin-bildenden (dopaminergen) Neuronen z.B. Protokolle weiterentwickelt, die eine reproduzierbare Quelle für dopaminerge Neuronen bilden (Lee et al. 2007; Ko et al. 2007; Benzing et al. 2006).

## **2.4 Erschließung neuer Quellen menschlicher Stammzellen**

Weltweit wurde in den letzten Jahren intensiv nach Alternativen für die Gewinnung von pluripotenten Stammzellen gesucht. Diese alternativen Verfahren sind darauf gerichtet, pluripotente Stammzellen herzustellen, ohne dafür lebensfähige menschliche Embryonen oder toti-

potente Zellen zu zerstören, die sich unter geeigneten Bedingungen zu einem Individuum entwickeln könnten.

Darüber hinaus ist eines der Ziele der Forschung an Stammzellen zu therapeutischen Zwecken die Herstellung von Patienten-spezifischen pluripotenten Stammzellen. Die Etablierung einer Methode zur Herstellung von solchen Stammzellen würde ein großes Potential für Grundlagenforschung, Medikamentenentwicklung und die Entwicklung von klinischen Therapieverfahren eröffnen. Beim therapeutischen Einsatz solcher Zellen wäre beispielsweise keine Unterdrückung des Immunsystems beim Empfänger (Immunsuppression) notwendig, da die Zellen autolog sind, d.h. von ein und derselben Person stammen und somit vom Immunsystem des Empfängers nicht abgestoßen werden.

Derzeit wird eine Reihe verschiedener Ansätze zur alternativen Erzeugung von pluripotenten Stammzellen erprobt, welche unterschiedliche Zellen als Ausgangsmaterial verwenden, insbesondere:

- Gewinnung humaner embryonaler Stammzellen aus arretierten Embryonen
- Kerntransfer-Verfahren: Hier werden Zellkerne aus Körperzellen in entkernte Eizellen eingebracht
- Reprogrammierung ausdifferenzierter Körperzellen (somatischer Zellen) zu pluripotenten Stammzellen
- Gewinnung von Stammzellen aus Keimzellen oder deren Vorläuferzellen
- Nutzung fötaler Stammzellen

#### **2.4.1 Gewinnung humaner embryonaler Stammzellen aus arretierten Embryonen**

Mehrere Arbeitsgruppen haben über die Gewinnung von Stammzellen aus menschlichen Embryonen berichtet, die sich nach Erreichen eines frühen Entwicklungsstadiums nicht mehr weiter entwickeln, sogenannte spät arretierte Embryonen („late-arrested embryos“, Zhanga Xin et al., 2006), welche bei *In-vitro*-Befruchtungen entstehen, in der Fortpflanzungsmedizin aber nicht weiter verwendet werden. In Deutschland ist durch die Regelungen des Embryonenschutzgesetzes das Anfallen überzähliger Embryonen so gut wie ausgeschlossen, da die nicht für die Behandlung verwendeten befruchteten Eizellen noch im so genannten Vorkern-Stadium eingefroren werden.

Den Grund für die Arretierung der Embryonen sehen die Wissenschaftler in genetischen Veränderungen bei der Zellteilung, etwa der Fehlverteilung von Chromosomen. Dies wirft die Frage auf, inwieweit die aus diesen Embryonen gewonnenen Stammzellen tatsächlich unge-

schränkt verwendungsfähig sind. Außerdem ist die Ausbeute an Zelllinien bei dieser Methode sehr gering.

#### **2.4.2 Kerntransfer-Verfahren**

Eine Möglichkeit, autologe Zellen für einen bestimmten Patienten herzustellen, ist die Erzeugung genetisch identischer Zellen durch den gezielten Transfer eines Zellkerns aus einer Körperzelle in eine "entkernte" Eizelle (somatic cell nuclear transfer, SCNT oder NT). Diese Technik wurde bereits vor einigen Jahren zur Erschaffung des „Klonschafes“ Dolly eingesetzt. Während die SCNT-Technik mit diversen Tierarten bereits in vielen Labors weltweit erfolgreich angewandt wird, sind humane ES-Zellen mit diesem Ansatz bisher noch nicht etabliert worden. Die klinischen Risiken, die sich durch den Zellkerntransfer ergeben, sind bisher nicht abschätzbar. Wegen der vorangegangenen Misserfolge wurde diskutiert, ob die Klonierung von Primatenzellen überhaupt möglich ist. Mittlerweile wird dies nicht mehr grundsätzlich in Frage gestellt, da im Berichtszeitraum entsprechende Versuche mit Affen gelungen sind. Dagegen sind solche Verfahren mit menschlichen Zellen noch nicht erfolgreich durchgeführt worden. Allerdings sind zumindest bis zum Blastozystenstadium humane NT-Embryonen publiziert, auch wenn daraus keine humanen embryonalen Stammzellen abgeleitet wurden (French et al. 2007). In Deutschland sind solche Versuche nach dem Embryonenschutzgesetz nicht zulässig.

