



Universitätsklinikum
Hamburg-Eppendorf

Zentrum für Innere Medizin
Medizinische Klinik II
Einrichtung für
Knochenmarktransplantation
Prof. Dr. Dr. h.c. A. R. Zander

Martinistraße 52
20246 Hamburg
☎ (040) 42803-4850/4851
☐ (040) 42803-3795
zander@uke.uni-hamburg.de
www.uke.uni-hamburg.de

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf KMT Martinistraße 52 20246 Hamburg

Datum: 21. November 2003

Enquete-Kommission
"Ethik und Recht der modernen Medizin"
des Deutschen Bundestages

Betr. Anhörung am 8. Dezember 2003

A) Einführende Bemerkungen

Bezüglich der **Möglichkeiten der adulten Stammzellen** und **Probleme der embryonalen Stammzellen** möchten wir hinweisen auf unseren **Artikel im Deutsches Ärzteblatt**, 8. Februar 2002, 99(6): B275-277. **Stammzellforschung. Diesseits des Rubikon.** Autoren: Zander AR, Stute N, Kolb H-J, Seeber S, Schmitz N. Wichtig in diesem Zusammenhang ist die ungekürzte **Langfassung im Internet** unter www.aerzteblatt.de/v4/plus/down.asp?typ=PDF&id=856 (Kopie anbei).

Unsere Arbeitsgruppe am Zentrum für Knochenmarktransplantation des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (Prof. Dr.Dr. A.R. Zander, Dr. N. Stute, PD Dr. B. Fehse und Frau Dr. C. Lange) beschäftigt sich neben den hämatopoetischen Stammzellen seit Jahren mit den adulten mesenchymalen Stammzellen.

Der Schwerpunkt unserer Expertise umfaßt adulte Stammzellen bei Tier und Mensch - speziell hämatopoetische Stammzellen und mesenchymale Stammzellen nach Caplan - und beinhaltet in vitro Versuche, Tiermodelle sowie klinische Forschung.

Was die Fragen der Enquete-Kommission betrifft, so wollen wir uns auf die Fragen 1 bis 14 zum naturwissenschaftlichen Stand der Forschung beschränken. Besonders intensiv werden wir aufgrund unserer Erfahrungen dabei auf die Fragen 1 und 14 eingehen.

Mit freundlichen Grüßen

Dr. med. Norbert Stute

Prof. Dr.med. Dr. h.c. Axel Zander

P.S. Dank für das kritische Gegenlesen unseres Statements gebührt Frau Dr. Ingrid Schneider (BIOGUM, Universität Hamburg) sowie Frau Dr. Gisela Badura-Lotter (Ethik in den Biowissenschaften, Universität Tübingen) und insbesondere Prof. David A. Prentice (Life Sciences, Indiana State University, USA) für hilfreiche Hinweise.

B) Neue Entwicklungen seit Februar 2002

Im Folgenden werden die wichtigsten aktuellen Entwicklungen auf dem Gebiet der adulten Stammzellen aus unserer Sicht seit unserem Artikel und Review im Deutsches Ärzteblatt vom Februar 2002 kurz zusammengefasst: Dies entspricht unseren Antworten **Zu Frage 1)** der Enquete-Kommission.

Ergebnisse von Verfaillie (MAPC)

Die Arbeitsgruppe um Verfaillie konnte eindrucksvoll belegen, dass die von ihr beschriebenen adulten Stammzellen (MAPC, multipotent adult progenitor cells, eine unreife Form der mesenchymalen Stammzellen aus Knochenmark, Gehirn und Muskel) ein sehr hohes Entwicklungspotenzial haben und pluripotent sind.¹ Sie entwickeln sich unter geeigneten Bedingungen in Gewebe des Endoderm, Mesoderm und Ektoderm und dies in teilweise ähnlich guter Qualität wie embryonale Stammzellen. Außerdem konnte Verfaillie mit ihren überzeugenden in vitro Differenzierungs-Daten inzwischen zeigen, dass eine Fusion von Zellen hierfür nicht verantwortlich gemacht werden kann.

