

Unterrichtung

durch die Bundesregierung

Zehnter Erfahrungsbericht der Bundesregierung über die Durchführung des Stammzellgesetzes

Inhaltsverzeichnis

	Seite
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
1.2.2 Übersicht über die im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben.....	3
1.2.2 Angaben zu den im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben.....	3
1.3 Erfüllung der Voraussetzungen nach § 4 StZG	12
1.4 Erfüllung der Voraussetzungen nach § 5 StZG	14
1.5 Prüfung und Bewertung durch die Zentrale Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES).....	21
2 Stand der Forschung mit pluripotenten und multipotenten menschlichen Stammzellen	22
2.1 Einleitung	22
2.2 Bestand der menschlichen embryonalen Stammzelllinien	23
2.3 Grundlagen zur Forschung mit humanen pluripotenten Stammzellen	24
2.3.1 Vergleichende Untersuchungen zum naiven und geprägten Zustand humaner pluripotenter Stammzellen	24
2.3.2 Untersuchungen zu Mechanismen der Reprogrammierung von Körperzellen zu iPS-Zellen.....	25
2.3.3 Pluripotente Stammzellen von anderen Tierspezies	26

	Seite
2.3.4 Untersuchungen zu generellen molekularen Mechanismen in Stammzellen	27
2.3.5 Stammzellforschung im Weltraum	28
2.4 Technologien der Stammzellforschung: Organoide	28
2.4.1 Organoide des Herzen – Kardioide.....	29
2.4.2 Organoide der Niere	29
2.4.3 Zerebrale Organoide	29
2.4.4 Andere Organoidsysteme und Organ-on-a-Chip	30
2.4.5 Organoide und Stammzellen in der Erforschung von COVID-19....	31
2.4.6 In-vitro-Analyse der frühen Embryogenese mithilfe pluripotenter Stammzellen: Embryoide, Blastoide und Gastruloide.....	32
2.4.7 Ethische Betrachtungen zu Embryoiden.....	33
2.5 Verfahren zur Genom-Editierung in Stammzellen	33
2.5.1 Genom-Editierung mit dem CRISPR/Cas9 System.....	34
2.6 Entwicklung von Keimzellen	34
2.7 Aktuelle Forschung zu Gewebestammzellen und Erkrankungen	35
2.7.1 Gehirnentwicklung, neurale Stammzellen und neurodegenerative Erkrankungen	35
2.7.2 Bauchspeicheldrüse und Diabetes	36
2.7.3 Herzmuskelzellen (Kardiomyozyten) und Erkrankungen des Herzwebes	37
2.7.4 Blutstammzellen (hämatopoetische Stammzellen) und Bluterkrankungen	37
2.7.5 Beispiele aus der Forschung mit anderen Gewebestammzellen	39
2.7.6 Fortschritte in der Altersforschung mit Stammzellmodellen.....	39
2.7.7 Fortschritte beim Bioengineering mit Stammzellen	40
2.7.8 Stammzellen in der Wirkstoffforschung.....	41
2.8 Neue Entwicklung von Therapien mit Stammzellen	41
2.9 Ethische, rechtliche und soziale Aspekte (ELSA) der Stammzellforschung	43
2.10 Ungeprüfte Stammzelltherapien	44
2.11 Auflistung der klinischen Studien mit humanen pluripotenten Stammzellen	44
3 Schlussfolgerungen	53
4 Glossar	54
5 Zitierte Literatur	57

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 der Einfuhr und Verwendung menschlicher embryonaler Stammzellen (Stammzellgesetz – StZG) vom 28. Juni 2002 (BGBl. I S. 2277), zuletzt geändert durch das Gesetz zum Abbau verzichtbarer Anordnungen der Schriftform im Verwaltungsrecht des Bundes vom 29. März 2017 (BGBl. I S. 626). Er umfasst den Zeitraum vom 1. Januar 2020 bis zum 31. Dezember 2021 (zehnter Berichtszeitraum).

1.2 Genehmigte Anträge und Genehmigungsverfahren

1.2.2 Übersicht über die im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben

Im vorangegangenen Berichtszeitraum (1. Januar 2018 bis 31. Dezember 2019, neunter Berichtszeitraum) waren im Zusammenhang mit inhaltlich eigenständigen Projekten 21 Genehmigungen für die Einfuhr und/oder Verwendung humaner embryonaler Stammzellen (hES-Zellen) erteilt worden, von denen 19 inhaltlich verschieden waren (133. bis 153. Genehmigung nach dem StZG). In zwei Fällen waren jeweils identische Genehmigungen an jeweils zwei Antragsteller erteilt worden. Über einen der im neunten Berichtszeitraum gestellten Anträge war am Ende des Berichtszeitraums noch nicht entschieden worden.

Im aktuellen Berichtszeitraum (1. Januar 2020 bis 31. Dezember 2021) wurden 19 inhaltlich eigenständige Anträge auf Genehmigung der Einfuhr und Verwendung bzw. Genehmigung der Verwendung von hES-Zellen gemäß § 6 StZG an das Robert Koch-Institut (RKI) als zuständige Genehmigungsbehörde gestellt. Ferner war ein Antrag aus dem vorherigen Berichtszeitraum anhängig, der zu Beginn des aktuellen Berichtszeitraums genehmigt wurde. Zwei Anträge wurden durch zwei bzw. drei Forschergruppen gemeinsam gestellt; hier ergingen in beiden Fällen gesonderte, jeweils identische Genehmigungen, so dass sich die Anzahl der bis zum Ende des Berichtszeitraums erteilten Genehmigungen auf 22 beläuft. Über einen Antrag war am Ende des Berichtszeitraums noch nicht entschieden worden.

Die im Berichtszeitraum erteilten 22 Genehmigungen ergingen an 16 Personen bzw. Institutionen, von denen sechs bereits im Besitz wenigstens einer zuvor erteilten Genehmigung für die Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen waren. Zehn Personen bzw. Institutionen erhielten folglich erstmals eine Genehmigung nach dem StZG; an einigen Institutionen ist weiterhin mehr als eine Forschergruppe mit hES-Zell-Forschung befasst.

Insgesamt wurden vom Inkrafttreten des StZG im Juli 2002 bis zum Ende des Berichtszeitraumes 175 Genehmigungen für die Einfuhr und/oder Verwendung von hES-Zellen an natürliche bzw. juristische Personen erteilt. Im Berichtszeitraum wurden insgesamt 13 in der Vergangenheit genehmigte Forschungsvorhaben beendet, 32 weitere Vorhaben waren bereits zuvor abgeschlossen worden. Die entsprechenden Genehmigungen nach dem StZG sind folglich erloschen. Am Ende des Berichtszeitraumes bestanden somit 130 Genehmigungen für die Durchführung von Forschungsvorhaben unter Verwendung von hES-Zellen, die teilweise mehrfach erweitert wurden. Derzeit sind insgesamt ca. 100 Arbeitsgruppen, die an ca. 60 Institutionen (Universitäten, Universitätsklinika, Forschungsinstituten, Unternehmen etc.) tätig sind, im Besitz jeweils wenigstens einer Genehmigung für die Einfuhr von hES-Zellen und deren Verwendung für Forschungszwecke.

Im aktuellen Berichtszeitraum wurden ferner vier Anträge auf Erweiterung bereits bestehender Genehmigungen gestellt; zwei solcher Anträge lagen noch aus dem vorherigen Berichtszeitraum vor. Alle sechs Anträge wurden positiv beschieden.

1.2.2 Angaben zu den im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben

Bis zum 31. Dezember 2019 (Ende des neunten Berichtszeitraumes) waren **153** Genehmigungen nach dem StZG erteilt worden.

Die insgesamt 154. Genehmigung für die Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen erging am 11. Februar 2020 an das Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin. Im Rahmen der genehmigten Forschungsarbeiten soll die Frage geklärt werden, ob und auf welchem Wege humanspezifische zirkuläre RNAs (circRNAs) an der Regulation von frühen Entwicklungsprozessen menschlicher Zellen beteiligt sind, insbesondere an der Aufrechterhaltung von Pluripotenz und an der neuronalen Differenzierung. Hierfür sollen relevante circRNAs in pluripotenten und sich neuronal differenzierenden Zellen identifiziert, mögliche Wechselwirkungen zwischen verschied-

denen RNA-Spezies bestimmt und insbesondere circRNAs identifiziert werden, die an der Regulation des Spleißens beteiligt sind. Dabei soll u. a. die Rolle spezifischer circRNAs für das Spleißen durch differentielle Analyse von Spleiß-Isoformen vor dem Hintergrund der Präsenz und Abwesenheit spezifischer circRNAs verifiziert und die Lokalisation der miteinander interagierenden RNAs bestimmt werden. Aus den Forschungsarbeiten werden neue Erkenntnisse über Prozesse erwartet, die auf Ebene von circRNAs und deren Wechselwirkungen an der Aufrechterhaltung zellulärer Pluripotenz sowie an der Entwicklung von Nervenzellen während der frühen Entwicklung des Menschen bedeutsam sind. Da circRNAs sowohl für die neuronale Entwicklung als auch für die Funktion der Synapsen bedeutsam sind und in jüngerer Zeit zunehmend Hinweise auf eine Regulation von Spleiß-Prozessen durch circRNAs gefunden wurden, könnte eine Dysregulation von circRNAs und dadurch bedingte Veränderungen in Spleiß-Prozessen auch mit der Pathogenese neurodegenerativer Erkrankungen assoziiert sein. Insofern kann sich im Ergebnis der genehmigten Forschungsarbeiten auch ein relevanter Erkenntnisgewinn über molekulare Grundlagen bestimmter Erkrankungen des Menschen ergeben.

Die 155. Genehmigung nach dem StZG wurde am 8. April 2020 ebenfalls an das Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin, erteilt. Erforscht werden soll, ob und auf welchem Wege eine spezifische Mutation im KCNQ1-Gen-Lokus des Menschen die physiologischen Funktionen von pankreatischen Beta-Zellen beeinträchtigen, die aus genetisch entsprechend veränderten hES-Zellen gewonnen werden. Hintergrund dieser Forschungsfrage ist die Identifizierung eines Patienten mit neonatalem Diabetes mellitus, der eine spezifische und bislang nicht charakterisierte Mutation im KCNQ1-Gen aufweist, was mit dem Verlust der Fähigkeit zur Bildung bestimmter Kaliumkanäle verbunden ist und in der Folge zu einer verminderten glukoseabhängigen Insulinsekretion führt. Die entsprechende Mutation im KCNQ1-Gen soll daher in hES-Zellen etabliert werden, und die genetisch veränderten Zellen sollen dann in Richtung pankreatischer Beta-Zellen differenziert und deren Eigenschaften detailliert untersucht werden, insbesondere in Hinblick auf die Funktion der ATP-abhängigen Kaliumkanäle. Die Untersuchungen sollen Aufschluss über potentielle, durch die Mutation bedingte Differenzierungsdefizite und damit in Zusammenhang stehende funktionale Veränderungen geben. Erwartet werden neue Erkenntnisse über die Rolle des KCNQ1-Genprodukts im pankreatischen Differenzierungsprozess und über den Zusammenhang zwischen der Mutation und der mit ihr assoziierten Erkrankung, insbesondere über eine veränderte Funktion des KCNQ1-Proteins, eine ggf. beeinträchtigte Differenzierung zu Beta-Zellen sowie über deren veränderte Eigenschaften.

Die 156. Genehmigung erging am 29. April 2020 an Herrn Professor Alexander Kleger, Universitätsklinikum Ulm. Vor dem Hintergrund, dass eine Infektion mit SARS-CoV-2 bei einem nicht unerheblichen Teil der Erkrankten auch zu Symptomen einer gastrointestinalen Infektion führt, sollen molekulare Grundlagen der Infektion des menschlichen Gastrointestinal-Traktes durch SARS-CoV-2 in aus hES-Zellen abgeleiteten menschlichen Darm-Organoiden untersucht werden. Hierfür sollen hES-Zellen zu Darm-Organoiden differenziert, diese mit SARS-CoV-2 infiziert und anschließend umfassend untersucht werden. Ziel ist es u. a., jene intestinalen Zelltypen zu bestimmen, die für das Virus permissiv sind bzw. die infolge der Infektion Schädigungen aufweisen. Ferner sollen durch die Infektion mit SARS-CoV-2 bedingte molekulare Veränderungen, beispielsweise im Transkriptom der Zellen, bestimmt werden. Schließlich soll getestet werden, ob und inwieweit bereits für die Behandlung von Menschen zugelassene Wirkstoffe die Infektion von intestinalen Zellen bzw. die Vermehrung/Assemblierung des Virus in intestinalen Zellen hemmen können. Außer der Identifizierung der für SARS-CoV-2 permissiven Zellen des Verdauungstraktes dienen die Arbeiten dem Ziel, ggf. veränderte Genexpressionsmuster in infizierten Zellen zu bestimmen und dadurch Erkenntnisse über die Folgen einer SARS-CoV-2-Infektion auf molekularer Ebene zu gewinnen, beispielsweise über die Interferenz des Virus mit zellulären Signaltransduktionskaskaden. Die geplanten Arbeiten können wesentliche Erkenntnisse darüber erbringen, auf welche Weise SARS-CoV-2 mit Zellen des Intestinal-Traktes interagiert und auf welche zellbiologischen und molekularen Veränderungen die bei COVID-19-Patienten beobachteten Symptome gastrointestinaler Erkrankungen zurückzuführen sind. Dies kann ggf. für das Therapie-Regime relevant sein. Aus der geplanten Untersuchung der Wirkungen insbesondere antiviral wirksamer Pharmaka im angestrebten Infektionsmodell können sich zudem neue Ansätze für die Behandlung der von SARS-CoV-2 verursachten Symptome im Magen-Darm-Trakt ergeben.

Im Rahmen der 157. Genehmigung, die am 11. Juni 2020 dem Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München erteilt wurde, soll in einem Großtiermodell (Schwein) geprüft werden, ob aus hES-Zellen abgeleitete kardiale Vorläuferzellen sich zur Zellersatztherapie von Herzmuskelschädigungen eignen, die beim Menschen infolge von Infarkten, Herzmuskel-Entzündungen oder genetisch bedingten Erkrankungen sehr häufig auftreten. Hierfür sollen hES-Zellen zunächst zu großen Mengen kardialer Vorläuferzellen differenziert, diese in eine experimentell erzeugte Myokard-Narbe in Schweineherzen injiziert und die entsprechenden Herzen nach Explantation umfassend untersucht werden, wobei u. a. Fragen bezüglich der Proliferations- und Migrationsfähigkeit sowie der Reifung der Vorläuferzellen geklärt werden sollen. Ferner sollen in einem Herzinfarktmodell des

Schweins verschiedene Methoden für die Applikation der kardialen Vorläuferzellen getestet und optimiert sowie die Eigenschaften und Effekte des Transplantats auf funktionaler und molekularer Ebene über längere Zeiträume erfasst werden. Da eine (bei Xenotransplantation erforderliche) dauerhafte Immunsuppression beim Menschen mit teils erheblichen Nebenwirkungen verbunden ist, sollen die oben genannten Untersuchungen auch unter Verwendung einer mehrfach transgenen hypoinmunogenen hES-Zell-Linie durchgeführt werden. Durch die Forschungsarbeiten soll u. a. bestätigt werden, dass die noch juvenilen Eigenschaften der transplantierten Vorläuferzellen (wie ihre Fähigkeit zur Migration, zur Proliferation und zur durch die Gewebe-Nische stimulierte Reifung) diese Zellen für eine Anwendung in der Gewebeersatztherapie des Herzens besonders geeignet machen. Durch die Optimierung der Applikationsform der Zellen und die in Blick genommene Klärung der Frage, ob durch Nutzung einer hypoinmunogenen hES-Zell-Linie als Ausgangspunkt für die Gewinnung der zu transplantierenden Zellen die Abstoßungsreaktion des Empfänger-Organismus gegen das Transplantat zumindest gehemmt werden kann, sollen Fragen von grundsätzlicher Bedeutung für die Zellersatztherapie von kardialen Erkrankungen beantwortet werden.

Im Rahmen der 158. Genehmigung, die am 9. Juli 2020 an Herrn Dr. Claudio Acuna Goycolea, Universitätsklinikum Heidelberg, erging, sollen Astrozyten aus hES-Zellen gewonnen und für die Beantwortung verschiedener Forschungsfragen genutzt werden. Zunächst sollen aus hES-Zellen gewonnene Astrozyten anstelle muriner Astrozyten als trophischer Support für die Ko-Kultivierung mit Neuronen in zwei bereits genehmigten Forschungsvorhaben verwendet werden (142. und 144. Genehmigung nach dem Stammzellgesetz). Durch die Erzeugung funktionaler neuraler Netzwerke, die ausschließlich aus humanen Zellen bestehen, sollen die in diesen Forschungsvorhaben zu klärenden Fragestellungen besser als bislang möglich beantwortet werden. Ferner soll die Rolle von Astrozyten und die Funktion der von Astrozyten sekretierten Faktoren auf die Fähigkeit von humanen Neuronen zur Synapsenbildung untersucht werden. Hierfür sollen Gene, deren Produkte mutmaßlich eine synaptogene Aktivität aufweisen, in hES-Zellen funktional deletiert, die modifizierten Zellen zu Astrozyten differenziert und gemeinsam mit aus hES-Zellen abgeleiteten Neuronen kultiviert werden. Die Effekte der jeweiligen Mutationen auf die Anzahl, Struktur und Funktion von in den entsprechenden neuronalen Netzwerken gebildeten Synapsen soll dann im Detail bewertet werden. Hieraus sollen sich neue Erkenntnisse über Wechselwirkungen zwischen Astrozyten und Neuronen, über deren Beitrag zur Bildung und Integrität von Synapsen sowie über die bislang wenig verstandenen molekularen Prozesse ergeben, die diesen Wechselwirkungen zugrundeliegen. Es wird erwartet, dass von Astrozyten produzierte Faktoren identifiziert bzw. verifiziert werden können, die die Eigenschaften neuraler Netzwerke regulieren und insbesondere in Hinblick auf die Bildung und Plastizität von Synapsen bedeutsam sind. Schließlich soll geklärt werden, ob und auf welche Weise mit neuropsychiatrischen Erkrankungen assoziierte Mutationen, die zu einer veränderten Funktion von Astrozyten führen, zur Auslösung und Pathogenese der entsprechenden Erkrankungen beitragen. Hierfür sollen die entsprechenden Mutationen in hES-Zellen erzeugt, die genetisch veränderten hES-Zellen zu Astrozyten differenziert und der Effekt der mutierten Astrozyten auf humane Neurone im Rahmen entsprechender neuraler Netzwerke untersucht werden. Diese Forschungsarbeiten werden voraussichtlich zu einem verbesserten Verständnis von den molekularen Ursachen der jeweiligen Erkrankungen führen.

Die inhaltsgleichen 159. und 160. Genehmigungen ergingen am 10. August 2020 an Herrn Dr. Varun Venkataramani und Herrn Dr. Claudio Acuna Goycolea, Universitätsklinikum Heidelberg. Ziel der genehmigten Forschungsarbeiten ist es, ein besseres Verständnis der Wechselwirkungen zwischen Tumorzellen und Nervenzellen bei der Entstehung und Entwicklung von Glioblastomen zu erlangen. Hierbei soll insbesondere untersucht werden, welche Rolle Synapsen, die zwischen Neuronen und Tumorzellen gebildet werden, bei der Progression von Gliomen und Hirnmetastasen spielen. Hierfür sollen entsprechende Ko-Kultursystemen etabliert und analysiert werden, die aus primären Tumorzellen und aus bestimmten Typen hES-Zell-abgeleiteter neuraler Zellen bestehen. In diesen Zellmodellen sollen dann die Effekte der gemeinsamen Kultivierung auf das Wachstum der Tumorzellen und auf deren Eigenschaften bestimmt und die zwischen den verschiedenen Zelltypen entstehenden Synapsen auf morphologischer, molekularbiologischer und funktionaler Ebene umfassend charakterisiert werden. Durch vergleichende Transkriptomanalysen sollen Gene, identifiziert werden, die im Ergebnis der Ko-Kultur in Neuronen oder Tumorzellen differentiell exprimiert werden, und die Effekte von deren Ausschaltung oder Überexpression auf Tumorwachstum und Genexpression ermittelt werden. Schließlich soll untersucht werden, ob und inwieweit mit den angestrebten Ko-Kulturmodellen die Wirkung von ionisierender Strahlung und von Chemotherapeutika in vitro nachgebildet werden kann.

Die Forschungsarbeiten, die im Rahmen der am 21. Oktober 2020 an Herrn Dr. Jacob J. Metzger, Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin, Berlin, erteilten 161. Genehmigung durchgeführt werden, zielen auf die Etablierung optimierter Methoden für die reproduzierbare Gewinnung menschlicher kortikaler Organoiden. An diesen sollen dann Fragestellungen zur Entwicklung des menschlichen Cortex beantwortet und molekulare und zelluläre

Grundlagen neuronaler Entwicklungsstörungen sowie neurodegenerativer Krankheiten untersucht werden können. Die Entwicklung der Organoide soll hierbei in spezifischen Mikrostrukturen erfolgen, wodurch die räumliche Ausdehnung der Organoide begrenzt und eine hohe Reproduzierbarkeit der Eigenschaften der Organoide erreicht werden soll. In diesen Organoiden soll dann die weitere Reifung dieser Zellen über einen längeren Zeitraum analysiert und insbesondere Untersuchungen zur Synaptogenese und zur Entstehung der mehrlagigen Struktur des Cortex durchgeführt werden. Anschließend sollen bestimmte neuronale Entwicklungsstörungen bzw. neurodegenerative Erkrankungen unter Nutzung von aus hES-Zellen abgeleiteten kortikalen Organoiden modelliert werden. Zu diesem Zweck sollen mit den entsprechenden Erkrankungen/Entwicklungsstörungen assoziierte Mutationen in hES-Zellen erzeugt, die Zellen zur Herstellung von Organoiden verwendet und mögliche Unterschiede zur Wildtyp-Situation in der Entwicklung und in den Eigenschaften der Organoide bestimmt werden. Dabei sollen die Ergebnisse, die unter Verwendung genetisch veränderter hES-Zellen erlangt werden, mit Resultaten aus entsprechenden Versuchen auf Grundlage von humanen induzierten Stammzellen verglichen werden, die entweder analog mutiert wurden oder aus (von entsprechenden Erkrankungen/Entwicklungsstörungen betroffenen) Patientinnen und Patienten stammen. Durch die Forschungsarbeiten sollen neue, auf menschlichen Nervenzellen basierende In-vitro-Modellsysteme geschaffen werden, die die Entwicklung des menschlichen Kortex nachbilden und an denen komplexe Entwicklungsvorgänge und die mit neuronalen Entwicklungsstörungen und neurodegenerativen Krankheiten einhergehenden Veränderungen sowie die zugrundeliegenden molekularen und zellbiologischen Prozesse untersucht werden sollen. Im Hinblick auf letzteres können ggf. Rückschlüsse auf spezifische Prozesse und Signalwege gezogen werden, die infolge des Vorliegens krankheitsassoziierter Mutationen beeinträchtigt sind, was ggf. auch zu neuen Ansatzpunkten für die Entwicklung entsprechender Therapien beitragen kann.

Die am 4. November 2020 erteilte 162. Genehmigung erging an Herrn Prof. Dr. Wolfram-Hubertus Zimmermann, Universitätsmedizin Göttingen. Im Rahmen der Forschungsarbeiten sollen hES-Zellen für die Etablierung und Optimierung dreidimensionaler menschlicher In-vitro-Modelle für Skelettmuskel, Bindegewebe, Nervengewebe und Leber genutzt werden. Für die Herstellung der humanen Gewebe sollen die pluripotenten Stammzellen zum einen in verschiedene (Vorläufer-)Zelltypen differenziert und diese anschließend mit Biomaterialien zu dreidimensionalen Strukturen kombiniert werden. Zum anderen sollen Organoid-Ansätze entwickelt werden, bei denen sich die Zellen während des von außen gesteuerten Differenzierungsprozesses selbst zu Gewebe- und Organstrukturen organisieren. Die aus pluripotenten Stammzellen abgeleiteten Gewebemodelle sollen vor allem zur Klärung pharmakologisch-toxikologischer Fragestellungen genutzt werden: Es wird erwartet, dass Prüfverfahren, die auf den angestrebten 3D-Gewebemodellen mit menschlichen Zellen basieren, die Wirkungen und Nebenwirkungen von Arzneistoffen besser vorhersagen können, als dies unter Nutzung von herkömmlichen zweidimensionalen Zellkulturen bislang möglich ist. Zudem könnten derartige Gewebemodelle aber auch Grundlage für die künftige Entwicklung von Gewebeersatztherapien sein. Die angestrebten Gewebemodelle sollen ferner mit entsprechenden Gewebemodellen verglichen werden, die aus humanen induzierten pluripotenten Stammzellen (hiPS-Zellen) hergestellt wurden, um deren Äquivalenz zu bestätigen bzw. Unterschiede bestimmen zu können, was einen Erkenntnisgewinn über die Eignung beider Zelltypen zur In-vitro-Gewinnung der benannten Gewebemodelle erwarten lässt.

Die 163. Genehmigung nach dem StZG, die mit der zeitgleich erteilten 164. Genehmigung und der etwas später erteilten 167. Genehmigung inhaltsgleich ist, erging an drei Personen bzw. Institutionen, die die genehmigten Forschungsarbeiten in enger Kooperation durchführen, an Frau Prof. Dr. Brenda Schulman und Herrn Prof. Dr. Franz-Ulrich Hartl vom Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried, sowie an die Universitätsmedizin Göttingen. Im Rahmen der Forschungsarbeiten sollen die molekularen und zellbiologischen Mechanismen von Zellschädigungen untersucht werden, die bei sog. Synucleinopathien auftreten, also neurodegenerativen Erkrankungen, die mit der Akkumulation von α -Synuclein-Aggregaten in neuronalen Zellen einhergehen, beispielsweise die Parkinsonsche Krankheit oder Multiple Systematrophie. Ziel ist es, detaillierte Einblicke in die subzelluläre Architektur dieser toxischen Proteinaggregate sowie in Defekte zellulärer Signalwege zu erlangen. Hierfür sollen zunächst In-vitro-Modelle für die Bildung von derartigen Proteinaggregaten in aus hES-Zellen abgeleiteten humanen neuronalen Zellen etabliert werden, an denen dann die Feinstruktur der Aggregate detailliert untersucht, ihre toxischen Wirkungen auf die Ultrastruktur der Zellen analysiert und Wechselwirkungspartner dieser Proteinaggregate mit anderen zellulären Molekülen/Strukturen identifiziert werden sollen. Ferner sollen in aus hES-Zellen abgeleiteten neuronalen Zellen die Prozesse des Abbaus von Mitochondrien (Mitophagie) auf ultrastruktureller Ebene untersucht werden. Da die für die Integrität der Zelle erforderliche störungsfreie Mitophagie bei den genannten neurodegenerativen Erkrankungen auf verschiedene Weise beeinträchtigt ist, werden Kenntnisse über molekulare und zelluläre Grundlagen der pathologischen Veränderungen erwartet. Zudem soll der Einfluss der Präsenz von Mutationen, die mit familiär bedingten Formen der Parkinsonschen Krankheit assoziiert sind, insbesondere auf die Mitophagie und die mit ihr verbundenen Signalwege in aus hES-Zellen abgeleiteten neuronalen

Zellen bestimmt werden. Aus den Forschungsarbeiten werden sich voraussichtlich wichtige neue Erkenntnisse über ultrastrukturelle Eigenschaften und Besonderheiten der genannten Aggregate, über ihre Ausbreitung im Gehirn sowie über ihre zellulären Wechselwirkungspartner ergeben, ferner über die an der Aggregatbildung beteiligten zellulären Komponenten sowie über die molekularen Grundlagen der Aggregattoxizität. Zudem kann aller Voraussicht nach zur Klärung der Frage beigetragen werden, auf welche Weise insbesondere mit der Parkinsonschen Krankheit assoziierte Mutationen an der Mitophagie beteiligte Prozesse verändern bzw. hemmen und so den für die Krankheit spezifischen Phänotyp auslösen oder verstärken können, womit ggf. zur weiteren Aufklärung der molekularen Grundlagen der Pathogenese der Parkinson-Krankheit beigetragen werden kann.

Die 165. Genehmigung nach dem StZG, wurde am 31. März 2021 an Herrn Dr. Claudio Acuna Goycolea, Universitätsklinikum Heidelberg, erteilt. Die Forschungsarbeiten unter Verwendung von hES-Zellen erfolgen vor dem Hintergrund, dass Erkrankungen aus dem Feld der Autismus-Spektrum-Störungen (ASS) häufig mit Mutationen in Genen assoziiert sind, die für Komponenten von Synapsen codieren. Um dies näher untersuchen zu können, sollen hES-Zellen zunächst für die Etablierung von Zellmodellen genutzt werden, an denen molekulare und zellbiologische Effekte spezifischer Mutationen mit potentieller Relevanz für ASS untersucht werden sollen. Hierfür sollen – unter Verwendung eines innovativen und effizienten, auf der CRISPR/Cas-Technologie basierenden Mutageneseverfahrens – für synaptische Komponenten codierende Gene in hES-Zellen (mono- oder biallelisch) mit krankheitsassoziierten Mutationen versehen und entsprechende genetisch stabil veränderte hES-Zell-Linien etabliert werden. Nach umfassender Charakterisierung sollen die hES-Zellen dann in Neurone und Astrozyten differenziert, diese zur Etablierung neuronaler Netzwerke genutzt und in diesen Netzwerken die Effekte der pathogenen Mutationen auf die Eigenschaften der Neurone und auf deren Funktionalität bestimmt werden. Insbesondere sollen umfassende Untersuchungen zur Struktur, Ultrastruktur und zu den elektrischen Eigenschaften der Synapsen durchgeführt, deren molekularen Eigenschaften analysiert und auf diesem Wege mögliche mutationsbedingte Veränderungen in der Struktur und Funktion der Synapsen bestimmt werden. Die Arbeiten sollen zum einen zu neuen Erkenntnissen über die Funktion der jeweiligen Genprodukte für die Bildung, Aufrechterhaltung und Funktion menschlicher Synapsen führen und zu einem besseren Verständnis darüber beitragen, auf welche Weise und in welchem Maße sich mit ASS assoziierte Mutationen auf die Differenzierung und Entwicklung menschlicher neuronaler Zellen auswirken. Zudem soll ein tieferer Einblick in die Konsequenzen ASS-assoziiertter Mutationen auf molekularer Ebene gewonnen werden und die molekularen Konsequenzen möglicher Veränderungen von Molekülen und Signalwegen offengelegt werden, die für eine authentische Synapsen-Struktur und eine störungsfreie synaptische Funktion erforderlich sind.

Gegenstand der Forschungsarbeiten, deren Durchführung dem Universitätsklinikum Erlangen am 19. April 2021 mit der 166. Genehmigung nach dem StZG genehmigt wurde, ist die Untersuchung von aus hES-Zellen abgeleiteten mikroglialen Zellen hinsichtlich ihrer physiologischen Funktionen und ihrer Wechselwirkungen mit Neuronen und Oligodendrozyten in einem hES-Zell-abgeleiteten neuronalen Gewebemodell, in dem sowohl physiologische als auch bestimmte pathologische Bedingungen simuliert werden sollen. Ziel der Forschungsarbeiten ist es, die Ursachen neurodegenerativer und entzündlicher Prozesse unterschiedlicher Provenienz besser als bislang zu verstehen. Untersucht werden sollen zum einen Erkrankungen, die genetisch bedingt sind (beispielsweise die Hereditäre Diffuse Leukenzephalopathie mit Sphäroiden (HDLS)), zum anderen durch virale Infektionen (Humanes Immundefizienz-Virus 1 (HIV-1) und West-Nil-Virus (WNV)) verursachte Entzündungsprozesse und schließlich durch toxische Proteinaggregate ausgelöste inflammatorische Vorgänge, wie sie bei der Parkinson-Krankheit (PD) oder der Multisystematrophie (MSA) auftreten. In einem ersten Teilprojekt soll ein Modell für eine genetisch bedingte neurodegenerative Erkrankung des Menschen (HDLS) etabliert werden. Hierfür sollen für HDLS ursächlichen Mutationen in hES-Zellen erzeugt und die genetisch veränderten Zellen in Richtung mikroglialer Zellen differenziert werden. In Kokultur mit aus hES-Zellen gewonnenen Oligodendrozyten, Neuronen und/oder neuronalen Organoiden sollen dann die Effekte der Mutation(en) auf die Eigenschaften der mikroglialen Zellen sowie auf deren Wechselwirkungen mit den genannten Zelltypen untersucht werden. Durch umfassende Analysen des Transkriptom, Epigenoms, Proteoms und Sekretoms der Zellen sollen entzündliche Prozesse auf molekularer Ebene näher charakterisiert und ggf. krankheitsrelevante Gene und Signalwege identifiziert werden. In einem zweiten Teilprojekt soll anhand von zwei neuronalen Infektionsmodellen die Rolle mikroglialer humaner Zellen bei durch Virusinfektionen ausgelösten entzündlichen Prozessen in humanen neuronalen Gewebemodellen untersucht werden. Hierfür sollen die Kokulturen aus hES-Zell-abgeleiteten Mikrogliazellen und neuronalen Zellen/Organoiden mit HIV-1 bzw. WNV infiziert, die molekularen Ursachen der durch die Infektion bedingten entzündlichen Prozesse näher untersucht und die Effekte von in der klinischen Praxis genutzten anti-retroviral bzw. anti-inflammatorisch wirksamen Substanzen auf zellulärer und molekularer Ebene bestimmt werden. In einem dritten Teilprojekt soll schließlich die Frage beantwortet werden, welche Rolle aktivierte Mikrogliazellen bei der Pathogenese bestimmter Synucleinopathien spielen, wobei PD und MSA als Modellkrankheiten dienen.

Dabei sollen der Einfluss verschiedener Synuclein-Spezies auf den Grad der Entzündung und auf die Wechselwirkungen von Mikroglia und Neuronen (im Falle von PD) bzw. mit Oligodendrozyten (im Falle von MSA) bestimmt und insbesondere die mikrogliale Aktivierung eingehend charakterisiert werden. Mit den Forschungsarbeiten werden wichtige neue Erkenntnisse über die Veränderungen in den Wechselwirkungen von Mikroglia und neuronalen Zellen angestrebt, die während entzündlicher Prozesse im Zentralnervensystem auftreten, wodurch ein besseres Verständnis der Pathogenese entzündlicher degenerativer neuronaler Erkrankungen erlangt werden soll.

Die 168. Genehmigung nach dem StZG erging am 11. Mai 2021 ebenfalls an das Universitätsklinikum Erlangen. Im Rahmen der genehmigten Forschungsarbeiten sollen unter Verwendung von hES-Zellen neurale Zellmodelle entwickelt werden, an denen auf molekularer und zellulärer Ebene die Effekte von Mutationen untersucht werden sollen, die mit sog. präsynaptischen Synaptopathien assoziiert sind. Dabei sollen insbesondere Mutationen in Genen untersucht werden, deren Produkte präsynaptische Komponenten darstellen und Funktionen beim Membrantransport und bei der Membransortierung haben bzw. an der metabolischen Homöostase der Synapse beteiligt sind. Die mit entsprechenden Erkrankungen assoziierten Gene sollen zunächst in hES-Zellen mutiert, die mutierten hES-Zellen charakterisiert und anschließend in Richtung von kortikalen Neuronen, Motoneuronen, Astrozyten und Oligodendrozyten differenziert werden. Die differenzierten Zellen sollen dann zur Etablierung von verschiedenen Ko-Kultursystemen genutzt werden, an denen die Effekte der jeweiligen Mutation auf die Eigenschaften der Neurone untersucht werden sollen, wobei insbesondere Untersuchungen zu den Eigenschaften der Synapsen geplant sind, beispielsweise zu ihrer Bildung und Reifung, zum präsynaptischen Membrantransport, zur Membransortierung sowie zum präsynaptischen Stoffwechsel. Die genehmigten Forschungsarbeiten zielen u. a. auf die Klärung der Frage, welche spezifischen Effekte krankheitsassoziierte Mutationen in Genen für präsynaptische Komponenten auf den präsynaptischen Membrantransport, auf die präsynaptische Membransortierung sowie auf den synaptischen Energiehaushalt in neuronalen Zellen haben. Ferner werden Erkenntnisse über Veränderungen in der neuronalen Differenzierung, der Neurogenese, der Synaptogenese und bei der Entstehung funktionaler neuronaler Netzwerke infolge der Präsenz spezifischer Mutationen in den untersuchten präsynaptischen Genen sowie zu der Frage erwartet, auf welche Weise die Integrität der Präsynapse infolge der Präsenz bestimmter Mutationen gestört wird. Zudem werden die hier angestrebten, komplexen humanen neuronalen Zellmodelle voraussichtlich auch geeignet sein, weitere molekulare und zelluläre Prozesse zu erforschen, die bei der Entstehung von Synaptopathien und anderen neurologischen Erkrankungen ablaufen.

Inhaber der 169. Genehmigung nach dem StZG, die am 21. Juni 2021 erteilt wurde, ist das Universitätsklinikum Essen. Die Forschungsarbeiten sind auf die Aufklärung von Wechselwirkungen gerichtet, die zwischen den Zellen eines Retinoblastoms (eines bereits im frühen Kindesalter auftretenden Tumors des Auges) und den Zellen der Retina bzw. anderen Zellen der Tumormikroumgebung auftreten. Vor dem Hintergrund, dass die Behandlung von Retinoblastomen mit Chemotherapeutika häufig zu einer Resistenzentwicklung im Tumor führt, soll insbesondere geklärt werden, ob und auf welche Art und Weise derartige Wechselwirkungen die Eigenschaften des Tumors verändern und ggf. zur Resistenz des Retinoblastoms gegen Arzneimittel führen können. Zu diesem Zweck soll ein Gewebemodell etabliert werden, in dem aus hES-Zellen differenzierte Retina-Organoiden mit (primären) Retinoblastom-Zellen in Kontakt gebracht werden, wobei retinale Organoiden und Tumorzellen entweder gemeinsam kultiviert oder aber Tumorzellen in die Organoiden injiziert werden, jeweils ggf. auch gemeinsam mit Zellen mikroglialen Ursprungs. Die Konsequenzen der Wechselwirkungen zwischen Tumorzellen und Retina-Organoiden sollen dann auf morphologischer, molekularer und genetischer Ebene umfassend untersucht werden, u. a. bezüglich möglicher Veränderungen in den Genexpressionsmustern der retinalen Zellen oder in Hinblick auf die zelluläre Zusammensetzung der Retinoblastome. Ferner sollen Rezeptor-Liganden-Interaktionen zwischen Tumorzellen, retinalen Zellen und Mikroglia-Zellen identifiziert und deren Einfluss auf das Transkriptom der jeweiligen Zellen bestimmt werden. Schließlich soll überprüft werden, ob und inwieweit sich die Reaktion von Retinoblastom-Zellen auf die Behandlung mit bestimmten Arzneistoffen in Anwesenheit von retinalen Zellen und Mikroglia verändert, wobei vor allem Apoptose- und Zellzyklus-Parameter bestimmt und Veränderungen im Transkriptom analysiert werden sollen. Die genehmigten Forschungsarbeiten werden aller Voraussicht nach zu neuen Erkenntnissen über die Biologie und Pathogenese des Retinoblastoms beitragen, insbesondere über Interaktionen von Tumorzellen mit Retinazellen bzw. Mikrogliazellen, von denen angenommen wird, dass sie eine zentrale Rolle bei der Resistenzentwicklung gegenüber Chemotherapeutika spielen könnten. Durch die geplanten vergleichenden Analysen der Transkriptome können zudem Moleküle und Signalwege identifiziert werden, die für die gegenüber herkömmlichen Retinoblastom-Kulturen veränderten Effekte von Wirkstoffen im hier zu etablierenden, stärker komplexen Tumormodell verantwortlich sind, wodurch Erkenntnisse über Ursachen von Therapieversagen bei Retinoblastomen gewonnen und ggf. Grundlagen für neue Therapieansätze geschaffen werden könnten.

Die 170. Genehmigung nach dem StZG wurde am 31. August 2021 an die Leibniz-Institut DSMZ – Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH – erteilt. Auch in diesem Forschungsvorhaben soll ein Gewebemodell für die Untersuchung des Retinoblastoms etabliert werden, wobei hier die erbliche Variante dieses Tumors im Zentrum des Interesses steht. Zur Etablierung entsprechender Gewebemodelle soll das RB1-Gen in hES-Zellen zunächst auf einem Allel mit artifiziellen oder in Patientinnen und Patienten anzutreffenden Mutationen versehen werden. Entsprechend stabil modifizierte hES-Zellen sollen dann in Richtung retinaler Organoid differenziert und zu verschiedenen Zeitpunkten der Differenzierung durch AAV-vermittelten, zelltypspezifischen Transfer der Komponenten des CRISPR/Cas-Systems mit einer (ggf. ebenfalls patientenspezifischen) weiteren Mutation auf dem zweiten Allel des RB1-Gens versehen werden. Die in beiden Allelen mutierten Zellen sollen dann zu retinalen Organoiden differenziert und diese umfassend charakterisiert werden, beispielsweise hinsichtlich der Präsenz und Charakteristika spezifischer retinaler Zellpopulationen und der korrekten Organisation des retinalen Organoids, bezüglich der Expression retinaler Marker-Gene sowie in Hinblick auf das Transkriptom bestimmter retinaler Zellpopulationen und die Präsenz von Tumor-Antigenen. Ziel ist es, die Effekte verschiedener Mutationen auf die retinale Differenzierung bzw. auf die Desorganisation der sich entwickelnden retinalen Organoid sowie ein ggf. kritisches Zeitfenster für die (zur Auslösung der Tumorentstehung erforderliche) zweite Mutation zu bestimmen. Zudem sollen jene Zelltypen zweifelsfrei identifiziert werden, die bei Vorliegen spezifischer Mutationen den Ausgangspunkt für die Tumorbildung darstellen. Mit den Forschungsarbeiten soll die vermutete Korrelation zwischen der Etablierung der zweiten Mutation in einem spezifischen Zelltyp (Vorläufer von Photorezeptoren des Zapfen-Typs) und der erwarteten Desorganisation des Organoids als Anzeichen für eine Entartung bestätigt werden, was den zellulären Ursprung des Retinoblastoms bestätigen soll. Zudem soll ein möglicherweise kritisches Zeitfenster bestimmt werden, in dem die Inaktivierung der zweiten RB1-Gen-Kopie mit hoher Effizienz zur Tumorentstehung führt. Ferner sollen sich Erkenntnisse darüber ergeben, welche Effekte bestimmte Mutationen im RB1-Gen auf die Eigenschaften des durch sie verursachten Tumors haben, beispielsweise auf das Tumorwachstum oder den Grad der Malignität. Dies kann für die Abschätzung des Tumor-Risikos bei Vorliegen spezifischer Mutationen Bedeutung haben und daher künftig von Nutzen für betroffene Patientinnen und Patienten sein.

Inhaberin der ebenfalls am 31. August 2021 erteilten 171. Genehmigung nach dem StZG ist die Helmholtz Zentrum München GmbH. Im Rahmen der genehmigten Forschungsarbeiten soll untersucht werden, inwieweit und auf welchem Wege Ferroptose, eine durch eisenabhängige Peroxidation von Membran-Phospholipiden bedingte Form des regulierten Zelltodes, die Pluripotenz und die neurale Differenzierung von hES-Zellen beeinflusst. Hintergrund für die vermutete Relevanz der Ferroptose insbesondere für neurale Differenzierungsprozesse beim Menschen sind neuere Erkenntnisse über die Beteiligung von Ferroptose an der Entwicklung verschiedener neurodegenerativer Erkrankungen. Daher soll u. a. untersucht werden, ob die in gängigen Differenzierungsmedien befindlichen und für die Aufrechterhaltung von Pluripotenz und eine erfolgreiche neurale Differenzierung essentiellen Antioxidantien während der Differenzierung der Ferroptose entgegenwirken. In diesem Zusammenhang soll die Differenzierung zu verschiedenen Typen neuronaler Zellen und Gehirn-Organoiden untersucht und der Einfluss der Inhibitoren/Aktivatoren der Ferroptose auf die Morphologie der Zellen/Organoiden sowie auf deren Transkriptom, Proteom, Lipidom und Metabolom sowie auf intrazelluläre Signalwege bestimmt werden. Für den Fall, dass in diesen Untersuchungen Gene oder Signalwege identifiziert werden, die an Ferroptose-hemmenden oder -fördernden Prozessen potentiell beteiligt sind, sollen diese im Detail untersucht werden, beispielsweise durch Überexpression bzw. knockout/knockdown der entsprechenden Gene und durch pharmakologische Aktivierung bzw. Hemmung der identifizierten Signalwege. Die jeweiligen Effekte auf die Pluripotenz und Differenzierung von hES-Zellen zu neuronalen Zellen/Organoiden soll anschließend auf den o. g. Ebenen analysiert werden. Die angestrebten Erkenntnisse sollen zum Verständnis der Bedeutung von Ferroptose für die Aufrechterhaltung der Pluripotenz menschlicher pluripotenter Stammzellen beitragen und einen Beitrag zur Klärung der Frage leisten, welche mit Ferroptose in Zusammenhang stehende Prozesse insbesondere für die neurale Differenzierung – und folglich ggf. bei der Degeneration von Neuronen – eine Rolle spielen, welche Gene daran beteiligt und welche Signalwege involviert sind. Zudem lassen sich aus den angestrebten Forschungsergebnissen ggf. auch Rückschlüsse darauf ziehen, auf welche Weise Ferroptose an krankhaften Veränderungen in menschlichen Neuronen beteiligt ist.