#### Depotenzierte embryonale Zellen nach einem Kerntransfer (NT-ES-Zellen)

Eine der ethischen Hürden bei der Herstellung von hES-Zellen mittels Kerntransfer ist die Erzeugung totipotenter Stadien, die sich theoretisch zu einem Menschen entwickeln könnten. Kürzlich gelang es in Versuchen mit Mäusen zu zeigen, dass dieses kritische Stadium der Totipotenz durch genetische Modifikation der Spenderzellen für den Kerntransfer vermieden werden kann (Meissner et al. 2006). Es wurde ein für die Weiterentwicklung des Keims relevantes Gen (Cdx2) unterdrückt und so erreicht, dass die über dieses Verfahren erzeugten Embryonen den kindlichen Anteil der Plazenta (Mutterkuchen) nicht ausbilden können. Wegen der fehlenden Fähigkeit zur Bildung dieser aus dem Trophoblast abstammenden Zellen sind diese Stadien daher nicht als totipotent einzustufen und können sich nicht in die Gebärmutter einnisten. Trotzdem können aus ihnen ES-Zellen gewonnen werden, da die hierfür notwendige Innere Zellmasse (ICM) vorhanden ist. Allerdings wird auch in diesen Zellen, aus denen der Embryo im engeren Sinne gebildet wird, das ausgeschaltete Gen Cdx2 für spätere Entwicklungsprozesse und die Differenzierung benötigt. Daher muss es zu einem späteren Zeitpunkt wieder aktiviert werden. In diesen späteren Stadien ist die Differenzierung be-

reits eingeleitet und Totipotenz nicht mehr gegeben. Inwieweit dieses Verfahren über die prinzipielle Vorklärung hinaus („proof of concept“) auf die breite Gewinnung krankheits- beziehungsweise patientenspezifischer ES-Linien anwendbar ist, und ob die notwendigen genetischen Eingriffe einer therapeutischen Nutzung der resultierenden Stammzellen entgegenstehen, kann gegenwärtig nicht abschließend beurteilt werden.

#### Interspezies-hybride Stammzellen nach Kerntransfer

Ein weiteres Hindernis für Arbeiten zur Erzeugung von menschlichen, pluripotenten Stammzellen durch Kerntransfer ist die Verfügbarkeit von Eizellen. Für die Spenderinnen ist dies aufgrund der Hormonbehandlung und des notwendigen operativen Eingriffs eine schmerzhafte und belastende Prozedur. In Bemühungen, hier Ersatz zu erschließen, stellte 2003 eine chinesische Arbeitsgruppe „cytoplasmatische Hybride“<sup>3</sup> zwischen verschiedenen Arten (Mensch-Tier) auf zellulärer Ebene her. Hierzu ersetzten die Wissenschaftler den Zellkern einer tierischen Eizelle (Kaninchen) durch den einer menschlichen Körperzelle. Die entstandenen Zellen waren etwa eine Woche lebensfähig und bildeten während dieser Zeit auch embryonale Zellen, die isoliert werden konnten. Untersuchungen deuten darauf hin, dass die so gewonnenen hybriden Zellen zum größten Teil menschliche Eigenschaften aufweisen. Dabei muss zwischen zwei Genomen in der Zelle unterschieden werden, dem Kerngenom und der genetischen Information in den Mitochondrien, den Kraftwerken der Zelle. Die Mitochondrien bringen allerdings nicht alle Gene mit, die für ihre volle Funktionsfähigkeit notwendig sind, da sie auch Proteine benötigen, die im Genom des Zellkerns kodiert sind und in die Mitochondrien importiert werden. Werden mit dem Transfer eines menschlichen Zellkerns auch menschliche Mitochondrien in die Tier-Eizelle eingebracht, kann sich eine Mischung aus menschlichen und tierischen Mitochondrien etablieren. Mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit werden sich ausschließlich die menschlichen Mitochondrien durchsetzen, weil in den tierischen Mitochondrien die komplementär im menschlichen Zellkern kodierten Proteine nicht optimal funktionieren (St. John and Lovell-Badge, 2007).

Ende 2006 beantragten zwei britische Arbeitsgruppen die Erlaubnis der zuständigen nationalen Behörde (Human Fertilisation and Embryology Authority, HFEA), ebenfalls zelluläre Mensch-Tier (hier vom Rind) Hybride für Forschungszwecke herzustellen<sup>4</sup>.

---

<sup>3</sup> diese Hybride werden oft fälschlicherweise als „Chimären“ bezeichnet

<sup>4</sup> Diese Erlaubnis wurde 2008 erteilt.