So wurden für MAPC von Mensch, Maus und Ratte z.B. eine neurale Differenzierung mit spezialisierten Nervenzellen sowohl in vitro als auch im Tierversuch gezeigt; ebenso in Knochen, Knorpel, Muskel und Herzmuskel, Leberzellen, Endothel (Gefäß) und Epithel (Darm, Lunge). Dabei erzielten sie hohe Reinheitsgrade - ähnlich wie bei embryonalen Stammzellen.

Wie sind die Ergebnisse im Vergleich zu embryonalen Stammzellen zu bewerten? - MAPC sind beliebig vermehrbar (dies ist evtl. zeitaufwendiger als bei embryonalen Stammzellen) und sie weisen ein ähnlich hohes pluripotentes Differenzierungsspektrum auf. Besonders eindrucksvoll sind in diesem Zusammenhang auch die Daten zur Blastozysten-Injektion, die sich jederzeit mit den embryonalen Stammzellen messen können.² Hier wurde einzelne markierte Zellen in eine Blastozyste der Maus injiziert; diese wurde in die Gebärmutter einer Maus implantiert und bis zur Geburt ausgetragen. So entstanden gemischtzellige Mäuse (sog. Chimären), deren Organe unter dem Mikroskop untersucht wurden. Im Gehirn sowie vielen anderen Organen fand sich dabei ein hoher Prozentsatz dieser markierten Zellen als spezialisierte gewebeständige Zellen wieder. Eine ähnlich hoher Grad an Pluripotenz konnte z.B. von Frisen et al. für adulte neurale Stammzellen gezeigt werden.³

Ergebnisse der Humanpathologie

Es wurden in den letzten Jahren eine Reihe von post mortem und Biopsie Untersuchungen an verschiedenen Organen von Transplantpatienten durchgeführt. Da es sich zumeist um Untersuchungen mit X/Y-Chimärismus handelt (d.h. der Transplantatempfänger hat ein anderes Geschlecht als der Spender; daher sind transplantierte Zellen über die Geschlechtschromosomen aufzufinden), sollte eine Fusion von Stammzellen des einen mit somatischen Körperzellen des anderen als Ursache eigentlich ausgeschlossen sein.⁴ Dass es sich hierbei keineswegs nur um zahlenmäßig geringe Beiträge handelt, zeigt z.B. die Arbeit von Theise et al. 2000, wo sich 4 bis 43 % der transplantierten Zellen als Leber- und Gallengangszellen wiederfanden (mehr % bei Vorliegen einer Leberentzündung).

¹ Jiang Y 2003 & 2002, Verfaillie CM 2003 & 2002, Zhao LR 2003 & 2002, Schwartz RE 2002, Reyes M 2002 & 2001

² Jiang Y 2002, Keene CD 2003

³ Clarke D 2001

⁴ Körbling MK 2002, Mezey E 2003, Weimann JM 2003, LaFlamme MA 2002 - Herz, Deb A 2003 - Herz, Okamoto R 2002 - Darm

"Fusionsartefakte"

Viel Aufsehen erregten die Daten über Zell-Fusionen von somatischen (Stamm) Zellen und embryonalen Stammzellen in Kokulturen⁵ und Tierversuchen⁶. Von Kritikern der adulten Stammzellen wurde dies als Argument gegen deren Differenzierungspotenzial (Plastizität) verwandt. - Die Bedeutung dieses Phänomens muß weiter untersucht werden; es wurde unserer Meinung nach aber in der öffentlichen Diskussion überschätzt.

Unseres Erachtens handelt es sich bei der Fusion um ein natürliches Phänomen zur Reparatur und Regeneration von Geweben, welches ggf. auch therapeutisch nutzbar ist.⁷ Biologisch sicherlich interessant, in der politischen, ethischen und medizinischen Bedeutung aber nur begrenzt wichtig: Zum einen handelt es sich prozentual um ein Phänomen mit einer zumeist geringen Häufigkeit (ca. 0,1-5 %); zum anderen herrschte in der Zellkultur bzw. auch in vivo ein starker Selektionsdruck zugunsten der Fusion. Klinisch relevant würde dieses Phänomen erst dann, wenn es robust (also mengenmäßig relevant) aufträte, persistent wäre und den fusionierten Zellen eine Funktion zukäme.