Die 172. Genehmigung nach dem StZG, deren Inhaberin ebenfalls die Helmholtz Zentrum München GmbH ist, wurde am 22. September 2021 erteilt. Die Forschungsarbeiten erfolgen vor dem Hintergrund, dass die Transprogrammierung von glialen Zellen in funktionale Neurone möglicherweise eine Option für die künftige Therapie neurodegenerativer Erkrankungen darstellen könnte. Im Rahmen der genehmigten Forschungsarbeiten sollen daher die molekularen Grundlagen von neuronalen Transprogrammierungsprozessen im Menschen erforscht und die für humane neuronale Zellidentitäten maßgeblichen Faktoren bestimmt werden. Hierfür werden hES-Zellen, die

im Ausland bereits umfangreich genetisch modifiziert wurden, zunächst zu Astrozyten differenziert. Die Aktivität von Genen soll in den aus hES-Zellen abgeleiteten Astrozyten dann moduliert und mögliche Veränderungen der glialen Zellidentität in Richtung einer neuronalen Zellidentität bestimmt werden. Dieser Ansatz soll auch auf aus hES-Zellen gewonnene Neurone verschiedener Spezifität und auf neurale Organoide ausgedehnt werden, um unter anderem Gene/Faktoren zu bestimmen, die für die zelluläre Identität verschiedener neuronaler Subtypen bestimmend sind. Ferner soll getestet werden, ob durch Induktion der Expression bestimmter Gene die gliale Identität von Astrozyten stabilisiert, die Eigenschaften von Neuronen in Richtung einer stärker glialen Identität verändert und die Transprogrammierung von Astrozyten zu Neuronen gehemmt werden kann. Schließlich sollen genomweite Ansätze zur Identifizierung von Faktoren zum Einsatz kommen, die die neuronale Transprogrammierung auslösen, begünstigen oder hemmen. Die Forschungsarbeiten zielen auf die Klärung der wichtigen Frage, ob gliale Zellen durch die gezielte Anschaltung eines oder mehrerer Gene zu Neuronen transprogrammiert werden können und ob eine erfolgreiche neurale Transprogrammierung ggf. eine Kombination von Aktivierung neuronaler Zellidentitätsfaktoren mit gleichzeitiger Hemmung glialer Zellidentitätsfaktoren erfordern würde. Dies ist für die künftige Nutzung derartiger Vorgehensweisen in der regenerativen Medizin von wesentlichem Interesse. Zudem sind Erkenntnisse darüber zu erwarten, auf welchem Wege sich spezifische und bislang in vitro nicht effizient gewinnbare neuronale Subtypen besser als bislang aus pluripotenten Stammzellen herstellen lassen, beispielsweise durch gezielte Induktion spezifischer Genaktivitäten und Transkriptionsnetzwerken.

Die am 7. Oktober 2021 erteilte 173. Genehmigung nach dem StZG erging an die TWINCORE, Zentrum für Experimentelle und Klinische Infektionsforschung GmbH, Hannover. Gegenstand des komplexen Forschungsvorhabens ist die Etablierung eines aus hES-Zellen abgeleiteten Zellmodells für die Infektion menschlicher Hepatozyten mit dem Hepatitis-D-Virus (HDV), an dem bislang ungeklärte Fragen zur Biologie und Immunologie dieses Virus untersucht werden sollen. HDV ist für eine der schwersten Formen der Virushepatitis, die Delta-Hepatitis, verantwortlich. Im Rahmen der genehmigten Forschungsarbeiten sollen hES-Zellen zunächst in Richtung hepatozytenähnlicher Zellen (hepatocyte like cells, HLCs) differenziert, diese umfassend charakterisiert und die Permissivität von HLCs sowie ihrer Vorläuferzellen für eine Infektion mit HDV analysiert werden. Dabei sollen die für die Infektion durch HDV erforderlichen Wirtszellfaktoren identifiziert und deren Relevanz für die Infektion mit HDV bestätigt werden. Zudem soll untersucht werden, ob und inwieweit bestimmte Wege der angeborenen Immunantwort, durch die eine virale Infektion kontrolliert werden kann, in HLCs funktionell aktiv sind und durch eine HDV-Infektion aktiviert werden können. Schließlich sollen dann stärker authentische HLC-basierte Zellmodelle für die Infektion mit HDV etabliert werden, in denen eine Ko-Infektion mit einem für die Bildung infektiöser Partikel erforderlichen Helfervirus (insbesondere mit dem Hepatitis-B-Virus, HBV) erfolgt bzw. in denen die für eine produktive Infektion erforderlichen HBV-Gene zur Expression gebracht werden. Ziel des Forschungsvorhabens ist es, ein relevantes HDV-Infektionsmodell zu etablieren sowie Kenntnisse darüber zu gewinnen, welche Prozesse der angeborenen Immunantwort durch eine HDV-Infektion in menschlichen Leberzellen aktiviert werden. Zudem sollen Genexpressionsprogramme und Signalwege identifiziert werden, die durch eine HDV-Infektion in infizierten und nicht-infizierten HLCs induziert, moduliert oder inhibiert werden. Angesichts der mangelnden Verfügbarkeit authentischer Zellmodelle für die Infektion mit HDV ist bereits die Etablierung des Zellmodells ein hochrelevantes Forschungsziel, dessen Erreichung dazu beitragen kann, das Verständnis der zwischen HDV und seinen Wirtszellen auftretenden Wechselwirkungen zu erweitern, die Aufklärung der Pathogenität des Virus voranzutreiben und Grundlagen für neuartige Therapiekonzepte für diese schwere Infektionskrankheit zu entwickeln.

Die 174. Genehmigung nach dem StZG wurde am 27. Oktober 2021 an Herrn Professor David Keays, Ludwig-Maximilians-Universität München, erteilt. Gegenstand der genehmigten Forschungsarbeiten ist die Untersuchung des Effektes von Mutationen in Genen, die für Mikrotubuli-Assoziierte Proteine (MAP) codieren, auf die neurale Differenzierung von hES-Zellen und auf die Entwicklung menschlicher neuronaler Organoide. Dabei sollen insbesondere Mutationen in den Genen für Mikrotubuli-assoziierte Serin/Threonin-Kinasen (MAST) untersucht werden, die u. a. mit einer Vergrößerung des Corpus Callosum und daraus resultierenden Entwicklungsstörungen und neuronalen Fehlfunktionen in Zusammenhang stehen. Die Gene für entsprechende MAST-Proteine sollen in hES-Zellen zunächst ausgeschaltet oder patientenspezifisch mutiert und die Zellen dann zu zerebralen Organoiden und zu Corpus-Callosum-Organoiden entwickelt werden, die während verschiedener Entwicklungsphasen umfassend bezüglich der Genese und Migration neuronaler Zellen, der neuronalen Differenzierung sowie des Grades der Apoptose analysiert werden. Um die Effekte der MAST-Gen-Mutationen auf molekularer Ebene im Detail zu bestimmen, sollen das Transkriptom, das Proteom und das Phosphoproteom in verschiedenen Entwicklungsphasen der Organoide analysiert, Veränderungen in der Kinase-Aktivität der MAST-Proteine bestimmt und zelluläre Wechselwirkungspartner der MAST-Proteine identifiziert werden. Signalwege, an denen die Wechselwirkungspartner der MAST-Proteine beteiligt sind, sollen dann näher untersucht und der Effekt von Mutationen in den

MAST-Proteinen auf deren Integrität bestimmt werden. Es wird erwartet, dass die Forschungsarbeiten zu einem verbesserten Verständnis der zellulären Prozesse beitragen, die infolge von Mutationen in Genen für wichtige Proteinkinasen beeinträchtigt sind, wodurch Veränderungen in der neuronalen Entwicklung verursacht und in der Folge neurologische Entwicklungsstörungen/Erkrankungen ausgelöst werden können.

Inhaber der ebenfalls am 27. Oktober 2021 erteilten 175. Genehmigung nach dem StZG ist das Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie, Dortmund. Gegenstand der Forschungsarbeiten ist die Ergründung der molekularen Mechanismen, die die artspezifische Dynamik der Zelldifferenzierung regulieren. Dies soll durch vergleichende Analysen an murinen und humanen embryonalen Stammzellen erfolgen. Hierfür soll zunächst ein standardisiertes experimentelles System etabliert werden, mit dem die Dynamik der Zelldifferenzierung und der zelluläre Energieumsatz unter vergleichbaren Bedingungen in Stammzellen aus Maus und Mensch gemessen werden kann. Anschließend soll dieses System genutzt werden, um die Mechanismen artspezifischer Differenzierungsdynamiken zu untersuchen. Hierfür soll der zelluläre Metabolismus durch Inhibitoren gehemmt oder durch genetische Manipulation der Zellen aktiviert und die Effekte auf Pluripotenz und Differenzierungsgeschwindigkeiten bestimmt werden. Mittels umfangreicher Transkriptomanalysen sollen mögliche Unterschiede in Ausmaß und Dynamik der Expression orthologer Gene in murinen und humanen Zellen bestimmt werden, die vor allem mit dem Zellstoffwechsel in Zusammenhang stehen. Dabei identifizierte (unterschiedlich aktive) Kandidatengene sollen hinsichtlich ihrer Aktivität moduliert und die Effekte auf Pluripotenz, metabolische Aktivität und Differenzierungsdynamik bestimmt werden. Ziel ist die Identifizierung und Validierung von Genen, deren Produkte über eine Modulation der metabolischen Aktivität die Differenzierungsgeschwindigkeit beeinflussen können. Im Weiteren sollen ggf. auch pluripotente Stammzellen weiterer Spezies in die Untersuchungen einbezogen werden. Insgesamt zielen die Forschungsarbeiten auf die Gewinnung neuer Erkenntnisse über die genetischen und molekularen Ursachen unterschiedlicher Entwicklungsdynamiken in verschiedenen Säugerspezies.

Für die folgenden bereits in der Vergangenheit genehmigten Forschungsvorhaben wurden die Genehmigungen auf Antrag hin inhaltlich erweitert und die entsprechenden Einträge im Register nach § 11 StZG auf den Internetseiten des Robert Koch-Instituts ggf. ergänzt bzw. aktualisiert:

90. Genehmigung nach dem StZG, erweitert am 10. Februar 2021. Die hier ursprünglich genehmigten Forschungsarbeiten zielen u. a. auf die Entwicklung effizienterer Vorgehensweisen für die Gewinnung von pankreatischen Beta-Zellen aus hES-Zellen und die Erlangung eines tieferen Verständnisses über die dieser Differenzierung zugrundeliegenden molekularen Prozesse. Dieses Ziel bleibt unverändert, allerdings sollen zur Beurteilung der Differenzierungseffizienz sowie der physiologischen Funktion von aus hES-Zellen gewonnenen Beta-Zellen spezifische Reportergene eingesetzt, die Aktivität von an der pankreatischen Entwicklung beteiligten Genen in hES-Zellen moduliert und hES-Zellen auch für die Herstellung endothelialer Zellen verwendet werden. Der Einfluss von Endothelzellen auf die Reifung und Funktion von Beta-Zellen soll im Kontext pankreatischer Cluster detailliert untersucht werden. Aus den Ergebnissen der Arbeiten werden weiterhin neue Erkenntnisse über molekulare und zellbiologische Prozesse erwartet, die insbesondere an der Reifung pankreatischer Vorläuferzellen und ihrer Entwicklung zu funktionsfähigen Zellen des Pankreas beteiligt sind.

102. Genehmigung nach dem StZG, erweitert am 28. Januar 2020. Gegenstand der genehmigten Forschungsarbeiten ist u. a. die Entwicklung von Verfahren zur Anreicherung von aus hES-Zellen abgeleiteten neuralen Vorläuferzellpopulationen, die zunächst ausschließlich in vitro charakterisiert werden sollten. In Erweiterung der bislang genehmigten Arbeiten soll nun auch eine Charakterisierung der Zellen in vivo erfolgen, und zwar nach Transfer in Hühnerembryonen. Die Arbeiten dienen weiterhin der Gewinnung besser charakterisierter und reiner Populationen menschlicher neuraler Vorläuferzellen, als sie bislang verfügbar sind.

120. Genehmigung nach dem StZG, erweitert am 11. Mai 2021. Ziel des Forschungsvorhabens ist die Erlangung eines besseren Verständnisses molekularer Prozesse, die bei der Diversifizierung menschlicher Motoneurone ablaufen. Ferner sollen verbesserte Vorgehensweisen für eine effiziente In-vitro-Differenzierung von pluripotenten Stammzellen des Menschen in spezifische Typen von Motoneuronen entwickelt und erprobt werden. In Erweiterung der ursprünglich genehmigten Forschungsarbeiten soll nun die Rolle verschiedener HOX-Gene für die Entwicklung positionsspezifischer Motoneuronen im Detail untersucht werden. Hierfür sollen zum einen Reportergene in die Loci verschiedener HOX-Gene eingebracht werden, zum anderen sollen HOX-Gene überexprimiert und damit die Differenzierung von Motoneuronen spezifischer Identitäten angestoßen bzw. verstärkt werden. Die genetisch veränderten Zellen sollen dann zur Bildung von positionsspezifischen Rückenmark-Organoiden genutzt werden, die hinsichtlich ihrer weiteren Entwicklung und der Aktivität der in ihnen aktiven Signalwege analysiert werden sollen. Zudem soll der Einfluss einer Vaskularisierung der Organoiden auf die Entwicklung und funktionale Reifung von Rückenmark-Organoiden untersucht und die Prozesse analysiert werden, die bei der Entwicklung

der motorischen Endplatte (also des Kontaktes von Nerven- und Muskelzellen) ablaufen. Auch aus den Ergebnissen dieser Arbeiten werden neue Erkenntnisse über die der neuromuskulären Entwicklung zugrundeliegenden biologischen Mechanismen erwartet.

123. Genehmigung nach dem StZG, erweitert am 2. April 2020. Während die Untersuchung zu den Folgen ionisierender Strahlung, ggf. in Kombination mit Tumormedikamenten, bislang allein an Populationen spezifischer Neurone bzw. an zerebralen Organoiden erfolgte, sollen im Rahmen der genehmigten Forschungsarbeiten durch Kultivierung von Neuronen bzw. zerebralen Organoiden mit Tumorzellen sowie durch Vaskularisierung der Organoiden stärker realitätsnahe Modelle für die Bewertung von Strahlenschäden auf humane neurale Zellen etabliert werden. Hierfür sollen aus hES-Zellen abgeleitete zerebrale Organoiden mit primären Tumorzellen kokultiviert und nach Bestrahlung bzw. Behandlung mit Zytostatika bezüglich möglicher Schäden analysiert werden. Ferner soll in den Organoiden eine Vaskularisierung angeregt und mögliche toxische Effekte von Strahlung/Zytostatika auf die Neurone ermittelt werden. Zudem sollen weitere Tumormodelle durch gezielte Überexpression spezifischer Onkogene bzw. durch Hemmung der Expression von Tumorsuppressor-Genen in den Zellen zerebraler Organoiden induziert und diese für die Untersuchung möglicher schädigender Wirkungen von Strahlung/Zytostatika auf neurale Zellen genutzt werden. Mit den nunmehr genehmigten Forschungsarbeiten sollen auch weiterhin neue Erkenntnisse über die zellbiologischen und molekularen Prozesse gewonnen werden, die in menschlichen Nervenzellen bei der Bestrahlung bzw. Chemotherapie von Hirntumoren auftreten.

125. Genehmigung nach dem StZG, erweitert am 21. Januar 2020 und 24. Februar 2021. Die ursprünglich genehmigten Forschungsarbeiten zielen auf die Aufklärung der Rolle des humanen endogenen Retrovirus H (HERV-H) bei der Aufrechterhaltung der Pluripotenz von hES-Zellen. Das Ziel der Forschungsarbeiten bleibt grundsätzlich unverändert, jedoch hat sich aufgrund von im Forschungsvorhaben erlangten neuen Kenntnissen die Notwendigkeit zur Durchführung ergänzender Forschungsarbeiten ergeben. So wurde u. a. festgestellt, dass das Produkt des durch HERV-H regulierten Gens ESRG mit Proteinen interagiert, die an der Aufrechterhaltung der Telomeren beteiligt sind, was einen Mechanismus der Aufrechterhaltung der Pluripotenz über die Regulation der Länge der Telomeren vermuten lässt. Ferner wird nunmehr vermutet, dass die Präsenz von HERV-H die Aktivität phylogenetisch junger transponierbarer Elemente kontrolliert, frühe embryonale Zellen vor Apoptose schützt und auch auf diesem Wege zur Aufrechterhaltung der Pluripotenz beiträgt. Dies soll durch die ergänzend genehmigten Arbeiten experimentell bestätigt werden. Im Rahmen einer erneuten Erweiterung der Genehmigung wurde zudem die Verwendung von hES-Zellen zur Durchführung von Kontrollexperimenten genehmigt, mit denen die Forschungsergebnisse weiter verifiziert werden sollen. Die Arbeiten sollen auch weiterhin zu einem besseren Verständnis darüber beitragen, auf welche Weise HERV-H an der Regulation der Pluripotenz menschlicher Stammzellen beteiligt ist.

Weitere Angaben zum Gegenstand der im Berichtszeitraum erteilten Genehmigungen sowie zu den maßgeblichen Gründen, die jeweils zu einer Bejahung der Frage nach dem Vorliegen der Bedingungen des § 5 StZG geführt haben, sind im Register nach § 11 StZG auf den Internetseiten des Robert Koch-Instituts veröffentlicht¹.

1.3 Erfüllung der Voraussetzungen nach § 4 StZG

Im Rahmen der Bewertung von Anträgen nach dem StZG ist jeweils zu prüfen, ob die hES-Zellen, deren Einfuhr und/oder Verwendung beantragt wurde, den Bedingungen des § 4 StZG entsprechen. Die Prüfung erfolgt auf Grundlage einer vom Antragsteller beigebrachten Dokumentation über die entsprechenden hES-Zell-Linien. In Fällen, in denen die Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen beantragt wird, über die dem RKI bereits eine entsprechende Dokumentation aus einem vorherigen Antragsverfahren vorliegt, ist eine erneute Erbringung der entsprechenden Dokumentation nicht erforderlich. Im Berichtszeitraum wurden die Einfuhr und/oder Verwendung von insgesamt 21 verschiedenen hES-Zell-Linien genehmigt; für alle Linien lag die nach § 6 Absatz 2 Nummer 3 StZG erforderliche Dokumentation am RKI bereits vor. Gründe nach § 4 Absatz 2 Nummer 2 StZG standen der Einfuhr und Verwendung der hES-Zellen jeweils nicht entgegen. Tatsachen, nach denen die Genehmigung entsprechend § 4 Absatz 3 StZG zu versagen wäre, waren jeweils ebenfalls nicht bekannt.

Vollständige Angaben darüber, welche humanen embryonalen Stammzell-Linien in den jeweiligen Forschungsvorhaben verwendet werden dürfen, finden sich im Register nach § 11 StZG auf den Internetseiten des RKI².

¹ http://www.rki.de/DE/Content/Gesund/Stammzellen/Register/register_node.html

² http://www.rki.de/DE/Content/Gesund/Stammzellen/Register/register_node.html

Für die Durchführung der meisten Forschungsvorhaben wurden auch im aktuellen Berichtszeitraum die Einfuhr und Verwendung mehr als einer humanen embryonalen Stammzell-Linie beantragt, durchschnittlich zwischen drei und vier Linien (3, 34). Dies ist weiterhin u. a. dadurch begründet, dass sich verschiedene hES-Zell-Linien bezüglich ihrer Charakteristika unterscheiden können, beispielsweise in ihrer Fähigkeit zur Differenzierung in einen bestimmten Zelltyp. Da das jeweilige Differenzierungspotential nicht in jedem Fall bekannt ist, kann erst im Laufe des Forschungsvorhabens ermittelt werden, welche hES-Zell-Linie für die Beantwortung der jeweiligen Forschungsfrage am besten geeignet ist. Zudem können Schwierigkeiten bestehen, Zugang zu bestimmten hES-Zell-Linien zu erlangen bzw. die hES-Zellen in der gewünschten Qualität (z. B. in geringer Passagenzahl) zu erhalten.

Seit dem Inkrafttreten des Gesetzes zur Änderung des Stammzellgesetzes vom 14. August 2008 (BGBl I S. 1708) besteht infolge der Verschiebung des Stichtags die Möglichkeit der Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen, die nach dem 1. Januar 2002 und vor dem 1. Mai 2007 gewonnen wurden (im Folgenden als „neue“ hES-Zell-Linien bezeichnet). Zuvor war die Nutzung nur weniger „alter“ hES-Zell-Linien statthaft, d. h. von Linien, die vor dem im StZG ursprünglich festgesetzten Stichtag gewonnen worden waren, also vor dem 1. Januar 2002. Für alle im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben wurde die Einfuhr und/oder Verwendung wenigstens einer vor dem 1. Januar 2002 hergestellten („alten“) hES-Zell-Linie beantragt und genehmigt, während in 13 Forschungsvorhaben (59 Prozent) auch Linien zum Einsatz kommen, die zwischen dem 1. Januar 2002 und 31. Mai 2007 abgeleitet worden waren. 52 Prozent der hES-Zell-Linien, deren Einfuhr und/oder Verwendung im Berichtszeitraum genehmigt wurden, waren „neue“ Linien. Insgesamt wurden bis zum 31. Dezember 2021 die Einfuhr von 40 verschiedenen „neuen“ hES-Zell-Linien und ihre Verwendung in insgesamt 112 Forschungsvorhaben entweder im Zusammenhang mit der Entscheidung über einen neuen Antrag oder im Rahmen der Erweiterung bereits bestehender Genehmigungen nach dem StZG bewilligt.

Die Beschränkung für in Deutschland tätige Forscherinnen und Forscher auf die bis zum 31. Mai 2007 hergestellten hES-Zell-Linien stellt zwar kein so gravierendes Forschungshemmnis dar, dass dadurch die Forschung an und mit hES-Zellen unmöglich würde. Da die Aussichtslosigkeit entsprechender Antragsbegehren nach derzeitiger Rechtslage offensichtlich ist, wurden Anträge auf Einfuhr und Verwendung von hES-Zell-Linien, die erst nach dem 1. Mai 2007 abgeleitet worden sind, auch weiterhin nicht gestellt. Für die große Mehrzahl der im Berichtszeitraum beantragten Forschungsvorhaben ist die Nutzung vor langer Zeit etablierter und in vielerlei Hinsicht gut charakterisierter hES-Zellen hinreichend, was sich in der vielfachen Nutzung „alter“ hES-Zell-Linien widerspiegelt. So soll die Linie H9, die bereits 1998 etabliert wurde, in 20 der 22 im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben genutzt werden (91 Prozent), die ebenfalls 1998 hergestellte Linie H1 in 14 Projekten (63,6 Prozent). Untersucht werden dabei überwiegend grundlegende Fragestellungen ohne unmittelbare Bezüge zu künftiger medizinischer Anwendung. Beschränkend wirkt sich die Stichtagsregelung hingegen in den folgenden Fällen aus:

- a) Eine Fortsetzung von Forschungsprojekten, die im Ausland unter Verwendung nicht stichtagsgerechter hES-Zell-Linien begonnen wurden und die – durch Wechsel an eine Forschungseinrichtung in Deutschland – hierzulande weitergeführt werden sollen, ist nach gegenwärtiger Rechtslage nicht möglich.
- b) Die Stichtagsregelung ist für die Klärung einiger spezifischer Fragestellungen, die in genehmigten Forschungsvorhaben bearbeitet werden, beispielsweise im Zusammenhang mit naiver Pluripotenz, hinderlich. Für derartige Forschungsvorhaben wäre die Nutzung von hES-Zellen wünschenswert, die bereits unter für naive Pluripotenz erforderlichen Kulturbedingungen etabliert wurden und daher ein weniger artifizielles System darstellen als die durch Reprogrammierung geprägte hES-Zellen gewonnenen stichtagsgerechten, naiven hES-Zellen; allerdings wurden derartige natürlich-naive hES-Zell-Linien erst nach dem in Deutschland geltenden Stichtag etabliert.
- c) Es existieren mehrere nach dem 1. Mai 2007 abgeleitete hES-Zell-Linien, die aufgrund ihrer Ableitung unter den Bedingungen guter Herstellungspraxis (good manufacturing practice, GMP) deutlich besser für die immer stärker in den Blick rückende Herstellung klinisch nutzbaren Materials geeignet sind als vor dem Stichtag hergestellte hES-Zellen. Die Verwendung von nach dem 1. Mai 2007 etablierten hES-Zell-Linien wäre also insbesondere in jenen Fällen erforderlich, in denen bestimmte Fragen der Entwicklungsbiologie des Menschen oder der Etablierung spezifischer Voraussetzungen für die Entwicklung und Produktion von Zelltherapeutika unter GMP-Bedingungen beantwortet werden sollen.

Es sei darauf hingewiesen, dass es im Berichtszeitraum auch mit Blick auf die Situation außerhalb Deutschlands weiterhin keine Anhaltspunkte dafür gibt, dass die nach wie vor sehr umfangreiche internationale hES-Zell-Forschung einen ständig wachsenden Bedarf an neuen hES-Zell-Linien verursacht. Vielmehr wurden trotz der nach wie vor intensiven weltweiten Forschung an hES-Zellen in den vergangenen beiden Jahren weltweit nur wenige

neue hES-Zell-Linien hergestellt: während im Berichtszeitraum 2010/2011 die Herstellung von mehr als 250 neuen hES-Zell-Linien in circa 50 wissenschaftlichen Publikationen beschrieben wurden, waren es im aktuellen Berichtszeitraum (2020/2021) lediglich circa 20 Linien, deren Gewinnung in weniger als 10 wissenschaftlichen Publikationen beschrieben ist. Auch für die Forschung im Ausland werden zum ganz überwiegenden Teil ältere und gut charakterisierte hES-Zell-Linien verwendet; hES-Zell-Linien, die in der Literatur innerhalb der vergangenen 5 Jahre (2017 bis 2021) erstmals beschrieben wurden, wurden nach Kenntnis des RKI nur in einem Bruchteil der seither publizierten Studien verwendet.

1.4 Erfüllung der Voraussetzungen nach § 5 StZG

Im Rahmen der Prüfung der Genehmigungsvoraussetzungen nach § 6 Absatz 4 Nummer 2 StZG hat die Genehmigungsbehörde bei allen im Berichtszeitraum abschließend bewerteten Anträgen in Übereinstimmung mit den jeweiligen Stellungnahmen der Zentralen Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES) die ethische Vertretbarkeit der betreffenden Forschungsvorhaben im Sinne der Erfüllung der gesetzlichen Voraussetzungen nach § 5 StZG bejaht.

Hochrangigkeit der Forschungsziele

Die Forschungsarbeiten, die im Rahmen der 22 im Berichtszeitraum genehmigten Vorhaben unter Verwendung von hES-Zellen durchgeführt werden sollen, zielen mehrheitlich weiterhin auf einen hochrangigen Erkenntnisgewinn zu verschiedenen Fragestellungen der Grundlagenforschung. Weiterhin sollen Fragen nach den molekularen Grundlagen von Differenzierung und Entwicklung menschlicher Zellen beantwortet werden, häufig in Zusammenhang mit Fragen nach den Konsequenzen von Mutationen oder einer Fehlregulation von Signalwegen für die Pathogenese verschiedener Erkrankungen des Menschen. hES-Zellen werden nach wie vor zur Entwicklung verbesserter Vorgehensweisen für die Bereitstellung ausreichender Mengen differenzierter und funktional aktiver humaner Zellen genutzt, ferner für die Entwicklung von Zellmodellen für verschiedene Erkrankungen des Menschen. Ein Teil der genehmigten Forschungsvorhaben zielt dabei auch auf die Klärung konkreter Fragestellungen, die mit einem künftigen Einsatz von hES-Zellen als Ausgangsmaterial für Zelltherapeutika in Zusammenhang stehen. Schließlich wurden hES-Zellen auch im vergangenen Berichtszeitraum als Standard- und Referenzmaterial für die Klärung von Forschungsfragen unter Nutzung von hiPS-Zellen benötigt. Im Berichtszeitraum wurden Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen im Wesentlichen für die Klärung folgender Fragestellungen genehmigt:

Erstens zielen einige der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben nach wie vor auf die Klärung von Forschungsfragen, die die molekularen Grundlagen der Aufrechterhaltung der Pluripotenz von hES-Zellen und spezifische molekulare Veränderungen während früher Differenzierungsprozesse betreffen. Dabei soll in einem Vorhaben die Rolle zirkulärer RNA-Spezies bei der Aufrechterhaltung der Pluripotenz und beim Übergang in stärker differenzierte Entwicklungsstadien beleuchtet werden, in einem weiteren Vorhaben sollen die bei Ferroptose ablaufenden Prozesse hinsichtlich ihrer Relevanz für die Pluripotenz und frühe neurale Differenzierung untersucht werden. In einem dritten Vorhaben sollen die molekularen Ursachen für unterschiedliche Dynamiken der Zelldifferenzierung in verschiedenen Spezies ergründet werden. Ferner sollen in mehreren Vorhaben neuronale Entwicklungsprozesse im Rahmen neuraler Organoiden untersucht und dabei insbesondere die Rolle von Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Zelltypen, beispielsweise für die Entwicklung und Funktion von Synapsen, näher beleuchtet werden. Mit diesen Forschungsarbeiten soll vorrangig zu einem verbesserten Verständnis molekularer Grundlagen der Pluripotenz und spezifischer Differenzierungsprozesse von hES-Zellen beigetragen werden. Zudem sollen Erkenntnisse über die molekularen Grundlagen von Differenzierungsentscheidungen menschlicher Zellen gewonnen und die Rolle bestimmter Proteine, RNAs und/oder Signalübertragungswege sowie von Zell-Zell-Wechselwirkungen bei der Auslösung und beim Fortgang von Differenzierungsprozessen aufgeklärt werden. Daraus lassen sich dann voraussichtlich Schlussfolgerungen hinsichtlich früher Prozesse der menschlichen Embryonalentwicklung ziehen.

Zweitens zielt der ganz überwiegende Teil der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben darauf, humane Zellmodelle für die Aufklärung von molekularen und zellulären Ursachen von Erkrankungen bereitzustellen und funktionale Konsequenzen von Gendefekten für die Pathogenese von Erkrankungen des Menschen auf zellulärer Ebene zu bestimmen. Dabei stehen weiterhin vor allem neurologische Erkrankungen und Entwicklungsstörungen im Mittelpunkt des Interesses (beispielsweise Synaptopathien, degenerative Erkrankungen des Zentralnervensystems, mit Gendefekten assoziierte Entwicklungsstörungen). Ein Projekt zielt auf die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen einem spezifischen Gendefekt und der Entwicklung eines juvenilen Diabetes mellitus. In diesen Vorhaben sollen in hES-Zellen üblicherweise ein genetischer Defekt in (ggf. potentiell)

krankheitsrelevanten Genen erzeugt und die Konsequenzen für die Differenzierung der Zellen sowie die Funktionalität der differenzierten Zellen bestimmt werden. Die rasante Entwicklung neuer Verfahren auf dem Feld des gene editing (insbesondere CRISPR/Cas) und erhebliche Fortschritte insbesondere bei der Etablierung neuraler Organoiden bilden hierfür eine wichtige Grundlage. Erwartet werden neue Erkenntnisse über Prozesse, die bei der jeweils interessierenden Erkrankung auf zellulärer Ebene auftreten, wodurch deren molekulare Pathogenese besser als bislang verstanden werden soll. Die Arbeiten sollen teils auch zur Identifizierung möglicher Zielstrukturen (targets) für pharmakologische Interventionen führen und damit letztlich zur Entwicklung neuer therapeutischer Verfahren zur Behandlung dieser schweren und teils nur inadäquat behandelbaren Erkrankungen beitragen.

Drittens sollen in einigen Forschungsvorhaben Zellmodelle für die Untersuchung der Ursachen bzw. der Pathogenese maligner Erkrankungen etabliert werden. Dabei geht es in einem Fall um die Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen Neuronen und Zellen eines Glioblastoms, wobei insbesondere die mit der Progression des Glioblastoms in Zusammenhang stehende Synapsenbildung zwischen diesen Zellen detailliert untersucht werden soll. In zwei Forschungsvorhaben sollen die genetischen und molekularen Grundlagen der Entwicklung des Retinoblastoms und mögliche molekulare und zellbiologische Ursachen für die häufig beobachtete Therapieresistenz von Retinoblastomen untersucht werden. Diese Arbeiten haben neben einem tieferen Verständnis der Tumor-Pathogenese auch das Ziel, mögliche neue Angriffspunkte für Therapien zu identifizieren.

Viertens sollen hES-Zellen zum Einsatz kommen, um Gewebe-Modelle für schwerwiegende Infektionskrankheiten des Menschen zu etablieren und an diesen molekulare Vorgänge von Virusinfektionen zu studieren. In einer entsprechenden Studie werden hierfür intestinale Organoiden aus hES-Zellen hergestellt, um die zellbiologischen und molekularen Vorgänge bei Infektion des Verdauungstraktes durch SARS-Cov-2 zu untersuchen. Zum anderen wird ein Leberzell-Modell etabliert, an dem die Infektion mit dem Hepatitis-Delta-Virus insbesondere unter dem Gesichtspunkt der Aktivierung des angeborenen Immunsystems analysiert werden soll. Beide Projekte zielen auf ein vertieftes Verständnis der Pathogenese der viralen Infektion, aber auch auf die Identifizierung antiviral wirksamer Substanzen zur Behandlung dieser Infektionskrankheiten.

Fünftens zielt ein Vorhaben vorrangig auf die Gewinnung von aus humanen pluripotenten Stammzellen (hPS-Zellen) abgeleiteten Zellen zur Entwicklung dreidimensionaler Zell- und Gewebemodelle, die als Grundlage für prädiktive toxikologische und pharmakologische In-vitro-Testsysteme dienen können. Derartige menschliche In-vitro-Modelle bilden die In-vivo-Situation im Menschen deutlich besser nach als bislang verwendete Testsysteme. So könnten zukünftig neue Wirkstoffe in einer Umgebung getestet werden, die der Situation im Menschen deutlich näherkommt, als dies zweidimensionale menschliche Zellkulturen oder Versuchstiere können. Dies ist für eine präzisere Bewertung der Risiken und der Wirksamkeit neuer Wirkstoffe bedeutsam.

Sechstens werden in einigen der im aktuellen Berichtszeitraum bewerteten Projekte die Forschungsarbeiten unter Verwendung von hES-Zellen mit der ausdrücklichen Zielstellung verfolgt, Zellprodukte herzustellen und zu testen, die auch für künftige klinische Anwendungen zum Einsatz kommen können. In einem Projekt werden aus hES-Zellen abgeleitete kardiale Zellen hinsichtlich ihrer therapeutischen Wirksamkeit in einem Großtiermodell für ischämische Herzerkrankungen getestet, in einem weiteren Projekt sollen Verfahren für die Herstellung dreidimensionaler menschlicher In-vitro-Gewebemodelle für Skelettmuskel, für Bindegewebe, für Nervengewebe und für die Leber auf verschiedenen Wegen etabliert werden, die mittelfristig auch für therapeutische Verfahren Anwendung finden können. Zudem soll untersucht werden, ob und inwieweit sich aus hES- und hiPS-Zellen hergestellte Zellen/Gewebe/Organoiden gleichen bzw. in welchen Parametern sie sich voneinander unterscheiden. Zwar zielen diese Vorhaben auch weiterhin nicht unmittelbar auf die Durchführung entsprechender klinischer Studien, jedoch sollen Vorgehensweisen entwickelt werden, um die für klinische Anwendungen erforderlichen Zellen in der erforderlichen Menge, Reinheit und Qualität bereitstellen zu können. In einem weiteren Vorhaben soll ein innovativer Ansatz zur Transprogrammierung neuraler Zellen etabliert und unter verschiedenen Aspekten beleuchtet werden. Obwohl das primäre Ziel der Arbeiten in der Erlangung eines vertieften Verständnisses der molekularen Grundlagen neuraler Zellidentitäten erfolgt, werden die Arbeiten auch mit dem Ziel durchgeführt, diesen Ansatz hinsichtlich seiner Übertragbarkeit in die klinische Praxis zu untersuchen.

Die Schaffung materieller Grundlagen für die klinische Anwendung hES-Zell-basierter Zell- und Gewebeprodukte ist angesichts der internationalen Entwicklung auf diesem Gebiet weiterhin von großer Relevanz; allerdings werden klinische Studien auf der Basis von hES-Zell-abgeleiteten Zellprodukten in Deutschland bislang nicht durchgeführt. Hingegen wurden bis Ende des Jahres 2021 außerhalb Deutschlands wenigstens 47 derartige klinische Studien begonnen, in denen aus hES-Zellen gewonnene Zellen/Gewebe zur Therapie bislang unheilbarer Krankheiten genutzt werden. Als Teil klinischer Forschung können klinische Studien, die auf hES-Zellen basieren, nach dem StZG zwar zulässig sein, soweit die Genehmigungsvoraussetzungen erfüllt sind. Jedoch ist – aufgrund des Forschungsvorbehaltes des StZG – eine routinemäßige Nutzung von hES-Zellen zur Herstellung eines

in klinischen Studien geprüften und für therapeutische Zwecke einsetzbaren Zellproduktes in Deutschland nicht zulässig. Angesichts des erheblichen Aufwandes, der mit der klinischen Prüfung neuer Zell- und Gewebeprodukte verbunden ist, werden entsprechende Studien mangels wirtschaftlicher Verwertbarkeit der Ergebnisse in Deutschland bei unveränderter Gesetzeslage vermutlich auch künftig nicht durchgeführt. Zwar ist nach § 5 Nummer 1 StZG das Ziel der Erlangung von wissenschaftlichen Erkenntnissen für die Entwicklung neuer therapeutischer Verfahren zur Anwendung bei Menschen geeignet, die Hochrangigkeit eines Forschungsvorhabens als eine der Voraussetzungen für die Verwendung von hES-Zellen in Deutschland zu begründen. Die Herstellung von auf hES-Zellen basierenden Medizinprodukten, die im Rahmen klinischer Studien erfolgreich geprüft wurden und ggf. zur Behandlung von bislang unheilbaren Erkrankungen eingesetzt werden könnten, ist in Deutschland jedoch nicht statthaft.

Insgesamt ist festzuhalten, dass auch mit den im zehnten Berichtszeitraum genehmigten Forschungsarbeiten fast ausschließlich jeweils ein eigenständiger Erkenntnisgewinn über hES-Zellen bzw. über aus hES-Zellen abgeleitete Zellen angestrebt wird. Nur in einem Teil der genehmigten Forschungsvorhaben (vier von 22) werden hES-Zellen gemeinsam mit hiPS-Zellen eingesetzt. Dabei sollen in drei Vorhaben die unter Nutzung von hES-Zellen gewonnenen Erkenntnisse in hiPS-Zellen bestätigt werden, um stärker generalisierte Aussagen über die Eigenschaften pluripotenter Stammzellen des Menschen und ihrer Derivate hinsichtlich der jeweils untersuchten Forschungsfrage machen zu können. In nur einem Forschungsvorhaben werden hES-Zellen als Referenzmaterial genutzt, um zu überprüfen, ob die aus hES- und hiPS-Zellen hergestellten Gewebe/Organoide identische Eigenschaften haben. Allerdings sind hier die Eigenschaften, bezüglich derer hiPS- und hES-Zellen verglichen werden sollen, für die aus hES-Zellen abgeleiteten Gewebe/Organoide nicht umfassend untersucht, so dass auch hier ein eigenständiger Erkenntnisgewinn über hES-Zellen erwartet wird. Die seit der Etablierung der ersten hiPS-Zellen im Jahr 2007 wiederholt geäußerte Auffassung, dass hES-Zellen bereits in naher Zukunft überwiegend oder gar ausschließlich als Referenzmaterial für die Forschung mit hiPS-Zellen genutzt werden würden, ist aus heutiger Sicht unzutreffend. Vielmehr nahm die Anzahl der nach dem StZG genehmigten Forschungsvorhaben, in denen neben hES-Zellen auch hiPS-Zellen verwendet werden sollen, weiter ab: während im siebenten Berichtszeitraum (2014 bis 2015) noch in etwa 70% der genehmigten Forschungsvorhaben sowohl hES- als auch hiPS-Zellen verwendet werden sollten, sank diese Zahl auf ca. 55% im achten Berichtszeitraum (2016 bis 2017) und auf 30% im neunten Berichtszeitraum (2018 bis 2019). Im aktuellen Berichtszeitraum liegt dieser Wert bei nur noch ca. 18%. Diese Tendenz zeigt, dass sich die Forschung an und mit hES- und hiPS-Zellen jeweils eigenständig entwickelt und weiter diversifiziert. Auch in der internationalen, sehr umfangreichen Forschung an hiPS-Zellen wird deutlich seltener Bezug auf hES-Zellen genommen, als dies in der Vergangenheit der Fall war; hES-Zellen werden hingegen weiterhin für die Beantwortung einer Vielzahl spezifischer Forschungsfragen als vielversprechender und geeigneter angesehen als hiPS-Zellen, obwohl der Zugang zu ihnen in vielen Fällen deutlich stärker reguliert ist als jener zu hiPS-Zellen.

Vorklärung der Forschungsfragen

Gemäß § 5 Nummer 2 Buchstabe a) StZG hat der Antragsteller wissenschaftlich begründet darzulegen, dass die im Forschungsvorhaben vorgesehenen Fragestellungen nach dem anerkannten Stand der Wissenschaft „so weit wie möglich bereits in In-vitro-Modellen mit tierischen Zellen oder in Tierversuchen“ vorgeklärt worden sind. Für die im zehnten Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben wurden in den Anträgen die erforderlichen Darlegungen jeweils erbracht. Dabei wurden sowohl Ergebnisse eigener Vorarbeiten des jeweiligen Antragstellers als auch Erkenntnisse anderer Arbeitsgruppen dargelegt, die in der Fachliteratur veröffentlicht wurden. Die jeweiligen Darlegungen haben nach Auffassung der Genehmigungsbehörde den gesetzlichen Voraussetzungen des § 5 Nummer 2 Buchstabe a) StZG genügt und rechtfertigen jeweils die Nutzung von hES-Zellen.

Der Wortlaut von § 5 Nummer 2 Buchstabe a) StZG war auch in vergangenen Erfahrungsberichten Gegenstand der Ausführungen. Die Forderung, dass die Vorklärungen in tierischen Zell- oder Gewebekulturen oder in Tierversuchen erfolgt sein sollen, trägt zwar dem vor circa 20 Jahren aktuellen Kenntnisstand Rechnung. Nach den Vorstellungen bei Verabschiedung des StZG sollte durch eine möglichst umfassende Vorklärung in einem nicht-humanen System die zur Anwendung kommende wissenschaftliche Vorgehensweise plausibilisiert werden. Darüber hinaus soll durch das Vorklärungskriterium gewährleistet werden, dass das Forschungsvorhaben eine sinnvolle und folgerichtige Fortsetzung zuvor erfolgter Arbeiten an tierischen Zellen darstellt, insbesondere an embryonalen Stammzellen der Maus, die zum Zeitpunkt der Verabschiedung des StZG bereits in vielen Laboren genutzt wurden und gut charakterisiert waren. Gleichzeitig sollte sichergestellt werden, dass hES-Zellen nicht für Forschungsansätze verbraucht werden, die bereits unter Nutzung von tierischen Zellkulturen oder im Tierversuch

nicht erfolgreich waren, wenn aus diesem Grunde davon ausgegangen werden kann, dass entsprechende Forschungsarbeiten auch unter Nutzung von hES-Zellen nicht zu den angestrebten Ergebnissen führen werden. Zum anderen sollte der Einsatz von hES-Zellen auf Fragen beschränkt werden, die sich trotz intensivster Forschung nicht mit anderen Zellen als hES-Zellen und auch nicht unter Nutzung von Versuchstieren beantworten lassen.