### **2.4.3 Reprogrammierung von Körperzellen**

#### Induzierte pluripotente Stammzellen (iPS) durch Expression von „Stammzell-Genen“

Ein vielversprechender Weg zur Herstellung von pluripotenten Stammzellen ist die Identifikation von sogenannten „reprogrammierenden Faktoren“ (hier gemeint: Genprodukte, im Gegensatz zu den im nächsten Unterpunkt beschriebenen kleinen Molekülen). Durch diese Faktoren können Körperzellen (z.B. Hautzellen) wieder ein embryonalen Stammzellen vergleichbares Potential erhalten. Forscher berichteten bei der Maus (Takahashi et al. 2007; Okita et al. 2007; Wernig et al. 2007; Maherali et al. 2007; Hanna et al. 2007) und in humanen Zellen (Takahashi et al. 2007; Yu et al. 2007; Park et al. 2007) über die Umwandlung (Reprogrammierung) von Hautzellen in sogenannte induzierte pluripotente Stammzellen (iPS). Hierzu wurden vier zentrale Gene der embryonalen Entwicklung in ausdifferenzierten Zellen der Haut spezifisch aktiviert. Aus den so künstlich in den embryonalen Zustand zurückversetzten Zellen konnten die Forscher anschließend gereifte Zellen mit einer anderen definierten Funktion züchten (z.B. Herzmuskel- und Nervenzellen).

Bei den meisten der 2006 und 2007 beschriebenen Experimente wurden vier Gene verwendet, von denen bekannt war, dass sie wichtige Funktionen für die Stammzeleigenschaften und die Selbsterneuerung von Stammzellen haben<sup>5</sup>. Von einem dieser bisher eingesetzten Gene (*c-Myc*) ist bekannt, dass seine Fehlfunktion zu einem erhöhten Krebsrisiko führt. Ein Nachteil dieser Methode ist daher, dass in weiterführenden Versuchen mit iPS-Zellen an Mäusen etwa ein Fünftel der Versuchstiere Tumore entwickelte. Damit diese Methode in Zukunft auch bei Therapien für den Menschen eingesetzt werden kann, wird intensiv daran gearbeitet, diesen Nachteil zu vermeiden.

Zu weiteren sekundären Effekten bei einer möglichen Therapie könnte es kommen, weil bei dieser Technik Viren als Vektoren (Transportvehikel) eingesetzt werden, um die zur Reprogrammierung benötigten Gene in die Zellen einzubringen. Diese Viren verbleiben in der Zelle, integrieren in das Genom und könnten dort unvorhersehbare Auswirkungen auf das Genom und die Eigenschaften der Zellen haben. So gilt es jetzt, die Anzahl der benötigten Gene zu reduzieren und die eingesetzten Transportsysteme weiter zu optimieren.

Im Dezember 2007 gelang es einem Forscherteam, Mäuse mit Sichelzellenanämie durch iPS-Zellen zu heilen. In den aus Hautzellen der kranken Mäuse generierten iPS-Zellen entfernten die Forscher das transgene *c-Myc* Gen, da das entsprechende Genprodukt die Krebsentstehung begünstigt. Im nächsten Schritt wurde dasjenige Gen, dessen Mutation die Sichelzellenanämie verursacht, durch eine intakte Kopie ersetzt. Aus den so modifizierten

---

<sup>5</sup> Inzwischen ist es gelungen, diese Reprogrammierung mit nur zwei dieser vier Faktoren durchzuführen (Kim et al. 2008).

iPS Zellen wurden blutbildende Vorläuferzellen gezüchtet, die sich zu verschiedenen Blut- und Immunzellen weiterentwickeln konnten. Die Vorläuferzellen wurden dann in die erkrankten Mäuse transplantiert, wo sie zu funktionell intakten Blutzellen heranwuchsen. Wie das Team berichtet, verschwanden die Sichelzellanämie-Symptome der Versuchstiere durch die Behandlung nahezu vollständig.

Diese Versuche zeigen, dass iPS Zellen therapeutisches Potential haben. Besonders wichtig wird in Zukunft auch der direkte Vergleich der Eigenschaften von iPS und hES-Zellen sein, um ihre stammzellbiologischen Eigenschaften (Regulation der Pluripotenz, Zellteilungseigenschaften) sowie ihr Differenzierungspotential zu beleuchten. Ob und in wie weit die iPS den hES-Zellen vergleichbar sind, wird derzeit z.B. durch Vergleich der Genexpressionsmuster, der Muster der DNA-Modifikationen (Epigenetik) und funktioneller Eigenschaften erforscht. Eine vergleichende Bewertung der Potentiale von hES- und iPS-Zellen ist derzeit nur oberflächlich möglich. Es handelt sich bei den iPS-Zellen um ein intensiv beforschtes Forschungsfeld mit kontinuierlichen Fortschritten. Trotz dieser für die regenerative Medizin positiven Ergebnisse weisen die Forscher darauf hin, dass noch eine Vielzahl von Herausforderungen bewältigt werden müssen, bevor iPS-Zellen für medizinische Therapien beim Menschen eingesetzt werden können.

#### Dedifferenzierung von Körperzellen mit niedermolekularen organischen Wirkstoffen

Ein weiteres Verfahren zur Herstellung von Stammzellen ist die Umwandlung von ausdifferenzierten Körperzellen (Somazellen) zu dedifferenzierten Zellen mit höherem Entwicklungspotenzial durch den Einsatz spezifischer kleiner Wirkstoffmoleküle („small molecules“). So konnte ein Molekül identifiziert werden, das Muskelzellen von Mäusen dedifferenzierte (Chen et al. 2006 und 2007). Dabei ging die für Muskelzellen typische Charakteristik weitgehend verloren. Anschließend konnten mit entsprechenden Wachstumsfaktoren aus den so hergestellten Zellen Fettzellen und Knochenzellen mit ihren typischen Eigenschaften produziert werden. In weiteren Forschungsprojekten ist vor allem für den möglichen therapeutischen Einsatz zu untersuchen, wie sich solche Zellen im Organismus verhalten und wie weit zurück die jeweiligen Körperzellen dedifferenziert werden können.