Außerdem gibt es eine Fülle von Daten zur Differenzierung von adulten Stammzellen in vitro und in vivo (s.a. die Daten aus der Humanpathologie), die keine Fusion zeigen: Hierzu zählen die meisten der belegten in vitro Differenzierungen, z.B. die Papers von Verfaillie et al.; außerdem andere Daten in vivo.⁸

Eine Zellfusion muß übrigens nicht unbedingt schlecht sein; sie kann ggf. auch therapeutisch genutzt werden: so könnten z.B. therapeutische Gene für ein Gewebe bereitgestellt werden.⁹

Zudem ist die Zellfusion bei der Leber und beim Herzmuskel ein bekanntes Phänomen (ein normaler regenerativer Mechanismus) und keinesfalls nur eine unerwünschte Eigenschaft von transplantierten adulten Stammzellen. Andere Gewebe wie Pankreas und Niere zeigen hingegen keine Fusion. Übrigens kann man die Argumentation auch umdrehen: Selbst wenn interessanterweise nicht untersucht und diskutiert, dürften nicht nur adulte, sondern auch embryonale Stammzellen mit vielen somatischen Zellen in vivo fusionieren. Genau dies sagen ja auch die ersten Papers von *Tada 2001*, *Terada 2002* und *Ying 2002* zu diesem Thema. Insofern würde dieses Argument dann ebenso für embryonale Stammzellen gelten. Oder hat man in Tierversuchen, in denen nach Gabe von embryonalen Stammzellen Differenzierung gezeigt wurde, etwa eine Zellfusion immer zweifelsfrei ausgeschlossen ?

Tierversuchsdaten zu adulten Stammzellen (wichtige Papers ab 2/02)

Hinweisen möchten wir an dieser Stelle noch einmal auf unser **Review im Deutsches Ärzteblatt vom 8. Februar 2002**.

Wichtige adulte Stammzellarten, die neben den hämatopoetischen Stammzellen eine Rolle spielen, sind: Mesenchymale Stammzellen, Knochenmark-Stammzellen (ein Gemisch), Neurale Stammzellen, Pankreas-Stammzellen und Monozyten-ähnliche Zellen aus dem Blut.¹⁰

Eindrucksvolle Papers zu Transplantationen von adulten Stammzellen in Tiermodellen¹¹ mit z.T. faßbaren Erfolgen fanden sich insbesondere bei M. Parkinson¹², Multipler Sklerose¹³,

⁵ Tada M 2001 & 1997, Terada N 2002, Ying QL 2002, Blau HM 2002, Alvarez-Dolado M 2003

⁶ Wang X 2003 und Vassilopoulos G 2003 - Leber, Spees JL 2003 - Epithel, Alvarez-Dolado M 2003 - Leber, Herz, Gehirn

⁷ Weimann JM 2003 (Purkinje Zellen)

⁸ Tran SD 2003 - Mundschleimhaut Epithel, Newsome PN 2003 - humanes Nabelschnurblut in Maus Leber

⁹ Blau HM 2002 - Purkinjezellen des Gehirns

¹⁰ Zhao Y 2003

¹¹ z.B. Herzog EL 2003 als ein Review

¹² Liker MA 2003, Kim TE 2003, Ourednik J 2002, Akerud P 2002

Schlaganfall¹⁴, Rückenmarksverletzung¹⁵, Knochen¹⁶, Herzinfarkt¹⁷, Muskel¹⁸, Leber¹⁹, Pankreas/Diabetes²⁰, Lunge²¹, Niere²², Retina²³, Hirnblutung²⁴ und Haut²⁵. Besonders erwähnenswert erscheinen uns bezüglich der Robustheit des Engraftments (Stärke des Anwachsens) die Papers von *Lagasse E 2000* (hämatopoetische Stammzellen in Leber: ca. 40%), *Terai S 2003* (Knochenmark in Leber: 25%), *Direkze NC 2003* (Knochenmark in Lunge: 17-41%) und *Grove JE 2002* (Knochenmark in Lunge: 20 %). Eine wiederholt gemachte Beobachtung dabei ist, dass das Engraftment dieser Zellen bei einer Gewebeschädigung zunimmt.