Eine hinreichende Vorklärung, die die Relevanz der Fragestellung und die Plausibilität des geplanten experimentellen Vorgehens belegt, ist ein grundsätzliches Erfordernis wissenschaftlicher Anträge sowohl im Bemühen um Forschungsförderung als auch in Verwaltungsverfahren wie bei Anträgen nach dem Tierschutzgesetz. Die im StZG aufgestellte Forderung, dass die Vorklärung der in Blick genommenen Forschungsfrage an tierischen Zellen oder an Versuchstieren erfolgt sein muss, war offenbar der Tatsache geschuldet, dass zum Zeitpunkt der Formulierung des StZG nur wenige publizierte Ergebnisse der Forschung mit hES-Zellen vorlagen und tierische Zellen und Versuchstiere daher als die am besten geeigneten Modellsysteme für eine Vorklärung von wissenschaftlichen Fragestellungen angesehen wurden. Offensichtlich bestand um die Jahrtausendwende die für diese Zeit durchaus nachvollziehbare Vorstellung, dass durch Versuche insbesondere mit embryonalen Stammzellen der Maus bzw. mit Mausembryonen die jeweilige Forschungsfrage bereits weitgehend beantwortet werden könne und man die Ergebnisse dieser Forschung letztlich nur noch auf das humane Modell zu übertragen brauche, um die entsprechenden biologischen Prozesse im Menschen verstehen zu können. Es wurde bereits in den Berichten für die vergangenen fünf Berichtsperioden umfassend erläutert, dass sich dieser Kenntnisstand bereits seit längerem erheblich verändert hat. In den mehr als 20 Jahren der Forschung an und mit hES-Zellen wurden bereits tausende Studien veröffentlicht, in denen die Ergebnisse einer experimentellen Verwendung von hES-Zellen dokumentiert wurden. Zahlreiche Fragestellungen zu hES-Zellen, die zu Beginn der Forschung an diesen Zellen eine Vorklärung an tierischen Zellen aus wissenschaftlicher Sicht tatsächlich erforderlich erscheinen ließen, sind mittlerweile umfassend beantwortet. In der gegenwärtigen internationalen Forschung und in den im Berichtszeitraum bewerteten Forschungsvorhaben geht es seit vielen Jahren um die Klärung sehr viel stärker detaillierter und spezialisierter Forschungsfragen. Zu einer Vielzahl dieser Fragestellungen liegen mittlerweile umfangreiche Kenntnisse aus Forschungen an hES-Zellen selbst vor, aber auch aus der Forschung mit anderen menschlichen Zelltypen, die eine höhere Aussagekraft im Hinblick auf die Vorklärung der jeweiligen wissenschaftlichen Fragestellung haben, als Voruntersuchungen an tierischen Zellen oder in Tierversuchen sie liefern könnten. Aus diesem Grund kann für viele an hES-Zellen zu klärende Forschungsfragen kein für die Vorklärung relevanter Erkenntnisgewinn mehr aus Experimenten mit tierischen Zellen oder aus Tierexperimenten erwartet werden; es ist daher entbehrlich, in diesen Fällen weitere Vorklärungen unter Nutzung von „In-vitro-Modellen mit tierischen Zellen oder in Tierversuchen“ zu fordern. Der Zweck der Vorklärungsregelung, vor Einsatz von hES-Zellen eine Plausibilitätsprüfung für das Vorhaben vorzunehmen und die Verwendung von hES-Zellen nicht für Projekte zu genehmigen, die aufgrund der Ergebnisse von Untersuchungen in tierischen Zellen absehbar nicht erfolgversprechend durchgeführt werden können, wird vielmehr unter Berücksichtigung des gesamten aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstandes, insbesondere von bereits publizierten Ergebnissen der hES-Zell-Forschung selbst, meist wesentlich besser erreicht. Eine allein am Wortlaut der gesetzlichen Bestimmung orientierte Forderung, vor einer Genehmigung der Verwendung von hES-Zellen zunächst eine weitere Optimierung des Vorgehens bei der Differenzierung embryonaler Stammzellen der Maus in die jeweiligen Zelltypen vorzunehmen, wäre aus wissenschaftlicher Sicht für die Vorklärung der in Rede stehenden Forschungsfrage nicht sinnvoll.

Zudem hat sich aus der Forschung der letzten mehr als 20 Jahre die Erkenntnis ergeben, dass sich für viele Forschungsfragen die Ergebnisse aus Untersuchungen an tierischen Zellen nicht auf das humane System übertragen lassen. Beispiele hierfür wurden in den vergangenen Berichten angeführt. So können beispielsweise Forschungen zu molekularen Grundlagen der Pluripotenz und zur frühen Differenzierung menschlicher Zellen, bei denen seit langem bekannte spezies-spezifische Unterschiede bestehen, nicht an tierischen Zellen vorgeklärt werden. Auch Forschungsvorhaben, in denen Zellmodelle für humane Krankheiten etabliert werden sollen, indem beispielsweise die Expression bestimmter Gene unterdrückt wird, können im Mausmodell nicht mehr sinnvoll vorgeklärt werden, wenn bereits zum Zeitpunkt der Antragstellung bekannt ist, dass die entsprechende genetische Veränderung in der Maus einen anderen Phänotyp als im Menschen zur Folge hat. Offensichtlich wird dies beispielsweise in den beiden im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben, die auf ein tieferes Verständnis der molekularen Pathogenese des Retinoblastoms zielen. Die genetischen Voraussetzungen für die Entstehung und die Bedingungen für die Entwicklung dieser (wie auch vieler anderer) Erkrankungen sind in Maus und Mensch stark unterschiedlich. Auch Fragen zu den molekularen Ursachen insbesondere von neuronalen Entwicklungsstörungen, von (in mehreren im aktuellen Berichtszeitraum aufgeworfenen) Fragen zu (prä)synaptischen Erkrankungen oder zu psychiatrischen Erkrankungen können schwerlich in Mausmodellen adäquat abgebildet und folglich dort nicht sinnvoll vorgeklärt werden.

Über die aus dem Obenstehenden resultierende, bereits seit vielen Jahren bestehende Art der Auslegung des Vorklärungserfordernisses des § 5 Nummer 2 Buchstabe a StZG durch die Genehmigungsbehörde wurde bereits mehrfach berichtet. Bei der Entscheidung darüber, ob das Forschungsvorhaben den Bedingungen des § 5 Nummer 2 Buchstabe a StZG entspricht, werden von der Genehmigungsbehörde Sinn und Zweck des Vorklärungserfordernisses weiterhin so ausgelegt, dass die Forschungsfragen „wenigstens“ an tierischen Zellen oder im Tierversuch vorgeklärt sein müssen. Das Erfordernis, dass die Forschungsfragen „so weit wie möglich“ an tierischen Zellen bzw. im Tierversuch untersucht sein sollen, wird so verstanden, dass die Forschungsfragen nach dem jeweils aktuellen Stand des Wissens hinreichend vorgeklärt sein müssen. Angesichts des gegenwärtigen internationalen Forschungsstandes zu humanen pluripotenten Stammzellen (hPS-Zellen) und der Tatsache, dass die Schlüssigkeit eines Forschungsansatzes mittlerweile nicht selten allein mit dem bereits vorhandenen Kenntnisstand zu hES-Zellen begründet werden kann, erscheint dieses Verständnis dem Normzweck des § 5 Nummer 2 Buchstabe a StZG deutlich besser zu entsprechen als eine strenge Orientierung am Wortlaut. Entsprechend wurde auch im aktuellen Berichtszeitraum bei Darlegung „hinreichender“ Vorklärungen der wissenschaftlichen Fragestellungen, die im übrigen ggf. auch an anderen menschlichen Zellen als hES-Zellen durchgeführt worden sein können, regelmäßig keine Notwendigkeit für eine weitere Vorklärung derselben Fragestellung in „In-vitro-Modellen mit tierischen Zellen oder in Tierversuchen“ gesehen. Dieses Verständnis der Vorgaben des StZG steht auch in Einklang mit der Auffassung der ZES zu dieser Frage. Es trägt ferner im Ergebnis dazu bei, die Anzahl der Tierversuche in Deutschland zu reduzieren, auch wenn Aspekte des Tierschutzes bei der Prüfung des Vorliegens einer hinreichenden Vorklärung der Forschungsfrage kein zulässiger Grund sind, für notwendig befundene Voruntersuchungen im Tiermodell nicht zu verlangen.

Erforderlichkeit der Verwendung von hES-Zellen

Gemäß § 5 Nummer 2 Buchstabe b StZG ist durch den Antragsteller darzulegen, dass der mit dem Forschungsvorhaben angestrebte wissenschaftliche Erkenntnisgewinn voraussichtlich nur unter Verwendung von hES-Zellen erreicht werden kann. In diesem Zusammenhang wird durch die Genehmigungsbehörde auf Grundlage der Darlegungen des Antragstellers jeweils geprüft, ob ggf. Alternativen zur Nutzung von hES-Zellen bestehen und ob ggf. hinreichende Belege dafür existieren, dass die Forschungsziele auch unter ausschließlicher Nutzung anderer Zellen als hES-Zellen erreicht werden können. In diesem Fall wären die Einfuhr und/oder Verwendung von hES-Zellen nicht genehmigungsfähig. Im aktuellen Berichtszeitraum wurde in allen Antragsverfahren von den Antragstellern auf Grundlage des aktuellen Stands des Wissens jeweils dargelegt, dass die Verwendung von hES-Zellen zur Erreichung der Forschungsziele erforderlich ist. Dabei wird jeweils insbesondere geprüft, ob sich nach gegenwärtigem Kenntnisstand die Forschungsfragen ggf. unter Nutzung (i) nicht-humaner Zellen bzw. unter Nutzung von Versuchstieren, (ii) menschlicher nicht-pluripotenter Zellen oder Stammzellen oder (iii) humaner induzierter pluripotenter Stammzellen beantworten lassen.

Die mit den im zehnten Berichtszeitraum genehmigten Anträgen angestrebten Forschungsziele lassen sich, wie in den entsprechenden Anträgen teils umfangreich dargelegt wurde, jeweils nicht unter Nutzung tierischer Zellen erreichen. Dies ist durch bereits bekannte speziesspezifische Unterschiede in den Eigenschaften der Zellen begründet und ergibt sich zwingend aus den jeweils verfolgten Forschungszielen. Hiervon sind beispielsweise Forschungsvorhaben betroffen, in denen Zellmodelle zur Erforschung molekularer Grundlagen von Erkrankungen des Menschen etabliert und genutzt werden sollen. Derartige Modelle können nicht auf Grundlage tierischer Zellen etabliert werden, wenn beispielsweise die den jeweiligen Erkrankungen zugrundeliegenden genetischen Veränderungen in der Maus andere phänotypische Effekte verursachen, als sie beim Menschen beobachtet werden. Mehrere der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben zielen zudem auf ein vertieftes Verständnis menschlicher Synapsen bzw. durch Mutationen in sog. synaptischen Genen bedingter Erkrankungen. Hier ist erheblich, dass – trotz der Konservierung einer Reihe synaptischer Gene in der Phylogenese – die Genprodukte in verschiedenen Spezies teils unterschiedliche Funktionen in den Synapsen haben, was die Nutzung von murinen Zellen oder Mäusen zur Erreichung der Forschungsziele bereits ausschließt. Zudem unterscheiden sich Neurone von Nagern, die für Untersuchung bestimmter synaptischer Funktionen in der Vergangenheit durchaus auch als Modellorganismen gedient haben, in zahlreichen Aspekten deutlich von denen im Menschen. Grundsätzliche Unterschiede bestehen in den molekularen Grundlagen von Pluripotenz, die im nicht-humanen System für den Menschen nicht untersucht werden können oder in der Genetik und molekularen Pathogenese des Retinoblastoms. So machen Unterschiede in den molekularen Eigenschaften von experimentell erzeugten Retinoblastomen der Maus und Retinoblastomen im Menschen bezüglich Euploidie und epigenetischer Charakteristika deutlich, dass Rückschlüsse über die Genese des Retinoblastoms beim Menschen aus Ergebnissen, die unter Verwendung von murinen Zellen gewonnen wurden, ohne weiteres nicht gezogen werden können. Auch die Entwicklung von Vorgehensweisen für die Bereitstellung von humanem Zellmaterial, wie es für zukünftige klinische Anwendungen oder

für die Untersuchung pharmakologisch-toxikologischer Fragestellungen mit Spezifität für den Menschen benötigt wird, erfordert die Nutzung humaner Zellen.

Auch die in vorherigen Berichten benannten Einschränkungen, derentwegen nicht-pluripotente Zellen des Menschen als für die Erreichung der Forschungsziele regelmäßig als nicht geeignet angesehen werden, bestehen unverändert fort. Die Möglichkeit zur Nutzung solcher Zellen als mögliche Alternative zu hES-Zellen wird von der Genehmigungsbehörde jeweils geprüft. Primäre somatische Zellen des Menschen stehen im Allgemeinen nicht in der für die jeweilige Projektdurchführung erforderlichen Menge und nicht in reproduzierbarer Qualität zur Verfügung. Somatische (adulte) Stammzellen des Menschen sind in vielen Fällen nicht oder nur schwer zugänglich, lassen sich in Kultur teils nur zu für die Projektdurchführung unzureichenden Zellzahlen vermehren oder haben bereits die im jeweiligen Forschungsvorhaben zu analysierenden Entwicklungsstadien durchlaufen. Zudem ist für humane somatische Stammzellen teils nicht oder nur unzureichend untersucht, ob und inwieweit sie genetischen Veränderungen zugänglich sind, die in fast allen Forschungsvorhaben an den jeweiligen Ausgangszellen vorgenommen werden sollen. Eine gute Zugänglichkeit für genetische Modifikationen war daher zwingende Voraussetzung für die Durchführbarkeit fast aller der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben. Diese Einschränkungen gelten auch für die denkbare Verwendung von (Stamm)Zellen aus abgetriebenen menschlichen Föten, deren Nutzung bei gleicher Eignung zur Erreichung der Forschungsziele gemäß § 5 Nummer 2 Buchstabe b StZG einer Verwendung von hES-Zellen vorgezogen werden muss. In diesem Fall dürfte ein Antrag auf Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen nicht genehmigt und der Antragsteller auf die Möglichkeit der Nutzung von Zellen aus für die Forschung gespendeten abgetriebenen Föten verwiesen werden. Tumorzell-Linien und (immortalisierte) Zell-Linien, die z. B. aus abgetriebenen Föten stammen können, weisen jedoch die für die jeweilige Projektdurchführung erforderlichen biologischen Eigenschaften in den im Berichtszeitraum vorliegenden Fällen nicht auf.

Weiterhin ist zu prüfen, ob das formulierte Forschungsziel voraussichtlich unter ausschließlicher Verwendung von hiPS-Zellen erreicht werden kann. Während die Ungeeignetheit tierischer oder nicht-pluripotenter menschlicher Zellen für die Erreichbarkeit eines spezifischen Forschungsziels häufig ohne weiteres offensichtlich ist, ist die Bewertung einer ggf. bestehenden alternativen Nutzbarkeit von hiPS-Zellen deutlich schwieriger und aufwendiger, da hES- und hiPS-Zellen zumindest teilweise sehr ähnliche Eigenschaften aufweisen. Wie bereits in vergangenen Berichten ausgeführt, ist die Auslegung des unbestimmten Terminus der „Voraussichtlichkeit“ hier von besonderer Bedeutung. Denkbar wäre eine Auslegung, wonach durch die Genehmigungsbehörde eine Abschätzung der Wahrscheinlichkeit vorgenommen werden soll, mit der die Verwendung eines anderen als des vom Antragsteller vorgesehenen Zelltyps, hier also hiPS-Zellen, potentiell ebenfalls zur Erreichung des angestrebten Forschungsziels führen würde, ohne dass es hierfür bereits hinreichende wissenschaftliche Belege gibt. In der Konsequenz würde dem Antragsteller durch eine derartige Praxis, also eine bloße Prognose der Wahrscheinlichkeit, die letztlich Vermutungscharakter hat, aber ein anderes Forschungsprojekt abverlangt werden als das von ihm beantragte, nämlich die Klärung der Frage, ob die jeweilige wissenschaftliche Fragestellung auch unter Nutzung anderer Zellen erfolgen kann, was letztlich zur Schaffung eines neuen Sachstandes führen würde. Für Entscheidungen über die Anträge ist allerdings ausdrücklich der Stand von Wissenschaft und Technik zum Zeitpunkt der Entscheidung über den Antrag maßgeblich. Die Verwendung von hES-Zellen kann nur dann untersagt werden, wenn zum Zeitpunkt der Entscheidung über den Antrag die Eignung anderer Zellarten für die Beantwortung der konkreten Fragestellung des Projekts nach dem Stand der Wissenschaft bereits mit hinreichender Sicherheit feststeht. Die bloße – wissenschaftlich noch nicht hinreichend geklärte – Vermutung, dass die jeweils zu beantwortenden Forschungsfragen ggf. durch ausschließliche Nutzung von anderen Zellen, beispielsweise hiPS-Zellen, geklärt werden könnten, dass also beispielsweise hiPS- und hES-Zellen bezüglich der zu untersuchenden Eigenschaft voraussichtlich identisch sein könnten, ist für eine Versagung der Genehmigung nicht hinreichend. Vielmehr müssten zum Zeitpunkt der Entscheidung über den entsprechenden Antrag bereits Forschungsergebnisse vorliegen, die mit hinreichender Sicherheit belegen, dass die Forschungsziele unter alleiniger Nutzung von beispielsweise hiPS-Zellen tatsächlich erreichbar sind. Die Genehmigung könnte auch versagt werden, wenn die Gleichheit von hES- und hiPS-Zellen bezüglich der interessierenden Eigenschaft auch ohne Vorliegen entsprechender Daten bereits hinreichend evident ist.

Für alle im zehnten Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben wurde im jeweiligen Antrag wissenschaftlich begründet dargelegt, dass nach dem gegenwärtigen Stand der Wissenschaft eine vergleichbare Eignung von hiPS-Zellen zur Erreichung der Forschungsziele nicht bekannt ist. Der angestrebte Erkenntnisgewinn war daher voraussichtlich nicht durch ausschließliche Nutzung von hiPS-Zellen erreichbar, und die Verwendung von hES-Zellen war jeweils erforderlich. Die Vergleichbarkeit von hES- und hiPS-Zellen ist dabei stets mit Blick auf die konkrete Forschungsfrage neu zu beurteilen. In zahlreichen Anträgen wurde darauf hingewiesen, dass in der wissenschaftlichen Literatur weiterhin teils widersprüchliche Angaben darüber vorliegen, ob und inwieweit hES-

und hiPS-Zellen identische Eigenschaften haben. Unterschiede zwischen beiden Zelltypen werden weiterhin regelmäßig beobachtet. Insbesondere weisen hiPS-Zellen im Vergleich zu hES-Zellen eine erhebliche Variabilität in ihrem Differenzierungsvermögen auf, was u. a. durch die Methode der Reprogrammierung, den für die Reprogrammierung genutzten somatischen Zelltyp und ein durch ggf. unvollständige Reprogrammierung bedingtes epigenetisches Gedächtnis verursacht sein kann. Auch die in der Literatur vielfach beschriebene Präsenz von Mutationen in hiPS-Zellen, deren Ursprung in den somatischen Ausgangszellen oder im Reprogrammierungsprozess liegen kann, sowie dokumentierte epigenetische Unterschiede zwischen hES- und hiPS-Zellen wurden häufig als Gründe für die Notwendigkeit der Nutzung des stärker ursprünglichen Materials, also hES-Zellen, für die Beantwortung der Forschungsfragen genannt. Allgemeine Betrachtungen zur Vergleichbarkeit und Unterschieden von hES- und hiPS-Zellen waren jedoch nur dann entscheidungsrelevant, wenn die entsprechenden Erkenntnisse für die Fragestellungen des jeweiligen Projektes erheblich waren.

Ein erheblicher Teil der im aktuellen Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben zielt auf die Etablierung von Zellmodellen für Krankheiten, deren genetische Ursachen gut verstanden sind und bei denen hES-Zellen die Möglichkeit bieten, die Krankheit vor einem isogenen genetischen Hintergrund durch gerichtete genetische Veränderung der Zellen und die anschließende Differenzierung in den jeweils betroffenen Zelltyp zu modellieren. Derartige Forschungsvorhaben sind vor dem Hintergrund eines ansonsten unveränderten, stark ursprünglichen und nicht durch Mutationen belasteten Genoms, wie es hES-Zellen üblicherweise haben, ggf. wissenschaftlich deutlich aussagekräftiger als identische Arbeiten an patientenspezifischen hiPS-Zellen, die ggf. im Zuge der Reprogrammierung erworbene bzw. in den zur Reprogrammierung genutzten somatischen Zellen bereits vorhandene genetische Veränderungen aufweisen können. Für andere Forschungsvorhaben sind Zellen mit einem nach Möglichkeit stark ursprünglichen Epigenom erforderlich, was die Nutzung von hES-Zellen nötig macht, da hiPS-Zellen ggf. epigenetische Modifikationen erfahren haben können, die nicht mehr der in hES-Zellen anzutreffenden (ursprünglichen und natürlichen) Situation entsprechen.

Weiterhin und in zunehmendem Maße werden zur Beantwortung der aufgeworfenen Fragestellungen hES-Zell-Linien benötigt, in denen außerhalb Deutschlands bereits spezifische und teils sehr umfangreiche und aufwendige genetische Veränderungen vorgenommen wurden. Dabei handelt es sich beispielsweise um Reporter-Zelllinien oder um Zelllinien, die Komponenten spezifischer CRISPR/Cas-Systeme enthalten. Diese (teilweise mehrfach) transgenen Zelllinien waren auf Grundlage von hES-Zellen bereits etabliert und charakterisiert worden, waren aber auf der Grundlage von hiPS-Zellen nicht verfügbar. Die Notwendigkeit der Nutzung von hES-Zellen wurde in den entsprechenden Anträgen folglich auch damit begründet, dass die Erreichung der Forschungsziele die Nutzung dieser spezifischen transgenen pluripotenten hES-Zellen erfordere, da die Präsenz der entsprechenden genetischen Modifikationen für die Beantwortung der jeweiligen Forschungsfragen zwingend erforderlich sei und ähnlich gut charakterisierte transgene hiPS-Zellen nicht zur Verfügung stünden. Hierzu wird die – im Übrigen auch von der ZES geteilte – Auffassung vertreten, dass die Verfügbarkeit bereits etablierter und gut charakterisierter transgener hES-Zelllinien ein tragfähiges und hinreichendes Argument für die Erforderlichkeit der Verwendung von hES-Zellen ist, wenn derartige Linien zum Zeitpunkt der Antragstellung auf der Basis von hiPS-Zellen nicht verfügbar sind. In diesem Zusammenhang ist zu beachten, dass transgene pluripotente Stammzellen häufig unikale Eigenschaften aufweisen: es ist nicht ohne weiteres möglich, sichere Vorhersagen über die Effekte einer identischen genetischen Veränderung in verschiedenen Zelltypen (beispielsweise in spezifischen hES- und hiPS-Zell-Linien) zu treffen. Die bloße Vermutung, dass identische genetische Veränderungen in hiPS-Zellen zu einem identischen Phänotyp führen könnten, ist auch hier nicht hinreichend, um die Nutzung der hES-Zellen zu versagen. Zudem haben die Darlegungen des Antragstellers (und folglich auch die Bewertung des Vorliegens der Voraussetzungen des § 5 StZG) auf der Grundlage des aktuellen Kenntnisstandes zu erfolgen. Der Antragsteller kann nicht verpflichtet werden, vor einer Befürwortung seines Antrags erst einen neuen Kenntnisstand zu schaffen, beispielsweise durch die Etablierung genetisch veränderter hiPS-Zellen. In den vorliegenden Fällen wäre aber die Forderung, zunächst entsprechende Experimente an hiPS-Zellen durchzuführen, de facto eine Forderung nach Schaffung eines neuen Stands von Wissenschaft und Technik zu hiPS-Zellen, bevor die Nutzung von hES-Zellen genehmigt werden kann. Dies wäre aber nicht in Übereinstimmung mit den Erfordernissen des § 5 Nummer 2 Buchstabe b StZG.

Wie bereits in den vorherigen Erfahrungsberichten ausgeführt wurde, sind die noch offenen Fragen nach der genetischen und epigenetischen Stabilität von hiPS-Zellen sowie nach ihrer Fähigkeit zur Differenzierung in spezifische Zelltypen auch im Hinblick auf eine künftige klinische Nutzung pluripotenter Stammzellen des Menschen von großem Interesse. Es ist derzeit weiterhin nicht absehbar, welche Art pluripotenter menschlicher Stammzellen künftig Ausgangspunkt für welche Therapien zur Behandlung welcher bislang nicht heilbarer Erkrankungen sein könnte. Bis zum Ende des Berichtszeitraums (Dezember 2021) wurden weltweit wenigstens 96 klinische Studien

zur Therapie bislang unheilbarer Erkrankungen durchgeführt bzw. begonnen, in denen auf pluripotenten Stammzellen basierende Zellprodukte zur Anwendung kommen, darunter 47 Studien mit aus hES-Zellen abgeleiteten Zellen, und 46 Studien auf Grundlage von hiPS-Zellen, die im Übrigen zum allergrößten Teil auf der Basis allogener Zellen erfolgen. Die für hiPS-Zell-basierte Zelltherapien ursprünglich gemachte Prognose, dass hier Therapeutika auf autologer Basis hergestellt und genutzt werden könnten, wodurch die Notwendigkeit einer Immunsuppression zumindest gemindert würde, hat sich bislang nicht erfüllt. Ferner werden derzeit drei weitere klinische Studien durchgeführt, die unter Nutzung von aus durch Kerntransfer hergestellten hES-Zellen erfolgen bzw. auf parthenogenetisch erzeugten pluripotenten Stammzellen basieren. Die klinischen Studien mit den verschiedenen Zellen sind auf die Therapie unterschiedlicher Erkrankungen gerichtet, wobei es nur teilweise Überlappungen gibt. Insofern kann auch für Forschungsvorhaben, die zur Schaffung von Grundlagen für eine spätere klinische Nutzung von aus pluripotenten Zellen abgeleiteten Zellen/Geweben beitragen wollen, eine Nutzung von hES-Zellen nicht verwehrt werden, wenn die Gleichwertigkeit der Verwendung von hiPS-Zellen nicht bereits belegt ist.

1.5 Prüfung und Bewertung durch die Zentrale Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES)

Die ZES, die von der Bundesregierung zum 20. August 2020 zum siebten Mal berufen wurde, hat die gesetzliche Aufgabe, Anträge auf Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen anhand der eingereichten Unterlagen hinsichtlich der Frage zu prüfen und zu bewerten, ob die betreffenden Forschungsvorhaben die gesetzlichen Voraussetzungen nach § 5 StZG erfüllen und entsprechend § 9 StZG in diesem Sinne ethisch vertretbar sind. Sie hat hierzu gegenüber der Genehmigungsbehörde eine schriftliche Stellungnahme abzugeben. Das Vorliegen einer Stellungnahme der ZES ist nach § 6 Absatz 4 Nummer 3 StZG eine Voraussetzung für die Entscheidung über einen Antrag auf Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen zu Forschungszwecken.

Die ZES hat in ihren Stellungnahmen zu den Forschungsvorhaben, die Gegenstand der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben sind, im Ergebnis die gesetzlichen Voraussetzungen nach § 5 StZG als erfüllt und die Forschungsvorhaben als in diesem Sinne 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. Januar 2020 bis 31. Dezember 2020 (18. Tätigkeitsbericht der ZES) und für den Zeitraum vom 1. Januar 2021 bis 31. Dezember 2021 (19. Tätigkeitsbericht der ZES) dargestellt. Die Tätigkeitsberichte der ZES werden unter anderem auf der Internetseite des Bundesministeriums für Gesundheit, in englischer Übersetzung auch auf der Internetseite des RKI, veröffentlicht^{3, 4}.

³ <https://www.bundesgesundheitsministerium.de/service/begriffe-von-a-z/z/zentrale-ethik-kommission-fuer-stammzellenforschung.html>

⁴ https://www.rki.de/DE/Content/Kommissionen/ZES/Taetigkeitsberichte/taetigkeitsbericht_node.html

2 Stand der Forschung mit pluripotenten und multipotenten menschlichen Stammzellen

2.1 Einleitung

Der zehnte Erfahrungsbericht der Bundesregierung zur Durchführung des StZG umfasst den Berichtszeitraum 2020 und 2021 und behandelt aktuelle Entwicklungen im Forschungsfeld der humanen embryonalen Stammzellen (hES-Zellen) und der humanen induzierten pluripotenten Stammzellen (hiPS-Zellen). Weiterhin werden auch Neuerungen bei anderen Arten von Stammzellen verschiedener Gewebe (adulte Stammzellen) vorgestellt. Dieser Stammzellbericht fokussiert weiterhin auf der Entwicklung der Technologie der Organoide, d.h. organ-ähnliche 3-dimensionale (3D) Strukturen und Embryoide, Gastruloide and Blastoide. Der Stammzellbericht zeigt die Grundlagen in der Forschung auf, die für das Verständnis der dargestellten Entwicklungen relevant sind. Für weitere Grundlagen wird auf die vorhergehenden Erfahrungsberichte und die einschlägige Fachliteratur verwiesen (zusammengefasst in Bartfeld et al., 2020a; Gerke, 2020).

In den vorangegangenen neun Erfahrungsberichten der Bundesregierung zur Durchführung des StZG sind jeweils die aktuellen Entwicklungen im Berichtszeitraum sowie im Entstehen begriffene Themenfelder abgedeckt worden. Diese Berichte aus den einzelnen Berichtszeiträumen, die jeweils auf den etablierten Grundlagen ihrer Vorgänger basieren, stellen folgende Themen dar:

1. Der erste Erfahrungsbericht der Bundesregierung zur Durchführung des StZGs im Zeitraum 2002/2003 (Bundestagsdrucksache 15/3639) stellte die Rahmenbedingungen, Ergebnisse und Ausblicke der Grundlagenforschung und mögliche zukünftige Einsatzgebiete von embryonalen und adulten Stammzellen in der modernen Medizin vor.
2. Im zweiten Erfahrungsbericht 2004/2005 (Bundestagsdrucksache 16/4050) wurden die seit dem ersten Bericht erzielten Fortschritte, die noch offenen Fragen im Bereich der Forschung sowie Perspektiven eines möglichen therapeutischen Einsatzes von embryonalen und adulten Stammzellen beschrieben.
3. Im dritten Bericht 2006/2007 (Bundestagsdrucksache 16/12956) wurden wissenschaftliche Erkenntnisse bis einschließlich 2007 zusammengefasst. Zu diesem Zeitpunkt war die Forschung mit hES-Zellen bereits weltweit etabliert. Neu in diesem Berichtszeitraum war die Entwicklung der Reprogrammierung (Takahashi and Yamanaka, 2006). iPS-Zellen aus Körperzellen erwachsener Individuen werden durch das Einbringen der vier Transkriptionsfaktoren OCT4, SOX2, KLF4 und cMYC (OSKM) in einen pluripotenten Zustand versetzt, der auch in embryonalen Stammzellen vorliegt. Die Kombination aus OSKM wird nach ihrem Entdecker Shinya Yamanaka auch als „Yamanaka-Cocktail“ bezeichnet.
4. Für den Zeitraum 2008/09 erschien der vierte Bericht (Bundestagsdrucksache 17/4760) und beschrieb die wesentlichen wissenschaftlichen Erkenntnisse und Entwicklungen der Forschung mit hES-Zellen und anderen Stammzellen. Schwerpunkt des Berichtes war die Generierung von hiPS-Zellen, die 2007 erstmals beschrieben wurden (Takahashi et al., 2007; Yu et al., 2007). Es wurde besonders auf die Unterschiede zwischen hiPS-Zellen und hES-Zellen sowie verschiedener hES-Zellen eingegangen.
5. Im fünften Bericht für den Zeitraum 2010/2011 (Bundestagsdrucksache 17/12882) wurde auf die verschiedenen Anwendungsfelder, besonders die Entwicklung von In-vitro-Testmethoden für toxikologische und pharmakologische Untersuchungen sowie auf die Entwicklung von stammzellbasierten Therapien eingegangen.
6. Der den Berichtszeitraum der Jahre 2012/2013 umfassende sechste Erfahrungsbericht (Bundestagsdrucksache 18/4900) gab einen Überblick über aktuelle Entwicklungen der Forschung mit hES-Zellen und mit hiPS-Zellen sowie über aktuelle Entwicklungen zu anderen biomedizinisch einsetzbaren adulten Stammzellen. Im Bericht wurde ein besonderes Augenmerk auf neue Methoden zur punktgenauen genetischen Veränderung von pluripotenten Stammzellen (Genom-Editierung) und auf die Fortschritte bei der direkten Umprogrammierung (Transprogrammierung) eines somatischen Zelltyps in einen anderen sowie die Vorbereitung von klinischen Studien mit Derivaten aus hES-Zellen gerichtet.
7. Im siebten Bericht (Bundestagsdrucksache 18/12761) für die Jahre 2014/2015 wurden die neuen Forschungsaktivitäten zu den im sechsten Bericht dargestellten Entwicklungen vertieft vorgestellt und über aktuelle Entwicklungen von biomedizinisch einsetzbaren Stammzellen berichtet. Der Bericht stellte vor, wie Verfahren der Genom-Editierung in der Stammzellforschung eingesetzt werden und erläuterte Zellkulturtechniken zur Erzeugung dreidimensionaler Aggregate, der sogenannten Organoide.
8. Im achten Erfahrungsbericht der Bundesregierung (Bundestagsdrucksache 19/10060) für die Jahre 2016 und 2017 wurden die neuen wissenschaftlichen Entwicklungen in der Erforschung humaner pluripotenter Stammzellen (hPS-Zellen), zu denen sowohl hES-Zellen als auch hiPS-Zellen zählen, beleuchtet. Es wurden

Weiterentwicklungen in den Bereichen der Organoide, der Modellsysteme zu Erkrankungen, zur Wirkstoffforschung (Medikamenten- und Toxizitäts-Tests) und der Genom-Editierung mit Designernukleasen vorgestellt. Ein weiterer Schwerpunkt lag auf der Entwicklung von Technologien für Einzelzellanalysen, die wesentlich präzisere Erkenntnisse zur Entwicklungsbiologie von Stammzellen ermöglichen. Der Bericht widmete sich umfassend den weltweit durchgeführten klinischen Studien mit pluripotenten Stammzellen bzw. den daraus abgeleiteten Zelltypen.

9. Im September 2021 erschien der neunte Erfahrungsbericht (Bundestagsdrucksache 19/32595). Er führte die Darstellung der Entwicklungen in der internationalen Stammzellforschung, insbesondere im Bereich der hPS-Zellen, also hES-Zellen und hiPS-Zellen, aus den Jahren 2018 und 2019 fort.

Der vorliegende zehnte Erfahrungsbericht betrachtet die Jahre 2020 und 2021. Es ist anzumerken, dass das wissenschaftliche Feld der Stammzellforschung sich im Berichtszeitraum derart entwickelt hat, dass eine umfassende Übersicht mittlerweile nicht mehr möglich ist. Das Forschungsfeld gliedert sich in eine Vielzahl von Einzelfeldern, die große Mengen an Forschungsergebnissen hervorbringen. Weiterhin hat sich auch der Bereich der hPS-Zellen dahingehend konsolidiert, so dass viele wichtige Einzelbefunde zu verschiedenen Fragestellungen publiziert werden, allerdings keine grundlegenden neuen Forschungsdurchbrüche, vergleichbar etwa der induzierten Pluripotenz, Entwicklung der Genom-Editierung in Stammzellen, die Einzelzellanalyse oder die Organoidtechnologie, zu berichten sind.

2.2 Bestand der menschlichen embryonalen Stammzelllinien

Seit der ersten erfolgreichen Gewinnung von hES-Zellen im Jahr 1998 (Thomson et al., 1998) sind mehrere Tausend hES-Zelllinien weltweit etabliert worden. Eine genaue Bestimmung der Anzahl ist inzwischen schwierig, da genaue Daten hierzu z. B. aus der Forschung in China nicht vorliegen bzw. nicht publiziert werden. In der „Human Pluripotent Stem Cell Registry“ (hpscereg.eu), einem durch die EU-Kommission geförderten Online-Informationsportal, werden seit 2007 Informationen zu hPS-Zellen zusammengetragen (Kurtz et al., 2022; Seltmann et al., 2016). Am 31. Dezember 2021 waren in dem Register 820 hES-Zelllinien und 2978 hiPS-Zelllinien verzeichnet (hPSC-Registry, 2022). Beide Zelltypen werden zusammengefasst als hPS-Zellen bezeichnet. Zum Vergleich: Am 31. Dezember 2019 waren 754 hES-Zelllinien und 2275 hiPS-Zelllinien erfasst. Somit ist, wie bereits im letzten Stammzellbericht gezeigt, weltweit wieder ein signifikanter Zuwachs an registrierten hiPS-Zelllinien (703 Linien) und hES-Zelllinien zu verzeichnen (66 Linien). Diese Registrierungen umfassen auch bereits früher registrierte Zelllinien, die genetisch verändert wurden.

Die US-amerikanischen Gesundheitsbehörden „National Institutes of Health“ (NIH) führen seit 2001 ebenfalls ein Register, welches hES-Zelllinien erfasst, die für Forschungsprojekte mit öffentlicher NIH-Förderung verwendet werden dürfen (National Institutes of Health, 2022). Zum 31. Dezember 2021 waren dort 486 hES-Zelllinien verzeichnet. Im Jahr 2020 sind 73 Linien, davon 69 aus Israel vom Shaare Zedek Medical Center, Jerusalem, und im Jahr 2021 lediglich zwei Linien hinzugekommen. 71 der 75 neuen Zelllinien sind aufgrund von Mutationen in krankheitsrelevanten Genen aus Blastozysten, die in In-vitro Fertilisationsbehandlungen entstanden, generiert worden, darunter auch alle Linien aus Israel. Diese können zu Modellsystemen für diese Erkrankungen entwickelt werden. Die britische UK Stem Cell Bank (UK-SCB) des National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC) erfasst britische hES-Zelllinien, von denen 18 Linien für klinische Studien nach den Richtlinien der Europäischen Kommission für Gewebe- und Zell-Transplantation (EU Tissue and Cells Directive - EUTCD) in Patientinnen und Patienten verwendet werden können (UK-Stem-Cell-Bank/NIBSC, 2022). Die UK Stem Cell Bank listet 23 hES-Zelllinien auf, die für Forschungszwecke zur Verfügung stehen, inklusive zweier Zelllinien aus Indien. Wenige dieser beschriebenen Linien können für die Forschung in Deutschland verwendet werden, da sie nach dem Stichtag 1. Mai 2007, der im StZG festgelegt ist, generiert wurden. Insbesondere bei den hES-Zelllinien, die aufgrund von Mutationen generiert wurden, kommt hinzu, dass hier eine Selektion stattgefunden hat, deren Import nach Deutschland nach dem StZG nicht erlaubt ist. Diese Zelllinien wurden aus Embryonen gewonnen, welche aus „Gründen, die an den Embryonen selbst lagen“, nicht implantiert worden sind.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass weltweit immer weniger neue hES-Zelllinien generiert werden. Diese Tendenz zeichnete sich bereits im neunten Stammzellbericht ab und setzt sich für den aktuellen Berichtszeitraum fort. Neue hES-Zelllinien werden derzeit hauptsächlich für Forschungszwecke gewonnen, die der Erforschung von Erbkrankheiten und der Etablierung von Krankheitsmodellen dienen und zum Testen von neuen Wirkstoffen verwendet werden können.

In Deutschland wurde im Berichtszeitraum vorwiegend mit einigen wenigen hES-Standardzelllinien gearbeitet. Entsprechend den 22 neuen Genehmigungen im Berichtszeitraum (gesamt 175 Genehmigungen) zur Einfuhr und Verwendung von hES-Zelllinien nach § 11 StZG (Robert Koch-Institut, 2022), beziehen sich alle Anträge auf etablierte Standardzelllinien (Thomson-Zelllinien) wie H1 und H9 vom WiCell Research Institute, Madison, WI, USA (Thomson et al., 1998). Zehn der 22 genehmigten Projekte beschränken sich ausschließlich auf die ursprünglichen Thomson-hES-Zelllinien. Alle anderen Projekte beinhalten auch Experimente mit Zelllinien vom Harvard Stem Cell Institute (USA), von der Rockefeller University (USA) und der University of Sheffield (UK) sowie Israel, Singapur, und Japan. In vielen Forschungsprojekten sowohl in der Grundlagenforschung als auch der angewandten Forschung in klinischen Studien werden hES-Zelllinien verwendet, die bereits Anfang der 2000er Jahre gewonnen wurden. Sie sind nach wie vor ein wichtiger Referenzpunkt für die Forschung, da sie sehr gut erforscht und in ihrer Charakteristik beschrieben sind. Auch Überlegungen zur Herkunft der Zellen, da bei hiPS-Zellen immer ein lebender Spender existiert, der eventuell Ansprüche geltend machen kann (informierte Einwilligung der spendenden Person), gegenüber hES-Zellen, die keinen direkten lebenden Spender haben, können bei der Auswahl von hPS-Zelllinien für klinischen Studien eine Rolle spielen.

Für die Kultivierung von hES- und hiPS-Zelllinien werden heutzutage routinemäßig chemisch definierte xeno-freie (d. h. frei von Tierprodukten) Medien und Faktoren verwendet. Weiterhin werden Laborprotokolle zur Differenzierung von hPS-Zellen zu spezifischen Zelltypen stetig optimiert, und teilweise werden neue Faktoren oder neue Behandlungsregime beschrieben.

2.3 Grundlagen zur Forschung mit humanen pluripotenten Stammzellen

Die folgenden Kapitel geben einen Überblick über wichtige Entwicklungen und Fortschritte in der Forschung mit hES-Zellen und hiPS-Zellen für die Jahre 2020 und 2021. Beide Zelltypen werden zu hPS-Zellen zusammengefasst. Verschiedene Publikationen bieten detaillierte Zusammenfassungen der Forschungstrends mit hPS-Zellen (Bar and Benvenisty, 2020; Gassner and Spranger, 2020a; Hansen et al., 2020; Liu et al., 2020). Weiterhin haben hPS-Zellen auch bereits ihren Einzug in die Entwicklung von Therapien für Erkrankungen gefunden (Yamanaka, 2020). hPS-Zellen haben das Potenzial, sich in Hunderte von Zelltypen zu differenzieren, doch ist es äußerst schwierig, sie ausschließlich in einen einzigen gewünschten Zelltyp zu differenzieren. Angesichts der Tatsache, dass von hPS-Zellen abgeleitete Zellpopulationen in über 30 laufenden klinischen Studien in Patientinnen und Patienten transplantiert wurden oder werden, sind Fragen zur Differenzierung und auf die kritische Bewertung der Identität und Reinheit der resultierenden Zellpopulationen von aktueller Bedeutung. Während viele In-vitro-Differenzierungsprotokolle vorgeben, die Entwicklung "nachzuahmen", sind die genaue Anzahl und Identität der Zwischenschritte, die eine pluripotente Zelle durchläuft, um sich in vivo in einen bestimmten Zelltyp zu differenzieren, noch weitgehend unbekannt. Folglich führen die meisten Differenzierungsversuche zwangsläufig zu einer heterogenen Zellpopulation, wie die Einzelzellsequenzierungen und andere Analysen zeigen. Das Vorhandensein unerwünschter Zelltypen in differenzierten Zellpopulationen erschwert die Entwicklung von Transplantationstherapien. Das Ziel ist eine präzise und zuverlässige Differenzierung in die gewünschte Richtung zu lenken - beispielsweise durch logische Blockierung der Bildung unerwünschter Zelltypen oder durch Überexpression von Transkriptionsfaktoren, die die Abstammungslinie spezifizieren. Alternativ zur Optimierung von Differenzierungsprotokollen können auch Separationstechnologien eingesetzt werden, die eine selektive Aufreinigung der gewünschten Zelltypen und die Verwerfung von unerwünschten Zelltypen ermöglicht. Im Gegensatz dazu werden bei Ansätzen zur Differenzierung dreidimensionaler Organoide aus hPS-Zellen absichtlich heterogene Zellpopulationen erzeugt. Damit soll die reiche zelluläre Vielfalt sich entwickelnder Gewebe nachgeahmt werden. Ob jedoch alle diese Organoide in einer Weise räumlich organisiert sind, die nativen Organen ähnelt, bedarf genauerer Untersuchung (zusammengefasst in Fowler et al., 2020).

2.3.1 Vergleichende Untersuchungen zum naiven und geprägten Zustand humaner pluripotenter Stammzellen

Die Frage nach der Vergleichbarkeit von hES-Zellen und ES-Zellen der Maus (mES-Zellen) wurde bereits im siebten Erfahrungsbericht (2014/2015) intensiv diskutiert. Im achten Erfahrungsbericht wurden die verschiedenen Zustände hES-Zellen im Vergleich zu mES-Zellen vorgestellt. Im neunten Stammzellbericht (2018/2019) ist von vielen Publikationen der naive, also der natürliche oder grundlegende, Zustand gegenüber einem „primed“ oder geprägten Zustand im humanen System eingehend untersucht worden (zusammengefasst in Dong et al., 2019). Diese beiden Zustände sind in mES bereits vor einigen Jahren beschrieben worden (Martello and Smith, 2014). Auch in der aktuellen Berichtsperiode gab es weitere wichtige Veröffentlichungen zum naiven Zustand in hPS-Zellen.