#### **2.4.4 Gewinnung von Stammzellen ausgehend von Keimzellen und deren Vorläuferzellen**

##### Parthenogenese

Parthenogenese bezeichnet die Entwicklung von Organismen mit nur einem Elternteil, typischerweise aus einer unbefruchteten Eizelle. In der Natur wird Parthenogenese bei einer Reihe von Organismen, nicht aber bei Säugetieren beobachtet. Bei einer Variante der künstlich erzeugten Parthenogenese bei Säugetieren werden Stadien aus der Eizellentwicklung, in welchen die Halbierung des Chromosomensatzes noch nicht stattgefunden hat, ohne vorherige Befruchtung mit Spermien durch physikalische oder chemische Stimulation zur Teilung angeregt. Es konnte bei verschiedenen Tierarten gezeigt werden, dass den dabei entstehenden, Embryo-ähnlichen Stadien<sup>6</sup> Zellen entnommen werden können, die zu Zelllinien mit Eigenschaften von Stammzellen weiter kultiviert werden können (Cibelli et al. 2002; Kim et al. 2007a). Die Potenziale dieser Zelllinien können gegenwärtig noch nicht abgeschätzt werden. Menschliche parthenogenetische Stammzellen wurden erstmals 2007 erzeugt (Qingyun et al. 2007). Interessanterweise scheint die humane Stammzelllinie, die von dem Koreaner Wo-Suk Hwang fälschlicherweise als geklonte humane ES-Linie (SCNT-hES-1) publiziert wurde, mittels parthenogentischer Aktivierung entstanden zu sein (Kim et al., 2007b).

##### Spermatogoniale Stammzellen

Göttinger Wissenschaftler isolierten spermatogoniale Stammzellen aus Hodengewebe von adulten Mäusen (Guan et al. 2006). Diese Zellen sind physiologisch für die kontinuierliche Bildung von Spermien verantwortlich. Es konnte gezeigt werden, dass diese Zellen unter geeigneten Kulturbedingungen viele Eigenschaften von pluripotenten embryonalen Stammzellen aufweisen. Sie bilden unter anderem Embryonen ähnelnde Zellverbände („embryoid bodies“), in denen spontan viele Zelltypen des Organismus ausreifen können. So entstehen etwa nach mehreren Tagen Herzmuskelzellen, die sich spontan rhythmisch kontrahieren. Durch biochemische und physiologische Untersuchungen konnten in diesen Zellen viele Eigenschaften von Herzzellen nachgewiesen werden. Weiterhin konnten aus den Zellen spezialisierte Nervenzellen entwickelt werden, die den bei der Parkinsonschen Krankheit fehlenden Nervenzell-Botenstoff Dopamin produzieren. Auch andere Zellarten wie Gefäßzellen, Hautzellen, Leberzellen, Bauchspeicheldrüsenzellen und Blutzellen konnten bisher aus diesen Stammzellen gewonnen werden.

---

<sup>6</sup> Aufgrund des fehlenden paternalen Imprinting („Programmierung“ der Aktivität bestimmter Gene in den männlichen Keimzellen) bricht die Entwicklung des embryo-artigen Zellgebildes bei Parthenoten bereits in frühen Entwicklungsstadien ab.

Gegenwärtig gibt es in mehreren Arbeitsgruppen intensive Bemühungen entsprechende Stammzellen beim Menschen zu identifizieren. Die Untersuchungen werden an Biopsien durchgeführt, die im Rahmen von urologischen Eingriffen gewonnen werden<sup>7</sup>. Solche Zellen könnten in Zukunft zu einer patientenspezifischen Basis für neue Stammzelltherapieverfahren entwickelt werden, die allerdings nur von männlichen Patienten gewonnen werden können.

#### **2.4.5 Fötale Stammzellen**

Fötale Stammzellen aus den einen Fötus umgebenden Hüllen (Amnion und Chorion) können bei der Geburt aus dem Fruchtwasser gewonnen werden und werden teilweise als Alternative zu embryonalen Stammzellen diskutiert. Sie scheinen sich in verschiedene Entwicklungsrichtungen differenzieren zu lassen, etwa in Zellen mit Eigenschaften früher Nerven-, Leber- oder Knochenzellen. Mittlerweile hat eine Arbeitsgruppe publiziert, dass AFS-Zellen (Amnionflüssigkeit-abgeleitete Stammzellen) sich in Zellen aller drei Keimblätter differenzieren lassen und dabei keine Tumore entwickeln (De Coppi et al. 2007). Allerdings sind die Arbeiten an fötalen Stammzellen wissenschaftlich umstritten.