Eine grundlegende Herausforderung bei der Untersuchung biologischer Systeme ist die Beschreibung der Dynamik von Zellzuständen. Bei Übergängen zwischen Zellzuständen kann sich eine Vielzahl von Parametern ändern – von den aktiven Promotoren bis hin zu den RNAs und Proteinen, die exprimiert und verändert werden. Die Zellen können auch eine andere Form annehmen, ihre Beweglichkeit verändern und ihre Abhängigkeit von Zell-Zell-Verbindungen oder Adhäsion ändern. Diese Parameter sind entscheidend dafür, wie sich eine Zelle verhält, und definieren gemeinsam den Zustand, in dem sich eine Zelle befindet. Der von The Company of Biologists organisierte virtuelle Workshop mit dem Titel 'Cell State Transitions: Approaches, Experimental Systems and Models' versuchte, diese Frage zu beantworten (Mulas et al., 2021). Jüngste Studien an kultivierten pluripotenten Stammzellen der Maus und des Menschen (hPSCs) haben nun auch Zellen identifiziert, die für ein Zwischenstadium (den so genannten formativen Zustand) zwischen naiver Pluripotenz (entspricht dem präimplantären Epiblast) und geprägter Pluripotenz (entspricht dem späten postimplantären Epiblast) repräsentativ sind. Inwieweit dieses Zellstadium zwischen dem naiven und dem geprägten Zustand für die weitere Forschung und die Anwendung der Zellen relevant ist, sollen zukünftige Studien zeigen (Pera and Rossant, 2021). Die Variabilität zwischen pluripotenten Stammzelllinien (PS-Zelllinien) ist ein vorherrschendes Problem, das nicht nur die experimentelle Reproduzierbarkeit, sondern auch groß angelegte Anwendungen und personalisierte zellbasierte Therapien behindert. Diese Variabilität könnte auf epigenetische und genetische Faktoren zurückzuführen sein, die das Verhalten der Stammzellen beeinflussen. Naive Kulturbedingungen minimieren epigenetische Fluktuationen und könnten Unterschiede im Differenzierungspotenzial von PS-Zelllinien ausgleichen. Der genetische Hintergrund der verschiedenen Zelllinien spielt allerdings eine dominante Rolle bei der phänotypischen Variabilität, wie in PS-Zellen von verschiedenen Mäusestämmen gezeigt werden konnte (Ortmann et al., 2020).

Naive hPS-Zellen haben Entwicklungspotenzial sowohl in alle Zelltypen, die den ausgewachsenen Organismus bilden, als auch in alle extraembryonalen Zelltypen, welche alle Strukturen außerhalb des Embryos, wie die Plazenta, die sich aus dem Trophoblast entwickelt, bilden (Guo et al., 2021; Santis and Brivanlou, 2021). Die Signalübertragungswege, welche für den naiven Zustand in hPS-Zellen benötigt werden, wurden aufgeklärt und es wurde festgestellt, dass die Mehrzahl der Signalwege der frühen Embryogenese im naiven Zustand abgeschaltet sind (Bayerl et al., 2021). Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass Blastozysten, die natürlichen menschlichen Blastozysten ähneln, von naiven hPS-Zellen etabliert werden können (Santis and Brivanlou, 2021; Yu et al., 2021a). Die Entwicklungsschritte von naiven Stammzellen hin zu Blastozysten ist mittels Einzelzellanalysen untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass spezifische Isoformen der Protein Kinase C eine entscheidende Funktion für diese Entwicklung haben (Santis and Brivanlou, 2021; Yu et al., 2021a). In weiteren Studien konnte aufgezeigt werden, wie sich naive hPS-Zellen in extraembryonale Strukturen aus Trophoblasten entwickeln (Dong et al., 2020; Io et al., 2021). Weiterhin ist auch untersucht worden, wie die Blutgefäße des Embryos in der Plazenta nach der Einnistung in die Gebärmutter mit dem Blutsystem der Mutter interagieren (Govindasamy et al., 2021, zusammengefasst in Posfai et al., 2021).

Zur epigenetischen Kontrolle des Genoms von hPS-Zellen sind weitere wichtige Ergebnisse publiziert worden. Es konnte geklärt werden, dass repressive Polycomb-Komplexe 1 und 2 (PRC1 und PRC2) wichtige epigenetische Entwicklungsregulatoren in der Pluripotenz sind und als zwei unabhängige Gegenspieler funktionieren, die ein repressives Sicherheitsnetz bereitstellen, das die Abstammungsidentität schützt und bewahrt (Cohen et al., 2021; Long et al., 2020).

Zusammengefasst werden die verschiedenen Stadien der frühen Embryogenese in Säugetieren immer weiter aufgeklärt und neue intermediäre Zustände, wie der formative Zustand, beschrieben. Die Aufklärung des exakten Ablaufs der frühen Entwicklung in der Zellkultur auch im humanen System erlaubt ein besseres Verständnis der natürlichen In-vivo-Prozesse und bildet die Grundlage für die Entwicklung von Modellen für die Entstehung von Krankheiten und die Wirkstoffforschung sowie Ansätze zu Therapien in der regenerativen Medizin.

2.3.2 Untersuchungen zu Mechanismen der Reprogrammierung von Körperzellen zu iPS-Zellen

Eine Reihe von Studien in den Jahren 2020 bis 2021 untersucht die Mechanismen zur Reprogrammierung von humanen Körperzellen zu hPS-Zellen (siehe Erfahrungsberichte 2006/07 und 2008/09; zusammengefasst in Yamanaka, 2020). Die Technologie ist seit der Erstbeschreibung durch Takahashi und Yamanaka in Mauszellen (Takahashi and Yamanaka, 2006) und der Anwendung in humanen Zellen (Takahashi et al., 2007; Yu et al., 2007) kontinuierlich weiterentwickelt, und die Mechanismen, die dem Prozess zugrunde liegen, immer besser erforscht worden. Es ist festzustellen, dass die Technologie der Reprogrammierung inzwischen weitgehend aufgeklärt ist und kaum Publikationen im aktuellen Berichtszeitraum erschienen sind, die signifikant neue Erkenntnisse zu den Mechanismen der Reprogrammierung darstellen. Es sei hier auf die Darstellungen im 9. Erfahrungsbericht für

den Berichtszeitraum 2018 und 2019 verwiesen, in dem nochmals einige wichtige Prozesse dargestellt wurden: Die jüngste aktuelle Zusammenfassung der Reprogrammierung von Körperzellen zu iPS-Zellen wurde 2018 in *Cell Stem Cell* publiziert (Matoba and Zhang, 2018). Im Berichtszeitraum für den zehnten Erfahrungsbericht wurden weitaus mehr Studien publiziert, welche die Differenzierung von hPS-Zellen in diverse Zelltypen analysieren. Eine wichtige Studie analysiert das Genom von hiPS-Zellen und Gensequenzen, die aus dem Genom von Neandertalern stammen. Es zeigt sich, dass ein großes iPS-Zell-Repository umfangreiche Neandertaler-DNA enthält, darunter Allele, die zu menschlichen Phänotypen und Krankheiten beitragen (Dannemann et al., 2020).

2.3.3 Pluripotente Stammzellen von anderen Tierspezies

Wie im vorhergehenden Erfahrungsbericht dargestellt, fokussiert sich die Forschung an pluripotenten Zellen bereits seit einiger Zeit neben humanen Zellen und Zellen der Maus auch auf Zellen anderer Tierspezies. Die Gewinnung von pluripotenten Zellen anderer Säugetiere spielt eine Rolle bei der Erhaltung der Biodiversität und der Bewahrung genetischer Informationen einer Vielzahl von Spezies. PS-Zellen von Nutztieren des Menschen sind für die Züchtungsforschung von großer Bedeutung.

Die Entwicklung des Menschen wird seit mehr als einem Jahrhundert erforscht, aber die molekularen Mechanismen, die der menschlichen Embryogenese zugrunde liegen, sind aufgrund technischer Schwierigkeiten und ethischer Fragen noch weitgehend unbekannt. Dementsprechend wurden Mäuse als Modell für die Entwicklung von Säugetieren verwendet und ausgiebig untersucht, um Rückschlüsse auf die menschliche Biologie zu ziehen, die auf der Vergleichbarkeit grundlegender Prozesse zwischen den beiden Arten beruhen. Mit dem Fortschreiten der Forschung wurden jedoch artspezifische Unterschiede zwischen Nagetieren und Primaten deutlich. Nichtmenschliche Primaten wurden ebenfalls für die biomedizinische Forschung verwendet und bilden ein Modell für die menschliche Entwicklung. Ein aktueller Übersichtsartikel fasst die Primatenarten aus evolutionärer und genomischer Sicht zusammen. Er gibt einen Überblick über die aktuellen Probleme und Fortschritte in der Genmodifikationstechnologie für Primaten und erörtert die jüngsten Studien zur frühen Embryogenese von Primaten und die Zukunftsperspektiven (Nakamura et al., 2021).

Inzwischen gibt es eine regelrechte Menagerie von Stammzellmodellen aus vielen verschiedenen Spezies (Madhusoodanan, 2020). Bereits publizierte Ergebnisse lassen hoffen, dass die Etablierung von undifferenzierten PS-Zellen gemeinsam mit neuen assistierten Reproduktionstechniken (ART) eine praktikable Strategie zur Rettung aussterbender Tierarten darstellen könnte. Die Spezies des nördlichen Breitmaulnashorns, welche nur noch zwei weibliche Tiere seiner Art aufweist und damit de facto ausgestorben ist, könnte vielleicht mithilfe von Stammzellen und Eizellen vom südlichen Breitmaulnashorn wieder reetabliert werden. Ein Erfolg dieser Studien wäre von großer Bedeutung, da dann die Hoffnung bestünde, dass diese Techniken auch auf andere gefährdete große Säugetierarten übertragen werden könnten (Hildebrandt et al., 2021; Photopoulos, 2021). iPS-Zellen wurden bisher nur für einige wenige Arten der Ordnung Carnivoren hergestellt: Schneeleopard, Bengalischer Tiger, Serval, Jaguar, Katze, Hund, Frettchen und Amerikanischer Nerz. Nun wurden zum ersten Mal iPS-ähnliche Zellen von der Ringelrobbe (*Phoca hispida*), einer weiteren Spezies der Carnivoren, gewonnen (Beklemisheva and Menzorov, 2020). Wenn herkömmliche Labormodelle zum Studium biologischer Phänomene wie Winterschlaf, Virusinfektionen oder Fettspeicher nicht geeignet sind, können Stammzellen von Eichhörnchen, Robben und anderen Arten alternative Modellsysteme darstellen (Madhusoodanan, 2020). Ebenso sind in Studien eine ganze Reihe von iPS-Zellen aus Nutztierarten entstanden, welche nahezu unbeschränkte Zellquellen für die Untersuchung der Embryonalentwicklung und Zelldifferenzierung dieser Arten darstellen (zusammengefasst in Kumar et al., 2021). Sie finden ebenfalls Anwendung beim Screening und der Etablierung erwünschter Merkmale für eine verbesserte landwirtschaftliche Produktion sowie als veterinärmedizinische und präklinische therapeutische Instrumente für tierische und menschliche Krankheiten (Punetha et al., 2022; Su et al., 2020).

Aus PS-Zellen gewonnene Organoide versprechen einen neuen Ansatz für die aktuellen Herausforderungen in der Grundlagen- und biomedizinischen Forschung. Organoide von Säugetieren sind jedoch durch die lange Entwicklungszeit, den variablen Erfolg und das Fehlen eines direkten Vergleichs mit einer In-vivo-Referenz begrenzt. Um diese Einschränkungen zu überwinden und die artspezifische zelluläre Organisation zu erforschen, wurden Organoide aus Zellen von niederen Wirbeltieren, die sich schneller entwickeln, gewonnen. Es wurde gezeigt, wie sich primäre EPS-Zellen vom japanischen Reisfisch (Medaka) und vom Zebrafisch effizient zu vorderen neuralen Strukturen, insbesondere der Retina, entwickeln. Innerhalb von vier Tagen führen die Zellaggregate im Blastula-Stadium reproduzierbar wichtige Schritte der Augenentwicklung durch: Netzhautspezifikation, Morphogenese und Differenzierung. Die hohe Effizienz und schnelle Entwicklung von aus Fischen gewonnenen

Organoiden in Kombination mit fortschrittlichen Genom-Editing-Techniken ermöglicht es, Aspekte von Entwicklung und Krankheit zu untersuchen und die Auswirkungen der physikalischen Umgebung auf Morphogenese und Differenzierung systematisch zu erforschen (Zilova et al., 2021).

Die Bildung von Chimären zwischen verschiedenen Spezies mit hPS-Zellen könnte eine vielversprechende Strategie für verschiedene Anwendungen in der regenerativen Medizin sein, einschließlich der Erzeugung von Organen und Geweben zur Transplantation. Studien mit Maus- und Schweineembryonen deuten darauf hin, dass hPS-Zellen bei Arten, die evolutionär vom Menschen entfernt sind, nicht zuverlässig zur Bildung von Chimären beitragen. Aktuelle Ergebnisse zu Chimären von hPS-Zellen mit Embryonen von Primaten (Makaken) zeigen, dass die Zellen hier weitaus besser integrieren. Diese Ergebnisse können dazu beitragen, die frühe menschliche Entwicklung und die Evolution der Primaten besser zu verstehen und Strategien zur Verbesserung des Chimärismus bei evolutionär weit entfernten Arten zu entwickeln (Mascetti and Pedersen, 2021; Tan et al., 2021). Weitere Tiermodelle, in denen hPS-Zellen für Studien zum Chimärismus verwendet, sind von Bedeutung, um in Zukunft möglicherweise Organe für die Organtransplantation beim Menschen zu erzeugen (zusammengefasst in Leslie, 2021; Zheng et al., 2021). Nach Einschätzung von Forschenden könnte eines Tages diese Technik, die als Blastozysten-Komplementierung zwischen verschiedenen Spezies bekannt ist, Realität werden. Der aktuelle Stand der Blastozystenkomplementierung zwischen verschiedenen Spezies wurde in einem Übersichtartikel dargestellt (Zheng et al., 2021).

2.3.4 Untersuchungen zu generellen molekularen Mechanismen in Stammzellen

Die Techniken zur Einzelzellanalyse differenzierender Zellen mittels Sequenzierung sind im achten und neunten Erfahrungsbericht eingeführt und detailliert beschrieben worden. Diese Technologie wurde auch über die Berichtsperiode wieder entscheidend weiterentwickelt und ist inzwischen auch wesentlich günstiger geworden, so dass viele Labore diese Technologie einsetzen können. Ein exzellentes Beispiel der Weiterentwicklung ist die Verbindung von Einzelzellanalysen mit einer räumlichen Darstellung von mRNA Transkripten, welche eine molekulare und räumliche Darstellung der Stammzellnische im Knochenmark und der beteiligten Zelltypen erlaubt (Baccin et al., 2020).

PS-Zellen können sich in alle embryonalen Keimschichten differenzieren, doch die Gesamtheit der Gene, die für diese Zellschicksalstransitionen beim Menschen wesentlich sind, sind nach wie vor nicht vollständig aufgeklärt. Die essenziellen Gene für die Differenzierung von hPS-Zellen in die drei Keimschichten sind in einer kürzlich erschienenen Studie kartiert worden, indem eine genomweite Loss-of-Function-Bibliothek in haploiden hPS-Zellen angelegt wurde. Haploide Zellen haben nur einen einfachen elterlichen Chromosomensatz und können Genmutationen nicht durch das jeweils zweite Allel des zweiten elterlichen Chromosomensatzes kompensieren. Auffallend ist, dass ein hoher Anteil essentieller Gene beobachtet wurde, deren Proteinprodukte mit der Plasmamembran assoziiert sind und Signalwege kontrollieren, die für die Differenzierung der einzelnen Zelllinien benötigt werden. Die Studie wirft ein Licht auf die Gen-Netzwerke, die die frühen Gastrulationsereignisse beim Menschen regulieren, indem wesentliche Treiber für spezifische embryonale Keimschichtschicksale und wesentliche Gene für den Austritt aus der Pluripotenz charakterisiert werden (Yilmaz et al., 2020).

Haas, Velten und Kollegen haben hochauflösende Einzelzell-Proteogenomik-Referenzkarten von menschlichem Blut und Knochenmark erstellt, die die Expression von ca. 200 Zelloberflächenmarkern quantitativ mit zellulären Identitäten und biologischen Prozessen in allen wichtigen hämatopoetischen Zelltypen bei gesundem Altern und Leukämie verknüpfen. Diese Referenzkarten ermöglichen den automatischen Entwurf kosteneffizienter Hochdurchsatz-Zytometriesysteme, die den Stand der Technik übertreffen, komplexe Topologien zellulärer Systeme genau widerspiegeln und die Aufreinigung genau definierter Zellzustände ermöglichen (Triana et al., 2021).

In weiteren Studien wurden Methoden der Nachverfolgung von Zellschicksalen und der Einzelzellsequenzierung unabhängig voneinander eingesetzt, um die Zellentwicklung bzw. die molekularen Phänotypen zu beschreiben. Weinreb et al. (2020) und Pei et al. (2020) vertreten den gemeinsamen Grundsatz, dass eine gleichzeitige Erfassung der klonalen und transkriptionellen Trajektorien entscheidende neue Erkenntnisse über die Organisation und Entscheidungsfindung in der Hämatopoese liefert (diskutiert in Chahi and Hope, 2020).

Auf europäischer Ebene hat sich in den letzten Jahren ein Konsortium mit einer großen Anzahl von europäischen Forschungslaboren zu diesen neuen Einzelzelltechnologien etabliert. Das LifeTime Konsortium hat zum Ziel, Zellen während der Entstehung und des Fortschreitens komplexer Erkrankungen zu verfolgen, zu verstehen und gezielt zu regulieren sowie die Effekte von Therapien auf klinisch relevante Zelltypen in Einzelzellanalysen aufzuklären (Rajewsky et al., 2020). Ein weiteres Konsortium, welches sich im Rahmen eines EU Flagship Projekts

gegründet hat, RESTORE, zielt darauf ab, ein nachhaltiges europäisches Ökosystem zu schaffen, das transdisziplinäre Forschung, klinische Zentren, Pharma-, Biotech- und Grundlagentechnologie-Industrien, Regulierungsbehörden, Patientinnen und Patienten und die öffentliche Gesellschaft einbindet, um technologische und regulatorische Hindernisse in Europa zu überwinden, damit neuartige Therapien mit weitreichenden Auswirkungen auf Patientinnen und Patienten und die Gesellschaft auf breiter Basis eingeführt werden können (Volk et al., 2020).

2.3.5 Stammzellforschung im Weltraum

Um mehr über menschliches Gewebe zu erfahren, haben einige Forschende Experimente im Weltraum gestartet. 2020 schickte ein Forscherteam der Universität Zürich 250 Reagenzgläser mit sorgfältig präparierten menschlichen Stammzellen an das U.S. National Laboratory auf der Internationalen Raumstation (ISS). Sie wollen untersuchen, wie sich die nahezu schwerelose Umgebung der ISS mit ihrer Mikrogravitation auf diese Zellen auswirkt, in der Hoffnung, in dieser Umgebung einige der Geheimnisse ihres Wachstums, ihrer Teilung und ihrer Gewebeerzeugung zu verstehen (Dhar, 2020). Die Kultur von mesenchymalen Stromazellen auf der Erde ist schwierig und auf wenige Populationsverdopplungen beschränkt. Die standardmäßige zweidimensionale (2D) Kulturumgebung ist eine unnatürliche Bedingung für das Zellwachstum. Daher könnte die Kultivierung von Stammzellen an Bord der ISS unter Mikrogravitation eine natürlichere dreidimensionale Umgebung für die Expansion von Stammzellen und die Organentwicklung bieten. In einer Studie wurden im Weltraum gezüchtete humane mesenchymale Stammzellen (MSCs) untersucht, um ihren potenziellen Nutzen für künftige klinische Anwendungen auf der Erde und während des Langzeit-Raumflugs zu ermitteln (Huang et al., 2020b). 2021 haben auch Forscher der University of California San Diego Blutstammzellen an Bord einer SpaceX Falcon 9 Rakete in den Weltraum gebracht, um die stressbedingte Alterung zu untersuchen und zu erforschen, wie sich Stammzellen und ihre Nachkommen in Prä-Krebs- und Krebsstammzellen verwandeln (UC-San-Diego, 2021). Im Rahmen des Symposiums "Biomanufacturing in Space 2020" wurde sich mit der weltraumgestützten Forschung im Bereich der regenerativen Medizin befasst und die Nutzung erdnaheer Umlaufbahnen zur Förderung des Biomanufacturing für regenerative Medizinanwendungen erörtert. Dort wurden Bereiche identifiziert, in denen finanzielle Investitionen Fortschritte bei der Überwindung technischer Hindernisse fördern könnten (Sharma et al., 2021).

Da längere Aufenthalte auf der ISS immer häufiger vorkommen, müssen die Auswirkungen der Mikrogravitation auf die Herzfunktion besser verstanden werden. Kardiomyozyten, die aus hiPS-Zellen abgeleitet worden sind, wurden im Weltraum analysiert, um die Auswirkungen der Mikrogravitation auf die Herzfunktion und die Genexpression auf Zellebene zu untersuchen. Die Kardiomyozyten wurden sechs Wochen an Bord der ISS kultiviert und ihre Genexpression, Struktur und Funktionen wurden mit Kardiomyozyten aus der Bodenkontrolle verglichen. Eine RNA-Sequenzierungsanalyse zeigte, dass über 2.500 Gene in den Flug-, Nachflug- und Bodenkontrollproben unterschiedlich exprimiert wurden, darunter auch Gene, die am mitochondrialen Stoffwechsel beteiligt sind (Wnorowski et al., 2019).

2.4 Technologien der Stammzellforschung: Organoide

Multizelluläre Organismen verschiedener Komplexität organisieren sich in der Natur selbst. Organoide sind In-vitro-3D-Strukturen, die wichtige Aspekte der Anatomie und Physiologie ihrer In-vivo-Gegenstücke aufweisen und sich aus pluripotenten oder gewebespezifischen Stammzellen durch einen Selbstorganisationsprozess entwickeln. Die Grundlagen der Modellsysteme aus Organoiden sind in vorherigen Erfahrungsberichten vorgestellt worden (zusammengefasst in Kim et al., 2020; Schutgens and Clevers, 2020). Zu diesem Thema ist im Jahr 2020 ein umfangreicher Übersichtsband im Nomos Verlag erschienen, welcher die verschiedenen Aspekte der Bedeutung von Organoiden in Forschung und Medizin eingehend darstellt (Bartfeld et al., 2020). In diesem Zusammenhang sind die Kernaussagen aus dem Buch (Bartfeld et al., 2020b) und ein journalistischer Text zur Forschung in einem White Paper des German Stem Cell Network, der Interdisziplinären Arbeitsgruppe Gentechnologiebericht der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften und dem Berlin Institute of Health (BIH) zusammengefasst⁵ (Graf et al., 2020). Durch die Möglichkeiten, die Organoide im allgemeinen und speziell menschliche Organoide bieten, kann die Architektur und Physiologie bestimmter Teile menschlicher Organe in bemerkenswerter Detailtreue nachgebildet werden.

Humane Organoide bieten einzigartige Möglichkeiten für das Studium menschlicher Krankheiten und ergänzen nicht nur Tiermodelle, sondern können in bestimmten Fällen sogar Ergebnisse liefern, die durch Tierversuche nicht gewonnen werden können. In einem weiteren Übersichtsartikel wird das multidisziplinäre Konzept der "syn-

⁵ https://www.gscn.org/Portals/0/Dokumente/White%20Paper/GSCN-White-Paper_dt_11-2020_web.pdf

thetischen Entwicklungsbiologie" mit Organoiden beschrieben, bei dem ingenieurwissenschaftliche Ansätze eingesetzt werden, um die multizelluläre Organisation in einer experimentellen Umgebung zu steuern. Es wird erörtert, wie technische Hilfsmittel dazu beitragen könnten, die derzeitigen Beschränkungen bei der Konstruktion von Organoiden zu überwinden (zusammengefasst in Zarkesh et al., 2022). In zukünftigen Studien sollte aufgeklärt werden, inwieweit Stadien der menschlichen Entwicklung mit der Entwicklung von hPS-Zellen-abgeleiteten Organoiden in der Gewebekulturschale übereinstimmen (zusammengefasst in Frum and Spence, 2020; Hofer and Lutolf, 2021). Mit der Ausweitung der Organoidforschung wächst auch der Bedarf an klaren Definitionen und Nomenklaturen zur Beschreibung dieser Systeme. Um die wissenschaftliche Kommunikation und die einheitliche Interpretation zu erleichtern, wurde ein Konzept für Organoide vorgestellt und ein intuitives Klassifizierungssystem und eine Nomenklatur zur Beschreibung dieser 3D-Strukturen eingeführt, welche auf dem Konsens von Expertinnen und Experten auf diesem Gebiet beruhen (Marsee et al., 2021).

2.4.1 Organoide des Herzen – Kardioide

Während für alle wichtigen Organe bereits selbstorganisierende Organoide beschrieben wurden, bildete das menschliche Herz bisher eine bemerkenswerte Ausnahme. Kürzlich wurden nun von mehreren Gruppen unabhängig selbstorganisierende Herz Organoidmodelle („Kardioide“) aus menschlichen PS-Zellen hergestellt, die sich selbst spezifizieren, strukturieren und in kammerartige Strukturen mit einem Hohlraum umwandeln (Hofbauer et al., 2021; Janel and Mendjan, 2021). Weitere Ergebnisse zu Studien der Interaktion von verschiedenen Geweben aus PS-Zellen belegen deren überraschendes morphogenetisches Potenzial, um Schlüsselaspekte der Organogenese durch die koordinierte Entwicklung von mehreren Geweben auszuführen. Eine entsprechende Plattform mit Organoiden ist ein hervorragendes Instrument für die Untersuchung der Herzentwicklung in noch nie dagewesenem Detail und Durchsatz (Rossi et al., 2021). Die aktuellen Berichte in Cell Stem Cell (Rossi et al., 2021; Silva et al., 2021) sowie in Nature Biotechnology aus der Medizinischen Hochschule Hannover (Drakhlis et al., 2021b, 2021a) haben nun die gemeinsame Entwicklung von embryonalem Mesoderm und Endoderm mit hPS-Zellen rekapituliert, um die Bildung sowohl von komplexen Herz- als auch von Darmorganoiden zu ermöglichen (diskutiert in Gu and Zorn, 2021). Dadurch können Fehlbildungen der Herzentwicklung untersucht werden ebenso wie die (Neben-)Wirkung chemischer und pharmakologischer Wirkstoffe auf Entwicklungsprozesse.

2.4.2 Organoide der Niere

Die Nieren sind wichtige Organe, die das Blut filtern, Abfallstoffe aus dem Urin entfernen und gleichzeitig die Flüssigkeits- und Elektrolythomöostase aufrechterhalten. Derzeitige konventionelle Forschungsmodelle wie statische Zellkulturen und Tiermodelle haben Einschränkung bei der Abschätzung der komplexen menschlichen In-vivo-Situation. Tiermodelle sind allerdings zu Einschätzung der Auswirkung von Effekten auf einen Gesamtorganismus auch in der Zukunft unerlässlich. Die Entwicklung von menschlichen Nierenorganoiden erlaubt nun allerdings ein besseres Verständnis der Nephrogenese (zusammengefasst in Gupta et al., 2020). Das Forschungsteam von Melissa Little und Kollegen demonstrierte die Plastizität des Epithels des distalen Nephrons in Nierenorganoiden und zeigte, dass dieses dazu gebracht werden kann, einen uretischen Epithelphänotyp in der Kultur anzunehmen. Die anschließende Reifung dieses Epithels führte zur Bildung von Sammelkanälen, was für die genaue Modellierung der autosomal-rezessiven polyzystischen Nierenerkrankung verwendet werden kann (Howden et al., 2021; diskutiert in Bhattacharya et al., 2021). Eine weitere Studie zu Nierenorganoiden berichtet über die Erzeugung eines expandierbaren, verzweigten 3D-Ureterknospen Organoid-Kulturmodells, das aus primären Vorläufern aus fötalen Nieren von Mäusen und Menschen oder de novo aus hPS-Zellen gewonnen werden kann. Das Sammelkanalsystem in der Niere wird modelliert, indem Vorläuferzellen der Harnleiterknospe zur Erzeugung von Organoiden verwendet werden. Mit dieser komplexen Struktur können die angeborenen Anomalien der Niere und der Harnwege modelliert werden (Zeng et al., 2021).

2.4.3 Zerebrale Organoide

Die Herstellung und Methodiken zu zerebralen Organoiden sind in vorausgegangenem Erfahrungsbericht eingehend beschrieben worden. Innovationen bei organoidbasierten Modellen menschlicher Gewebe haben auch zerebrale Organoide zu einer interessanten Versuchsplattform für die Untersuchung von Organentwicklung und Krankheit gemacht. Diese Modelle müssen jedoch systematisch mit Primärgewebe verglichen werden, um ihren Wert zu ermitteln (zusammengefasst in Bhaduri et al., 2020). Im Folgenden werden einige weiterführende Studien zu diesen Forschungsobjekten aufgeführt.

Die Stammzelltechnologie ermöglicht die Herstellung von dreidimensionalen organähnlichen Strukturen, aber die Entwicklung einer gewebeübergreifenden Anatomie hat sich als schwierig erwiesen. Neuronen in der Großhirnrinde sind über absteigende Bahnen mit dem Hinterhirn und dem Rückenmark verbunden, um Muskeln zu aktivieren und Bewegungen zu erzeugen. Eine Studie in Cell Stem Cell hat gezeigt (Martins et al., 2020), dass die Erzeugung einer gemeinsamen Vorläuferzelle für das hintere Rückenmark und die Muskulatur die Bildung funktioneller neuromuskulärer Verbindungen in einzelnen Organoiden ermöglicht (Ichida and Ko, 2020). In einer weiteren Studie wurden Organoide hergestellt, die der Großhirnrinde bzw. dem Hinterhirn/Rückenmark ähneln, und mit menschlichen Skelettmuskel-Sphäroiden zusammengefügt, um kortiko-motorische 3D-Assembloide zu erzeugen (Andersen et al., 2020). Einzelzellgenomische Methoden bieten leistungsstarke Ansätze zur Erforschung der Zellzusammensetzung, der Differenzierungswege und der genetischen Störungen in hirnanalogen Systemen. Computergestützte Technologien erlauben nun die Strukturierung von Hirnanalogenen, den Entwicklungszustand und die Zellidentität durch Vergleiche mit räumlichen und einzelligen Transkriptom-Referenzdaten zu bewerten (Fleck et al., 2021). In einer weiteren Studie zu neuronalen Organoiden konnte gezeigt werden, dass diese Organoide eine frühe neuronale Netzwerkbildung und -reifung zeigen und Hinweise auf einen Polaritätswechsel durch einen Neurotransmitter (Gamma-aminobutyric acid (GABA)) und Langzeitpotenzierung liefern (Zafeiriou et al., 2020).

Es ist gezeigt worden, dass zerebrale Organoide eine intrinsische Fähigkeit zur Bildung von Gewebestrukturen in spezifischen Mustern haben und spontan bilateral symmetrische optische Vesikel aus der Vorderhirn-ähnlichen Region bilden können. Diese inhärente Fähigkeit von Hirnanalogenen, optische Strukturen zu bilden, ermöglicht Studien zur Interaktion zwischen verschiedenen Geweben innerhalb eines einzigen Organoids (Gabriel et al., 2020). Eine weitere Studie berichtet über die Entwicklung von augenähnlichen Strukturen aus Organoiden des Vorderhirns mit Lichtempfindlichkeit, Signalverarbeitung und Konnektivität, was die Beantwortung dieser komplexen Frage näher bringt (Rao et al., 2021).

Um die Vielseitigkeit und Zuverlässigkeit von menschlichen 3D-Hirnanalogenen bei der Modellierung von Glioblastomen zu verbessern, wurde eine Reihe von Methoden entwickelt, die eine schnelle und effiziente Untersuchung der Invasion von Stammzellen des Glioblastoms ermöglichen. Die beschriebenen Ergebnisse können zur Untersuchung der Tumordinvasion, der Integration, der Interaktion mit reifen Neuronen und des Wirkstoffscreenings verwendet werden (Goranci-Buzhala et al., 2020; zusammengefasst in Kretschmar, 2020). Eine weitere aktuelle Studie zeigte ebenfalls, dass die Interaktion mit tumor-assoziierten Stammzellen des Blutsystems eine wichtige Rolle bei der Entwicklung von Glioblastomen spielt (Lu et al., 2021). Eine Virusinfektion in der Frühschwangerschaft ist eine der Hauptursachen für Mikrozephalie. Wie verschiedene Viren die Entwicklung des menschlichen Gehirns beeinträchtigen, ist jedoch noch wenig bekannt. Menschliche Hirnanalogenen wurden verwendet, um die Mechanismen zu untersuchen, die der durch das Zika-Virus und das Herpes-Simplex-Virus verursachten Mikrozephalie zugrunde liegen. Die Ergebnisse decken virusspezifische Mechanismen und eine komplexe zelluläre Immunabwehr auf, die mit virusbedingter Mikrozephalie in Verbindung stehen (Krenn et al., 2021).

2.4.4 Andere Organoidsysteme und Organ-on-a-Chip

Wie oben für Hirnanalogenen beschrieben, können Stammzellen Organoide aus menschlichem Gewebe ex vivo generieren, was die Untersuchung von Wirt-Mikroben-Interaktionen mit experimenteller Kontrolle ermöglicht. So wurden ebenfalls Methoden zur Kokultur von Dünndarm- und Dickdarmorganoiden mit entsprechendem Mikrobiom entwickelt, die fremden Bakterienarten ausgesetzt wurden. Diese Protokolle umfassen verschiedene Methoden zur Kokultur von Organoiden mit Mikroben, einschließlich Mikroinjektion in das Lumen und die Peripherie von 3D-Organoiden (Puschhof et al., 2021). Weiterhin ermöglichen Organoide, die dem Gang der Bauchspeicheldrüse ähneln, In-vitro und In-vivo-Studien zur Plastizität, Dysplasie und Krebsbildung der Bauchspeicheldrüse vor einem genetisch definierten Hintergrund (Breunig et al., 2021; Huang et al., 2021). Das Zusammenspiel zwischen Organoiden aus Epithelzellen mit Immunzellen konnte eine Reihe neuer Erkenntnisse produzieren. Hier zeigte sich die Rolle der Interaktionen zwischen Epithelzellen und Immunzellen bei der Gewebeerneuerung und -homöostase sowie bei Krankheiten wie Krebs (Bar-Ephraim et al., 2020). In einer weiteren Studie wurden Organoide aus der Tränenrinne von Maus und Mensch generiert, die als Studienobjekte für die Tränenrinne in vitro dienen können. In einer Einzelzell-Transkriptomanalyse konnten die wichtigsten Zelltypen der menschlichen Tränenrinne nachgewiesen werden. Menschliche Tränenrinneorganoide sezernierten Tränenflüssigkeit und konnten in ein Mausmodell transplantiert werden (Bannier-Hélaouët et al., 2021).

Darmkrebs-Stammzellen werden für das Fortschreiten der Krankheit, das Wiederauftreten des Tumors und die Chemoresistenz verantwortlich gemacht. In einer Kohorte von aus Patientenzellen gewonnenen Darmkrebs-Organoiden wurde die Expression verschiedener Stammzellmarker und deren Expression mit der Empfindlichkeit gegen Chemotherapeutika untersucht. Die Ergebnisse zeigten, dass die Expression von Stammzellmarkern zwischen den Tumoren variiert und dass die Expression einiger Gene sowohl mit einer geringeren Überlebensdauer der Patientinnen und Patienten als auch mit vermehrten Rückfällen der Krankheit korreliert. Diese und weitere Studien zeigen, dass Organoide abgeleitet von Krebsgewebe geeignet sind, Behandlungen mit Zytostatika zur Chemotherapie zu bewerten und zu optimieren (Engel et al., 2020; Yao et al., 2020).

Das Tissue Engineering hat sich seit seinen Anfängen in den 1980er Jahren auch durch die Entwicklung von Organoid-Modellen deutlich weiterentwickelt. Die Technologien der iPS-Zellen und adulter Stammzellen ermöglichen Studien zur Organregeneration und Krankheitsmodellierung in einem patientenspezifischen Kontext. Durch die Kombination von verschiedenen Organoidmodellen, z. B. Lunge, Herz und Endothel mit hämatopoetischen Stammzellen in "Organ-on-a-Chip"-Systemen können komplexere Interaktionen von verschiedenen Geweben untersucht und verstanden werden. Die Entwicklungen können zukünftig das Potenzial des Tissue Engineerings hin zu der Anwendung verbessern (zusammengefasst in Tavakol et al., 2021). Der Übersichtsartikel von Tavakol et al. wurde kritisch diskutiert auf dem „2020 Till & McCulloch Meeting Compelling Communication Workshop“. Ein zentraler Kommentar hierzu war, dass der Begriff "Organ-on-a-Chip" im wissenschaftlichen Feld eindeutiger definiert werden sollte (Abbasi et al., 2021).

2.4.5 Organoide und Stammzellen in der Erforschung von COVID-19

Viele pathogene Viren, die Menschen infizieren können, sind artspezifisch, was die Verwendung von Tiermodellen einschränkt. Die Erforschung der Virusbiologie und die Identifizierung potenzieller Behandlungsmethoden profitieren daher von der Entwicklung von In-vitro-Zellsystemen, welche die menschliche Physiologie genau nachahmen. Während der COVID-19-Pandemie waren wissenschaftliche Erkenntnisse von größter Bedeutung, um die Auswirkungen auf die öffentliche Gesundheit und die Gesellschaft zu begrenzen. Organoide entwickeln sich zu vielseitigen Instrumenten, um das Verständnis der Biologie von SARS-CoV-2 voranzutreiben und die Suche nach neuen Behandlungsmethoden zu unterstützen (zusammengefasst in Clevers, 2020; Geurts et al., 2021; Mallapaty, 2020a). Zur Pathophysiologie von COVID-19 gehören u. a. Atemprobleme, aber auch andere Organsysteme wie Darm, Leber, Herz und Bauchspeicheldrüse sind betroffen. Yang et al. präsentierten eine experimentelle Plattform, die aus Zell- und Organoidderivaten von hPS-Zellen besteht. Aus hPS-Zellen abgeleitete Zellen und Organoide sind wertvolle Modelle für das Verständnis der zellulären Reaktionen menschlicher Gewebe auf die SARS-CoV-2-Infektion und für die Krankheitsmodellierung von COVID-19 (Yang et al., 2020).

Die Lunge ist eine der wichtigsten Eintrittspforten für xenobiotische Stoffe und Infektionserreger in den Körper und unterliegt einer Reihe von Funktionsstörungen und Krankheiten, die für eine beträchtliche Zahl von Todesfällen verantwortlich sind. Zellmodelle basierend auf hiPS-Zellen, die der menschlichen Lunge ähneln, enthalten die Zelltypen, die für ein Epithelmodellsystem erforderlich sind, produzieren Schleim und funktionelle Zilien und können die Infektion/Replikation von SARS-CoV-2 und die Sekretion von Zytokinen in einer Weise abbilden, die derjenigen der Atemwege in vivo ähnelt. Diese Technologie bietet ein leicht zugängliches und hochgradig skalierbares Protokoll für die Herstellung von Modellen der oberen Atemwege, die bei der Entwicklung von Therapien für Virusinfektionen der Atemwege und bei der Bewertung der Toxizität von Medikamenten in der menschlichen Lunge Anwendung finden könnten (Djidrovski et al., 2021; Huang et al., 2020a; Youk et al., 2020). SARS-CoV-2 befällt in erster Linie das Epithel der Atemwege und kann in der Lunge zu einem akuten Atemnotsyndrom führen. Klinische Studien haben allerdings gezeigt, dass COVID-19 eine Multiorganerkrankung ist, die charakteristische Komplikationen verursacht. Stammzellmodelle verschiedener Organsysteme - vor allem Lunge, Darm, Herz und Gehirn - stehen im Mittelpunkt von Studien, die darauf abzielen, die Rolle der direkten Infektion bei der Multiorgan-Dysfunktion von COVID-19 zu verstehen (Simoneau and Ott, 2020). Aus hPS-Zellen abgeleitete kardiovaskuläre Zellen wurden zur Untersuchung von COVID-19 eingesetzt und es konnte gezeigt werden, welches Potenzial sie für ein besseres Verständnis der Herzpathologie und für die therapeutische Entwicklung haben (zusammengefasst in Yiangou et al., 2020). Weitere Studien haben aufgedeckt, dass die virale Replikation und zytopathische Wirkung in Kardiomyozyten zum Einstellen der Kontraktionen und zu Apoptose, dem programmierten Zelltod, führen. Die Infektion mit SARS-CoV-2 aktiviert die angeborene Immunantwort und antivirale Clearance-Genwege, während der Zellmetabolismus gehemmt wird. Dieses Modell kann zur Aufklärung der Infektionsmechanismen verwendet werden und möglicherweise eine herzspezifische Screening-Plattform für antivirale Medikamente darstellen (Sharma et al., 2020).

Es ist beschrieben worden, dass das Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE2) der entscheidende Rezeptor für das Coronavirus (SARS-CoV und SARS-CoV-2) ist und ACE2 die Lunge vor Schädigungen schützt, was eine molekulare Erklärung für das schwere Lungenversagen und den Tod infolge von SARS-CoV-Infektionen liefert. Rekombinantes humanes ACE2 in klinischer Qualität kann die SARS-CoV-2-Infektion in Zellen und in mehreren menschlichen Organoidmodellen reduzieren (Monteil et al., 2020). Bei einigen Patientinnen und Patienten wurden auch neurologische Symptome nach der Infektion mit SARS-CoV-2 beobachtet. In zerebralen Organoiden wurde der Neurotropismus des Virus untersucht. Der virale Rezeptor ACE2 war allerdings nur auf reifen Aderhautplexuszellen zu finden, aber nicht in Neuronen oder anderen Zelltypen. Eine Infektion mit SARS-CoV-2 schädigt das Epithel des Plexus choroideus, was zu einem Durchsickern durch diese wichtige Barriere führt, die normalerweise das Eindringen von Krankheitserregern, Immunzellen und Zytokinen in den Liquor und das Gehirn verhindert (Pellegrini et al., 2020). Allerdings zeigen weitere Studien, dass auch Neuronen in humanen Hirnorganoiden vom Virus befallen werden. Die neurotoxischen Wirkungen von SARS-CoV-2 sind anhand von Hirnorganoiden aufgezeigt worden und es konnte verdeutlicht werden, wie Hirnorganoiden das Verständnis von Infektionen weiter verbessern können (Gabriel et al., 2020; Ramani et al., 2020, 2021).

Es wurden zahlreiche klinische Studien mit mesenchymalen Stroma-/Stammzellen (MSC) als neue Behandlungsmethode für die durch Coronaviren ausgelöste Krankheit (COVID-19) registriert, die meisten davon auf der Grundlage einer intravenösen Infusion. Es gibt im Berichtszeitraum keine zugelassene wirksame Therapie für COVID-19, aber MSC-Therapien haben sich als vielversprechend bei der Behandlung von Lungenentzündung sowie Entzündung und Sepsis im Rahmen des akuten Atemnotsyndroms erwiesen, die zu den häufigsten Todesursachen von COVID-19-Patientinnen und Patienten zählen. Auch die International Society of Stem Cell Research (ISSCR) hat sich zu Behauptungen geäußert, dass Stammzellen zur Behandlung von Menschen, die mit COVID-19 infiziert sind, als therapeutische Maßnahme verwendet werden können. Während die Stammzellenforschung für zahlreiche Krankheiten und Leiden vielversprechend ist, gibt es derzeit keine zugelassenen stammzellenbasierten Ansätze für die Prävention und Behandlung von COVID-19-Infektionen (ISSCR, 2020). Die erhebliche Morbidität und Mortalität von COVID-19 hat einen weltweiten Wettlauf um die Entwicklung neuer Therapien ausgelöst. Dazu gehören auch Behandlungen mit zellbasierten oder aus Zellen gewonnenen Produkten, von denen mehrere in klinischen Studien getestet werden. Die Suche nach zellbasierten COVID-19-Therapien war jedoch auch mit übertriebenen Behauptungen, der Missachtung wichtiger regulatorischer, wissenschaftlicher und ethischer Normen und einer verzerrten Kommunikation der Forschungsergebnisse verbunden (diskutiert in Turner, 2020; Turner et al., 2021).