### **2.5 Entwicklung von Therapien mit humanen embryonalen Stammzellen**

Der Start einer ersten klinischen Studie zur Therapie von Querschnittgelähmten mit aus humanen embryonalen Stammzellen abgeleiteten Zellen durch die kalifornische Biotech-Firma Geron verzögerte sich.<sup>8</sup>

Von indischen Medizinerinnen um die Ärztin Geeta Shroff durchgeführte Therapieversuche mit humanen embryonalen Stammzellen wurden bislang lediglich über Presseberichte bekannt und sind nicht durch einschlägige wissenschaftliche Publikationen der Arbeitsgruppe belegt.

---

<sup>7</sup> Erste Erfolge wurden 2008 publiziert.

<sup>8</sup> Die Genehmigung durch die amerikanische Zulassungsbehörde FDA wurde im Januar 2009 erteilt.

### 3. Schlussfolgerungen

Die Forschung an embryonalen Stammzellen bewegt sich weiterhin noch vor allem im Bereich der Grundlagenforschung, wobei mittlerweile aber weltweit auch vermehrt präklinische Untersuchungen durchgeführt werden. In beiden Bereichen wird eine Vielzahl neuer und wichtiger Erkenntnisse generiert. Weiterhin müssen jedoch vor der routinemäßigen Übertragung der Erkenntnisse in spezifische Therapieansätze für Patienten noch zahlreiche bekannte und neu aufkommende, grundlegende Fragen der Entwicklungsbiologie, Zelldifferenzierung und Nebenwirkungen in den verschiedenen Anwendungsbereichen geklärt werden. Da die im Tiermodell gewonnenen Erkenntnisse vor ihrer Anwendung am Menschen intensiv analysiert und anschließend unter definierten und sicheren Bedingungen auf ihre Übertragbarkeit auf den Menschen geprüft werden müssen, ist Forschung mit humanen embryonalen Stammzellen für die Translation der gewonnenen Ergebnisse auf den Menschen unentbehrlich.

Im Berichtszeitraum wurde eine große Bandbreite verschiedener Verfahren zur Entwicklung pluripotenter humaner Stammzellen (weiter)entwickelt. Einige dieser alternativen Ansätze sind sehr vielversprechend, z.B. die Entwicklung von induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS). Zum jetzigen Zeitpunkt stellen alle bekannten alternativen Verfahren zur Herstellung pluripotenter Stammzellen jedoch noch sehr junge Entwicklungen dar, zu deren differenzierter Bewertung und Einschätzung noch viel Forschungsbedarf besteht. Hier bleiben noch essentielle Fragen zu klären, etwa zur Sicherheit dieser Zellen bei einem möglichen therapeutischen Einsatz sowie zur funktionellen Vergleichbarkeit dieser Zellen mit hES-Zellen.

Um eine maximale Ausnutzung und Weiterentwicklung der bisher generierten Ergebnisse zu gewährleisten, wird es essentiell sein, die sich gegenseitig ergänzenden Ansätze weiterzupursuchen und miteinander zu vergleichen. Nur auf diese Weise wird festgestellt werden können, welche Zellen und Verfahren für bestimmte Fragestellungen und therapeutische Anwendungen am besten geeignet sind.

Durch das Stammzellgesetz wurde die Forschung mit humanen embryonalen Stammzellen in Deutschland ermöglicht, ohne den Schutz menschlicher Embryonen nach dem Embryonenschutzgesetz einzuschränken. Die Gewinnung von hES-Zellen aus menschlichen Embryonen ist bereits durch das Embryonenschutzgesetz verboten. Die seit Inkrafttreten des Stammzellgesetzes genehmigten 23 Anträge (Ende 2007) auf Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen zu Forschungszwecken zeigen, dass die durch das Stammzellgesetz eröffneten Möglichkeiten von der deutschen Forschungsszene wahrgenommen werden.

## Glossar

**Adulte (somatische) Stammzellen:** Stammzellen, die auch nach der Geburt (postnatales Stadium) in jedem Organismus vorkommen. Aus diesen Zellen werden neue spezialisierte Zellen gebildet. Sie kommen besonders im Knochenmark, in der Haut, aber auch im Fettgewebe, in der Nabelschnur und im Nabelschnurblut, im Gehirn, der Leber oder der Bauchspeicheldrüse vor. Adulte Stammzellen haben aber im Vergleich zu embryonalen SZ in Zellkulturen ein deutlich geringeres Selbsterneuerungsvermögen und Differenzierungspotential.

**Allogen:** Das zu transplantierende biologische Material wird von einem Spender (Donor) auf einen genetisch nicht identischen Empfänger übertragen, woraus immunologische Abwehrreaktionen resultieren.

**Autolog:** Das zu transplantierende biologische Material stammt vom Empfänger selbst, ist genetisch identisch, und ist daher immunologisch kompatibel.

**Blastozyste:** Frühes Embryonalstadium, das beim Menschen etwa den Zeitraum vom vierten bis siebten Tag nach der Befruchtung umfasst. Die Blastozyste ist bereits in eine innere Zellmasse (**Embryoblast**), aus der embryonale Stammzellen gewonnen werden können, und eine äußere Zellschicht (**Trophoblast**) differenziert.