2.4.6 In-vitro-Analyse der frühen Embryogenese mithilfe pluripotenter Stammzellen: Embryone, Blastozysten und Gastruloide

Der begrenzte Zugang zu Embryonen hat die Erforschung der menschlichen Embryogenese und von Fehlentwicklungen, die während der frühen Schwangerschaft auftreten, erschwert. hPS-Zellen bieten eine Alternative, um die menschliche Entwicklung im Labor zu untersuchen. Jüngste Fortschritte bei partiellen Embryonenmodellen aus hPS-Zellen haben es ermöglicht, die menschliche Entwicklung in frühen Stadien nach der Einpflanzung zu untersuchen (Yu et al., 2021a).

Die Embryonalentwicklung wird traditionell als ein induktiver Prozess angesehen, der durch exogene mütterliche Einflüsse und extraembryonale Signale gesteuert wird. Es gibt jedoch immer mehr Hinweise darauf, dass die Entwicklung des Embryos neben exogenen Signalen auch eine endogene Selbstorganisation beinhaltet. In jüngster Zeit wurde dieses Selbstorganisationspotenzial durch eine Reihe von Stammzellmodellen, den sogenannten Embryonoiden, hervorgehoben, die verschiedene Aspekte der Embryogenese in vitro rekapitulieren können. Verschiedene Studien zeigen, dass die Embryonalentwicklung als ein gesteuerter selbstorganisierender Prozess zu betrachten ist, bei dem die embryonale Musterbildung und Morphogenese durch eine Kombination aus exogenen Signalen und endogener Selbstorganisation gesteuert werden (Yanagida et al., 2021; zusammengefasst in Morales et al., 2021; Steventon et al., 2021). Ein weiterer Übersichtsartikel beschreibt die Signalübertragungsprozesse, die den Entscheidungen über das Zellschicksal während der Bildung von Embryonoiden in Raum und Zeit zugrunde liegen (Liu and Warmflash, 2021). Mit der Weiterentwicklung menschlicher Stammzellkulturen und dem Interesse am Verständnis der menschlichen Embryogenese wurden menschliche Blastozysten-ähnliche Strukturen, sogenannte menschliche Blastozysten, entwickelt. Um die Identifizierung von Zelllinien in menschlichen Embryonenmodellen zu erleichtern, sind eine Reihe menschlicher Marker für das amniotische Ektoderm und das Trophektoderm identifiziert worden, die zur Unterscheidung dieser beiden Linien verwendet werden können. Darüber hinaus wurde ein auf einem neuronalen Netz basierendes Online-Vorhersagetool entwickelt, mit dem die vollständige zelluläre Zusammensetzung von Blastozysten genau bestimmt werden kann (Zhao et al., 2021a).

Die Spezifikation der Zelllinien der Keimbahnen (lineage specification) während der menschlichen Präimplantationsentwicklung ist nach wie vor nicht aufgeklärt. Mittels moderner Technologien zur Sequenzierung von RNA (scRNA-seq), Pseudozeitanalyse mit Einzelzellanalyse und Immunfluoreszenzvalidierung konnte die Abfolge molekularer Ereignisse rekonstruiert werden, die in menschlichen Präimplantationsembryonen im Zeitraffer ablaufen. Diese Ergebnisse klären die Spezifikation, das Timing und die Zelltranskriptome in den frühen Stadien der menschlichen Entwicklung (Meistermann et al., 2021, diskutiert in Weltner and Lanner, 2021). Zur Induktion der wichtigsten mesodermalen Linien und Zelltypen der mittleren Keimschicht fehlen weitgehend experimentelle Modellsysteme, die komplexere Merkmale der menschlichen Mesoderm-Entwicklung und -Musterung rekonstruieren können. Die schrittweise In-vitro-Induktion des präsomitischen Mesoderms und seiner Derivate ist experimentell gezeigt worden und erlaubt verschiedene Aspekte der menschlichen Somitogenese zu modellieren (Matsuda et al., 2020).

Gastruloide sind embryoähnliche Strukturen, die wichtige Merkmale der Embryonalentwicklung nach der Implantation aufweisen. Ob sie jedoch die Embryogenese in vivo vollständig rekapitulieren, ist nach wie vor ungeklärt. Es wurde eine hochauflösende Genexpressionsanalyse durchgeführt, um signifikante Ähnlichkeiten zwischen Maus-Gastruloiden, welche die Phase der Gastrulation rekapitulieren, und In-vivo-Embryonen während der Gastrulation in Bezug auf die Segregation der Positionslinien und die Somitenbildung, festzustellen (Brink et al., 2020, diskutiert in Rosado-Olivieri and Brivanlou, 2020). Eine weitere Studie beschreibt, dass die Instruktion von Aggregaten embryonaler Stammzellen der Maus mit einem experimentell hergestellten Morphogen-Signalszentrum, das als Organisator fungiert, für die Entwicklung von Embryoiden entscheidend ist (Xu et al., 2021).

2.4.7 Ethische Betrachtungen zu Embryoiden

In den letzten Jahren wurde eine Vielzahl von In-vitro-Modellen der Säugetierentwicklung beschrieben, die ein immenses Potenzial für die Erforschung grundlegender Fragen der Entwicklungsbiologie bieten, insbesondere im Fall des menschlichen Embryos, wo ethische und rechtliche sowie technische Beschränkungen die Forschung eingrenzen. Diese Technologien werfen schwierige Fragen im Hinblick auf ethische, rechtliche und soziale Gesichtspunkte auf, die gebührend berücksichtigt werden sollten (Moris et al., 2021). Gleiches gilt für innovative Technologien zu Embryoiden (Nicolas et al., 2020). Die internationale Abstimmung zu diesen Fragen gestaltet sich vor dem Hintergrund verschiedener Kulturkreise und Rechtssysteme äußerst komplex. Nicolas et al. regen an, dass ein aufgeklärter und rationaler Dialog zu diesen neuen Technologien geführt werden solle. Beim gegenwärtigen Stand der Technik lässt sich noch nicht abschätzen, ob sich diese Modelle länger als ein paar Tage in vitro entwickeln können und ob sie sich im Tiermodell bis zu einem geborenen Organismus entwickeln können. Es solle davon ausgegangen werden, dass die Zellkulturmethoden sich über die nächsten Jahre so weit verbessern, dass die Modelle Schlüsselmerkmale der frühen menschlichen Entwicklung aufweisen und dem menschlichen Embryo immer ähnlicher werden können. Eine ethische Einordnung dieser Strukturen ist bisher nicht hinreichend erfolgt, insbesondere, wenn hiPS-Zellen als Ausgangsmaterial verwendet werden und nicht hES-Zellen (siehe weitere Ausführungen im Kapitel 2.9 Ethische, rechtliche und soziale Aspekte (ELSA) der Stammzellforschung).

2.5 Verfahren zur Genom-Editierung in Stammzellen

Die Möglichkeiten der Genom-Editierung von Stammzellen und insbesondere von pluripotenten Stammzellen ist in vorhergehenden Erfahrungsberichten eingehend beschrieben worden. Die Kombination von Stammzell- und Gentherapien wird für ein breites Spektrum an Krankheiten neue Optionen für die Therapie aufzeigen. Insbesondere wenn Genmutationen die Grundlage der Erkrankung bilden, kann in autologen (patienteneigenen) Stammzellen durch das Hinzufügen eines nicht mutierten Gens oder über die gezielte Genveränderung die Mutation korrigiert werden und Patientinnen und Patienten mit gesunden eigenen Stammzellen behandelt werden. Genom-Editierung hat sich als vielversprechend für die klinische Umsetzung erwiesen, aber auch das Risiko der Genotoxizität durch Off-Target-Effekte programmierbarer Nukleasen aufgezeigt. Zwei Studien, die große DNA-Deletionen und Umstrukturierungen zeigen, verstärken die Sicherheitsbedenken in Bezug auf vererbare Genom-Editierung (Alanis-Lobato et al., 2021; Zuccaro et al., 2020; diskutiert in Ledford, 2020a). Eine neue Analyse von Chromosomenaberrationen wurde beschrieben, die durch Single Targeted Linker-vermittelte PCR-Sequenzierung (CAST-Seq), einem präklinischen Test zur Identifizierung und Quantifizierung von Chromosomenaberrationen, die durch On-Target- und Off-Target-Aktivitäten von CRISPR-Cas-Nukleasen bzw. transkriptionellen Aktivator-ähnlichen Effektor-nukleasen (TALENs) in menschlichen hämatopoetischen Stammzellen entstehen. CAST-Seq-Analysen können für die therapeutische Genom-Editierung von besonderer Bedeutung sein, um eine gründliche Risikobewertung vor der klinischen Anwendung von gen-editierten Produkten, nicht nur in HSCs, zu ermöglichen (Turchiano et al., 2021). Auch andere Forschergruppen haben kostengünstige und breit anwendbare Tools zur

quantitativen Genotypisierung mittels PCR (qPCR) und Einzel-Nukleotid-Polymorphismus (SNP) entwickelt und schlagen deren Einsatz als zusätzliche Qualitätskontrollen nach dem Editing vor (Weisheit et al., 2020).

2.5.1 Genom-Editierung mit dem CRISPR/Cas9 System

Die Bedeutung der neuen Verfahren zur Gen-Editierung wird unterstrichen durch die Vergabe des Nobelpreises für Chemie 2020 an die beiden Erfinderinnen der CRISPR/Cas9 Technologie, Emmanuelle Charpentier, Leiterin der Max-Planck-Forschungsstelle für die Wissenschaft der Pathogene in Berlin, und Jennifer Doudna, UC Berkeley. Das Nobelpreiskomitee würdigte Charpentier für ihre Entdeckung der bisher unbekanntem tracrRNA im Bakterium *Streptococcus pyogenes*, die den Anstoß für die Entwicklung dieser Technologie gab. Charpentier berichtete 2011, dass tracrRNA eine entscheidende Rolle bei der Reifung der CRISPR-RNA spielt. Im selben Jahr begannen Charpentier und Doudna mit der Zusammenarbeit, um diese Gen-Editierungsmaschinerie zu untersuchen, zu reinigen und zu vereinfachen. Im Jahr 2012 zeigten Jennifer Doudna und Emmanuelle Charpentier, wie das System für die ortsspezifische DNA-Editierung eingesetzt werden könnte (Mullard, 2020; Ledford und Callaway, 2020). Basierend auf diesem System und weiteren Systemen mit Designernukleasen sind in der Zukunft weitere neue Therapien für Erkrankungen zu erwarten.

Die CRISPR/Cas-Technologie hat die biologische Forschung revolutioniert und birgt großes therapeutisches Potenzial. Einen Überblick über CRISPR/Cas-Systeme und ihre neuesten Entwicklungen mit Schwerpunkt auf der Anwendung auf menschliche Zellen gibt die Veröffentlichung von Hendriks et al., 2020. Der Artikel erörtert auch, wie verschiedene CRISPR-basierte Strategien eingesetzt werden können, um ein bestimmtes Genom-Editierungs-Ziel zu erreichen. Es wird auch dargestellt, wie verschiedene CRISPR-Tools beim Genom-Engineering menschlicher Stammzellen *in vitro* eingesetzt wurden, und zwar sowohl im Bereich der pluripotenten (iPS-Zellen/ES-Zellen) als auch der somatischen adulten Stammzellen und insbesondere der 3D-Organoidkulturen. Besonders auf den therapeutischen Nutzen dieser Technologien wurde hingewiesen.

Multiplex-CRISPR-Technologien, bei denen zahlreiche guide RNAs (gRNAs) oder Cas-Enzyme gleichzeitig exprimiert werden, haben leistungsfähige biologische Engineering-Anwendungen ermöglicht und den Umfang und die Effizienz der genetischen Bearbeitung und Transkriptionsregulierung erheblich verbessert (McCarty et al., 2020). Um genetische Vorwärts-Screens auf krebserrelevante Gene in menschlichen Epithelien zu ermöglichen, entwickelten Michels et al. eine gepoolte CRISPR/Cas9-Bibliotheks-Screening-Strategie in menschlichen Dickdarm-Organoiden. Dies ermöglichte die Identifizierung von Tumorsuppressoren *in vitro* und nach der Transplantation *in vivo* (Michels et al., 2020).

Mukoviszidose (CF) ist eine monogene Erkrankung, die durch Mutationen im Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator-Gen verursacht wird. Die Sterblichkeit von CF-Patientinnen und Patienten ist meist auf die Folgen der Atemwegserkrankung zurückzuführen. Eine publizierte Studie unterstützt nun die weitere Entwicklung der genetisch korrigierten autologen Atemwegsstammzelltransplantation als Behandlungsmethode für Mukoviszidose (Vaidyanathan et al., 2020). Die Korrektur krankheitsverursachender Mutationen in menschlichen Embryonen birgt auch das Potenzial, die Belastung durch vererbte genetische Störungen zu verringern und die Fruchtbarkeitsbehandlungen für Paare mit krankheitsverursachenden Mutationen anstelle der Embryonenauswahl zu verbessern. Es konnte gezeigt werden, dass es möglich ist, die DNA in Chromosomen zu manipulieren, allerdings stellt die Korrektur von Mutationen in menschlichen Embryonen weiterhin eine große Herausforderung dar (Zuccaro et al., 2020). Obwohl aktuelle Entwicklungen und Verbesserungen der CRISPR/Cas-Technologien die Präzision bei der Zielgenauigkeit signifikant erhöhen (Ledford, 2020b), ist der Einsatz in menschlichen Embryonen, wie in China 2019 durchgeführt (Marx, 2021), abgesehen von den massiven ethischen Bedenken, die eine solche Anwendung des Genengineering aufwerfen würde, bei weitem noch nicht sicher (Ledford, 2020c).

2.6 Entwicklung von Keimzellen

Keimzellen durchlaufen eine epigenetische (Neu-)Programmierung, replizieren genetische Informationen mit hoher Zuverlässigkeit und schaffen genetische Vielfalt durch meiotische Rekombination. Aufgrund der Fortschritte im Verständnis der Mechanismen, die der Keimzellenentwicklung und den Stammzellen-/Reproduktionstechnologien zugrunde liegen, hat die Forschung in den letzten zwei Jahrzehnten zur *In-vitro*-Rekonstruktion der Keimzellenentwicklung bei Säugetieren geführt: Im Mausmodell können jetzt mPS-Zellen in primordiale keimzellähnliche Zellen (primordial germ cell-like cells, PGCLC) induziert und dann in voll funktionsfähige Oozyten und Spermatogonien differenziert werden. hPS-Zellen wiederum können durch epigenetische Reprogrammierung in PGCLCs und in frühe Oozyten sowie Prospermatogonien induziert werden. Die Erforschung wichtiger Grundlagen der Keimzellenbiologie wird für die Entwicklung innovativer medizinischer Anwendungen von entscheidender Bedeutung sein (zusammengefasst in Saitou, 2021). Aus Zwischenstadien zwischen naiven und geprägten

Zellen, sog. XPS-Zellen oder auch „formativen“ Zellen, ist es kürzlich gelungen, Keimzellen zu generieren (Yu et al., 2021b). Die Studie zeigt diese Entwicklung sowohl für humane Zellen als auch für pluripotente Zellen von Mäusen und von Pferden. Die Entwicklung von Keimzellen aus diesem embryonalen Zwischenstadium ist somit evolutionär konserviert und lässt darauf schließen, dass auch in anderen Säugetierspezies dieser Prozess konserviert ist und bei Nutztieren verwendet werden kann. Eine weitere Forschergruppe hat gleichzeitig ähnliche Daten publiziert (Kinoshita et al., 2021; diskutiert in Shyh-Chang and Li, 2021).

Spermatogoniale Stammzellen sind für die Erzeugung von Spermien unerlässlich und haben einen potenziellen therapeutischen Wert für die Behandlung männlicher Unfruchtbarkeit, von der weltweit mehr als 100 Millionen Männer betroffen sind. In einer neuen Studie werden menschliche spermatogoniale Stammzellen auf molekularer Ebene untersucht und es werden definierte Bedingungen etabliert, die ihre Kultur begünstigen. Die Modulation von Signalwegen durch pharmakologische Wirkstoffe, z. B. die Inhibition der Kinase Akt, könnte in Zukunft zur In-vitro-Kultur menschlicher spermatogoniale Stammzellen für therapeutische Anwendungen genutzt werden (Tan et al., 2020). Weitere neueste Forschungsergebnisse zeigen ebenfalls die Herstellung von murinen Zellen der männlichen Keimbahn (Ishikura et al., 2021; Lord and Nixon, 2020). Die Entwicklung der männlichen Keimzellen von Säugetieren ist ein schrittweiser Prozess des Übergangs verschiedener Stadien, wobei das vollständige Entwicklungsprofil männlicher Keimzellen weiterhin nicht detailliert beschrieben ist. Durch eine Untersuchung eines hochpräzisen Transkriptom-Atlas von über 11.000 Zellen, der 28 kritische Zeitpunkte in dieser Entwicklung abdeckt, konnte gezeigt werden, dass der Übergang des Zellstatus von mitotischen zu postmitotischen primordialen Keimzellen von einer Rekonfiguration auf Transkriptom-Ebene begleitet wird. Durch die Einzelzellsequenzierung konnte die Transkriptom-Landschaft der männlichen Keimzellen der Maus während der gesamten Entwicklung untersucht werden und mehrere kritische Regulatoren für die pränatale Bestimmung des Zellschicksals identifiziert werden (Zhao et al., 2021b).

Aktuelle Fortschritte haben die Erzeugung von Eizellen aus PS-Zellen in vitro ermöglicht. Diese Zellen benötigen jedoch eine spezifische Umgebung bzw. Nische, die den Keimdrüsen ähnelt, um sich vollständig als reproduktive Zellen zu entwickeln (diskutiert in Yang and Ng, 2021). Wenn Eierstock-Gonadengewebe, das von mES-Zellen abgeleitet wurde, mit frühen primordialen Keimzellen oder in vitro gewonnenen PGCLC kombiniert wurde, entwickelten sich die Keimzellen in den rekonstituierten Follikeln zu lebensfähigen Eizellen. Diese konnten befruchtet werden und führten zu lebensfähigen Nachkommen. Dieses System ermöglicht eine alternative Methode zur Herstellung von Mäuse-Gameten und vergrößert unser Verständnis der Fortpflanzung und Entwicklung von Säugetieren (Yoshino et al., 2021).

2.7 Aktuelle Forschung zu Gewebestammzellen und Erkrankungen

Die Initiative Human Developmental Cell Atlas (HDCA), die Teil des Human Cell Atlas ist, zielt darauf ab, eine umfassende Referenzkarte aller Zellen während der Entwicklung zu erstellen. Dies ist von entscheidender Bedeutung für das Verständnis der normalen Organogenese, der Auswirkungen von Mutationen, Umweltfaktoren und Infektionserregern auf die menschliche Entwicklung, von angeborenen und kindlichen Störungen sowie der zellulären Grundlagen von Alterung, Krebs und ebenso für die regenerative Medizin. Ähnlich wie das Humangenomprojekt wird das HDCA die Ergebnisse einer wachsenden Gemeinschaft von Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern, die die menschliche Entwicklung kartieren, in einen einheitlichen Atlas integrieren (Haniffa et al., 2021).

Die Forschung an verschiedenen Gewebestammzellen und ihre Rolle in der Entstehung von Erkrankungen sowie der therapeutische Ansatz zur Behandlung von Erkrankung wurden im vorhergehenden Erfahrungsbericht umfassend dargestellt. Die Entwicklung in diesen Bereichen ist weiterhin rasant und die detaillierte Beschreibung der Ergebnisse zu Stammzellen (fast) aller Gewebe ist an dieser Stelle nicht hinreichend darstellbar. Daher werden im Weiteren die Forschungsergebnisse im Berichtszeitraum zu vier wichtigen therapeutisch relevanten Geweben und Organen beispielhaft dargestellt: dem Gehirn (neurodegenerative Erkrankungen), der Bauchspeicheldrüse (Diabetes), dem Herz und dem Blutsystem.

2.7.1 Gehirnentwicklung, neurale Stammzellen und neurodegenerative Erkrankungen

Die In-vitro-Generierung von Spenderzellen für regenerative Ansätze wurde bisher durch die Anwendung von extrinsischen Wachstumsfaktoren und Morphogenen dominiert. Fortschritte in der Zelltechnik wie die Reprogrammierung somatischer Zellen in iPSC-Zellen und die direkte Programmierung von nicht-neuralen Zellen in neurale Zellen haben eindrucksvoll gezeigt, dass die Zellidentitäten durch die Überexpression von Transkriptionsfaktoren, die das Zellschicksal bestimmen, manipuliert werden können. Diese Strategien werden nun zuneh-

mend zur Transkriptionsfaktor-gesteuerten Differenzierung neuraler Vorläuferzellen und zur Vorwärtsprogrammierung pluripotenter Stammzellen in Richtung spezifischer neuraler Subtypen eingesetzt (zusammengefasst in Flitsch et al., 2020).

Neurodegenerative Erkrankungen sind durch einen fortschreitenden Zellverlust gekennzeichnet, der zu einer Störung der Struktur und Funktion des zentralen Nervensystems führt. Die amyotrophe Lateralsklerose (ALS) war eine der ersten dieser Erkrankungen, die in patientenspezifischen hiPS-Zellen modelliert wurden, und Erkenntnisse haben zu einigen der ersten klinischen Studien geführt. Am Beispiel der ALS kann der Stand der Modellierung neurodegenerativer Erkrankungen mit hiPS-Zellen dargestellt werden, einschließlich der Methoden zur Ableitung und Verwendung krankheitsrelevanter neuronaler und glialer Linien (Giacomelli et al., 2022).

Die Parkinson-Krankheit des jungen Alters (Young-onset Parkinson's Disease, YOPD), definiert durch den Beginn im Alter von <50 Jahren, macht etwa 10 % aller Parkinson-Fälle aus. Während einige Fälle mit bekannten genetischen Mutationen assoziiert sind, sind die meisten Ursachen nicht bekannt. iPS-Zellen von Kontrollpersonen und von Patientinnen und Patienten mit YOPD ohne bekannte Mutationen wurden erzeugt und in Kultur zu dopaminergen Neuronen differenziert. Dieser Zelltyp ist bei der Entstehung von Parkinson betroffen. Dopaminerge Neuronen, die von iPS-Zellen von YOPD-Patientinnen und -Patienten abgeleitet wurden, weisen molekulare Anomalien auf, darunter erhöhtes α -Synuclein und lysosomale Dysfunktion, die durch Phorbol ester-Behandlung normalisiert werden können (Laperle et al., 2020).

Autismus ist eine klinisch heterogene neurologische Entwicklungsstörung, die u. a. durch beeinträchtigte soziale Interaktionen, eingeschränkte Interessen und repetitive Verhaltensweisen gekennzeichnet ist. In einer Studie wurde eine Multiplex-Plattform für hPS-Zellen vorgestellt, bei der 30 isogene Krankheitslinien in einer einzigen Schale gepoolt und in präfrontale Kortexzelllinien differenziert wurden, um frühe Entwicklungshypothesen des Autismus effizient zu testen. Die Ergebnisse bieten einen Rahmen, um die genetische Heterogenität im Zusammenhang mit Autismus zu entflechten, und weisen auf konvergierende molekulare und entwicklungsbezogene Pfade verschiedener Autismus-assoziiierter Mutationen hin (Cederquist et al., 2020).

Multiple Sklerose (MS) ist eine Autoimmunerkrankung, die vermutlich auf reaktive Immunzellen gegen die Myelinscheide der Neuronen zurückzuführen ist. MS ist die häufigste demyelinisierende Erkrankung des zentralen Nervensystems, die mit entzündlichen Plaques der Demyelinisierung der weißen Substanz, der Zerstörung von Oligodendrozyten, reaktiver Gliose und axonaler Degeneration einhergeht. Ein Übersichtsartikel gibt einen Einblick über den pathologischen Prozess der axonalen Degeneration bei MS und erörtert, wie diese Veränderungen die klinischen Symptome der MS verursachen. Es wird gezeigt, dass die autologe hämatopoetische Stammzelltransplantation, die autoreaktive Immunzellen entfernt, bei Patientinnen und Patienten mit einer aggressiven Erkrankung, die auf medikamentöse Therapien nicht ansprechen, wirksam sein kann. Die Forscher schlagen auch die zukünftigen Möglichkeiten der autologen hämatopoetischen Stammzelltransplantation vor (Chahine and Lu, 2020).

2.7.2 Bauchspeicheldrüse und Diabetes

Die Bauchspeicheldrüse erwachsener Säugetiere weist eine verzweigte Struktur auf, die Verdauungsenzyme, die in den distalen Azini produziert werden, durch ein baumartiges Netzwerk von Gängen in den Zwölffingerdarm transportiert. Im Gegensatz zu einigen anderen verzweigten Organen sind die Verzweigungsmuster nicht stereotypisch. Außerdem entstehen die Verzweigungen nicht durch dichotome Abspaltung eines ursprünglichen Stammes, sondern durch die Bildung von Mikrolumen in einer Masse von Zellen. Diese Lumen fügen sich nach und nach zu einem hyperkonnektierten Netzwerk zusammen, das sich zum Zeitpunkt der Geburt zu einem Baum verfeinert. Ein Übersichtsartikel fasst die Zellumbauvorgänge und die molekularen Mechanismen zusammen, die die Verzweigung der Bauchspeicheldrüse steuern und berichtet über die Rolle des umgebenden Gewebes in diesem Prozess (zusammengefasst in Flasse et al., 2020). Für die Entstehung der Bauchspeicheldrüse ist die frühe Entwicklung des Entoderm von zentraler Bedeutung. Hier konnte gezeigt werden, dass während der Gastrulation in der Maus epitheliale Epiblastenvorläufer *Foxa2* hochregulieren und das definitive Entoderm unabhängig von einem vollständigen epitheliale zu mesenchymale Transition und mesenchymale zu epitheliale Transition-Zyklus bilden (Scheibner et al., 2021).

Heutige Behandlungen für Menschen, die insulinabhängig sind, erfordern täglich mehrfache Insulininjektionen, manchmal mit einer Insulinpumpe, verbunden mit regelmäßiger Blutzuckerkontrolle. Die Verfügbarkeit modifizierter Insuline, die jeweils zu unterschiedlichen Zeiten Spitzenwerte aufweisen, hat das Diabetesmanagement verbessert. Andererseits wurden beeindruckende Ergebnisse erzielt, die zu einer Insulinunabhängigkeit durch die

Transplantation von Inseln der Bauchspeicheldrüse von verstorbenen Personen in Verbindung mit einer Immunsuppression führten. Ein aktueller Übersichtsartikel befasst sich mit der Möglichkeit, Diabetes mit Zelltransplantaten zu behandeln, insbesondere mit der Verwendung PS-Zellen, um durch gezielte Differenzierung einen praktisch unbegrenzten und einheitlichen Vorrat an menschlichen inselartigen Clustern zu erzeugen (zusammengefasst in Melton, 2021). Hundert Jahre nach der Entdeckung des Insulins berichten Kieffer und Kollegen (Ramzy et al., 2021) sowie Foyt und Kollegen (Shapiro et al., 2021) über Zwischenergebnisse einer multizentrischen klinischen Studie, in der die Insulinsekretion von transplantierten PS-Zellen aus endokrinen Vorläuferzellen bei Patienten mit Typ-1-Diabetes nachgewiesen wurde (Koning and Carlotti, 2021; zusammengefasst in Drew, 2021).

2.7.3 Herzmuskelzellen (Kardiomyozyten) und Erkrankungen des Herzgewebes

Mit Hinsicht auf „reprogrammierte Stammzellen“, hiPS-Zellen, stellt ein Bericht in der Fachzeitschrift Nature im Mai 2020 erstmalig Informationen vor, die sich auf zwei männliche Personen in China beziehen, welche aus hiPS-Zellen-abgeleitete in vitro hergestellte Herzmuskelzellen (sog. Kardiomyozyten) zur Behandlung von Herzerkrankungen bekommen haben sollen (Mallapaty, 2020b). Diesen Männern geht es nach einem Jahr angeblich gut. Allerdings gibt es keine Möglichkeit, die Darstellung, dass die bisher unveröffentlichte Behandlung basierend auf hiPS-Zellen funktioniert, unabhängig zu bestätigen und zu belegen. Auch aus Japan wurden erste klinische Studien zur Verwendung von Herzmuskelzellen aus iPS-Zellen und deren Einsatz in die Transplantation in Patienten berichtet (Muschner, 2020). Als eine der ersten in Europa, wurde Anfang 2020 auch in Deutschland eine klinische Studie zum Zell- bzw. Gewebeersatz basierend auf hiPS-Zellen-abgeleitete Herzmuskelzellen zur Behandlung von Herzerkrankungen gestartet, wobei komplexe, in vitro generierte Herzgewebekonstrukte transplantiert werden (Universitätsmedizin-Göttingen, 2021; Zimmermann, 2020).

Beim Menschen wie generell im Herzen erwachsener Säugetiere, findet keine nennenswerte Erneuerung von Kardiomyozyten statt, so dass ein geschädigter Herzmuskel nicht regeneriert. Im Gegensatz dazu weisen fötale Herzen ein beträchtliches Regenerationspotenzial auf, da sie über weniger reife Kardiomyozyten verfügen, die noch die Fähigkeit haben, sich zu vermehren. In einer bemerkenswerten Studie am Max-Planck-Institut in Bad Nauheim konnte gezeigt werden, dass bereits erwachsene Kardiomyozyten im adulten Herzen durch die „Reprogrammierungsfaktoren“ Oct4, Sox2, Klf4 und c-Myc (OSKM) zur „Dedifferenzierung“ veranlasst werden können und so die Regenerationsfähigkeit des erwachsenen Herzens in einem Mausmodell fördern (Chen et al., 2021). Demgegenüber ist es noch immer eine große Herausforderung, in vitro aus hiPS-Zellen-abgeleitete Kardiomyozyten in der Reifung soweit voranzutreiben, dass sie adulte Zellen im Herzen funktionell voll nachbilden. Es ist nun jedoch gezeigt worden, dass durch die Kombination von drei Herzzelltypen (Kardiomyozyten, Endothelzellen und kardiale Fibroblasten/Bindegewebszellen), die alle aus hiPS-Zellen abgeleitet wurden, 3D-Mikroherzgewebe gebildet werden kann, das die Reifung von Kardiomyozyten strukturell und funktionell unterstützt. In diesem In-vitro-Modell hat der Austausch gesunder Fibroblasten durch Fibroblasten erkrankter Personen Aspekte der arrhythmogenen Kardiomyopathie rekapituliert (Giacomelli et al., 2020; Mills and Hudson, 2020).

Theodoris et al. haben einen Ansatz des maschinellen Lernens entwickelt, um kleine Moleküle zu identifizieren, die Gennetzwerke, die in einem menschlichen Modell einer häufigen Herzerkrankung, die die Aortenklappe betrifft, dysreguliert sind, weitgehend korrigieren. Die Gennetzwerkkorrektur durch den wirksamsten therapeutischen Kandidaten konnte auf primäre Aortenklappenzellen von mehr als 20 Personen mit sporadischer Aortenklappenerkrankung übertragen werden und verhinderte in einem Mausmodell eine Aortenklappenerkrankung in vivo (Theodoris et al., 2021).

2.7.4 Blutstammzellen (hämatopoetische Stammzellen) und Bluterkrankungen

Das Blut- und das Immunsystem entwickeln sich während des frühen pränatalen Lebens parallel zueinander. In anatomisch und zeitlich getrennten Wellen der Blutbildung entstehen zirkulierende und gewebebewohnende Immunzellen. Bisherige Beobachtungen stützten sich auf Tiermodelle, die sich sowohl in ihrem Entwicklungsverlauf als auch in der Exposition gegenüber Mikroorganismen vom Menschen unterscheiden. Die Entschlüsselung der Zusammensetzung des menschlichen Immunsystems ist jetzt mit Hilfe von Multi-Omics-Ansätzen für Einzelzellen machbar. Groß angelegte Einzelzellgenomik, Bildgebungstechnologien und die Human Cell Atlas Initiative haben gemeinsam eine systemische Kartierung des sich entwickelnden menschlichen Immunsystems und seiner sich entwickelnden Eigenschaften ermöglicht. Obwohl die genaue Rolle spezifischer Immunzellen während der Entwicklung noch weiter untersucht werden muss, zeigt das System als Ganzes formbare und reaktionsfähige Eigenschaften je nach Entwicklungsbedarf und Umwelanforderungen (Park et al., 2020). Die Verfolgung der Abstammungslinie gibt Aufschluss über das Schicksal hämatopoetischer Stammzellen (HSC), während die Ein-

zell-RNA-Sequenzierung Momentaufnahmen der HSC-Transkriptome liefert. Die Verknüpfung von Zellentwicklungen mit einzelnen HSC-Transkriptomen lieferte Informationen, die erforderlich waren, um transkriptionelle Signaturen von HSC-Differenzierungen zu identifizieren, die in einzelnen HSC-Transkriptomen allein nicht erkennbar waren. Die kombinierten Analysen von Zellschicksalen und Transkriptom unter physiologischen Bedingungen könnten den Weg zur Identifizierung molekularer Determinanten von HSC-Zuständen ebnet (Pei et al., 2020).

Somatische Mutationen, die mit zunehmendem Alter in gesunden Geweben erworben werden, sind ein wichtiger Faktor für das Krebsrisiko. Ob spezifische Genvarianten einen Fitnessvorteil bieten oder zufällig zu nachweisbaren Häufigkeiten führen, ist noch weitgehend unbekannt. Blutsequenzierungsdaten von etwa 50 000 Personen zeigen, wie Mutation, genetische Drift und Fitness die genetische Vielfalt von gesundem Blut (klonale Hämatopoese) formen. Es wurde gezeigt, dass nicht der Drift, sondern die positive Selektion die Hauptursache für die klonale Hämatopoese ist. Diese Daten deuten darauf hin, dass die klonale Hämatopoese durch ein anhaltendes Risiko von Mutationen und klonalen Expansionen angetrieben wird, die mit dem Alter zunehmend nachweisbar werden (Watson et al., 2020). Die Resistenz gegen Entzündungen ist die Grundlage für eine erhöhte Fitness bei klonaler Hämatopoese. Neuere Ergebnisse unterstützen ein Modell, bei dem die klonale Fitness mutierter HSC-Klone durch eine erhöhte Resistenz gegenüber Entzündungssignalen bestimmt wird (Avagyan et al., 2021). Eine weitere Studie zur klonalen Hämatopoese gibt Aufschluss über das Langzeitverhalten menschlichen HSC und die jeweilige Entwicklung der klonalen Hämatopoese unter verschiedenen Proliferationsbedingungen (Boettcher et al., 2020).

Während Blutplasma junger Menschen sich positiv auf die Zellteilung und Regenerationsfähigkeit von Geweben auswirkt, sind seine Auswirkungen auf das gealterte Blutsystem selbst und auf alte HSC noch nicht geklärt. Ho et al. haben Transplantation, Parabiose, Plasmatransfer, Bewegung, Kalorienrestriktion und alternde mutierte Mäuse verwendet, um die Auswirkungen altersregulierter systemischer Faktoren auf HSC und ihre Nische im Knochenmark zu verstehen (Ho et al., 2021). Dignum et al. zeigen durch die Integration mehrerer Einzelzellansätze immunphänotypische und transkriptionelle Eigenschaften des hämogenen Endothels (HE) auf, das Vorläufer der ersten HSC ist. Sie identifizieren eine Population von HE mit klonalem multipotentem hämatopoetischem Potenzial, das sich von HSC-kompetentem HE unterscheidet, und decken arterienassoziierte Transkriptionsprogramme auf, die mit der HSC-Kompetenz verbunden sind (Dignum et al., 2021). Humanisierte Mausmodelle sind zu immer wertvolleren Instrumenten für die Untersuchung der menschlichen Hämatopoese und von Infektionskrankheiten geworden. Die Differenzierung menschlicher T-Zellen in Mausmodellen bleibt jedoch ineffizient. Coppin et al. konnten nun ein optimiertes Mausmodell für die Humanisierung vorstellen, um die menschliche T-Zell-Differenzierung *in vivo* besser zu verstehen und ein menschliches Immunsystem mit einer besseren Annäherung an die menschlichen Lymphozytenverhältnisse zu erzeugen (Coppin et al., 2021).

Die Einführung zielgerichteter biologischer Therapien hat die Behandlungslandschaft für Autoimmunerkrankungen erheblich verändert. Obwohl diese Therapien spezifischer sind, erfordern sie eine kontinuierliche Verabreichung und stellen nur selten Organfunktionen wieder her. In den letzten 25 Jahren wurde die hämatopoetische Stammzelltransplantation, auch als Immun-Reset bezeichnet, zunehmend zur Behandlung von Patientinnen und Patienten eingesetzt, bei denen das Risiko-Nutzen-Verhältnis dieser Behandlung akzeptabel ist. Im Gegensatz zur chronischen Unterdrückung der Immunfunktion zielt dieses intensive, einmalige Verfahren darauf ab, durch die Wiederherstellung der Selbsttoleranz behandlungsfreie Remissionen zu erzielen (zusammengefasst in Alexander et al., 2020). Eine ähnliche Strategie könnte zur Behandlung der Infektion mit dem HI-Virus verwendet werden. Die autologe Transplantation von hämatopoetischen Stamm- und Vorläuferzellen mit einem mutierten CCR5-Gen ist eine vielversprechende Strategie zur Erreichung einer Remission einer HI-Virus Infektion, da das Virus CCR5 als Korezeptor für die Infektion benötigt. Ein mathematisches Modell erlaubt nun eine verbesserte Strategie für solche Behandlungen (Cardozo-Ojeda et al., 2021).

Osteoporose wird durch ein Ungleichgewicht von Osteoklasten und Osteoblasten verursacht, welches in unmittelbarer Nähe zu blutbildenden Zellen im Knochenmark auftritt. In Mausmodellen konnte nun gezeigt werden, dass die epigenetische Deregelation des Genoms von HSC durch Mutationen in der DNA-Methyltransferase Dnmt3a zu einer erhöhten Generierung von Osteoklasten führt, welche zu einer Abnahme der Knochenmasse führte. Die durch die Dnmt3a-Mutationen bedingte verstärkte Osteoklastenbildung konnte durch pharmakologische Behandlungen verbessert werden (Kim et al., 2021a).

Krebsstammzellen sind bei vielen Krebsarten für das Fortschreiten der Krankheit und den Rückfall verantwortlich. Eine tiefgreifende Charakterisierung dieser Stammzellen ist nach wie vor schwer. Bei der akuten myeloischen Leukämie (AML) liegen leukämische Stammzellen (LSC) der Mortalität zugrunde, sie sind aber aufgrund ihrer geringen Häufigkeit und ihrer großen Ähnlichkeit mit gesunden HSC schwer zu isolieren. Ein kürzlich

publizierter Ansatz ermöglicht die Identifizierung von LSC-spezifischen Genexpressionsprogrammen und die Charakterisierung von Differenzierungsblockaden, die durch leukämische Mutationen hervorgerufen werden. Die Studie demonstriert die Leistungsfähigkeit von multizellulären Ansätzen zur Charakterisierung von Krebsstammzellen (Velten et al., 2021).

Wie oben beschrieben, bieten hiPS-Zellen eine vielversprechende Plattform für die Modellierung früher embryonaler Entwicklungsprozesse, für die Erstellung von Krankheitsmodellen, die mit Hilfe von Wirkstoffscreens evaluiert werden können sowie für Proof-of-Concept-Experimente für die regenerative Medizin. Die Generierung von hämato-endothelialen und hämatopoetischen Vorläuferzellen, die aus iPS-Zellen abgeleitet wurden, ist aufgrund der variablen und begrenzten Zellzahlen eine Herausforderung, die ein enormes Upscaling oder die Entwicklung anspruchsvoller Protokolle erfordert. Es wurde beschrieben, dass die Regulation von spezifischen Transkriptionsfaktoren (SCL, LMO2, GATA2 und ETV2) für die frühe hämato-endotheliale Spezifizierung essenziell ist und durch Überexpression dieser Faktoren ein vollständig induzierbares hämato-endotheliales Programmierungssystem etabliert werden kann (Lange et al., 2020).

2.7.5 Beispiele aus der Forschung mit anderen Gewebestammzellen

Die Gewinnung gewebespezifischer Stammzellen aus hiPS-Zellen hätte weitreichende Auswirkungen auf die regenerative Medizin. Es wurde über die gezielte Differenzierung von humanen iPS-Zellen in Basalzellen der Atemwege berichtet, einer Population, die den Stammzellen des Atemwegsepithels ähnelt (Hawkins et al., 2021). Das Atmungssystem, zu dem die Luftröhre, die Atemwege und die distalen Alveolen gehören, ist ein komplexes mehrzelliges Organ, das eng mit dem Herz-Kreislauf-System verbunden ist, um den Gasaustausch zu gewährleisten. In einem Übersichtsartikel werden wichtige Aspekte der Lungenreparatur und -regeneration erörtert (zusammengefasst in Basil et al., 2020).

In zahlreichen klinischen Studien zur Zelltherapie mit mesenchymalen Stromazellen (MSC) wurde ein außergewöhnliches Sicherheitsprofil für diese Zelltypen nachgewiesen (zusammengefasst in Stefańska et al., 2020). Es fehlen jedoch noch zuverlässige Wirksamkeitstests, um die immunsuppressive Wirkung von MSC im klinischen Umfeld vorherzusagen. MSC sind in Japan und Europa für die Behandlung von Graft-versus-Host und Crohn'schen Fistelkrankheiten zugelassen. Eine Übersicht zeigt potenzielle Wirkmechanismen für die therapeutischen Effekte der MSC-Transplantation auf, stellt experimentelle Modelle, welche die gewebsmodulierende Funktion von MSCs identifizieren, vor und beschreibt Ansätze zur Identifizierung von MSC-Effekten in vivo durch die Integration von Biomarkern für Krankheiten und MSC-Aktivität (Krampera and Blanc, 2021).

2.7.6 Fortschritte in der Altersforschung mit Stammzellmodellen

Eine Reihe von Veröffentlichungen im Berichtszeitraum beschäftigt sich mit der Alterung von Stammzellen. In diesem Zusammenhang ist die Regulation der zirkadianen Tagesrhythmen durch die so genannte zirkadiane Uhr intensiv erforscht worden. Es ist gezeigt worden, wie zirkadiane Rhythmen die Funktionen adulter Stammzellen regulieren und synchronisieren und wie Veränderungen der Uhrenfunktion während des Alterns die extrinsischen und intrinsischen Mechanismen modulieren, die die Homöostase adulter Stammzellen bestimmen (zusammengefasst in Benitah und Welz, 2020).

Alterung führt zu einer Abnahme der Funktion HSC. Es konnte kürzlich gezeigt werden, dass die Alterung von Endothelzellen, welche die Wand der Blutgefäße bilden, im Knochenmark zu einem veränderten Crosstalk zwischen der Endothel-Nische und den hämatopoetischen Stamm- und Vorläuferzellen führt, der junge HSCs dazu anleitet, sich wie gealterte HSCs zu verhalten. Eine pharmakologische Hemmung von mTOR mit Rapamycin in HSCs hatte negative Auswirkungen auf die Hämatopoese, was darauf schließen lässt, dass die Inhibition dieses Signalweges durch Endothelzellen in alten Organismen die Funktion von HSC beeinträchtigt (Ramalingam et al., 2020). Bei der Analyse von 16 verschiedenen Datensätze zu Transkriptionsregulation in alternden HSC wurde eine zentrale und robuste HSC-Alterungssignatur in der Transkription aufgedeckt. Interessanterweise konnte gezeigt werden, dass es auch im gealterten Knochenmark noch Stammzellen mit einem „jungen“ Transkriptionsprofil gibt (Svendsen et al., 2021). Weiterhin wurde beschrieben, dass die Proteostase, also die koordinierte Produktion und die Degradation von Proteinen für Alterungsprozesse der HSCs eine zentrale Rolle spielt (Kruta et al., 2021). Die pharmakologische Regulation des Proteinhaushaltes der Zellen, insbesondere der Autophagie von Proteinen, scheint daher ein vielversprechendes therapeutisches Ziel zur Verbesserung der Funktion von HSCs unter Bedingungen wie Alterung oder Stammzelltransplantation zu sein (Dong et al., 2021). Primäre MSCs sind im Knochenmark für die Nische der HSCs verantwortlich. Für MSCs, die von iPS-Zellen abgeleitet wurden (iM-

SCs), konnte nun gezeigt werden, dass die Alterung dieser Zellen mit einer hochgradig reproduzierbaren altersbedingten Veränderung des Metabolismus verbunden ist, der zur Analyse des Zustands der Zellalterung genutzt werden kann (Fernandez-Rebollo et al., 2020).