**Differenzierung:** Prozess, bei dem durch Aktivierung genetischer Programme immer spezialisiertere Zellformen entstehen.

**Dopamin:** Dopamin ist ein wichtiger Neurotransmitter und damit ein Signalstoff des Nervensystems, der Informationen von einer Nervenzelle zu anderen Zellen weiterleitet. **Dopaminerge Zellen** sind Nervenzellen, die Dopamin produzieren.

**Eifollikel:** Kugeliges Eibläschen bestehend aus einem zeitweise mehrschichtigen Epithel, das eine Eizelle umschließt. Dabei werden bei der Reifung von Eizellen spezifische Entwicklungsstadien durchlaufen.

**Embryoblast:** Die innere Zellmasse der Blastozyste.

**Epigenetik/Epigenese:** Die **Epigenetik** beschäftigt sich mit der **epigenetischen Vererbung**, d. h. der Weitergabe von Eigenschaften auf die Nachkommen, die nicht auf Abweichungen in der DNA-Sequenz zurück gehen, sondern auf eine vererbare Änderung der Genregulation und Genexpression. **Epigenetik** unterscheidet sich von der **Epigenese**, welche den seit langem bekannten graduellen Prozess der embryonalen Morphogenese von Organen in all ihrer Komplexität beschreibt. Jedoch basieren die essentiellen zellularen Differenzierungsprozesse der Epigenese vor allem auf epigenetischen Vererbungsmechanismen einer Zellgeneration zur nächsten.

**ES-Zellen:** Embryonale Stammzellen (ES) sind *in vivo* und *in vitro* in der Lage, sich in Zellen aller drei Keimblätter (Entoderm, Ektoderm und Mesoderm) sowie in Zellen der Keimbahn auszudifferenzieren. Sie werden daher als pluripotent bezeichnet.

**Feederzellen:** Nähr- oder Helferzellen, die gemeinsam mit pluripotenten Stammzellen kultiviert werden. Bei hES-Zellen werden hierzu speziell behandelte embryonale Fibroblasten (Maus oder Mensch) eingesetzt.

**hESZ:** humane (menschliche) embryonale Stammzellen

**In vitro:** (lateinisch, im Glas) Vorgänge, die außerhalb eines lebenden Organismus stattfinden, im Gegensatz zu solchen, die im lebenden Organismus (*in vivo*) ablaufen

**iPS, induzierte pluripotente Stammzellen:** Zellen, die durch Dedifferenzierung (Reprogrammierung) somatischer Zellen entstanden sind und Eigenschaften pluripotenter Stammzellen aufweisen. In differenzierte Körperzellen werden hierbei Gene eingeschleust, die das embryonale Programm in der Zelle wieder anschalten und so Stammzeleigenschaften induzieren.

**Keimblätter:** Dreidimensionale Zellkonglomerate (oder Zellschichten) in der frühen Embryonalentwicklung, die den Ursprung für definierte, in späteren Entwicklungsphasen gebildete Gewebe und Organsysteme darstellen, unterschieden nach:

**Entoderm:** (Innenschicht) Zellen, aus denen neben dem Verdauungstrakt auch Leber und Bauchspeicheldrüse entstehen.

**Mesoderm:** (Mittelschicht) Aus dieser Zellschicht entstehen unter anderem Blut, Herz, Muskulatur und Skelett.

**Ektoderm:** (Außenschicht) Keimblatt, aus dem sich Haut und Nervensystem entwickeln.

**Plastizität:** Bezeichnet die Fähigkeit von Zellen sich auch in Zellen anderer Gewebe entwickeln zu können.

**Potenzial:** Entwicklungsmöglichkeiten einer Zelle, unterschieden nach:

**totipotent (oder omipotent):** Aus der Zelle kann sich ein vollständiges Lebewesen entwickeln (bei menschlichen Embryonen nach derzeitigem Kenntnisstand jede Zelle bis längstens zum Achtzellstadium).

**pluripotent:** Aus der Zelle kann sich jeder Zelltyp des Organismus entwickeln, jedoch kein vollständiges Lebewesen. Embryonale Stammzellen können die dafür erforderliche Plazenta, die aus dem Trophoblast der Blastozyste entsteht, nicht bilden und sind daher pluripotent.

**multipotent:** Das Entwicklungspotenzial der Zelle beschränkt sich z. B. auf nur einige Zelltypen, die z. B. aus einem der Keimblätter hervorgehen.

**Proliferation:** Zellteilung zur Vermehrung von Geweben bei Wundheilung und Regeneration und zum Ersatz verbrauchter Zellen

**Reprogrammierung:** Oberbegriff für die Umwandlung einer Zelle in einen anderen Zelltypen durch Änderung der Genexpression. Als Reprogrammierung im Zusammenhang mit der Gewinnung von Stammzellen wird vor allem die Rückversetzung somatischer Zellen in einen frühembryonalen, pluripotenten bzw. pluripotenzähnlichen Zustand bezeichnet.