Die Skelettmuskulatur enthält eine bestimmte Population adulter Stammzellen, die sogenannten Satellitenzellen, die im Allgemeinen ruhen. In der Homöostase vermehren sich die Satellitenzellen nur sporadisch und in der Regel durch asymmetrische Zellteilung, um durch die tägliche Aktivität geschädigte Myofasern zu ersetzen und den Stammzellenpool zu erhalten. Satellitenzellen können jedoch auch bei Gewebeerkrankungen stark aktiviert werden, woraufhin sie sich symmetrisch teilen, um neue Stammzellen und zahlreiche proliferierende Myoblasten zu bilden und so die Regeneration der Skelettmuskulatur zu unterstützen. Diese Prozesse werden durch zelleigene Mechanismen und durch Signale aus der Nische gesteuert und sind bei der Alterung dereguliert, was zu einer beeinträchtigten Muskelregeneration führt (zusammengefasst in Sousa-Victor et al., 2022). Für Satellitenzellen wurden altersabhängige Veränderungen im Proteom der Stammzellen und ihrer Nische beschrieben. Hier wurde gezeigt, dass diese altersabhängigen Veränderungen in der Nische die Funktionalität von Muskelstammzellen und damit die Regeneration von Skelettmuskeln beeinträchtigen (Schüler et al., 2021).

Der Darm ist eines der Organe, die für die Aufrechterhaltung der Gewebemöostase auf die Funktion von Stammzellen angewiesen sind. Erkenntnisse über die Alterung des Darms zeigen, dass sich die Architektur des Darms, z. B. die Zottenlänge, die Größe der Krypten und die Zellzusammensetzung, mit dem Altern stark verändert. Die entsprechende Abnahme der Regenerationsfähigkeit des Darms ist hauptsächlich auf eine Verringerung der intestinalen Stammzellfunktion bei der Alterung zurückzuführen. Die zugrundeliegenden Mechanismen der alternden intestinalen Stammzellen werden in aktuellen Studien entschlüsselt (zusammengefasst in Nalapareddy et al., 2022).

Neurale Stammzellen bilden im Gyrus dentatus des Hippocampus lebenslang Neuronen. Mit zunehmendem Alter nimmt auch im Gehirn die Neurogenese stark ab, was mit einem Rückgang der Gedächtnisfunktion des Hippocampus in Verbindung gebracht wird. Die Expression des Lamins B1 im Kern nimmt mit dem Alter von neuronalen Stammzellen ab und die exogene Reexpression in gealterten neuronalen Stammzellen steigert die Stammzellenaktivität *in vitro* und erhöht die Progenitorzellproliferation und Neurogenese *in vivo*. Dies legt nahe, dass dieser Lamin B1-abhängige Mechanismus den altersbedingten Rückgang der Neurogenese im Hippocampus von Säugetieren vermittelt (Imtiaz et al., 2021).

Das Altern ist einer der am besten untersuchten Risikofaktoren, die zu bösartigen Erkrankungen beitragen. Studien haben gezeigt, dass die Inzidenz bösartiger Erkrankungen mit dem Alter zunimmt. Es kann jedoch nicht gefolgert werden, dass das Altern allein die Ursache ist. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das Altern zwar ein natürlicher Prozess ist, aber dennoch als Risikofaktor für bösartige Erkrankungen angesehen werden muss (zusammengefasst in Elkashty et al., 2021).

2.7.7 Fortschritte beim Bioengineering mit Stammzellen

Trotz ihrer Bedeutung war das Verständnis der frühen Stadien der menschlichen Entwicklung bisher durch die Verfügbarkeit menschlicher Proben begrenzt. Embryomodelle, die auf pluripotenten Stammzellen basieren, etablieren nun ein neues Forschungsfeld, das darauf abzielt, Stammzellen zur Konstruktion von In-vitro-Modellen zu verwenden, um Momentaufnahmen der Entwicklung des Säugetierkonzepts zu rekapitulieren. Dies eröffnet spannende Möglichkeiten, um das grundlegende Verständnis der menschlichen Entwicklung zu fördern und die Reproduktions- und Regenerationsmedizin voranzubringen. Ein Übersichtsartikel gibt einen Überblick über den aktuellen Wissensstand der frühen Säugetierentwicklung, wobei die Entwicklung in der Maus und dem Menschen als Modelle verwendet werden, und hebt deren Gemeinsamkeiten und entscheidenden Unterschiede hervor (Fu et al., 2021).

Gezielte Bioengineering-Ansätze zur Bereitstellung definierter instruktiver externer Signale oder zur Modulation interner zellulärer Signale könnten einige Einschränkungen der Herstellung von Organoiden überwinden. Die technischen Entwicklungen werden in einem Übersichtsartikel vorgestellt. Bioengineering wird die Optimierung und externe Kontrolle von stammzellbasierten embryoähnlichen Strukturen weiter vorantreiben. In-vitro-Modelle in Kombination mit hochentwickelten Bioengineering-Werkzeugen werden in Zukunft eine noch gründlichere Analyse der Embryonalentwicklung ermöglichen (zusammengefasst in Gupta et al., 2021). Die Konvergenz von Stammzellbiologie und Bioengineering bietet die Möglichkeit, Stimuli, die die frühe Embryonalentwicklung beeinflussen, auf kontrollierte Art und Weise bereitzustellen, was zur Entwicklung von Ansätzen, die auf natürlichen Prozessen beruhen, führt, um wesentliche Einschränkungen dieser im Entstehen begriffenen Technologie zu über-

winden. Auf der Grundlage der aktuellen Entwicklungen können die Errungenschaften und laufenden Herausforderungen bei der Zusammenführung von Differenzierung von Organoiden, Bioengineering und Ethik hervorgehoben werden. Der Übersichtsartikel von Garreta et al. (2021) unterstreicht die Notwendigkeit, technische Lösungen für die Kontrolle der Selbstorganisation und Funktionalität von aus hPS Zellen gewonnenen Organoiden bereitzustellen.

Antfolk und Jensen erörtern in einem Review-Artikel, der sich auf Forschung zum Dünndarm konzentriert, wie Studien an der Schnittstelle zwischen Bioengineering und Darmbiologie neue Einblicke in die Organfunktion liefern. Der Artikel konzentriert sich insbesondere auf technisch hergestellte Biomaterialien, komplexe 3D-Strukturen, die der Architektur des Darms ähneln (Antfolk and Jensen, 2020). Es ist gezeigt worden, wie Biofabrikation und Organoidtechnologie zusammengeführt werden können, um die Selbstorganisation von Geweben im Millimeter- bis Zentimetermaßstab zu steuern und so neue Wege für die Arzneimittelforschung, Diagnostik und regenerative Medizin zu eröffnen. Ein 3D-Bioprinting-Ansatz wurde entwickelt, um die Gewebemorphogenese zu erleichtern, indem organoidbildende Stammzellen direkt in eine extrazelluläre Matrix eingebracht wurden, wodurch Darmepithelien und verzweigte vaskuläre Gewebekonstrukte erzeugt werden konnten (Brassard et al., 2021). Insgesamt haben sich neue Technologien zum Drucken von biologischen Materialien, das sog. Bioprinting, in den letzten Jahren im Bereich der Biofabrikation stark und exponentiell entwickelt (zusammengefasst in Mota et al., 2020).

hiPS-Zellen bieten zwar neue Perspektiven für die Krankheitsmodellierung, doch die hohe phänotypische Variabilität zwischen verschiedenen Linien erfordert die Verwendung großer Kohorten von hiPS-Zellen, um die Auswirkungen einzelner genetischer Varianten zu entschlüsseln. Die StemCellFactory ist eine automatisierte, modulare Plattform, die den gesamten Prozess der hiPS-Zellproduktion abdeckt, von der Expansion adulter menschlicher Fibroblasten über die Sendai-Virus-basierte Reprogrammierung bis hin zur automatischen Isolierung und parallelen Expansion von hiPS-Zellen-Klonen. Die Anlage ermöglicht eine automatisierte, benutzerunabhängige Expansion von hiPS-Zellen unter vollständig definierten Bedingungen und könnte genutzt werden, um eine große Anzahl von hiPS-Zelllinien für die Krankheitsmodellierung und das Wirkstoffscreening in industriellem Maßstab und in hoher Qualität zu erzeugen (Elanzew et al., 2020). Weiterhin hat die gezielte Verabreichung von Stammzellen mit Mikrorobotern sich als potenzielle alternative therapeutische Strategie in der regenerativen Medizin erwiesen. Die Verabreichung von mesenchymalen Stromazellen via Mikrorobotern zur Regeneration im Knorpel des Knies wurde beschrieben (Go et al., 2020).

Es ist abschließend festzustellen, dass inzwischen viele Anwendungen von iPS-Zellen von kommerziellen Unternehmen vorangetrieben werden. Diese Unternehmen bauen die Instrumente und das Know-how auf, um Behandlungen mit hiPS-Zellen in den für den klinischen Einsatz erforderlichen Mengen zu ermöglichen (Bender, 2021).

2.7.8 Stammzellen in der Wirkstoffforschung

Insgesamt sind die Verwendungsmöglichkeiten von Stammzellen breit gefächert und erweitern sich ständig. Ob als Modell für Krankheiten, zur Wirkstoffforschung, als Methode zur Herstellung von Medikamenten oder als mögliche Transplantationsorgane – Stammzellen haben dem Bereich der Arzneimittelforschung viel zu bieten (Balfour, 2020). hiPS-Zellen werden zunehmend für die Erforschung von Krankheitsmechanismen und die Entwicklung wirksamer krankheitsmodifizierender Therapien für neurodegenerative Erkrankungen, einschließlich der amyotrophen Lateralsklerose (ALS), eingesetzt. Vor kurzem wurden drei Kandidaten für Medikamente gegen ALS – Ropinirol, Retigabin und Bosutinib – in iPS-Zellen-basierten Wirkstoffscreens identifiziert und werden nun in klinischen Studien auf Sicherheit und Wirksamkeit geprüft. Die präklinischen Daten, das klinische Forschungsdesign und die Gründe für Ropinirol als Anti-ALS-Medikamentenkandidat im Vergleich zu den anderen beiden Medikamenten sind erörtert worden. Ebenso ist auch der Einsatz von iPS-Zellen zum Verständnis und zur Überwachung des Ansprechens auf die Behandlung sowie für neue Erkenntnisse bei der Entwicklung neuer Medikamente und therapeutischer Maßnahmen für wichtige neurodegenerative Erkrankungen aufgezeigt worden (Okano and Morimoto, 2022; Okano et al., 2020).

2.8 Neue Entwicklung von Therapien mit Stammzellen

Ansätze zu auf pluripotenten Stammzellen basierenden Therapien sind im neunten Erfahrungsbericht bereits dargestellt worden. Im hier vorliegenden zehnten Bericht wird ein Überblick über die Fortschritte in der klinischen Anwendung von pluripotenten Stammzellen gegeben und es werden die Zelltypen beschrieben, die gegenwärtig in der Klinik eingesetzt werden. Weiterhin werden die experimentellen Ansätze zusammengefasst (Kurtz et al.,

2022). Hierfür wurde auf die im Register humaner pluripotenter Stammzellen (<https://hpscereg.eu>) geführte, öffentlich zugängliche Datenbank über weltweit durchgeführte, auf hPS-Zellen basierten klinische Studien zurückgegriffen (Kobold et al., 2020).

Bedeutende Durchbrüche bei der Differenzierung von Stammzellen zu therapeutisch relevanten Zelltypen haben uns an die Schwelle zu neuartigen Zelltherapien geführt, die die Behandlung von Krankheiten durch eine Heilung ersetzen können. Degenerative Krankheiten wie Diabetes, Herzkrankheiten, Augenkrankheiten und neurologische Störungen könnten von einer erneuerbaren Quelle von Gewebe aus Stammzellen profitieren. Die ersten klinischen Studien mit einer kleinen Zahl von Patientinnen und Patienten auf der Grundlage von Stammzellen sind bereits angelaufen. Ein Haupthindernis für die breite Anwendung zellbasierter Therapien ist das Immunsystem, das eine Transplantationsbarriere bildet und die Zellen eines anderen Menschen abstößt. Verschiedenen Strategien sind entwickelt worden, um universelle hPS-Zellen zu generieren, die von dem Immunsystem aller oder der meisten Menschen toleriert werden (Harding et al., 2020). Die Manipulation menschlicher Leukozytenantigene (HLAs) und immunmodulatorischer Faktoren in „universellen“ PS-Zellen verspricht immunologische Toleranz ohne HLA-Matching. Es besteht jedoch das Risiko, dass diese „universelle“ Transplantate mit Viren infiziert werden. Darüber hinaus könnte die immunologische Manipulation bestimmte Nachkommen, wie z. B. hämatopoetische Stammzellen, funktionell beeinträchtigen. Es werden die Risiken und Vorteile hypoimmunogener PS-Zellen erörtert sowie die Notwendigkeit, die HLA-Anpassung und autologe Strategien weiter zu verbessern (Matheus et al., 2022). Allerdings müssen Strategien entwickelt werden, um die Sicherheit solcher universellen hPS-Zellen ausreichend zu testen und die Entwicklung von Krebszellen, die nicht vom Immunsystem erkannt werden, und andere Komplikationen auszuschließen (diskutiert in González et al., 2020).

Die Zelltransplantation ist sowohl in der Forschung als auch im klinischen Bereich in den Vordergrund der regenerativen Medizin gerückt. Ein Übersichtsartikel stellt die jüngsten grundlagenwissenschaftlichen Fortschritte, die mit hPS-Zellen erzielt wurden, dar. Sowohl hES-Zellen als auch hiPS-Zellen bieten Quellen für neue Neuronen, die abgestorbene und/oder absterbende Zellen nach Verletzungen ersetzen können (zusammengefasst in Forbes and Andrews, 2021). Die Möglichkeit, ein durch eine Verletzung oder Krankheit geschädigtes Rückenmark mit Hilfe von Stammzellen wiederherzustellen, bietet großes Potential für die medizinische Behandlung. Klinische Studien hierzu waren bereits vor über zehn Jahren angelaufen. Doch die Reparatur dieses scheinbar einfachen Schaltkreises hat sich als viel komplizierter erwiesen, als die meisten Forschenden erwartet haben (Gravitz, 2021).

Die Parkinson-Krankheit ist durch den Verlust dopaminergener Neuronen in der Substantia nigra gekennzeichnet, was zu behindernden Defiziten führt. Die Transplantation von dopaminergen Neuronen könnte einen bedeutenden therapeutischen Fortschritt gegenüber den derzeitigen Therapien darstellen. Eine zellbasierte Therapie wird als Alternative zur aktuellen medikamentösen Behandlung der Parkinson-Krankheit erwartet. Im Fachjournal *Cell Stem Cell* wurde in zwei Artikeln (Kim et al., 2021b; Piao et al., 2021) über die Induktion von klinisch einsetzbaren dopaminergen Neuronen aus hES-Zellen und die Ergebnisse einer präklinischen Studie, die auf eine klinische Prüfung abzielt, berichtet (diskutiert in Takahashi, 2021). BlueRock Therapeutics erhielt in Zusammenarbeit mit dem Memorial Sloan Kettering Cancer Center die IND-Zulassung (Investigational New Drug) für DA01 zur Behandlung der Parkinson-Krankheit (PRnewswire, 2021). Die bevorstehenden klinischen Studien, in denen die Transplantation von aus Stammzellen gewonnenen dopaminergen Neuronen in das Striatum von Personen mit Parkinson-Krankheit untersucht wird, könnten bahnbrechende Ergebnisse zum Ersatz von Neuronen im menschlichen Gehirn liefern. Der Weg zu einer klinisch konkurrenzfähigen Behandlung dieser Erkrankung wird jedoch wahrscheinlich lang und beschwerlich sein (Lindvall, 2020).

Vertex Pharmaceuticals Incorporated (Nasdaq: VRTX) hat bekannt gegeben, dass die US-amerikanische Food and Drug Administration (FDA) den IND-Antrag genehmigt hat, so dass das Unternehmen eine klinische Studie für VX-880, eine aus Stammzellen abgeleitete, vollständig differenzierte Inselzelltherapie der Bauchspeicheldrüse zur Behandlung von Typ 1-Diabetes, beginnen kann. Vertex hat im Jahr 2021 eine klinische Studie der Phase 1/2 bei Menschen mit Typ 1-Diabetes mit beeinträchtigter Hypoglykämie-Sensorik und schwerer Hypoglykämie begonnen (Businesswire, 2021).

Da die menschliche Netzhaut keine Regenerationsfähigkeit besitzt, stellen Stammzelleneingriffe potenzielle Therapien für verschiedene Netzhauterkrankungen, die zur Erblindung führen können, dar. Diese Art der Therapie wurde in jahrzehntelangen präklinischen Studien am menschlichen Auge eingehend untersucht. Die Sicherheitsprofile in den bisherigen klinischen Studien haben gezeigt, dass diese Strategien weiter erforscht werden sollten. Es gibt immer noch Herausforderungen in Bezug auf die Zellquelle, die Zellverabreichung, immunbedingte unerwünschte Ereignisse und die langfristige Aufrechterhaltung der therapeutischen Wirkung (zusammengefasst in Shen, 2020). Das Absterben der Zapfenphotorezeptoren und der damit einhergehende Verlust des zentralen Seh-

vermögens sind für viele Netzhautdystrophien typisch. Ribeiro et al. zeigen, dass die Transplantation von gereinigten Zapfen-Photorezeptor aus hPS-Zellen in ein Mausmodell mit Krankheit im Endstadium die Bildung funktioneller Verbindungen mit der darunter liegenden Netzhaut ermöglicht und die durch die Zapfen vermittelte Sehfunktion wiederherstellt (Ribeiro et al., 2021).

2.9 Ethische, rechtliche und soziale Aspekte (ELSA) der Stammzellforschung

Die Leitlinien für Stammzellforschung und klinische Translation der Internationalen Society for Stem Cell Research (ISSCR) wurden zuletzt im Jahr 2016 überarbeitet. Seitdem wurden in den Forschungsbereichen der In-vitro-Kultur menschlicher Embryonen, der Schaffung von stammzellbasierten Embryonenmodellen und der In-vitro-Gametogenese rasante Fortschritte erzielt (Clark et al., 2021). Die daraufhin 2021 aktualisierten ISSCR-Leitlinien bieten Regulierungsbehörden und Forschungsförderern einen Rahmen für die behördliche Aufsicht über die Stammzellenforschung und die klinische Umsetzung, einschließlich der jüngsten Fortschritte im Zusammenhang mit Embryonenmodellen, chimären Embryonen und dem Mitochondrienersatz. Die Erzeugung von Embryonen zu Forschungszwecken ist in vielen Ländern nicht erlaubt. Die In-vitro-Fertilisation ist jedoch weit verbreitet und führt häufig zur Erzeugung von Embryonen, die für die klinische Verwendung nicht geeignet sind oder die den klinischen Bedarf übersteigen. Embryonen, die andernfalls verworfen würden, können in manchen Ländern mit informierter Zustimmung für Forschungszwecke gespendet werden, und so über die Forschung die Fruchtbarkeitsbehandlung verbessern und angeborene Krankheiten verringern, z. B. durch Mitochondrien-Ersatztechniken. Fortschritte in der Stammzellen- und Embryonenforschung haben gezeigt, dass Mitochondrien-Ersatztechniken erfolgreich durchgeführt werden können. Sie haben die Erzeugung embryoähnlicher Strukturen aus pluripotenten menschlichen Zelllinien in Kultur ermöglicht. Diese können anstelle menschlicher Embryonen zur Untersuchung der frühen menschlichen Entwicklung verwendet werden. Es gab ebenfalls Fortschritte bei der Erzeugung chimärer tierischer Embryonen mit menschlichen Zellen, die eines Tages die Möglichkeit bieten könnten, menschliche Organe für Transplantationen zu erzeugen. Es sind jedoch neue Leitlinien erforderlich, um diese Modelle zu validieren und die Umstände festzulegen, unter denen eine solche Forschung ethisch vertretbar ist (Anthony et al., 2021). Die Leitlinien des ISSCR 2021 enthalten eine Reihe von wesentlichen Änderungen (Mummery and Anthony, 2021). Zu den wichtigsten Änderungen gehören: (1) die Unterteilung der vorherigen „Kategorie 3 Verbotene Forschungstätigkeiten“ in den Leitlinien von 2016 in „Kategorie 3A – Derzeit nicht erlaubte Forschungstätigkeiten“ und „Kategorie 3B – Verbotene Forschungstätigkeiten“ in den Leitlinien von 2021 und (2) die Verschiebung der vererbaren Human-Genome-Editing-Forschung aus der Kategorie „verboten“ in die Kategorie „derzeit nicht erlaubt“. Diese Änderungen sind insofern bemerkenswert, als es keine klare Abgrenzung zwischen den beiden Kategorien gibt, da das, was „verboten“ ist, per Definition „derzeit nicht erlaubt“ ist und umgekehrt (Baylis, 2021a, 2021b). Weiterhin wird in den Leitlinien die 14-Tage-Grenze für die Embryonenforschung, die in vielen Ländern gilt, in Frage gestellt und durch eine Einzelfallprüfung ersetzt (Subbaraman, 2021). Einige Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftler, Ethikerinnen und Ethiker und Juristinnen und Juristen plädieren für die Beibehaltung des Limits (oder einen klar abgegrenzten Ersatz). Sie argumentieren, dass dadurch ethische und politische Minenfelder vermieden, das öffentliche Vertrauen gestärkt und Verwirrung minimiert werden (Master et al., 2021a). Im Frühjahr 2022 ist auch eine deutsche Übersetzung der ISSCR Leitlinien durch eine Kooperation des German Stem Cell Network (GSCN) und des Stammzellnetzwerks.NRW e. V. mit der ISSCR realisiert und publiziert worden (ISSCR-Task-Force, 2022).

Auf dem ISSCR Meeting in San Francisco 2022 wurden sowohl für die Maus als auch Rinder reproduzierbar herstellbare Blastozysten vorgestellt. Sollte sich in naher Zukunft das erste Lebewesen aus einer solchen Struktur entwickeln, wären Blastozysten theoretisch mit Blastozysten gleichzusetzen. Obwohl keine Wissenschaftlerin und kein Wissenschaftler, die bzw. der sich an die aktuellen ISSCR Guidelines hält, ein solches Experiment im menschlichen System durchführen würde, regt diese theoretische Möglichkeit zu einem frühen Nachdenken über den Status von humanen Blastozysten an. Sind dann auch menschliche Embryozysten zu einem definierten Zeitpunkt ab einem bestimmten Entwicklungsstand gleichzusetzen mit menschlichen Embryonen? Sollten künftig Technologien zur Herstellung von Keimzellen auch in der Reproduktionsmedizin erwogen werden, beispielsweise um Nachkommen bei Unfruchtbarkeitsbehandlungen oder für gleichgeschlechtliche Paare zu ermöglichen? Muss zudem unterschieden werden, ob die verschiedenen Zellstrukturen aus hES- oder iPS-Zellen gebildet wurden? Für all diese Fragen bedarf es zunächst einer gesellschaftlichen, ethischen und rechtlichen Debatte.

Zwei Rechtsgutachten, die im Jahr 2019 für das Stammzellnetzwerk.NRW e. V. erstellt wurden, bilden die Grundlage für eine Abhandlung über Stammzellen in Forschung und Therapie. Ausgangspunkt ist die Analyse des rechtlichen Rahmens für die Stammzellforschung und deren Anwendung mit Schwerpunkt der Situation in Deutschland. Darauf aufbauend werden Regelungsdefizite identifiziert und Reformoptionen entwickelt (Gassner and

Spranger, 2020b). Ein weiterer Schwerpunkt ist die Analyse der rechtlichen Situation bei der Umsetzung von Ergebnissen der Stammzellforschung in die medizinische Anwendung (Gassner and Spranger, 2020b). Auch aus dem Bereich der Reproduktionsmedizin und der Forschung an menschlichen Embryonen kommen Forderungen nach einer Neubewertung des Embryonenschutzes in Deutschland (Leopoldina, 2021). Beiträge von Seiten der Patientenvertretungen gewährleisten, dass die Interessen der Patientinnen und Patienten angemessen berücksichtigt werden. Am Beispiel der Erbkrankheit Mukoviszidose werden die Herausforderungen aufgezeigt, vor welchen Patientenorganisationen bei der effektiven Patientenvertretung stehen, wie zum Beispiel die Rekrutierung von geeigneten Patientinnen und Patienten oder Sprachbarrieren durch Studienunterlagen ausschließlich in wissenschaftlicher – somit nicht laienverständlicher – englischer Sprache (Kruip, 2020).

2.10 Ungeprüfte Stammzelltherapien

Als „ungeprüfte Stammzelltherapien“ werden kommerzielle Behandlungsangebote bezeichnet, die nicht im Rahmen klinischer Studien auf ihre Sicherheit und Wirksamkeit geprüft wurden und als Therapie keine behördliche Zulassung haben, aber dennoch zunehmend von Patientinnen und Patienten nachgefragt und auch über das Internet beworben werden.

Weiterhin bieten eine Vielzahl von Unternehmen in den Vereinigten Staaten Patientinnen und Patienten stammzellbasierte Behandlungen an, die nicht von der FDA zugelassen sind (Cook et al., 2021). Im März 2021 wurden in den USA 1.480 Unternehmen mit 2.754 Kliniken ermittelt, die angebliche Stammzellenbehandlungen für verschiedene Indikationen verkaufen. Mehr als viermal so viele Unternehmen wie vor fünf Jahren verkaufen Stammzellenprodukte, die nicht von der FDA zugelassen sind und für die es keine überzeugenden Beweise für Sicherheit und Wirksamkeit gibt (diskutiert in Turner, 2021). Auch im Zuge der SARS-CoV-2-Pandemie sind verstärkt ungeprüfte stammzellbasierte Therapieangebote zu verzeichnen. Sie zielen mit irreführenden Behauptungen auf potenzielle Kunden ab, setzen Patientinnen und Patienten potenziell riskanten stammzellbasierten Produkten aus und untergraben die Bemühungen, evidenzbasierte Behandlungen für COVID-19 zu entwickeln (Turner, 2020). Auch in Großbritannien verlangen einige Privatkliniken von britischen Patientinnen und Patienten Tausende von Pfund für ungeprüfte und unregulierte Behandlungen, bei denen die „Heilkräfte“ von Stammzellen genutzt werden (Curwen, 2020).

Die Industrie der ungeprüften Stammzellenintervention ist daher weiterhin ein weltweites Gesundheitsproblem. Trotz der Bemühungen einiger Länder gegen diese Entwicklung floriert diese Industrie weiter. Zur Lösung des Problems bedürfte es eines globalen Ansatzes und der Einrichtung eines beratenden Expertenausschusses der Weltgesundheitsorganisation (WHO) für regenerative Medizin, der sich mit dem Problem befasst und Leitlinien, vergleichbar mit denen der ISSCR, vorgibt. Ein WHO-Komitee kann die nationalen Vorschriften harmonisieren, regulatorische Ansätze fördern, die den ungedeckten Bedürfnissen der Patientinnen und Patienten Rechnung tragen, und eine Aufklärungskampagne gegen Fehlinformationen formulieren. Die Förderung eines internationalen Dialogs und die Entwicklung von Empfehlungen, die von den Mitgliedsstaaten übernommen werden können, würden den globalen Markt für ungeprüfte Stammzellbehandlungen wirksam angehen (zusammengefasst in Master et al., 2021b).

Inzwischen hat die FDA, die in den USA für die Zulassung von zellbasierten Therapien zuständig ist, allerdings zumindest ein Berichtssystem (FDA Adverse Event Reporting System (FAERS)) aufgebaut, dem Beteiligte unerwünschte Nebeneffekte von Therapien selbständig melden können. Das FAERS Public Dashboard ist ein hochgradig interaktives, webbasiertes Tool, das die Abfrage von Daten auf benutzerfreundliche Weise ermöglicht. Mit diesem Tool soll der Zugang zu den Daten für die breite Öffentlichkeit erweitert werden, um nach Informationen über unerwünschte Ereignisse beim Menschen zu suchen, die der FDA von der pharmazeutischen Industrie, Gesundheitsdienstleistern und Verbrauchern gemeldet wurden. Es ist zu hoffen, dass dadurch auch mehr Daten zu ungeprüften Stammzellbehandlungen veröffentlicht werden (U.S.-Food&Drug-Administration, 2021).

2.11 Auflistung der klinischen Studien mit humanen pluripotenten Stammzellen

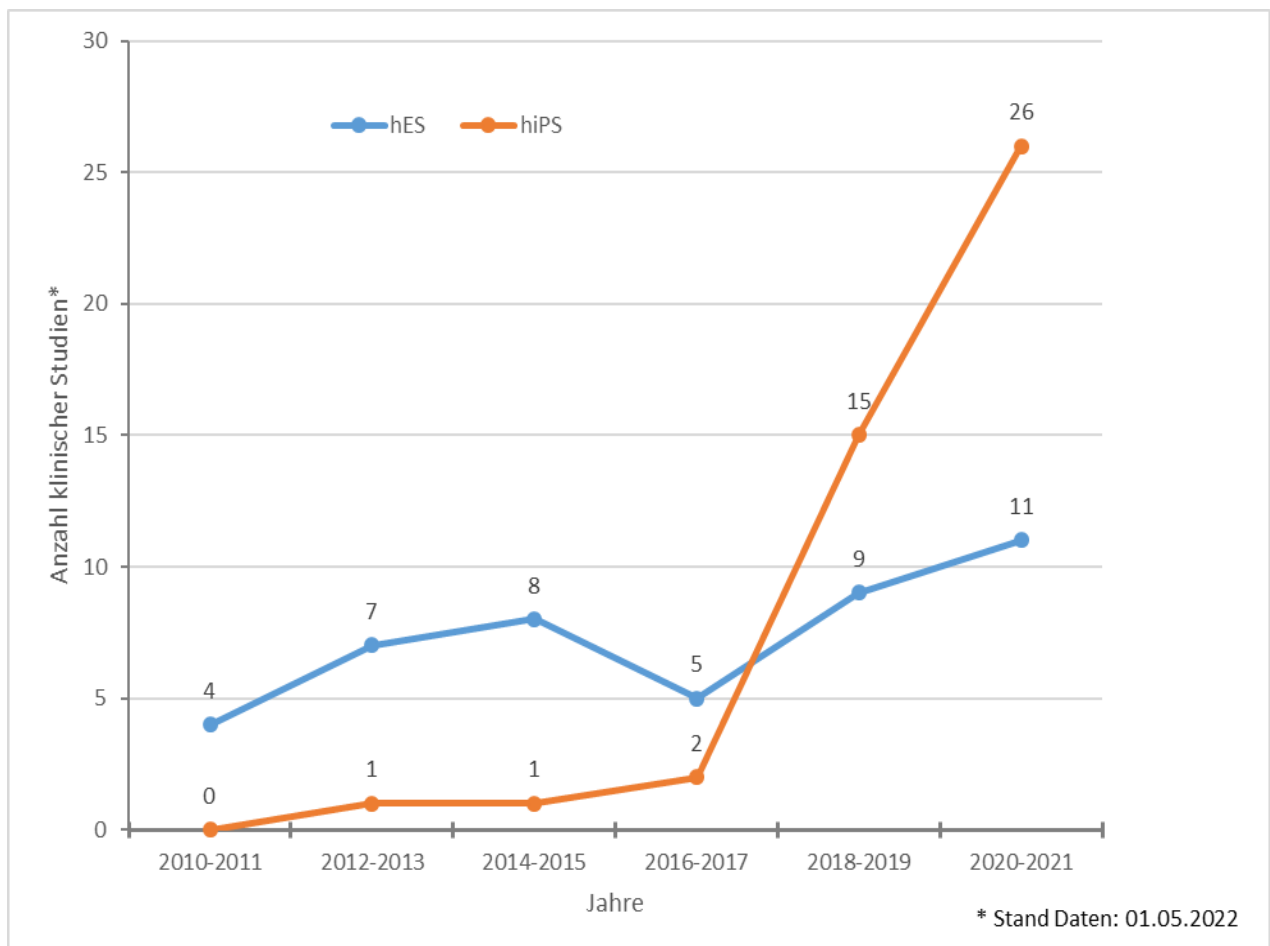
hPS-Zellen wie hES-Zellen und hiPS-Zellen bieten beispiellose Möglichkeiten für Zelltherapien gegen bisher nicht adäquat behandelbare Krankheiten, Verletzungen und Infektionen. Sowohl hES-Zellen als auch hiPS-Zellen werden in einer wachsenden Zahl klinischer Studien eingesetzt. Das Spektrum der klinischen Anwendungen hat sich seit 2020 breiter aufgefächert. Tabelle 1 fasst die im Berichtszeitraum begonnenen klinischen Studien, das Zielorgan bzw. das Krankheitsbild und die jeweils als Ausgangsmaterial verwendeten Stammzelltypen zusammen.

Tabelle 1: **Weltweite Anzahl zwischen 1. Januar 2020 und 31. Dezember 2021 initiiierter klinischer Studien mit hES-/hiPS-Zellen nach Organsystem / Krankheitsfeld**

Krankheitsfeld	Augen	Blut	Herz	Infektionen	Krebs	Neuro	Stoffwechsel (Diabetes)	Andere	Summe
hES-Zellen	2					3	1	5	11
hiPS-Zellen	4	1	5	2	11			3	26
Gesamt	6	1	5	2	11	3	1	8	37

Insgesamt kann im Vergleich zum Zeitraum 2018 bis 2019 eine stärkere Zunahme von Studien mit hiPS-Zellen als mit hES-Zellen festgestellt werden (Abbildung 1). Aus Tabelle 2 geht hervor, dass im Vergleich zum vorhergehenden Berichtszeitraum vor allem klinische Studien mit genetisch modifizierten Zellen, insbesondere von PSC-abgeleiteten Immunzellen (T-Zellen, NK-Zellen) neu hinzugekommen sind. Es ist anzunehmen, dass dieser Trend sich weiter verstärkt.

Abbildung 1: **Weltweite Entwicklung der Nutzung von hES-Zellen und hiPS-Zellen für klinische Studien zwischen 2010 und 2021**



Nach wie vor steht die klinische Anwendung pluripotenter Stammzellen vor praktischen Herausforderungen. Dazu zählen neben der limitierten Verfügbarkeit regulatorisch zertifizierter Zelllinien und dem enormen Aufwand diese zu produzieren ihre potenzielle Tumorigenität, Immunogenität und die Heterogenität des von pluripotenten Stammzellen abgeleiteten Produktes. Forschungsbedarf besteht zur Abschätzung von Risiken aufgrund genetischer und epigenetischer Veränderungen während des Herstellungsprozesses der ES-Zellen, iPS-Zellen und dar-

aus abgeleiteter therapeutischer Produkte. Ferner besteht Forschungsbedarf im Bereich Abschätzung und Kontrolle der Immunogenität und der Wirkungsweise der PSC-abgeleiteten Zellprodukte. Hierfür sind adäquate präklinische Modelle und ein offener Austausch der klinischen Studiendaten erforderlich. Ein weiteres Handlungsfeld ist die Bereitstellung von nutzbaren Daten in diesen Forschungsfeldern und deren öffentlicher Zugang für den Datenaustausch zur Verbesserung der Reproduzierbarkeit von Ergebnissen. Verschiedene Organisationen und Expertengremien im Bereich der Stammzellforschung haben Standards und ‚Best Practice‘-Empfehlungen entwickelt, um Risiken zu minimieren und Daten vergleichbar zu machen. Cao et al., 2022; Steeg et al., 2021). Die ISSCR veröffentlichte 2021 überarbeitete Leitlinien für die Stammzellforschung und die klinische Translation. Eine Erweiterung dieser Richtlinien ist in Arbeit, um insbesondere Standards für PS-Zellen zu etablieren. Aufgrund der genannten Herausforderungen bestehen starke Anstrengungen das Feld sowohl regulatorisch als auch praktisch durch entsprechende Richtlinien sowie einen verstärkten Datenaustausch zu harmonisieren. Dazu gehört auch insbesondere die Entwicklung von Plattformen und Werkzeugen, um basierend auf Daten Risiken abschätzen zu können (Kurtz et al., 2022).

Personalisierte Gewinnung und autologe Verwendung von iPSC-Zellen sind gegenwärtig zu kostenintensiv. Autologe klinische Studien werden daher zurzeit nicht durchgeführt. Obwohl anzunehmen ist, dass diese Situation sich durch neue Verfahren verbessert, sind allogene Anwendungen die Regel. Um die Immunogenität der Zellprodukte zu reduzieren, werden sowohl Haplobanken etabliert (Japan), als auch durch Genom-Editierung Zelllinien etabliert, die eine sehr geringe Potenz besitzen, allogene Immunreaktionen auszulösen. Haplobanken erscheinen vor allem für Populationen geeignet, die eine relativ geringe HLA-Diversität aufweisen, können aber auch für andere Regionen sinnvoll sein (Lee et al., 2018).

Eine Liste klinischer Studien mit PSC-abgeleiteten Produkten, die während des Berichtszeitraums durchgeführt wurden, zeigt Tabelle 2. In Tabelle 2 sind nur klinische Studien aufgelistet, die im Berichtszeitraum gestartet wurden. Klinische Studien, die vor dem Berichtszeitraum gestartet wurden, sind gesamtthetlich im neunten Stammzellbericht dargestellt (Bundestagsdrucksache 19/32595).

Tabelle 2: **Internationale klinische Studien mit Produkten, abgeleitet von humanen pluripotenten Stammzellen (hPSC).**

Für die Auflistung der klinischen Studien mit pluripotenten Stammzellen, die während des Berichtszeitraums durchgeführt wurden, wurde auf das Register des US-amerikanischen National Institutes of Health (NIH) clinicaltrials.gov (Studienbezeichnung NCTXXXX), das japanische Clinical Trials Register des University Hospital Medical Information Network (UMIN-CTR; UMINXXXX), des japanischen Medical Association Center (JMACCCT; JMAXXX), das Japan Registry of Clinical Trials (JRCT; JRCTXXX), das chinesische Clinical Trials Register (ChiCTR; ChiCTRXXX), und die WHO International Clinical Trials Registry Platform (ICTRP) zurückgegriffen.

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
ES-Zellen						
Stoffwechselerkrankungen (Diabetes)						
Vertex Pharmaceuticals	A Safety, Tolerability, and Efficacy Study of VX-880 in Participants With Type 1 Diabetes Mellitus	Diabetes Mellitus Typ 1	2021 bis 2028	NCT02239354	Phase I/2, rekrutierend	USA
Neurologische Erkrankungen						
S.Biomedics	A phase I/2a clinical study to evaluate the safety and exploratory efficacy for PSA-NCAM (+) NPC	Rückenmarksverletzungen	2021 bis 2024	NCT04812431	Phase I/2, noch nicht rekrutierend	Südkorea
BlueRock Therapeutics	Phase 1 Study To Assess the Safety and Tolerability of Human Embryonic Stem Cell-Derived Midbrain Dopamine Neuron	Parkinson-Krankheit	2021 bis 2023	NCT04802733	Phase I, rekrutierend	USA
ImStem Biotechnology	A Study to Evaluate the Safety, Tolerability, and Exploratory Efficacy of IMS001 in Subjects With Multiple Sclerosis	Multiple Sklerose	2021 bis 2027	NCT04956744	Phase I, rekrutierend	USA

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
Augenerkrankungen						
Moorfields Eye Hospital NHS Foundation Trust	A Study Of Implantation Of Retinal Pigment Epithelium In Subjects With Acute Wet Age Related Macular Degeneration	Feuchte (exsudative) AMD	2021 bis 2023	NCT01691261	Phase 1, noch nicht rekrutierend	UK
Qi Zhou, Chinese Academy of Sciences/Beijing Tongren Hospital	Safety and Efficacy of Subretinal Transplantation of Clinical Human Embryonic Stem Cell Derived Retinal Pigment Epitheliums in Treatment of Retinitis Pigmentosa	Retinitis pigmentosa	2020 bis 2021	NCT03944239	Phase 1, unbekannt	China
Andere Erkrankungen						
Chinese Academy of Sciences	Safety and Efficacy of CASstem for Severe COVID-19 Associated With/Without ARDS	COVID-19, akutes Lungenversagen	2020	NCT04331613	Phase 1/2, unbekannt	China
Wuhan Jinyintan Hospital (Wuhan Infectious Diseases Hospital)	Safety and Effectiveness of Human embryonic stem cell-derived M cells (CASstem) for Pulmonary Fibrosis Correlated with novel coronavirus pneumonia (COVID-19)	COVID-19, akutes Lungenversagen	2020 bis 2021	ChiCTR2000031139	Phase 0, rekrutierend	China
Qi Zhou	Clinical Safety Study of Human Embryonic Stem Cell Derived Mesenchymal Cells in the Treatment of Moderate and Severe Intrauterine Adhesions	Intrauterine Synechien, Asherman-Syndrom	2020 bis 2022	NCT04232592	Phase 1, unbekannt	China
Asan Medical Center	Safety of Human Embryonic Stem Cell (hESC)-Derived Mesenchymal Stem Cells in Interstitial Cystitis	Interstitielle Zystitis (chronisch)	2020 bis 2022	NCT04610359	Phase 1, rekrutierend	Südkorea
Gary Steinberg	A Safety and Tolerability Study of Neural Stem Cells (NRI) in Subjects With Chronic Ischemic Subcortical Stroke (ISS)	Schlaganfall (Hirminfarkt)	2021 bis 2024	NCT04631406	Phase 1/2, rekrutierend	USA

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
iPS-Zellen						
Herzerkrankungen						
Heartseed Inc.	Safety study of induced pluripotent stem cell-derived cardiac spheres transplantation (iPSCS study)	Herzerkrankungen	2020 bis	JRCTa032200189	Phase 0, rekrutierend	Japan
Heartseed Inc.	A phase I/II study of human induced Pluripotent Stem (iPS) cell-derived cardiomyocyte spheroids in patients with severe heart failure, secondary to ischemic heart disease, undergoing coronary artery bypass grafting (LAPIS Study)	Herzerkrankungen	2021 bis	NCT04945018; JRCT2033210163	Phase I/2, rekrutierend	Japan
Help Therapeutics	Treating Congestive HF With hiPSC-CMs Through Endocardial Injection)	Herzerkrankungen	2021 bis 2023	NCT04982081	Phase I, rekrutierend	China
Osaka University Hospital Cuorips Inc.	Clinical trial of human (allogeneic) iPS cell-derived cardiomyocytes sheet for ischemic cardiomyopathy	Herzerkrankungen	2020 bis	JRCT2053190081	Phase I, rekrutierend	Japan
University Medical Center Göttingen / DZHK / University Medical Center Freiburg	Safety and Efficacy of Induced Pluripotent Stem Cell-derived Engineered Human Myocardium as Biological Ventricular Assist Tissue in Terminal Heart Failure (BioVAT-HF)	Herzerkrankungen	2020 bis	NCT04396899	Phase I/2, noch nicht rekrutierend	Deutschland
Kreberkrankungen						
Imuna Tomohisa BrightPath Biotherapeutics Co., Ltd. Chiba University Hospital	A Phase I study of iPS-NKT cell intra-arterial infusion therapy in patients with recurrent or advanced head and neck cancer	Kopf-Hals-Karzinom	2020 bis	JRCT2033200116	Phase I, rekrutierend	Japan
Fate Therapeutics	FT596 as a Monotherapy and in Combination With Anti-CD20 Monoclonal Antibodies	Chronische lymphatische Leukämie	2020 bis 2039	NCT04245722	Phase I, rekrutierend	USA

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
International Center for Personalized Medicine (ICPM)	A Clinical Trial to Evaluate the Effects of Autologous induced Pluripotent Stem Cell-Derived Natural Killer Cells in Personalized Treatment of Patients with Advanced Metastatic Breast Cancer	Brustkrebs	2021 bis	IRCT20200429047241N1	Phase 1, noch nicht rekrutierend	Iran
Masonic Cancer Center, University of Minnesota	FT516 and IL2 With Enoblituzumab for Ovarian Cancer	Eierstockkrebs	2021 bis 2022	NCT04630769	Phase 1, beendet	USA
Fate Therapeutics	FT538 in Subjects With Advanced Hematologic Malignancies	Myeloide Leukämie	2020 bis 2038	NCT04614636	Phase 1, rekrutierend	USA
Fate Therapeutics	FT516 in Combination With Monoclonal Antibodies in Advanced Solid Tumors	Verschiedene solide Krebsarten	2020 bis 2037	NCT04551885	Phase 1, aktiv, nicht rekrutierend	USA
Fate Therapeutics	FT819 in Subjects With B-cell Malignancies	Chronische lymphatische Leukämie	2021 bis 2039	NCT04629729	Phase 1, rekrutierend	USA
Masonic Cancer Center, University of Minnesota	FT596 With Rituximab as Relapse Prevention After Autologous HSCT for NHL	Non-Hodgkin-Lymphom	2020 bis 2025	NCT04555811	Phase 1, rekrutierend	USA
Masonic Cancer Center, University of Minnesota	FT538 in Combination With Daratumumab in AML Acute Myeloid Leukemia	Akute myeloische Leukämie	2021 bis 2025	NCT04714372	Phase 1, rekrutierend	USA
Fate Therapeutics	FT538 in Combination With Monoclonal Antibodies in Advanced Solid Tumors	Verschiedene solide Krebsarten	2021 bis 2025	NCT05069935	Phase 1, rekrutierend	USA
National Cancer Center Hospital East/Japan Agency for Medical Research and Development	A phase 1 clinical trial of intraperitoneal administration of iCAR-ILC/N101 for ovarian clear cell carcinoma	Eierstockkrebs	2021 bis	JRCT2033200431	Phase 1, rekrutierend	Japan

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
Bluterkrankungen						
Megakaryon	MEG-002: Exploratory clinical study in thrombocytopenic patients	Thrombozytopenie	2021 bis	JRCT2053210068	Phase 1, rekrutierend	Japan
Infektionskrankheiten						
Cynata Therapeutics Limited	The MEseNchymal covid-19 Trial: a Pilot Study to Investigate Early Efficacy of MSCs in Adults With COVID-19 (MEND) MSC Vorläuferzellen aus iPS-Zellen	COVID-19	2020 bis 2021	NCT04537351	Phase 1/2, rekrutierend	Australien
Masonic Cancer Center, University of Minnesota/Fate Therapeutics	Study of FT516 for the Treatment of COVID-19 in Hospitalized Patients With Hypoxia FT516 ist ein NK-Zellprodukt mit aktivierten CD16 Rezeptor abgeleitet von iPS-Zellen	COVID-19	2020 bis 2021	NCT04363346	Phase 1, beendet	USA
Augenerkrankungen						
National Eye Institute (NEI)	Autologous Transplantation of Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Retinal Pigment Epithelium for Geographic Atrophy Associated With Age-Related Macular Degeneration	Trockene AMD	2020 bis 2029	NCT04339764	Phase 1/2, rekrutierend	USA
Sumitomo Dainippon Pharma / Hiramii Yasuhiko / Kobe Eye Hospital	Safety Study of allogenic hiPSC-retinas in Retinitis Pigmentosa	Retinitis pigmentosa	2020 bis	JRCTa050200027	Phase 1, rekrutierend	Japan
Kurimoto Yasuo / Kobe City Eye Hospital	Clinical Research of allogeneic iPSC-RPE cell suspension transplantation for RPE impaired disease (CR of aiPSC-RPE CS transplantation forRID)	Sonstige Affektionen der Netzhaut	2021 bis	JRCTa050200122	Phase 1/2, rekrutierend	Japan

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
Shimmura Shigeto / CELLUSION Inc. / Keio University	iPS cell-derived corneal endothelial cell substitutes for bullous keratopathy	Keratopathia bullosa	2021 bis	JRCTa031210199	k. A., ausstehend	Japan
Andere Erkrankungen						
Matsuda Shuichi / Asahi Kasei Corporation / Kyoto University Hospital	Development of treatment of knee articular cartilage damage with iPS-cell-derived cartilage	Knorpelschaden im Knie	2020 bis	JRCTa050190104	Phase 1, rekrutierend	Japan
Keio University / Okano Hideyuki	Regenerative medicine for spinal cord injury at subacute stage using human induced pluripotent stem cell-derived neural stem/progenitor cells	Rückenmarksverletzungen	2020 bis 2023	UMIN000035074 / JRCTa031190228	Phase 1/2, rekrutierend	Japan
University of Sydney	Stem cell therapy in knee osteoarthritis	Kniearthrose	2021 bis 2024	ACTRN12620000870954	Phase 3, rekrutierend	Australien

3 Schlussfolgerungen

In den Jahren 2020 und 2021 hat die Forschung der Stammzellbiologie weitere Fortschritte zu verzeichnen. Das Feld mit den diversen Stammzelltypen ist inzwischen so weit verzweigt, dass eine umfassende Darstellung der Gesamtheit der Forschung im Erfahrungsbericht kaum mehr erreicht werden kann. Besonders im Bereich der Forschung mit Organoiden sind im Berichtszeitraum etliche neue Ansätze zu verzeichnen gewesen. Bei der Kombination verschiedener Gewebestrukturen und somit der Herstellung von multizellulären Strukturen, die über die Zelltypen eines einzelnen Organs hinausgehen, sind wichtige Fortschritte zu beobachten. Dadurch lassen sich nun auch Interaktionen der Stammzellen mit ihrer spezifischen natürlichen Umgebung *in vitro* untersuchen. Weiterhin zeigen Forschungsansätze, wie Immunzellen in Organstrukturen Immunreaktionen koordinieren, wie neuronale Zellen mit Muskelgewebe neuromuskuläre Synapsen etablieren und wie die Muskulatur entodermalen Strukturen, z. B. das Darmepithel, innerviert. Durch die neuen Technologien des Organ-on-a-Chip bieten sich Organoide für die Testung von Wirkstoffen an. Sie leisten zudem einen Beitrag zum Verständnis von Krankheiten, die in Patientinnen und Patienten nicht detailliert und auf molekularer Ebene aufgeklärt werden können.