**SNCT (SNT), somatic cell nuclear transfer:** Ist der Transfer eines Zellkerns aus einer Körperzelle (somatische Zelle) in eine "entkernte" Eizelle. Der entstandene Zellklon kann anschließend für wissenschaftliche Zwecke (z.B. Zellkulturen) oder in der regenerativen Medizin eingesetzt werden (therapeutisches Klonen). Dieser Klon kann jedoch auch der erste Schritt zum reproduktiven Klonen sein.

**Stammzelle (SZ):** Zelle, die sich vermehren und in mehrere Zelltypen ausdifferenzieren kann, unterschieden nach:

**embryonal:** Diese Stammzellen bilden die innere Zellmasse (Embryoblast) der Blastozyste.

**somatisch / adult:** Stammzellen von fötalen (d. h. allen vorgeburtlichen Entwicklungsstadien mit abgeschlossener Entwicklung von Organanlagen) und geborenen Lebewesen.

**Teratom** (von griech. teras, teratos „Schreckbild, Ungeheuer“ und -om „Geschwulst, Schwellung“): Durch Entwicklungsstörungen entstandener, oft organähnlicher Misch tumor, der aus verschiedenen Gewebearten besteht.

**Transdifferenzierung:** Entwicklung, bei der eine Zelle neue Funktionen übernimmt, die normalerweise einem anderen Zelltyp eigen sind, z.B. in Zellen, die von einem Keimblatt abstammen.

**Trophoblast:** Die äußere Zellschicht der Blastozyste.

**xenogen-freie Stammzellen:** Humane embryonale Stammzelllinien, die frei von tierischen Zellen, Seren, Enzymen und sonstigen tierischen Substanzen isoliert, abgeleitet und kultiviert wurden

**Ausgewählte Literatur:**

- Andrews P.W. *et al.*: „Characterization of human embryonic stem cell lines by the International Stem Cell Initiative, The International Stem Cell Initiative“. *Nature Biotechnology* 25: 803–816. **2007**
- Assmus B, *et al.*: “Transcoronary transplantation of progenitor cells after myocardial infarction.” *N Engl J Med* 355(12): 1222-32. **2006**
- Barberi T *et al.*: „Derivation of engraftable skeletal myoblasts from human embryonic stem cells.“ *Nat Med.* May 13(5): 642-8. **2007**
- Benzing C. *et al.*: „Neural conversion of human embryonic stem cell colonies in the presence of fibroblast growth factor-2.“ *Neuroreport* 17: 1675-1681. **2006**
- Cai J. *et al.*: „Directed differentiation of human embryonic stem cells into functional hepatic cells.“ *Hepatology* 45(5): 1229-39. **2007**
- Chen, S., *et al.*: “Self-renewal of Embryonic Stem Cells by a Small Molecule.” *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 103(46): 17266-17271. **2006**
- Chen S., *et al.*: “Reversine increases the plasticity of lineage-committed mammalian cells”; *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104: 10482-10487. **2007**
- Cibelli J.B. *et al.*: “Parthenogenetic stem cells in nonhuman primates”. *Science* 295(5556): 819. **2002**
- D'Amour K.A. *et al.*: “Production of pancreatic hormone–expressing endocrine cells from human embryonic stem cells.” *Nature Biotechnology* 24: 1392–1401. **2006**
- De Coppi Paolo *et al.*: „Isolation of amniotic stem cell (AFS) lines with potential for therapy.“ *Nature Biotechnology* 25: 100–106. **2007**
- French A.J. *et al.*: „Development of Human cloned Blastocysts Following Somatic Cell Nuclear Transfer (SCNT) with Adult Fibroblasts” *Stem Cells Express.* **2007**
- Guan K. *et al.*: “Pluripotency of spermatogonial stem cells from adult mouse testis.” *Nature* 440, 1199-1203. **2006**
- Hanna J., *et al.*: “Treatment of Sickle-Cell Anemia Mouse Model with iPS Cells Generated from Autologous Skin.” *Science* 318 (5858): 1920-1923. **2007**
- Hay D.C. *et al.*: „Direct differentiation of human embryonic stem cells to hepatocyte-like cells exhibiting functional activities.” *Cloning Stem Cells* 9(1): 51-62. **2007**
- Kim K. *et al.*: “Histocompatible Embryonic Stem Cells by Parthenogenesis.“ *Science* 315(5811): 482-486. **2007a**
- Kim K. *et al.*: “Recombination signatures distinguish embryonic stem cells derived by parthenogenesis and somatic cell nuclear transfer”. *Cell Stem Cell* 1(3): 346-52. **2007b**
- Kim J. B. *et al.*: “Pluripotent stem cells induced from adult neural stem cells by reprogramming with two factors.” *Nature* 454: 646. **2008**

- Ko J.Y. *et al.*: "Human embryonic stem cell-derived neural precursors as a continuous, stable and on-demand source for human dopamine neurons." *J Neurochem* 103: 1417–1429. **2007**
- Koch P. *et al.*: „Transduction of human embryonic stem cells by ecotropic retroviral vectors.“ *Nucleic Acids Res* 34(18), e120. **2006**
- Kroon E. *et al.*: "Pancreatic endoderm derived from human embryonic stem cells generates glucose-responsive insulin-secreting cells in vivo." *Nat Biotechnol.* 26(4):443-52. **2008**
- Laflamme M.A. *et al.*: "Cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells in pro-survival factors enhance function of infarcted rat hearts." *Nature Biotechnology* 25, 1015–1024. **2007**
- Lee H *et al.*: "Directed differentiation and transplantation of human embryonic stem cell-derived motoneurons." *Stem Cells* 25:1931–1939. **2007**
- Maherali N., *et al.*: "Directly reprogrammed fibroblasts show global epigenetic remodeling and widespread tissue contribution." *Cell Stem Cell* 1, 55-70. **2007**
- Maitra A. *et al.*: „Genomic alterations in cultured human embryonic stem cells.“ *Nat Genet* 37(10):1099-103. **2005**
- Meissner A and Jaenisch R: "Generation of nuclear transfer-derived pluripotent ES cells from cloned Cdx2-deficient blastocysts." *Nature* 439:212-5. **2006**.
- Nolden L. *et al.*: "Site-specific recombination in human embryonic stem cells induced by cell-permeant Cre recombinase." *Nat Methods* 3, 461-467. **2006**
- Nussbaum J, *et al.*: „Transplantation of undifferentiated murine embryonic stem cells in the heart: teratoma formation and immune response.“ *FASEB Journal* 21(7):1345-57. **2007**
- Okita K. *et al.*: „Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells.“ *Nature* 448(7151): 313-317. **2007**
- Park I. H. *et al.*: „Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors.“ *Nature* 451: 141-146. **2007**
- Pillekamp F. *et al.*: „Force measurements of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes in an in vitro transplantation model.“ *Stem Cells* 25(1). **2007**
- Qingyun Mai *et al.*: "Derivation of human embryonic stem cell lines from parthenogenetic blastocysts." *Cell Research* 17: 1008-1019. **2007**
- Sachinidis A.: *et al.*: „Identification of small signalling molecules promoting cardiac-specific differentiation of mouse embryonic stem cells.“ *Cell Physiol Biochem.* 18(6): 303-14. **2006**
- Siemen H. *et al.*: „Nucleofection of human embryonic stem cells.“ *Stem Cells Dev* 14: 378-383. **2005**
- Siegel N, *et al.*: "Stem cells in amniotic fluid as new tools to study human genetic diseases." *Stem Cell Rev.* 3(4): 256-64. **2007**
- St. John, J. and Lovell-Badge, R.: "Human–animal cytoplasmic hybrid embryos, mitochondria, and an energetic debate." *Nature Cell Biology* (9)9: 988-992. **2007**

Takahashi K. and Yamanaka, S.: "Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors." *Cell* 126: 663-676. **2007**

Yamanaka S.: „Strategies and New Developments in the Generation of Patient-Specific Pluripotent Stem Cells.“ *Cell Stem Cell* 1(1): 39-49. **2007**

Ware C.B. *et al.*: „A comparison of NIH-approved human ESC lines.“ *Stem Cells* 24(12): 2677-84. **2006**

Wernig M. *et al.*: „In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state.“ *Nature* 448(7151): 318-324. **2007**

Wilmut I. and Taylor J.: „Stem cells: Primates join the club.“ *Nature* 450, 485-486, **2007**

Yu J. *et al.*: "Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells." *Science* 318, 1917-1920. **2007**

Zhang X. *et al.*: "Derivation of Human Embryonic Stem Cells from Developing and Arrested Embryos." *Stem Cells* 24: 2669 -267. **2006**

### **Ausgewählte Internetadressen:**

**Erster Erfahrungsbericht** der Bundesregierung über die Durchführung des Stammzellgesetzes vom 11. 01. 2004: <http://dip21.bundestag.de/dip21/btd/15/036/1503639.pdf>

**Zweiter Erfahrungsbericht** der Bundesregierung über die Durchführung des Stammzellgesetzes vom 11. 01. 2007: <http://dip21.bundestag.de/dip21/btd/16/040/1604050.pdf>

**UK Stem Cell Bank:** <http://www.ukstemcellbank.org.uk/> und <http://www.mrc.ac.uk/consumption/groups/public/documents/content/mrc003259.pdf>

**Singapore Stem Cell Bank:** <http://www.sccc.a-star.edu.sg/stemCellBank.php>

**National Stem Cell Bank (NSCB):** <http://nationalstemcellbank.com/>

**NIH-Register:** <http://stemcells.nih.gov/research/registry>

**International Stem Cell Forum:** [http://www.stemcellforum.org/isc\\_i\\_project/the\\_registry.cfm](http://www.stemcellforum.org/isc_i_project/the_registry.cfm)

**Australian Stem Cell Centre (ASCC):** <http://www.stemcellcentre.edu.au/default.aspx>

**European Human Embryonic Stem Cell Registry:** <http://hescreg.charite.de/typo3/>