Ein zukünftiges Ziel der Forschung mit Organoiden ist die Herstellung von Geweben und Zellverbänden für die Transplantation im Rahmen der regenerativen Medizin. Während dies für eine Vielzahl von Erkrankungen, insbesondere des Nervensystems, sicher noch weit von der Anwendung entfernt ist, zeigen sich schon jetzt für einzelne Bereiche konkrete Behandlungsperspektiven mit Organoiden. Gerade für entodermale Strukturen, wie Darm, Leber, Niere und Bauchspeicheldrüse, könnte die Organoidforschung neue Therapiekonzepte eröffnen. Somit nähert sich die Stammzellforschung, neben den Ansätzen in der Modellierung von Krankheiten und der Wirkstoffforschung, auch dem genannten Ziel, Zellersatzmaterialien zu generieren. Im Bereich der Sicherheit von Zellprodukten und deren Herstellung stellen sich aber zunächst insbesondere technische Herausforderungen.

Neu in der Forschungslandschaft sind die fortgeschrittenen *In-vitro*-Strukturen der Embryoide, sowohl Blastoide (ähnlich zu Blastozysten mit drei verschiedenen Zelltypen) als auch Gastruloide (ähnlich zur Gastrula mit Zellen der drei Keimbahnen). Diese Strukturen erlauben neue Forschungsentwicklungen und ein größeres Verständnis der frühen Embryonalentwicklung. Allerdings wären ggf. künftige Möglichkeiten ihrer Nutzung am Menschen unter Umständen mit weitergehenden ethischen und rechtlichen Fragestellungen verbunden, die zu diskutieren wären.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass Entwicklungen im Bereich der Stammzellforschung international und in Deutschland weiterhin wichtige und immer weitergehende Beiträge zum grundlegenden Verständnis in der Entwicklungsbiologie und innovative Erkenntnisse in der Medizin sowie für Behandlungsansätze liefern.

hES-Zellen sind unverändert Grundlage innovativer Forschungsvorhaben. Es besteht weiterhin großes Interesse an ihrer Verwendung in der Forschung.

Einen ähnlichen Stellenwert hat die Nutzung von hiPS-Zellen für die Forschung, wobei der Zuwachs an Zelllinien gegenüber dem zuletzt festgestellten Zuwachs im letzten Berichtszeitraum nun leicht rückläufig ist (703 Zelllinien ggü. vorher 1185). Die durch das StZG eröffneten Möglichkeiten werden wahrgenommen. Gleichwohl wird von Seiten der Forschung seit mehreren Jahren zunehmend Kritik an dem im StZG geregelten Forschungsvorbehalt geäußert. Es ist absehbar, dass der Forschungsvorbehalt des § 5 StZG durch die fehlende Perspektive der Verwertung von Forschungsergebnissen im medizinischen Bereich letztlich zu einem erheblichen Forschungshemmnis wird. Die ausschließliche Genehmigungsfähigkeit der Nutzung von hES-Zellen zu Forschungszwecken sollte daher insbesondere angesichts der sich abzeichnenden realen Nutzbarkeit von hES-Zellen für klinische Zwecke um die Möglichkeit ergänzt werden, hES-Zellen auch für andere wichtige Zwecke wie die Herstellung von Therapeutika verwenden zu können. Diese Auffassung wird auch von der ZES geteilt, die sich hierzu wiederholt in ihren jährlichen Tätigkeitsberichten geäußert hat. Ebenso wird die Stichtagsregelung kritisiert. Beide Regelungen werden als problematisch für den wissenschaftlichen Erkenntnisgewinn sowie für die Entwicklung von neuartigen Therapien im deutschen Forschungsraum angesehen.

Die Implikationen der Ergebnisse der internationalen Stammzellforschung für die bestehende Rahmensetzung in Deutschland und die deutsche Forschungslandschaft müssen weiterhin sorgfältig beobachtet werden.

4 Glossar

Adulte (somatische) Stammzellen (Gewebestammzellen): Gewebestammzellen stammen von fötalen (d. h. allen vorgeburtlichen Entwicklungsstadien mit abgeschlossener Entwicklung von Organanlagen) bzw. geborenen Lebewesen ab und verfügen nur über ein eingeschränktes Differenzierungspotenzial. Sie kommen vermutlich in fast allen Organen vor und wurden beispielsweise im Knochenmark, in der Haut, aber auch im Fettgewebe, in der Nabelschnur und im Nabelschnurblut, im Gehirn und in der Bauchspeicheldrüse nachgewiesen. Adulte Stammzellen haben aber im Vergleich zu embryonalen Stammzellen in Zellkulturen ein deutlich geringeres Differenzierungspotenzial.

Allel: Ein Allel bezeichnet eine mögliche Ausprägung eines Gens, das sich an einem bestimmten Ort auf einem Chromosom befindet.

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

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

Blastozyste: Frühes Embryonalstadium, welches beim Menschen etwa den Zeitraum vom vierten bis siebten Tag nach der Befruchtung umfasst. Die Blastozyste ab dem 64-Zellstadium, ist bereits in eine innere Zellmasse (Embryoblast, Epiblast), aus der embryonale Stammzellen gewonnen werden können, und eine äußere Zellschicht (Trophoblast), differenziert, die für die Versorgung des Embryos mit Nährstoffen notwendig ist.

Blastoid: Eine Struktur aus pluripotenten Stammzellen (PS-Zellen), welche die gleichen Zelltypen und die gleiche Gewebetopologie wie eine Blastozyste besitzt und ein In-vitro-Modell darstellt.

COVID-19: Abkürzung für englisch: **Coronavirus disease 2019**, deutsch: **Coronavirus-Krankheit-2019**. COVID-19 ist eine meldepflichtige Infektionskrankheit, die auf eine Infektion mit dem Coronavirus SARS-Cov-2 zurückgeht und ein breites, allerdings unspezifisches Spektrum von Symptomen zeigt.

CRISPR/Cas9: Die CRISPR/Cas-Methode (von engl. **C**lustered **R**egularly **I**nterspaced **S**hort **P**alindromic **R**epeats - gruppierte kurze palindromische Wiederholungen mit regelmäßigen Abständen und CRISPR-associated - CRISPR-assoziiertes **P**rotein **9**) ist eine molekularbiologische Methode, um DNA gezielt zu schneiden und zu verändern (Genom-Editierung).

Designernukleasen: Sammelbegriff für molekularbiologische Werkzeuge („Genschere“) zur zielgerichteten Modifikation des Genoms.

Differenzierung: Prozess, bei dem durch Aktivierung genetischer Programme spezialisierte Zelltypen entstehen.

Embryonalkörperchen (Embryoid body): Ein dreidimensionales (3D) Aggregat aus differenzierten pluripotenten Stammzellen (PS-Zellen), welches aus Zelltypen aller drei Keimblätter (Entoderm, Ektoderm und Mesoderm) gebildet wird.

Embryoid: Ein besser strukturiertes Embryonalkörperchen, z. B. besitzt ein Embryoid mehrschichtiger Zellcluster sich differenzierender PS-Zellen und bildet einen Hohlraum (Cavity) im Inneren. Ein Embryoid ähnelt einem Embryo in bestimmten Stadien der frühen Entwicklung. Beispiele sind Blastoide und Gastruloide.

Epigenetik/Epigenese: Die Epigenetik beschäftigt sich mit der Feinregulation der Genexpression. Unter epigenetischer Vererbung wird die Weitergabe von Eigenschaften auf die Nachkommen verstanden, die nicht auf Abweichungen in der DNA-Sequenz zurückgehen, 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 essenziellen zellularen Differenzierungsprozesse der Epigenese vor allem auf epigenetischen Vererbungsmechanismen einer Zellgeneration zur nächsten.

Epiblast: Bildet die innere Zellemasse der Blastozyste und später während der Gastrulation die drei Keimblätter (Entoderm, Ektoderm und Mesoderm). Aus dem Epiblast entwickelt sich der gesamte Embryo.

ES-Zellen: Embryonale Stammzellen (ES) sind 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. Sie werden aus pluripotenten Zellen der inneren Zellmasse in der Blastozyste gewonnen, die in vivo die Zellen des gesamten Embryos hervorbringen.

FDA: Food and Drug Administration, US-amerikanische Genehmigungsbehörde

Gastruloid: Ein multizelluläres In-vitro-Modell eines gastrulierenden Embryos. Während der Gastrulation verwandelt sich der frühe Embryo in eine mehrschichtige Struktur mit unterschiedlichen Keimschichten.

Genotyp: Der Genotyp repräsentiert die exakte genetische Ausstattung eines Organismus, die sämtliche in diesem Individuum vorhandenen Erbanlagen umfasst.

Genom-Editierung: Sammelbegriff für molekularbiologische Techniken zur zielgerichteten Veränderung des Genoms.

Haploide Zellen: Haploide Zellen besitzen nur einen einfachen Chromosomensatz, d.h. es existiert von jedem Gen nur eine Kopie. Beim Menschen sind die Keimzellen die einzigen haploiden Zellen, während die meisten Körperzellen diploid sind, d.h. einen doppelten Chromosomensatz aus mütterlichen und väterlichen Erbanlagen besitzen.

HE: Hämogenes Endothel

hES-Zellen: Humane (menschliche) embryonale Stammzellen.

hiPS-Zellen: Humane (menschliche) iPS Zellen.

HLA: Humanes (menschliches) Leukozytenantigen

hPS-Zellen: Humane pluripotente Stammzellen, umfassen sowohl hES-Zellen als auch hiPS-Zellen.

HSC: Hämatopoetische oder Blutzellen-bildende Stammzellen.

Hypoblast: Eine Struktur der frühen Embryonalentwicklung vieler Wirbeltiere neben dem Epiblasten und dem Trophoblasten ein Teil der sich entwickelnden Blastozyste. Der Hypoblast bildet den Dottersack.

Imprinting: Epigenetischer Prozess, durch den von den beiden Allelen eines Gens nur eines, entweder das väterliche oder mütterliche, zur Geltung kommt.

Innere Zellmasse: Zellpopulation in der Blastozyste aus der der gesamte Organismus entsteht und aus der sich embryonale Stammzelllinien in der Zellkultur kultivieren lassen.

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

In vivo: (lateinisch ‚im Lebendigen‘) Prozesse, die im lebendigen Organismus ablaufen.

iPS-Zellen, induzierte pluripotente Stammzellen: Zellen, die durch Dedifferenzierung (Reprogrammierung) somatischer Zellen entstanden sind und Eigenschaften pluripotenter Stammzellen aufweisen. In differenzierte Körperzellen werden hierbei z.B. 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:

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

Entoderm (auch: Endoderm) (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.

LSC: Leukämische Stammzellen

MSC: Mesenchymale Stromazellen (manchmal auch Stammzelle).

Murine ES-Zellen (mES-Zellen): Embryonale Stammzellen der Maus.

Organoide: In vitro erzeugte organähnliche Zellaggregate. Sie stellen eine miniaturisierte und vereinfachte Version eines Organs im frühen Entwicklungszustand dar.

OSKM: Abkürzung für die vier Transkriptionsfaktoren Oct4, Sox2, Klf4 und c-Myc, die zur Reprogrammierung von Körperzellen in pluripotente Stammzellen verwendet werden können.

Parabiose: Das Zusammenleben und Aufeinandereinfließen zweier Lebewesen der gleichen Art, die miteinander verwachsen sind oder deren Blutkreisläufe künstlich miteinander verbunden wurden.

PGCLC: Primordiale keimzellähnliche Zellen

Plastizität: Fähigkeit von Zellen, sich auch in Zellen anderer Gewebe entwickeln zu können.

Potenzial: Entwicklungsmöglichkeiten einer Zelle, unterschieden nach: **totipotent** (oder **omnipotent**): 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: Zellproliferation bezeichnet die Vermehrung (Neubildung) von Zellen durch Zellteilung.

PS-Zellen: Pluripotente Stammzellen

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

SARS-CoV-2: Das Virus SARS-CoV-2 (Abk. für englisch: **S**evere **A**cute **R**espiratory **S**yndrome **C**orona**V**irus type 2), auch als Schweres akutes Atemwegssyndrom-Coronavirus-Typ 2 bezeichnet ist ein dem SARS-Erreger ähnliches Coronavirus mit wahrscheinlich zoonotischem Ursprung. Das Virus wurde Anfang 2020 als Auslöser der COVID-19 Krankheit identifiziert.

Stammzelle: Zelle, die sich selbst über Zellteilung immer wieder erneuert und in mehrere Zelltypen ausdifferenzieren kann. Stammzellen werden nach ihrer Herkunft und ihrem Differenzierungspotenzial unterschieden: Embryonale Stammzellen bilden die innere Zellmasse (Embryoblast) der Blastozyste und sind pluripotent; Somatische/adulte Stammzellen (Gewebestammzellen) stammen von fötalen (d. h. allen vorgeburtlichen Entwicklungsstadien mit abgeschlossener Entwicklung von Organanlagen) bzw. geborenen Lebewesen und verfügen nur über ein eingeschränktes Differenzierungspotenzial.

SNCT, somatic cell nuclear transfer: 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.

Transdifferenzierung: Direkte Umwandlung eines ausdifferenzierten Zelltyps in einen anderen.

Transprogrammierung (auch Umprogrammierung): Künstlich hervorgerufene Transdifferenzierung, z. B. durch Einführen spezifischer Steuerungsgene.

Trophoblast: Der Trophoblast ist die äußere Zellschicht einer Blastozyste und verbindet diesen mit der Gebärmutterwand. Zusammen mit der Plazenta, die teilweise auch vom Trophoblasten gebildet wird, ist der Trophoblast (extraembryonales Gewebe) für die Versorgung des Embryos mit Nährstoffen notwendig. Während der Gastrulation bildet der Trophoblast das Trophoctoderm.

Xenogen: Aus einer anderen Art stammend.

Zerebral: Gehirn oder Großhirn betreffend.

5 Zitierte Literatur

- Abbasi, S., Adoungotchodo, A., Ansari, U., Baghdadi, M., Baral, K., Bashth, O., Braam, M., Datzkiw, D., Dierolf, J., Feulner, L., et al. (2021). Evaluation of Tavakol et al.: Harnessing organs-on-a-chip to model tissue regeneration. *Cell Stem Cell* 28, 979–982. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.05.011>.
- Agudo, J., Cheng, C.-W., Jones, C.L., Avgustinova, A., Rodriguez-Fraticelli, A.E., and Storer, M. (2021). Introductions to the community: Early-career researchers in the time of COVID-19. *Cell Stem Cell* 28, 600–602. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.03.011>.
- Alanis-Lobato, G., Zohren, J., McCarthy, A., Fogarty, N.M.E., Kubikova, N., Hardman, E., Greco, M., Wells, D., Turner, J.M.A., and Niakan, K.K. (2021). Frequent loss of heterozygosity in CRISPR-Cas9–edited early human embryos. *Proc National Acad Sci* 118, e2004832117. <https://doi.org/10.1073/pnas.2004832117>.
- Alexander, T., Greco, R., and Snowden, J.A. (2020). Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Autoimmune Disease. *Annu Rev Med* 72, 1–14. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-070119-115617>.
- American-Heart-Association (2021). Stem cell therapy for heart failure reduced major CV events and death, not hospitalization.
- Andersen, J., Revah, O., Miura, Y., Thom, N., Amin, N.D., Kelley, K.W., Singh, M., Chen, X., Thete, M.V., Walczak, E.M., et al. (2020). Generation of Functional Human 3D Cortico-Motor Assembloids. *Cell* 183, 1913–1929.e26. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.11.017>.
- Antfolk, M., and Jensen, K.B. (2020). A bioengineering perspective on modelling the intestinal epithelial physiology in vitro. *Nat Commun* 11, 6244. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20052-z>.
- Anthony, E., Lovell-Badge, R., and Morrison, S.J. (2021). New guidelines for stem cell and embryo research from the ISSCR. *Cell Stem Cell* 28, 991–992. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.05.009>.
- Aragona, M., Sifrim, A., Malfait, M., Song, Y., Herck, J.V., Dekoninck, S., Gargouri, S., Lapouge, G., Swedlund, B., Dubois, C., et al. (2020). Mechanisms of stretch-mediated skin expansion at single-cell resolution. *Nature* 584, 268–273. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2555-7>.
- Assen, L.S., Jongsma, K.R., Isasi, R., Tryfonidou, M.A., and Bredenoord, A.L. (2021). Recognizing the ethical implications of stem cell research: A call for broadening the scope. *Stem Cell Rep* 16, 1656–1661. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.05.021>.
- Avagyan, S., Henninger, J.E., Mannherz, W.P., Mistry, M., Yoon, J., Yang, S., Weber, M.C., Moore, J.L., and Zon, L.I. (2021). Resistance to inflammation underlies enhanced fitness in clonal hematopoiesis. *Science* 374, 768–772. <https://doi.org/10.1126/science.aba9304>.
- Baccin, C., Al-Sabah, J., Velten, L., Helbling, P.M., Grünschläger, F., Hernández-Malmierca, P., Nombela-Arrieta, C., Steinmetz, L.M., Trumpp, A., and Haas, S. (2020). Combined single-cell and spatial transcriptomics reveal the molecular, cellular and spatial bone marrow niche organization. *Nature Cell Biology* 22, 38–48. <https://doi.org/10.1038/s41556-019-0439-6>.
- Balfour, H. (2020). The growing possibilities for stem cells in pharma.
- Bannier-Hélaouët, M., Post, Y., Korving, J., Bustos, M.T., Gehart, H., Begthel, H., Bar-Ephraim, Y.E., Vaart, J. van der, Kalmann, R., Imhoff, S.M., et al. (2021). Exploring the human lacrimal gland using organoids and single-cell sequencing. *Cell Stem Cell* 28, 1221–1232.e7. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.02.024>.
- Bar, S., and Benvenisty, N. (2020). Human pluripotent stem cells: derivation and applications. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* <https://doi.org/10.1038/s41580-020-00309-7>.
- Bar-Ephraim, Y.E., Kretzschmar, K., and Clevers, H. (2020). Organoids in immunological research. *Nat Rev Immunol* 20, 279–293. <https://doi.org/10.1038/s41577-019-0248-y>.
- Bartfeld, S., Schickl, H., Alev, C., Koo, B.-K., Pichl, A., Osterheider, A., Marx-Stölting, L., Bamford, A.-D., Batista-Rocha, A.S., Brivanlou, A.H., et al. (2020a). Organoide (Nomos Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG).
- Bartfeld, S., Clemens, S., Erb, T., Fangerau, H., Fehse, B., Hampel, J., Hucho, F., Korte, M., Mundlos, S., Reich, J., et al. (2020b). Kernaussagen und Handlungsempfehlungen zu Organoiden. In *Organoide*, S. Bartfeld, H. Schickl, C. Alev, B.-K. Koo, A. Pichl, A. Osterheider, and L. Marx-Stölting, eds. (Organoide), pp. 13–28.

- Basil, M.C., Katzen, J., Engler, A.E., Guo, M., Herriges, M.J., Kathiriya, J.J., Windmueller, R., Ysasi, A.B., Zacharias, W.J., Chapman, H.A., et al. (2020). The Cellular and Physiological Basis for Lung Repair and Regeneration: Past, Present, and Future. *Cell Stem Cell* 26, 482–502. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.03.009>.
- Bayerl, J., Ayyash, M., Shani, T., Manor, Y.S., Gafni, O., Massarwa, R., Kalma, Y., Aguilera-Castrejon, A., Zerbib, M., Amir, H., et al. (2021). Principles of signaling pathway modulation for enhancing human naive pluripotency induction. *Cell Stem Cell* 28, 1549-1565.e12. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.04.001>.
- Baylis, F. (2021a). Heritable human genome editing is ‘currently not permitted’, but it is no longer ‘prohibited’: so says the ISSCR. *J Med Ethics medethics-2021-107720*. <https://doi.org/10.1136/medethics-2021-107720>.
- Baylis, F. (2021b). ISSCR guidelines fudge heritable human-genome editing. *Nature* 594, 333–333. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-01618-3>.
- Beklemisheva, V.R., and Menzorov, A.G. (2020). Derivation of ringed seal (*Phoca hispida*) tripotent induced pluripotent stem-like cells. *BioRxiv* 2, 2020.05.20.105890. <https://doi.org/10.1101/2020.05.20.105890>.
- Bender, E. (2021). Stem-cell start-ups seek to crack the mass-production problem. *Nature* 597, S20–S21. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-02627-y>.
- Bhaduri, A., Andrews, M.G., Kriegstein, A.R., and Nowakowski, T.J. (2020). Are Organoids Ready for Prime Time? *Cell Stem Cell* 27, 361–365. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.08.013>.
- Bhattacharya, R., Bonner, M.G., and Musah, S. (2021). Harnessing developmental plasticity to pattern kidney organoids. *Cell Stem Cell* 28, 587–589. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.03.009>.
- Boettcher, S., Wilk, C.M., Singer, J., Beier, F., Burcklen, E., Beisel, C., Ferreira, M.S.V., Gourri, E., Gassner, C., Frey, B.M., et al. (2020). Clonal hematopoiesis in donors and long-term survivors of related allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 135, 1548–1559. <https://doi.org/10.1182/blood.2019003079>.
- Brassard, J.A., Nikolaev, M., Hübscher, T., Hofer, M., and Lutolf, M.P. (2021). Recapitulating macro-scale tissue self-organization through organoid bioprinting. *Nat Mater* 20, 22–29. <https://doi.org/10.1038/s41563-020-00803-5>.
- Breunig, M., Merkle, J., Wagner, M., Melzer, M.K., Barth, T.F.E., Engleitner, T., Krumm, J., Wiedenmann, S., Cohrs, C.M., Perkhof, L., et al. (2021). Modeling plasticity and dysplasia of pancreatic ductal organoids derived from human pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 28, 1105-1124.e19. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.03.005>.
- Brink, S.C. van den, Alemany, A., Batenburg, V. van, Moris, N., Blotenburg, M., Vivié, J., Baillie-Johnson, P., Nichols, J., Sonnen, K.F., Arias, A.M., et al. (2020). Single-cell and spatial transcriptomics reveal somitogenesis in gastruloids. *Nature* 582, 405–409. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2024-3>.
- Businesswire (2021). Vertex Announces FDA Clearance of Investigational New Drug (IND) Application for VX-880, a Novel Cell Therapy for the Treatment of Type 1 Diabetes (T1D).
- Cao, J., Stacey, G., Shyh-Chang, N., and Zhao, T. (2022). Developing standards to support cell technology applications. *Cell Proliferat* 55, e13210. <https://doi.org/10.1111/cpr.13210>.
- Cardozo-Ojeda, E.F., Duke, E.R., Peterson, C.W., Reeves, D.B., Mayer, B.T., Kiem, H.-P., and Schiffer, J.T. (2021). Thresholds for post-rebound SHIV control after CCR5 gene-edited autologous hematopoietic cell transplantation. *Elife* 10, e57646. <https://doi.org/10.7554/elife.57646>.
- Cederquist, G.Y., Tchieu, J., Callahan, S.J., Ramnarine, K., Ryan, S., Zhang, C., Rittenhouse, C., Zeltner, N., Chung, S.Y., Zhou, T., et al. (2020). A Multiplex Human Pluripotent Stem Cell Platform Defines Molecular and Functional Subclasses of Autism-Related Genes. *Cell Stem Cell* 27, 35-49.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.06.004>.
- Chahi, A.K., and Hope, K.J. (2020). Hematopoiesis in High Definition: Combining State and Fate Mapping. *Cell Stem Cell* 27, 354–355. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.08.010>.
- Chahine, N.A., and Lu, P. (2020). Stem Cell-based Therapy for Neurodegenerative Diseases. *Adv Exp Med Biol* 1266, 99–115. https://doi.org/10.1007/978-981-15-4370-8_7.
- Chari, S., Rajan, P., Saxe, J., and Wang, Q. (2020). What Is Cell Stem Cell Doing to Support the Global Stem Cell Community during the COVID-19 Pandemic? *Cell Stem Cell* 26, 795–796. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.05.011>.

- Chen, J., and Li, W. (2021). Rethink the patentability of human embryonic stem cell research findings: Relaxation based on benefit weighing. *Stem Cell Rep* 16, 1868–1873. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.07.005>.
- Chen, Y., Lüttmann, F.F., Schoger, E., Schöler, H.R., Zelarayán, L.C., Kim, K.-P., Haigh, J.J., Kim, J., and Braun, T. (2021). Reversible reprogramming of cardiomyocytes to a fetal state drives heart regeneration in mice. *Science* 373, 1537–1540. <https://doi.org/10.1126/science.abg5159>.
- Clark, A.T., Brivanlou, A., Fu, J., Kato, K., Mathews, D., Niakan, K.K., Rivron, N., Saitou, M., Surani, A., Tang, F., et al. (2021). Human embryo research, stem cell-derived embryo models and in vitro gametogenesis: Considerations leading to the revised ISSCR guidelines. *Stem Cell Rep* 16, 1416–1424. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.05.008>.
- Clevers, H. (2020). COVID-19: organoids go viral. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 21, 355–356. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0258-4>.
- Cohen, I., Bar, C., Liu, H., Valdes, V.J., Zhao, D., Galbo, P.M., Silva, J.M., Koseki, H., Zheng, D., and Ezhkova, E. (2021). Polycomb complexes redundantly maintain epidermal stem cell identity during development. *Gene Dev* 35, 354–366. <https://doi.org/10.1101/gad.345363.120>.
- Cook, M., Richey, A., Brafman, D.A., and Frow, E.K. (2021). Weighing up the evidence used by direct-to-consumer stem cell businesses. *Stem Cell Rep* 16, 2852–2860. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.10.007>.
- Coppin, E., Sundarasetty, B.S., Rahmig, S., Blume, J., Verheyden, N.A., Bahlmann, F., Ravens, S., Schubert, U., Schmid, J., Ludwig, S., et al. (2021). Enhanced differentiation of functional human T cells in NSGW41 mice with tissue-specific expression of human interleukin-7. *Leukemia* 35, 3561–3567. <https://doi.org/10.1038/s41375-021-01259-5>.
- Curwen, L. (2020). The risks behind the hype of stem-cell treatments.
- Dannemann, M., He, Z., Heide, C., Vernot, B., Sidow, L., Kanton, S., Weigert, A., Treutlein, B., Pääbo, S., Kelso, J., et al. (2020). Human Stem Cell Resources Are an Inroad to Neandertal DNA Functions. *Stem Cell Rep* 15, 214–225. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2020.05.018>.
- Dekoninck, S., Hannezo, E., Sifrim, A., Miroshnikova, Y.A., Aragona, M., Malfait, M., Gargouri, S., Neunheuser, C. de, Dubois, C., Voet, T., et al. (2020). Defining the Design Principles of Skin Epidermis Postnatal Growth. *Cell* 181, 604–620.e22. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.03.015>.
- Dhar, P. (2020). Stem cell research finds a unique lab — the International Space Station.
- Dignum, T., Varnum-Finney, B., Srivatsan, S.R., Dozono, S., Waltner, O., Heck, A.M., Ishida, T., Nourigat-McKay, C., Jackson, D.L., Rafii, S., et al. (2021). Multipotent progenitors and hematopoietic stem cells arise independently from hemogenic endothelium in the mouse embryo. *Cell Reports* 36, 109675. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109675>.
- Djidrovski, I., Georgiou, M., Hughes, G.L., Patterson, E.I., Casas-Sanchez, A., Pennington, S.H., Biagini, G.A., Moya-Molina, M., Bor, J., Smit, M.J., et al. (2021). SARS-CoV-2 infects an upper airway model derived from induced pluripotent stem cells. *Stem Cells* 39, 1310–1321. <https://doi.org/10.1002/stem.3422>.
- Dong, C., Fischer, L.A., and Theunissen, T.W. (2019). Recent insights into the naïve state of human pluripotency and its applications. *Exp Cell Res* 385, 111645. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2019.111645>.
- Dong, C., Beltcheva, M., Gontarz, P., Zhang, B., Popli, P., Fischer, L.A., Khan, S.A., Park, K.-M., Yoon, E.-J., Xing, X., et al. (2020). Derivation of trophoblast stem cells from naïve human pluripotent stem cells. *Elife* 9, e52504. <https://doi.org/10.7554/elife.52504>.
- Dong, S., Wang, Q., Kao, Y., Diaz, A., Tasset, I., Kaushik, S., Thiruthuvanathan, V., Zintiridou, A., Nieves, E., Dzieciatkowska, M., et al. (2021). Chaperone-mediated autophagy sustains hematopoietic stem cell function. *Nature* 591, 117–123. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-03129-z>.
- Drakhlis, L., Biswanath, S., Farr, C.-M., Lupanow, V., Teske, J., Ritzenhoff, K., Franke, A., Manstein, F., Bolesani, E., Kempf, H., et al. (2021a). Human heart-forming organoids recapitulate early heart and foregut development. *Nat Biotechnol* 39, 737–746. <https://doi.org/10.1038/s41587-021-00815-9>.
- Drakhlis, L., Devadas, S.B., and Zweigerdt, R. (2021b). Generation of heart-forming organoids from human pluripotent stem cells. *Nat Protoc* 16, 5652–5672. <https://doi.org/10.1038/s41596-021-00629-8>.
- Drew, L. (2021). How stem cells could fix type 1 diabetes. *Nature* 595, S64–S66. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-01842-x>.

- Elanzew, A., Nießing, B., Langendoerfer, D., Rippel, O., Piotrowski, T., Schenk, F., Kulik, M., Peitz, M., Breitkreuz, Y., Jung, S., et al. (2020). The StemCellFactory: A Modular System Integration for Automated Generation and Expansion of Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Frontiers Bioeng Biotechnology* 8, 580352. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.580352>.
- Elkashty, O.A., Hariharan, A., and Tran, S.D. (2021). Aging, stem cells and cancer updated. *Aging* 13, 20854–20855. <https://doi.org/10.18632/aging.203535>.
- Engel, R.M., Chan, W.H., Nickless, D., Hlavca, S., Richards, E., Kerr, G., Oliva, K., McMurrick, P.J., Jardé, T., and Abud, H.E. (2020). Patient-Derived Colorectal Cancer Organoids Upregulate Revival Stem Cell Marker Genes following Chemotherapeutic Treatment. *J Clin Med* 9, 128. <https://doi.org/10.3390/jcm9010128>.
- Fernandez-Rebollo, E., Franzen, J., Goetzke, R., Hollmann, J., Ostrowska, A., Oliverio, M., Sieben, T., Rath, B., Kornfeld, J.-W., and Wagner, W. (2020). Senescence-Associated Metabolomic Phenotype in Primary and iPSC-Derived Mesenchymal Stromal Cells. *Stem Cell Rep* 14, 201–209. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2019.12.012>.
- Flasse, L., Schewin, C., and Grapin-Botton, A. (2020). Pancreas morphogenesis: Branching in and then out. *Curr Top Dev Biol* 143, 75–110. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2020.10.006>.
- Fleck, J.S., Sanchís-Calleja, F., He, Z., Santel, M., Boyle, M.J., Camp, J.G., and Treutlein, B. (2021). Resolving organoid brain region identities by mapping single-cell genomic data to reference atlases. *Cell Stem Cell* 28, 1177–1180. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.03.015>.
- Flitsch, L.J., Laupman, K.E., and Bruestle, O. (2020). Transcription Factor-Based Fate Specification and Forward Programming for Neural Regeneration. *Front Cell Neurosci* 14. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00121>.
- Forbes, L.H., and Andrews, M.R. (2021). Advances in human stem cell therapies: pre-clinical studies and the outlook for central nervous system regeneration. *Neural Regen Res* 16, 614–617. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.295287>.
- Fowler, J.L., Ang, L.T., and Loh, K.M. (2020). A critical look: Challenges in differentiating human pluripotent stem cells into desired cell types and organoids. *Wiley Interdiscip Rev Dev Biol* 9, e368. <https://doi.org/10.1002/wdev.368>.
- Frum, T., and Spence, J.R. (2020). hPSC-derived organoids: models of human development and disease. *J Mol Med* 50, 1–11. <https://doi.org/10.1007/s00109-020-01969-w>.
- Fu, J., Warmflash, A., and Lutolf, M.P. (2021). Stem-cell-based embryo models for fundamental research and translation. *Nat Mater* 20, 132–144. <https://doi.org/10.1038/s41563-020-00829-9>.
- Gabriel, E., Ramani, A., Altinisik, N., and Gopalakrishnan, J. (2020). Human Brain Organoids to Decode Mechanisms of Microcephaly. *Front Cell Neurosci* 14, 115. <https://doi.org/10.3389/fncel.2020.00115>.
- Garreta, E., Kamm, R.D., Lopes, S.M.C. de S., Lancaster, M.A., Weiss, R., Trepata, X., Hyun, I., and Montserrat, N. (2021). Rethinking organoid technology through bioengineering. *Nat Mater* 20, 145–155. <https://doi.org/10.1038/s41563-020-00804-4>.
- Gassner, U.M., and Spranger, T.M. (2020a). Stammzellen in Forschung und Therapie.
- Gassner, U.M., and Spranger, T.M. (2020b). A. Stammzellregulierung in Deutschland: verfassungs- und stammzellrechtliche Handlungsbedarfe. In *Stammzellen in Forschung Und Therapie: Rechtsrahmen Und Reformbedarf*, (Stammzellen in Forschung und Therapie: Rechtsrahmen und Reformbedarf), pp. 19–87.
- Gerke, S. (2020). Die klinische Anwendung von humanen induzierten pluripotenten Stammzellen, Ein Stakeholder-Sammelband. In *Die klinische Anwendung von humanen induzierten pluripotenten Stammzellen*, S. Gerke, J. Taupitz, C. Wiesemann, C. Kopetzki, and H. Zimmermann, eds. (Die klinische Anwendung von humanen induzierten pluripotenten Stammzellen), pp. 243–327.
- Geurts, M.H., Vaart, J. van der, Beumer, J., and Clevers, H. (2021). The Organoid Platform: Promises and Challenges as Tools in the Fight against COVID-19. *Stem Cell Rep* 16, 412–418. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2020.11.009>.
- Giacomelli, E., Meraviglia, V., Campostrini, G., Cochrane, A., Cao, X., Helden, R.W.J. van, Garcia, A.K., Mircea, M., Kostidis, S., Davis, R.P., et al. (2020). Human-iPSC-Derived Cardiac Stromal Cells Enhance Maturation in 3D Cardiac Microtissues and Reveal Non-cardiomyocyte Contributions to Heart Disease. *Cell Stem Cell* 26, 862-879.e11. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.05.004>.
- Giacomelli, E., Vahsen, B.F., Calder, E.L., Xu, Y., Scaber, J., Gray, E., Dafinca, R., Talbot, K., and Studer, L. (2022). Human stem cell models of neurodegeneration: From basic science of amyotrophic lateral sclerosis to clinical translation. *Cell Stem Cell* 29, 11–35. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.12.008>.

- Go, G., Jeong, S.-G., Yoo, A., Han, J., Kang, B., Kim, S., Nguyen, K.T., Jin, Z., Kim, C.-S., Seo, Y.R., et al. (2020). Human adipose-derived mesenchymal stem cell-based medical microrobot system for knee cartilage regeneration in vivo. *Sci Robotics* 5. <https://doi.org/10.1126/scirobotics.aay6626>.
- Goldstein, L.S.B. (2021). Balancing Scientific Advice with Political Realities during the Campaign to Pass California's Ballot Proposition 14. *Cell Stem Cell* 28, 12–16. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.12.010>.
- González, B.J., Creusot, R.J., Sykes, M., and Egli, D. (2020). How Safe Are Universal Pluripotent Stem Cells? *Cell Stem Cell* 27, 346. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.07.001>.
- Goranci-Buzhala, G., Mariappan, A., Gabriel, E., Ramani, A., Ricci-Vitiani, L., Buccarelli, M., D'Alessandris, Q.G., Pallini, R., and Gopalakrishnan, J. (2020). Rapid and Efficient Invasion Assay of Glioblastoma in Human Brain Organoids. *Cell Reports* 31, 107738. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107738>.
- Govindasamy, N., Long, H., Jeong, H.-W., Raman, R., Özcifci, B., Probst, S., Arnold, S.J., Riehemann, K., Ranga, A., Adams, R.H., et al. (2021). 3D biomimetic platform reveals the first interactions of the embryo and the maternal blood vessels. *Dev Cell* 56, 3276-3287.e8. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.10.014>.
- Graf, P., Besser, D., Schickl, H., Mahler, S., Bartfeld, S., Clemens, S., Erb, T., Fangerau, H., Fehse, B., Hampel, J., et al. (2020). White Paper: Organoide – von der Stammzelle zur zukunftsweisenden Technologie.
- Gravitz, L. (2021). Stem cells and spinal-cord injuries: an intricate issue. *Nature* 597, S11–S11. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-02623-2>.
- Gu, M., and Zorn, A.M. (2021). Follow your heart and trust your gut: Co-development of heart and gut tissue in organoids. *Cell Stem Cell* 28, 2037–2038. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.09.003>.
- Guo, G., Stirparo, G.G., Strawbridge, S.E., Spindlow, D., Yang, J., Clarke, J., Dattani, A., Yanagida, A., Li, M.A., Myers, S., et al. (2021). Human naive epiblast cells possess unrestricted lineage potential. *Cell Stem Cell* 28, 1040-1056.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.02.025>.
- Gupta, A., Lutolf, M.P., Hughes, A.J., and Sonnen, K.F. (2021). Bioengineering in vitro models of embryonic development. *Stem Cell Rep* 16, 1104–1116. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.04.005>.
- Gupta, N., Dilmen, E., and Morizane, R. (2020). 3D kidney organoids for bench-to bedside translation. *J Mol Med* 35, 1–11. <https://doi.org/10.1007/s00109-020-01983-y>.
- Haniffa, M., Taylor, D., Linnarsson, S., Aronow, B.J., Bader, G.D., Barker, R.A., Camara, P.G., Camp, J.G., Chédotal, A., Copp, A., et al. (2021). A roadmap for the Human Developmental Cell Atlas. *Nature* 597, 196–205. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03620-1>.
- Hansen, S.L., Heyder, C., and Wiesemann, C. (2020). Die klinische Anwendung von humanen induzierten pluripotenten Stammzellen, Ein Stakeholder-Sammelband. In *Die klinische Anwendung von humanen induzierten pluripotenten Stammzellen*, S. Gerke, J. Taupitz, C. Wiesemann, C. Kopetzki, and H. Zimmermann, eds. (Die klinische Anwendung von humanen induzierten pluripotenten Stammzellen), pp. 197–239.
- Harding, J., Vintersten-Nagy, K., and Nagy, A. (2020). Universal Stem Cells: Making the Unsafe Safe. *Cell Stem Cell* 27, 198–199. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.07.004>.
- Hawkins, F.J., Suzuki, S., Beermann, M.L., Barillà, C., Wang, R., Villacorta-Martin, C., Berical, A., Jean, J.C., Suer, J.L., Matte, T., et al. (2021). Derivation of Airway Basal Stem Cells from Human Pluripotent Stem Cells. *Cell Stem Cell* 28, 79-95.e8. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.09.017>.
- Hendriks, D., Clevers, H., and Artigiani, B. (2020). CRISPR-Cas Tools and Their Application in Genetic Engineering of Human Stem Cells and Organoids. *Cell Stem Cell* 27, 705–731. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.10.014>.
- Hildebrandt, T.B., Hermes, R., Goeritz, F., Appeltant, R., Colleoni, S., Mori, B. de, Diecke, S., Drukker, M., Galli, C., Hayashi, K., et al. (2021). The ART of bringing extinction to a freeze – history and future of species conservation, exemplified by rhinos. *Theriogenology* 169, 76–88. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2021.04.006>.
- Ho, T.T., Dellorusso, P.V., Verovskaya, E.V., Bakker, S.T., Flach, J., Smith, L.K., Ventura, P.B., Lansinger, O.M., Héroult, A., Zhang, S.Y., et al. (2021). Aged hematopoietic stem cells are refractory to bloodborne systemic rejuvenation interventions. *J Exp Med* 218, e20210223. <https://doi.org/10.1084/jem.20210223>.

- Hofbauer, P., Jahnel, S.M., Papai, N., Giesshammer, M., Deyett, A., Schmidt, C., Penc, M., Tavernini, K., Grdseloff, N., Meledeth, C., et al. (2021). Cardioids reveal self-organizing principles of human cardiogenesis. *Cell* 184, 3299-3317.e22. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.04.034>.
- Hofer, M., and Lutolf, M.P. (2021). Engineering organoids. *Nat Rev Mater* 6, 402–420. <https://doi.org/10.1038/s41578-021-00279-y>.
- Howden, S.E., Wilson, S.B., Groenewegen, E., Starks, L., Forbes, T.A., Tan, K.S., Vanslambrouck, J.M., Holloway, E.M., Chen, Y.-H., Jain, S., et al. (2021). Plasticity of distal nephron epithelia from human kidney organoids enables the induction of ureteric tip and stalk. *Cell Stem Cell* 28, 671-684.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.12.001>.
- hPSC-Registry (2022). Human Pluripotency Stem Cell Registry.
- Huang, J., Hume, A.J., Abo, K.M., Werder, R.B., Villacorta-Martin, C., Alysandratos, K.-D., Beermann, M.L., Simone-Roach, C., Lindstrom-Vautrin, J., Olejnik, J., et al. (2020a). SARS-CoV-2 Infection of Pluripotent Stem Cell-Derived Human Lung Alveolar Type 2 Cells Elicits a Rapid Epithelial-Intrinsic Inflammatory Response. *Cell Stem Cell* <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.09.013>.
- Huang, L., Desai, R., Conrad, D.N., Leite, N.C., Akshinthala, D., Lim, C.M., Gonzalez, R., Muthuswamy, L.B., Gartner, Z., and Muthuswamy, S.K. (2021). Commitment and oncogene-induced plasticity of human stem cell-derived pancreatic acinar and ductal organoids. *Cell Stem Cell* 28, 1090-1104.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.03.022>.
- Huang, P., Russell, A.L., Lefavor, R., Durand, N.C., James, E., Harvey, L., Zhang, C., Countryman, S., Stodieck, L., and Zubair, A.C. (2020b). Feasibility, potency, and safety of growing human mesenchymal stem cells in space for clinical application. *Npj Microgravity* 6, 16. <https://doi.org/10.1038/s41526-020-0106-z>.
- Hyun, I., Munsie, M., Pera, M.F., Rivron, N.C., and Rossant, J. (2020). Toward Guidelines for Research on Human Embryo Models Formed from Stem Cells. *Stem Cell Rep* 14, 169–174. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2019.12.008>.
- Hyun, I., Clayton, E.W., Cong, Y., Fujita, M., Goldman, S.A., Hill, L.R., Monserrat, N., Nakauchi, H., Pedersen, R.A., Rooke, H.M., et al. (2021). ISSCR guidelines for the transfer of human pluripotent stem cells and their direct derivatives into animal hosts. *Stem Cell Rep* 16, 1409–1415. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.05.005>.
- Ichida, J.K., and Ko, C.-P. (2020). Organoids Develop Motor Skills: 3D Human Neuromuscular Junctions. *Cell Stem Cell* 26, 131–133. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.01.003>.
- Imtiaz, M.K. bin, Jaeger, B.N., Bottes, S., Machado, R.A.C., Vidmar, M., Moore, D.L., and Jessberger, S. (2021). Declining lamin B1 expression mediates age-dependent decreases of hippocampal stem cell activity. *Cell Stem Cell* 28, 967-977.e8. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.01.015>.
- Io, S., Kabata, M., Iemura, Y., Semi, K., Morone, N., Minagawa, A., Wang, B., Okamoto, I., Nakamura, T., Kojima, Y., et al. (2021). Capturing human trophoblast development with naive pluripotent stem cells in vitro. *Cell Stem Cell* 28, 1023-1039.e13. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.03.013>.
- Ishikura, Y., Ohta, H., Sato, T., Murase, Y., Yabuta, Y., Kojima, Y., Yamashiro, C., Nakamura, T., Yamamoto, T., Ogawa, T., et al. (2021). In vitro reconstitution of the whole male germ-cell development from mouse pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* 28, 2167-2179.e9. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.08.005>.
- ISSCR (2020). ISSCR Statement Regarding the Marketing of Unproven Stem Cell Treatments for COVID-19.
- ISSCR-Task-Force (2022). ISSCR Guidelines für Stammzellforschung und klinische Translation.
- Jahnel, S.M., and Mendjan, S. (2021). Taking Heart Development to the Next Level. *Cell Stem Cell* 28, 180–181. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.01.014>.
- Jeon, S., Park, S.H., Kim, E., Kim, J.-Y., Kim, S.W., and Choi, H. (2021). A Magnetically Powered Stem Cell-Based Microrobot for Minimally Invasive Stem Cell Delivery via the Intranasal Pathway in a Mouse Brain. *Adv Healthc Mater* 10, e2100801. <https://doi.org/10.1002/adhm.202100801>.
- Kim, J., Koo, B.-K., and Knoblich, J.A. (2020). Human organoids: model systems for human biology and medicine. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 21, 571–584. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-0259-3>.
- Kim, P.G., Niroula, A., Shkolnik, V., McConkey, M., Lin, A.E., Slabicki, M., Kemp, J.P., Bick, A., Gibson, C.J., Griffin, G., et al. (2021a). Dnmt3a-mutated clonal hematopoiesis promotes osteoporosis. *J Exp Med* 218, e20211872. <https://doi.org/10.1084/jem.20211872>.

- Kim, T.W., Piao, J., Koo, S.Y., Kriks, S., Chung, S.Y., Betel, D., Socci, N.D., Choi, S.J., Zabierowski, S., Dubose, B.N., et al. (2021b). Biphasic Activation of WNT Signaling Facilitates the Derivation of Midbrain Dopamine Neurons from hESCs for Translational Use. *Cell Stem Cell* 28, 343-355.e5. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.01.005>.
- Kinoshita, M., Barber, M., Mansfield, W., Cui, Y., Spindlow, D., Stirparo, G.G., Dietmann, S., Nichols, J., and Smith, A. (2021). Capture of Mouse and Human Stem Cells with Features of Formative Pluripotency. *Cell Stem Cell* 28, 453-471.e8. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.11.005>.
- Kobold, S., Guhr, A., Mah, N., Bultjer, N., Seltmann, S., Wulczyn, A.E.M.S., Stacey, G., Jie, H., Liu, W., Löser, P., et al. (2020). A Manually Curated Database on Clinical Studies Involving Cell Products Derived from Human Pluripotent Stem Cells. *Stem Cell Reports* 15, 546–555. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2020.06.014>.
- Koning, E.J.P. de, and Carlotti, F. (2021). Stem cell-based islet replacement therapy in diabetes: A road trip that reached the clinic. *Cell Stem Cell* 28, 2044–2046. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.11.008>.
- Krampera, M., and Blanc, K.L. (2021). Mesenchymal stromal cells: Putative microenvironmental modulators become cell therapy. *Cell Stem Cell* 28, 1708–1725. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.09.006>.
- Krenn, V., Bosone, C., Burkard, T.R., Spanier, J., Kalinke, U., Calistri, A., Salata, C., Christoff, R.R., Garcez, P.P., Mirazimi, A., et al. (2021). Organoid modeling of Zika and herpes simplex virus 1 infections reveals virus-specific responses leading to microcephaly. *Cell Stem Cell* 28, 1362-1379.e7. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.03.004>.
- Kretzschmar, K. (2020). Cancer research using organoid technology. *J Mol Med* 111, 1–15. <https://doi.org/10.1007/s00109-020-01990-z>.
- Kruip, S. (2020). Die klinische Anwendung von humanen induzierten pluripotenten Stammzellen, Ein Stakeholder-Sammelband. In *Die klinische Anwendung von humanen induzierten pluripotenten Stammzellen*, S. Gerke, J. Taupitz, C. Wiesemann, C. Kopetzki, and H. Zimmermann, eds. (Die klinische Anwendung von humanen induzierten pluripotenten Stammzellen), pp. 181–194.
- Kruta, M., Sunshine, M.J., Chua, B.A., Fu, Y., Chawla, A., Dillingham, C.H., Jose, L.H.S., Jong, B.D., Zhou, F.J., and Signer, R.A.J. (2021). Hsf1 promotes hematopoietic stem cell fitness and proteostasis in response to ex vivo culture stress and aging. *Cell Stem Cell* 28, 1950-1965.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.07.009>.
- Kumar, D., Talluri, T.R., Selokar, N.L., Hyder, I., and Kues, W.A. (2021). Perspectives of pluripotent stem cells in livestock. *World J Stem Cells* 13, 1–29. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v13.i1.1>.
- Kurtz, A., Mah, N., Chen, Y., Fuhr, A., Kobold, S., Seltmann, S., and Müller, S.C. (2022). Human pluripotent stem cell registry: Operations, role and current directions. *Cell Proliferat* <https://doi.org/10.1111/cpr.13238>.
- Lange, L., Hoffmann, D., Schwarzer, A., Ha, T.-C., Philipp, F., Lenz, D., Morgan, M., and Schambach, A. (2020). Inducible Forward Programming of Human Pluripotent Stem Cells to Hemato-endothelial Progenitor Cells with Hematopoietic Progenitor Potential. *Stem Cell Rep* 15, 274. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2020.05.019>.
- Laperle, A.H., Sances, S., Yucer, N., Dardov, V.J., Garcia, V.J., Ho, R., Fulton, A.N., Jones, M.R., Roxas, K.M., Avalos, P., et al. (2020). iPSC modeling of young-onset Parkinson’s disease reveals a molecular signature of disease and novel therapeutic candidates. *Nat Med* 26, 289–299. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0739-1>.
- Ledford, H. (2020a). CRISPR gene editing in human embryos wreaks chromosomal mayhem. *Nature* 583, 17–18. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-01906-4>.
- Ledford, H. (2020b). Super-precise CRISPR tool enhanced by enzyme engineering. *Nature* <https://doi.org/10.1038/d41586-020-00340-w>.
- Ledford, H. (2020c). ‘CRISPR babies’ are still too risky, says influential panel. *Nature* <https://doi.org/10.1038/d41586-020-02538-4>.
- Lee, S., Huh, J.Y., Turner, D.M., Lee, S., Robinson, J., Stein, J.E., Shim, S.H., Hong, C.P., Kang, M.S., Nakagawa, M., et al. (2018). Repurposing the Cord Blood Bank for Haplobanking of HLA-Homozygous iPSCs and Their Usefulness to Multiple Populations. *Stem Cells* 36, 1552–1566. <https://doi.org/10.1002/stem.2865>.
- Leopoldina (2021). Neubewertung des Embryonenschutzes in Deutschland.
- Leslie, M. (2021). Lab-grown embryos mix human and monkey cells. *Science* 372, 223–223. <https://doi.org/10.1126/science.372.6539.223>.

- Lindvall, O. (2020). Balancing Expectations for Success in Stem Cell-Based Clinical Trials for Parkinson's Disease. *Cell Stem Cell* 27, 519–522. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.09.002>.
- Liu, L., and Warmflash, A. (2021). Self-organized signaling in stem cell models of embryos. *Stem Cell Rep* 16, 1065–1077. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.03.020>.
- Liu, G., David, B.T., Trawczynski, M., and Fessler, R.G. (2020). Advances in Pluripotent Stem Cells: History, Mechanisms, Technologies, and Applications. *Stem Cell Rev Rep* 16, 3–32. <https://doi.org/10.1007/s12015-019-09935-x>.
- Long, Y., Hwang, T., Gooding, A.R., Goodrich, K.J., Rinn, J.L., and Cech, T.R. (2020). RNA is essential for PRC2 chromatin occupancy and function in human pluripotent stem cells. *Nat Genet* 52, 931–938. <https://doi.org/10.1038/s41588-020-0662-x>.
- Lord, T., and Nixon, B. (2020). Metabolic Changes Accompanying Spermatogonial Stem Cell Differentiation. *Developmental Cell* 52, 399–411. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2020.01.014>.
- Lu, I.-N., Dobersalske, C., Rauschenbach, L., Teuber-Hanselmann, S., Steinbach, A., Ullrich, V., Prasad, S., Blau, T., Kebir, S., Siveke, J.T., et al. (2021). Tumor-associated hematopoietic stem and progenitor cells positively linked to glioblastoma progression. *Nat Commun* 12, 3895. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23995-z>.
- Madhusoodanan, J. (2020). A menagerie of stem-cell models. *Nature* 585, 623–624. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-02682-x>.
- Mallapaty, S. (2020a). Mini organs reveal how the coronavirus ravages the body. *Nature* 583, 15–16. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-01864-x>.
- Mallapaty, S. (2020b). Revealed: two men in China were first to receive pioneering stem-cell treatment for heart disease. 249–250. .
- Marsee, A., Roos, F.J.M., Versteegen, M.M.A., Consortium, H.O., Marsee, A., Roos, F., Versteegen, M., Clevers, H., Vallier, L., Takebe, T., et al. (2021). Building consensus on definition and nomenclature of hepatic, pancreatic, and biliary organoids. *Cell Stem Cell* 28, 816–832. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.04.005>.
- Martello, G., and Smith, A. (2014). The Nature of Embryonic Stem Cells. *Cell Dev Biology* 30, 647–675. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-100913-013116>.
- Martins, J.-M.F., Fischer, C., Urzi, A., Vidal, R., Kunz, S., Ruffault, P.-L., Kabuss, L., Hube, I., Gazzero, E., Birchmeier, C., et al. (2020). Self-Organizing 3D Human Trunk Neuromuscular Organoids. *Cell Stem Cell* 27, 498. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.08.011>.
- Marx, V. (2021). The CRISPR children. *Nat Biotechnol* 39, 1486–1490. <https://doi.org/10.1038/s41587-021-01138-5>.
- Mascetti, V.L., and Pedersen, R.A. (2021). Human-monkey chimeras: Monkey see, monkey do. *Cell Stem Cell* 28, 787–789. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.04.025>.
- Master, Z., Lovell-Badge, R., and Knoppers, B. (2021a). ISSCR guidelines uphold human right to science for benefit of all. *Nature* 595, 494–494. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-01959-z>.
- Master, Z., Matthews, K.R.W., and Abou-el-Enain, M. (2021b). Unproven stem cell interventions: A global public health problem requiring global deliberation. *Stem Cell Rep* 16, 1435–1445. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.05.004>.
- Matheus, F., Raveh, T., Oro, A.E., Wernig, M., and Drukker, M. (2022). Is hypoimmunogenic stem cell therapy safe in times of pandemics? *Stem Cell Rep* 17, 711–714. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2022.02.014>.
- Matoba, S., and Zhang, Y. (2018). Somatic Cell Nuclear Transfer Reprogramming: Mechanisms and Applications. *Cell Stem Cell* 23, 471–485. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.06.018>.
- Matsuda, M., Yamanaka, Y., Uemura, M., Osawa, M., Saito, M.K., Nagahashi, A., Nishio, M., Guo, L., Ikegawa, S., Sakurai, S., et al. (2020). Recapitulating the human segmentation clock with pluripotent stem cells. *Nature* 580, 124–129. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2144-9>.
- McCarty, N.S., Graham, A.E., Studená, L., and Ledesma-Amaro, R. (2020). Multiplexed CRISPR technologies for gene editing and transcriptional regulation. *Nat Commun* 11, 1281. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15053-x>.
- Meistermann, D., Bruneau, A., Loubersac, S., Reignier, A., Firmin, J., François-Campion, V., Kilens, S., Lelièvre, Y., Lammers, J., Feyeux, M., et al. (2021). Integrated pseudotime analysis of human pre-implantation embryo single-cell transcriptomes reveals the dynamics of lineage specification. *Cell Stem Cell* 28, 1625–1640.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.04.027>.

- Melton, D. (2021). The promise of stem cell-derived islet replacement therapy. *Diabetologia* 64, 1030–1036. <https://doi.org/10.1007/s00125-020-05367-2>.
- Michels, B.E., Mosa, M.H., Streibl, B.I., Zhan, T., Menche, C., Abou-El-Ardat, K., Darvishi, T., Czlonka, E., Wagner, S., Winter, J., et al. (2020). Pooled In Vitro and In Vivo CRISPR-Cas9 Screening Identifies Tumor Suppressors in Human Colon Organoids. *Cell Stem Cell* 26, 782–792.e7. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.04.003>.
- Mills, R.J., and Hudson, J.E. (2020). There’s No I in Team: Cellular Crosstalk Enhances In Vitro Cardiac Maturation. *Cell Stem Cell* 26, 799–801. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.05.009>.
- Moll, G., Drzeniek, N., Kamhieh-Milz, J., Geissler, S., Volk, H.-D., and Reinke, P. (2020). MSC Therapies for COVID-19: Importance of Patient Coagulopathy, Thromboprophylaxis, Cell Product Quality and Mode of Delivery for Treatment Safety and Efficacy. *Front Immunol* 11, 1091. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01091>.
- Monteil, V., Kwon, H., Prado, P., Hagelkrüys, A., Wimmer, R.A., Stahl, M., Leopoldi, A., Garreta, E., Pozo, C.H.D., Prosper, F., et al. (2020). Inhibition of SARS-CoV-2 Infections in Engineered Human Tissues Using Clinical-Grade Soluble Human ACE2. *Cell* 181, 905–913.e7. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.004>.
- Morales, J.S., Raspopovic, J., and Marcon, L. (2021). From embryos to embryoids: How external signals and self-organization drive embryonic development. *Stem Cell Rep* 16, 1039–1050. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.03.026>.
- Moris, N., Alev, C., Pera, M., and Arias, A.M. (2021). Biomedical and societal impacts of in vitro embryo models of mammalian development. *Stem Cell Rep* 16, 1021–1030. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.03.023>.
- Mota, C., Camarero-Espinosa, S., Baker, M.B., Wieringa, P., and Moroni, L. (2020). Bioprinting: From Tissue and Organ Development to in Vitro Models. *Chem Rev* 120, 11032–11092. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00789>.
- Mulas, C., Chaigne, A., Smith, A., and Chalut, K.J. (2021). Cell state transitions: definitions and challenges. *Development* 148. <https://doi.org/10.1242/dev.199950>.
- Mummery, C. (2020). Scientific Collaboration and Communication in the Time of COVID-19: A Chat with Christine Mummery. *Cell Stem Cell* 27, 856–858. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.11.007>.
- Mummery, C., and Anthony, E. (2021). New guidelines for embryo and stem cell research. *Nat Rev Mol Cell Bio* 22, 773–774. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00429-8>.
- Muschner, J. (2020). Japanischer Arzt führt erste Transplantation mit Herzmuskel iPSC-Zellen durch.
- Nakamura, T., Fujiwara, K., Saitou, M., and Tsukiyama, T. (2021). Non-human primates as a model for human development. *Stem Cell Rep* 16, 1093–1103. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.03.021>.
- Nalapareddy, K., Zheng, Y., and Geiger, H. (2022). Aging of intestinal stem cells. *Stem Cell Rep* 17, 734–740. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2022.02.003>.
- National-Institutes-of-Health (2022). NIH Human Embryonic Stem Cell Registry.
- News-Medical (2021). Major international research center may drive the development of future stem cell-based treatments.
- Nicolas, P., Etoc, F., and Brivanlou, A.H. (2020). 5. Zur Ethik menschlicher Embryoide: die Schaffung einer konsistenten gesellschaftlichen Vereinbarung. In *Organoide*, S. Bartfeld, H. Schickl, C. Alev, B.-K. Koo, A. Pichl, A. Osterheider, and L. Marx-Stölting, eds. (Organoide), pp. 171–189.
- Okano, H., and Morimoto, S. (2022). iPSC-based disease modeling and drug discovery in cardinal neurodegenerative disorders. *Cell Stem Cell* 29, 189–208. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2022.01.007>.
- Okano, H., Yasuda, D., Fujimori, K., Morimoto, S., and Takahashi, S. (2020). Ropinirole, a New ALS Drug Candidate Developed Using iPSCs. *Trends Pharmacol Sci* 41, 99–109. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2019.12.002>.
- Ortmann, D., Brown, S., Czechanski, A., Aydin, S., Muraro, D., Huang, Y., Tomaz, R.A., Osnato, A., Canu, G., Wesley, B.T., et al. (2020). Naive Pluripotent Stem Cells Exhibit Phenotypic Variability that Is Driven by Genetic Variation. *Cell Stem Cell* 27, 470–481.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.07.019>.

- Park, J.-E., Jardine, L., Gottgens, B., Teichmann, S.A., and Haniffa, M. (2020). Prenatal development of human immunity. *Science* 368, 600–603. <https://doi.org/10.1126/science.aaz9330>.
- Pei, W., Shang, F., Wang, X., Fanti, A.-K., Greco, A., Busch, K., Klapproth, K., Zhang, Q., Quedenau, C., Sauer, S., et al. (2020). Resolving Fates and Single-Cell Transcriptomes of Hematopoietic Stem Cell Clones by PolyloxExpress Barcoding. *Cell Stem Cell* 27, 383-395.e8. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.07.018>.
- Pellegrini, L., Albecka, A., Mallery, D.L., Kellner, M.J., Paul, D., Carter, A.P., James, L.C., and Lancaster, M.A. (2020). SARS-CoV-2 infects the brain choroid plexus and disrupts the blood-CSF-barrier in human brain organoids. *Cell Stem Cell* 27, 951-961.e5. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.10.001>.
- Peng, Y.-J., Huang, X., and Zhou, Q. (2020). Ethical and Policy Considerations for Human Embryo and Stem Cell Research in China. *Cell Stem Cell* 27, 511–514. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.09.010>.
- Pera, M.F., and Rossant, J. (2021). The exploration of pluripotency space: Charting cell state transitions in peri-implantation development. *Cell Stem Cell* 28, 1896–1906. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.10.001>.
- Photopoulos, J. (2021). Why stem cells might save the northern white rhino. *Nature* 597, S18–S19. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-02626-z>.
- Piao, J., Zabierowski, S., Dubose, B.N., Hill, E.J., Navare, M., Claros, N., Rosen, S., Ramnarine, K., Horn, C., Fredrickson, C., et al. (2021). Preclinical Efficacy and Safety of a Human Embryonic Stem Cell-Derived Midbrain Dopamine Progenitor Product, MSK-DA01. *Cell Stem Cell* 28, 217-229.e7. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.01.004>.
- Posfai, E., Schell, J.P., Janiszewski, A., Rovic, I., Murray, A., Bradshaw, B., Yamakawa, T., Pardon, T., Bakkali, M.E., Talon, I., et al. (2021). Evaluating totipotency using criteria of increasing stringency. *Nat Cell Biol* 23, 49–60. <https://doi.org/10.1038/s41556-020-00609-2>.
- PRnewswire (2021). BlueRock Therapeutics in Collaboration with Memorial Sloan Kettering Cancer Center Receives IND Clearance for DA01 in Parkinson’s Disease.
- Punetha, M., Bajwa, K.K., Dua, S., Bansal, S., Kuotsu, V., Parashar, A., Selokar, N.L., Kumar, P., Yadav, P.S., and Kumar, D. (2022). Pluripotent Stem Cells for Livestock Health and Production. *Curr Stem Cell Res T* 17, 252–266. <https://doi.org/10.2174/1574888x16666210803162019>.
- Puschhof, J., Pleguezuelos-Manzano, C., Martinez-Silgado, A., Akkerman, N., Saftien, A., Boot, C., Waal, A. de, Beumer, J., Dutta, D., Heo, I., et al. (2021). Intestinal organoid cocultures with microbes. *Nat Protoc* 16, 4633–4649. <https://doi.org/10.1038/s41596-021-00589-z>.
- Rajewsky, N., Almouzni, G., Gorski, S.A., Aerts, S., Amit, I., Bertero, M.G., Bock, C., Bredenoord, A.L., Cavalli, G., Chiocca, S., et al. (2020). LifeTime and improving European healthcare through cell-based interceptive medicine. *Nature* 587, 377–386. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2715-9>.
- Ramalingam, P., Poulos, M.G., Gutkin, M.C., Katsnelson, L., Freire, A.G., Lazzari, E., and Butler, J.M. (2020). Endothelial mTOR maintains hematopoiesis during aging. *J Exp Medicine* 217, e20191212. <https://doi.org/10.1084/jem.20191212>.
- Ramani, A., Müller, L., Ostermann, P.N., Gabriel, E., Abida-Islam, P., Müller-Schiffmann, A., Mariappan, A., Goureau, O., Gruell, H., Walker, A., et al. (2020). SARS-CoV-2 targets neurons of 3D human brain organoids. *Embo J* 39, e106230. <https://doi.org/10.15252/embj.2020106230>.
- Ramani, A., Islam, P.A., and Gopalakrishnan, J. (2021). Neurotropic effects of SARS-CoV-2 modeled by the human brain organoids. *Stem Cell Rep* 16, 373–384. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.02.007>.
- Ramzy, A., Thompson, D.M., Ward-Hartstonge, K.A., Ivison, S., Cook, L., Garcia, R.V., Loyal, J., Kim, P.T.W., Warnock, G.L., Levings, M.K., et al. (2021). Implanted pluripotent stem-cell-derived pancreatic endoderm cells secrete glucose-responsive C-peptide in patients with type 1 diabetes. *Cell Stem Cell* 28, 2047-2061.e5. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.10.003>.
- Rao, R.C., Stern, J.H., and Temple, S. (2021). The eyeball’s connected to the brain ball. *Cell Stem Cell* 28, 1675–1677. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.09.010>.
- Reed, D.C. (2020). The Advocate’s Adventure. *Cell Stem Cell* 26, 620–626. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.04.006>.

- Ribeiro, J., Procyk, C.A., West, E.L., O'Hara-Wright, M., Martins, M.F., Khorasani, M.M., Hare, A., Basche, M., Fernando, M., Goh, D., et al. (2021). Restoration of visual function in advanced disease after transplantation of purified human pluripotent stem cell-derived cone photoreceptors. *Cell Reports* 35, 109022. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109022>.
- Robert-Koch-Institut (2022). RKI - Register genehmigter Anträge nach § 11 Stammzellgesetz.
- Rosado-Olivieri, E.A., and Brivanlou, A.H. (2020). Gastruloids Gain Muscle: Somite Formation in Embryo-Like Structures. *Cell Stem Cell* 26, 467–468. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.03.011>.
- Rossant, J., and Tam, P.P.L. (2022). Early human embryonic development: Blastocyst formation to gastrulation. *Dev Cell* 57, 152–165. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.12.022>.
- Rossi, G., Broguiere, N., Miyamoto, M., Boni, A., Guiet, R., Girgin, M., Kelly, R.G., Kwon, C., and Lutolf, M.P. (2021). Capturing Cardiogenesis in Gastruloids. *Cell Stem Cell* 28, 230-240.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.10.013>.
- Saitou, M. (2021). Mammalian Germ Cell Development: From Mechanism to In Vitro Reconstitution. *Stem Cell Rep* 16, 669–680. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.01.008>.
- Sambrano, G.R., and Millan, M.T. (2020). Translating Science into the Clinic: The Role of Funding Agencies. *Cell Stem Cell* 26, 479–481. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.03.010>.
- Santis, R.D., and Brivanlou, A.H. (2021). The treasure inside human naive pluripotency, generation of trophectoderm and blastoids. *Cell Stem Cell* 28, 985–987. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.05.010>.
- Scheibner, K., Schirge, S., Burtscher, I., Büttner, M., Sterr, M., Yang, D., Böttcher, A., Ansarullah, Irmeler, M., Beckers, J., et al. (2021). Epithelial cell plasticity drives endoderm formation during gastrulation. *Nat Cell Biol* 23, 692–703. <https://doi.org/10.1038/s41556-021-00694-x>.
- Schüler, S.C., Kirkpatrick, J.M., Schmidt, M., Santinha, D., Koch, P., Sanzo, S.D., Cirri, E., Hemberg, M., Ori, A., and Maltzahn, J. von (2021). Extensive remodeling of the extracellular matrix during aging contributes to age-dependent impairments of muscle stem cell functionality. *Cell Reports* 35, 109223. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109223>.
- Schutgens, F., and Clevers, H. (2020). Human Organoids: Tools for Understanding Biology and Treating Diseases. *Annu Rev Pathol* 15, 211–234. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathmechdis-012419-032611>.
- Seltmann, S., Lekschas, F., Müller, R., Stachelscheid, H., Bittner, M.-S., Zhang, W., Kidane, L., Seriola, A., Veiga, A., Stacey, G., et al. (2016). hPSCreg--the human pluripotent stem cell registry. *Nucleic Acids Research* 44, D757-63. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv963>.
- Shapiro, A.M.J., Thompson, D., Donner, T.W., Bellin, M.D., Hsueh, W., Pettus, J., Wilensky, J., Daniels, M., Wang, R.M., Brandon, E.P., et al. (2021). Insulin expression and C-peptide in type 1 diabetes subjects implanted with stem cell-derived pancreatic endoderm cells in an encapsulation device. *Cell Reports Medicine* 2, 100466. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2021.100466>.
- Sharma, A., Garcia, G., Wang, Y., Plummer, J.T., Morizono, K., Arumugaswami, V., and Svendsen, C.N. (2020). Human iPSC-Derived Cardiomyocytes are Susceptible to SARS-CoV-2 Infection. *Cell Reports Medicine* 1, 100052. <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2020.100052>.
- Sharma, A., Clemens, R.A., Garcia, O., Taylor, D.L., Wagner, N.L., Shepard, K.A., Gupta, A., Malany, S., Grodzinsky, A.J., Kearns-Jonker, M., et al. (2021). Biomanufacturing in low Earth orbit for regenerative medicine. *Stem Cell Rep* 17, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.12.001>.
- Shen, Y. (2020). Stem cell therapies for retinal diseases: from bench to bedside. *J Mol Med* 98, 1347–1368. .
- Shyh-Chang, N., and Li, L. (2021). Stabilizing Formative Pluripotent States with Germ Cell Competency. *Cell Stem Cell* 28, 361–363. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.02.021>.
- Silva, A.C., Matthys, O.B., Joy, D.A., Kauss, M.A., Natarajan, V., Lai, M.H., Turaga, D., Blair, A.P., Alexanian, M., Bruneau, B.G., et al. (2021). Co-emergence of cardiac and gut tissues promotes cardiomyocyte maturation within human iPSC-derived organoids. *Cell Stem Cell* 28, 2137-2152.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.11.007>.
- Simoneau, C.R., and Ott, M. (2020). Modeling Multi-organ Infection by SARS-CoV-2 Using Stem Cell Technology. *Cell Stem Cell* 27, 859–868. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.11.012>.

- Sousa-Victor, P., García-Prat, L., and Muñoz-Cánoves, P. (2022). Control of satellite cell function in muscle regeneration and its disruption in ageing. *Nat Rev Mol Cell Bio* 23, 204–226. <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00421-2>.
- Steeg, R., Mueller, S.C., Mah, N., Holst, B., Cabrera-Socorro, A., Stacey, G.N., Sousa, P.A.D., Courtney, A., and Zimmermann, H. (2021). EBiSC best practice: How to ensure optimal generation, qualification, and distribution of iPSC lines. *Stem Cell Rep* 16, 1853–1867. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.07.009>.
- Stefańska, K., Bryl, R., Moncrieff, L., Pinto, N., and Shibli, J.A. (2020). Mesenchymal stem cells – a historical overview. *Med J Cell Biol* 8, 83-87. <https://doi.org/10.2478/acb-2020-0010>.
- Steventon, B., Busby, L., and Arias, A.M. (2021). Establishment of the vertebrate body plan: Rethinking gastrulation through stem cell models of early embryogenesis. *Dev Cell* 56, 2405–2418. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2021.08.012>.
- Su, Y., Zhu, J., Salman, S., and Tang, Y. (2020). Induced pluripotent stem cells from farm animals. *J Anim Sci* 98, skaa343. <https://doi.org/10.1093/jas/skaa343>.
- Subbaraman, N. (2020). California’s vote to revive controversial stem-cell institute sparks debate. 535–535. .
- Subbaraman, N. (2021). Limit on lab-grown human embryos dropped by stem-cell body. 18–19. .
- Svensden, A.F., Yang, D., Kim, K., Lazare, S., Skinder, N., Zwart, E., Mura-Meszáros, A., Ausema, A., Eyss, B. von, Haan, G. de, et al. (2021). A comprehensive transcriptome signature of murine hematopoietic stem cell aging. *Blood* 138, 439–451. <https://doi.org/10.1182/blood.2020009729>.
- Takahashi, J. (2021). Clinical Trial for Parkinson’s Disease Gets a Green Light in the US. *Cell Stem Cell* 28, 182–183. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.01.013>.
- Takahashi, K., and Yamanaka, S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126, 663–676. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>.
- Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., and Yamanaka, S. (2007). Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131, 861–872. .
- Tan, K., Song, H.-W., Thompson, M., Munyoki, S., Sukhwani, M., Hsieh, T.-C., Orwig, K.E., and Wilkinson, M.F. (2020). Transcriptome profiling reveals signaling conditions dictating human spermatogonia fate in vitro. *Proc National Acad Sci* 117, 17832–17841. <https://doi.org/10.1073/pnas.2000362117>.
- Tan, T., Wu, J., Si, C., Dai, S., Zhang, Y., Sun, N., Zhang, E., Shao, H., Si, W., Yang, P., et al. (2021). Chimeric contribution of human extended pluripotent stem cells to monkey embryos ex vivo. *Cell* 184, 3589. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.06.011>.
- Tavakol, D.N., Fleischer, S., and Vunjak-Novakovic, G. (2021). Harnessing organs-on-a-chip to model tissue regeneration. *Cell Stem Cell* 28, 993–1015. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.05.008>.
- Theodoris, C.V., Zhou, P., Liu, L., Zhang, Y., Nishino, T., Huang, Y., Kostina, A., Ranade, S.S., Gifford, C.A., Uspenskiy, V., et al. (2021). Network-based screen in iPSC-derived cells reveals therapeutic candidate for heart valve disease. *Science* 371. <https://doi.org/10.1126/science.abd0724>.
- Thomson, J.A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S.S., Waknitz, M.A., Swiergiel, J.J., Marshall, V.S., and Jones, J.M. (1998). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 282, 1145–1147. <https://doi.org/10.1126/science.282.5391.1145>.
- Triana, S., Vonficht, D., Jopp-Saile, L., Raffel, S., Lutz, R., Leonce, D., Antes, M., Hernández-Malmierca, P., Ordoñez-Rueda, D., Ramasz, B., et al. (2021). Single-cell proteo-genomic reference maps of the hematopoietic system enable the purification and massive profiling of precisely defined cell states. *Nat Immunol* 22, 1577–1589. <https://doi.org/10.1038/s41590-021-01059-0>.
- Turchiano, G., Andrieux, G., Klermund, J., Blattner, G., Pennucci, V., Gaz, M. el, Monaco, G., Poddar, S., Mussolino, C., Cornu, T.I., et al. (2021). Quantitative evaluation of chromosomal rearrangements in gene-edited human stem cells by CAST-Seq. *Cell Stem Cell* 28, 1136-1147.e5. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.02.002>.
- Turner, L. (2020). Preying on Public Fears and Anxieties in a Pandemic: Businesses Selling Unproven and Unlicensed “Stem Cell Treatments” for COVID-19. *Cell Stem Cell* 26, 806–810. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.05.003>.
- Turner, L. (2021). The American stem cell sell in 2021: U.S. businesses selling unlicensed and unproven stem cell interventions. *Cell Stem Cell* 28, 1891–1895. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.10.008>.

- Turner, L., Munsie, M., Levine, A.D., and Ikonou, L. (2021). Ethical issues and public communication in the development of cell-based treatments for COVID-19: Lessons from the pandemic. *Stem Cell Rep* 16, 2567–2576. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2021.09.005>.
- UC-San-Diego (2021). UC San Diego Sends Blood Stem Cells to Space.
- UK-Stem-Cell-Bank/NIBSC (2022). Cell Lines Catalog.
- Universitätsmedizin-Göttingen (2021). Biologisches Pflaster soll geschwächtes Herz stärken (Studie BioVAT-DZHK20): DZHK.
- U.S.-Food&Drug-Administration (2021). FDA Adverse Event Reporting System (FAERS) Public Dashboard.
- Vaidyanathan, S., Salahudeen, A.A., Sellers, Z.M., Bravo, D.T., Choi, S.S., Batish, A., Le, W., Baik, R., O, S. de la, Kaushik, M.P., et al. (2020). High-Efficiency, Selection-free Gene Repair in Airway Stem Cells from Cystic Fibrosis Patients Rescues CFTR Function in Differentiated Epithelia. *Cell Stem Cell* 26, 161-171.e4. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.11.002>.
- Velten, L., Story, B.A., Hernández-Malmierca, P., Raffel, S., Leonce, D.R., Milbank, J., Paulsen, M., Demir, A., Szu-Tu, C., Frömel, R., et al. (2021). Identification of leukemic and pre-leukemic stem cells by clonal tracking from single-cell transcriptomics. *Nat Commun* 12, 1366. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21650-1>.
- Volk, H.-D., Reinke, P., Hoerstrup, S., Gaskell, T., Marx, U., Ofir, R., Apel, M., Bennaceur-Griscelli, A., Dessole, G., Benvenuti, S., et al. (2020). RESTRORE Position Paper.
- Watson, C.J., Papula, A.L., Poon, G.Y.P., Wong, W.H., Young, A.L., Druley, T.E., Fisher, D.S., and Blundell, J.R. (2020). The evolutionary dynamics and fitness landscape of clonal hematopoiesis. *Science* 367, 1449–1454. <https://doi.org/10.1126/science.aay9333>.
- Weinreb, C., Rodriguez-Fraticelli, A., Camargo, F.D., and Klein, A.M. (2020). Lineage tracing on transcriptional landscapes links state to fate during differentiation. *Science* 367, eaaw3381. <https://doi.org/10.1126/science.aaw3381>.
- Weisheit, I., Kroeger, J.A., Malik, R., Klimmt, J., Crusius, D., Dannert, A., Dichgans, M., and Paquet, D. (2020). Detection of Deleterious On-Target Effects after HDR-Mediated CRISPR Editing. *Cell Reports* 31, 107689. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107689>.
- Weltner, J., and Lanner, F. (2021). Refined transcriptional blueprint of human preimplantation embryos. *Cell Stem Cell* 28, 1503–1504. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.08.011>.
- Wnorowski, A., Sharma, A., Chen, H., Wu, H., Shao, N.-Y., Sayed, N., Liu, C., Countryman, S., Stodieck, L.S., Rubins, K.H., et al. (2019). Effects of Spaceflight on Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocyte Structure and Function. *Stem Cell Rep* 13, 960–969. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2019.10.006>.
- Xu, P.-F., Borges, R.M., Fillatre, J., Oliveira-Melo, M. de, Cheng, T., Thisse, B., and Thisse, C. (2021). Construction of a mammalian embryo model from stem cells organized by a morphogen signalling centre. *Nat Commun* 12, 3277. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23653-4>.
- Yamanaka, S. (2020). Pluripotent Stem Cell-Based Cell Therapy-Promise and Challenges. *Cell Stem Cell* 27, 523–531. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.09.014>.
- Yanagida, A., Spindlow, D., Nichols, J., Dattani, A., Smith, A., and Guo, G. (2021). Naive stem cell blastocyst model captures human embryo lineage segregation. *Cell Stem Cell* 28, 1016-1022.e4. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2021.04.031>.
- Yang, L., and Ng, H.-H. (2021). The making of an ovarian niche. *Science* 373, 282–283. <https://doi.org/10.1126/science.abj8347>.
- Yang, L., Han, Y., Nilsson-Payant, B.E., Gupta, V., Wang, P., Duan, X., Tang, X., Zhu, J., Zhao, Z., Jaffré, F., et al. (2020). A Human Pluripotent Stem Cell-based Platform to Study SARS-CoV-2 Tropism and Model Virus Infection in Human Cells and Organoids. *Cell Stem Cell* 27, 125-136.e7. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.06.015>.
- Yao, Y., Xu, X., Yang, L., Zhu, J., Wan, J., Shen, L., Xia, F., Fu, G., Deng, Y., Pan, M., et al. (2020). Patient-Derived Organoids Predict Chemoradiation Responses of Locally Advanced Rectal Cancer. *Cell Stem Cell* 26, 17-26.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.10.010>.

- Yiangou, L., Davis, R.P., and Mummery, C.L. (2020). Using Cardiovascular Cells from Human Pluripotent Stem Cells for COVID-19 Research: Why the Heart Fails. *Stem Cell Rep* 16, 385–397. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2020.11.003>.
- Yilmaz, A., Braverman-Gross, C., Bialer-Tsy-pin, A., Peretz, M., and Benvenisty, N. (2020). Mapping Gene Circuits Essential for Germ Layer Differentiation via Loss-of-Function Screens in Haploid Human Embryonic Stem Cells. *Cell Stem Cell* 27, 679-691.e6. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.06.023>.
- Yoshino, T., Suzuki, T., Nagamatsu, G., Yabukami, H., Ikegaya, M., Kishima, M., Kita, H., Imamura, T., Nakashima, K., Nishinakamura, R., et al. (2021). Generation of ovarian follicles from mouse pluripotent stem cells. *Science* 373. <https://doi.org/10.1126/science.abe0237>.
- Youk, J., Kim, T., Evans, K.V., Jeong, Y.-I., Hur, Y., Hong, S.P., Kim, J.H., Yi, K., Kim, S.Y., Na, K.J., et al. (2020). Three-Dimensional Human Alveolar Stem Cell Culture Models Reveal Infection Response to SARS-CoV-2. *Cell Stem Cell* 27, 905-919.e10. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.10.004>.
- Yu, J., Vodyanik, M.A., Smuga-Otto, K., Antosiewicz-Bourget, J., Frane, J.L., Tian, S., Nie, J., Jonsdottir, G.A., Ruotti, V., Stewart, R., et al. (2007). Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 318, 1917–1920. <https://doi.org/10.1126/science.1151526>.
- Yu, L., Wei, Y., Duan, J., Schmitz, D.A., Sakurai, M., Wang, L., Wang, K., Zhao, S., Hon, G.C., and Wu, J. (2021a). Blastocyst-like structures generated from human pluripotent stem cells. *Nature* 591, 620–626. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03356-y>.
- Yu, L., Wei, Y., Sun, H.-X., Mahdi, A.K., Arteaga, C.A.P., Sakurai, M., Schmitz, D.A., Zheng, C., Ballard, E.D., Li, J., et al. (2021b). Derivation of Intermediate Pluripotent Stem Cells Amenable to Primordial Germ Cell Specification. *Cell Stem Cell* 28, 550-567.e12. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2020.11.003>.
- Zafeiriou, M.-P., Bao, G., Hudson, J., Halder, R., Blenkle, A., Schreiber, M.-K., Fischer, A., Schild, D., and Zimmermann, W.-H. (2020). Developmental GABA polarity switch and neuronal plasticity in Bioengineered Neuronal Organoids. *Nat Commun* 11, 3791. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17521-w>.
- Zarkesh, I., Ashtiani, M.K., Shiri, Z., Aran, S., Braun, T., and Baharvand, H. (2022). Synthetic developmental biology: Engineering approaches to guide multicellular organization. *Stem Cell Rep* 17, 715–733. <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2022.02.004>.
- Zeng, Z., Huang, B., Parvez, R.K., Li, Y., Chen, J., Vonk, A.C., Thornton, M.E., Patel, T., Rutledge, E.A., Kim, A.D., et al. (2021). Generation of patterned kidney organoids that recapitulate the adult kidney collecting duct system from expandable ureteric bud progenitors. *Nat Commun* 12, 3641. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23911-5>.
- Zhao, C., Reyes, A.P., Schell, J.P., Weltner, J., Ortega, N.M., Zheng, Y., Björklund, Å.K., Rossant, J., Fu, J., Petropoulos, S., et al. (2021a). Reprogrammed blastoids contain amnion-like cells but not trophectoderm. *Biorxiv* 2021.05.07.442980. <https://doi.org/10.1101/2021.05.07.442980>.
- Zhao, J., Lu, P., Wan, C., Huang, Y., Cui, M., Yang, X., Hu, Y., Zheng, Y., Dong, J., Wang, M., et al. (2021b). Cell-fate transition and determination analysis of mouse male germ cells throughout development. *Nat Commun* 12, 6839. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-27172-0>.
- Zheng, C., Ballard, E.B., and Wu, J. (2021). The road to generating transplantable organs: from blastocyst complementation to interspecies chimeras. *Development* 148. <https://doi.org/10.1242/dev.195792>.
- Zilova, L., Weinhardt, V., Tavhelidse, T., Schlagheck, C., Thumberger, T., and Wittbrodt, J. (2021). Fish primary embryonic pluripotent cells assemble into retinal tissue mirroring in vivo early eye development. *Elife* 10, e66998. <https://doi.org/10.7554/elife.66998>.
- Zimmermann, W.-H. (2020). Herzreparatur mit Herzmuskelpflaster aus Stammzellen – Umsetzung eines präklinischen Konzeptes in die klinische Prüfung. In *Die klinische Anwendung von humanen induzierten pluripotenten Stammzellen*, S. Gerke, J. Taupitz, C. Wiesemann, C. Kopetzki, and H. Zimmermann, eds. (Die klinische Anwendung von humanen induzierten pluripotenten Stammzellen), pp. 131–140.
- Zuccaro, M.V., Xu, J., Mitchell, C., Marin, D., Zimmerman, R., Rana, B., Weinstein, E., King, R.T., Palmerola, K.L., Smith, M.E., et al. (2020). Allele-Specific Chromosome Removal after Cas9 Cleavage in Human Embryos. *Cell* 183, 1650-1664.e15. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.10.025>.