Zum Phänomen der Plastizität von adulten Stammzellen: Oftmals handelt es sich um eher geringe Zellzahlen (ähnlich wie bei Transplantationen mit embryonalen Stammzellen); es gibt aber auch Beispiele mit robustem Engraftment (s.o.) und demonstrierter Funktion (z.B. *Lagasse E 2000*). Gutes Anwachsen und Differenzieren findet man insbesondere bei chronischen Gewebeschädigungen oder einem Selektionsvorteil für die transplantierten Zellen. Die Nutzung des ganzen Potenzials der adulten Stammzellen ist auch eine Frage der Zeit (mehr Forschung) und der Applikation (z.B. Zellen als Minifabriken, künstliche Lebern).

Indirekte Mechanismen

Weitere neue Mechanismen, die in den letzten Jahren bei der Stammzelltransplantation und Zelltherapie zunehmend erkannt und genutzt werden, sind: 1) **Mobilisierung endogener (körpereigener) Stammzellen**²⁶ und 2) **Indirekte Wachstums- und Differenzierungsimpulse über Growth Factors, protektive Faktoren oder Inhibitoren**²⁷. Außerdem haben eine Reihe von **Gentherapie** Papers weitere sinnvolle Anwendungsmöglichkeiten adulter Stammzellen aufgezeigt.²⁸

Ein kritischer Gedanke, der aber allmählich wissenschaftlich um sich greift: Vielleicht ist es manchmal sogar egal, welcher Zelltyp transplantiert wird; es ist der Vorgang als solcher, der bestimmte Stimuli setzt. (Wenn dem so wäre, machen wir uns vielleicht etwas zu viele Gedanken über einige der heiß diskutierten Themen zu embryonalen Stammzellen und Klonen.) Vielleicht werden sogar zur Therapie ganz bestimmter Erkrankungen Stammzellen in Zukunft überhaupt nicht mehr benötigt, weil es dann bessere Verfahren gibt, das Potenzial der Natur bzw. die körpereigenen Regenerationskräfte zu nutzen.

Klinische Studien am Menschen

¹³ Pluchino S 2003

¹⁴ Li Y 2002, Willing AE 2003, Arvidsson A 2002, Riess P 2002, (Chen J 2001)

¹⁵ Hofstetter CP 2002, Jiang S 2003, (Barnett 2000, Ramon-Cueto A 1998 & 2000, Sasaki M 2001)

¹⁶ Arinzeh TL 2003, Tsuchida H 2003

¹⁷ Toma C 2002, Orlic D 2003, Bittira B 2002, Mangi AA 2003, (Orlic D 2001, Kocher AA 2001)

¹⁸ Lee JY 2003, La Barge MA 2002, Torrente Y 2001, (Ferrari G 1998)

¹⁹ Lagasse E 2000 (robustes Engraftment und Funktion), (Theise N 2000), Wang X 2001 & 2002, Wulf GG 2003

²⁰ Kodama S 2003, Ianus A 2003, Hess D 2003, Yang L 2002, Horb ME 2003, Suzuki A 2003 (Ramiya VK 2000, Bonner-Weir S 2000, Ferber S 2000)

²¹ Kotton DN 2001, Theise ND 2002, Ortiz LA 2003, Suratt BT 2003

²² (Ito T 2001), Masuya M 2003, Kale S 2003, Lin F 2003, Poulosom R 2003

²³ (Otani A 2002), Tomita M 2002, Chacko DM 2003

²⁴ Jeong S-W 2003

²⁵ Badiavas EV 2003

²⁶ Ramer MS 2000, Fallon J 2000, Gill 2003 (Gehirn), Zeisberg M 2003, Urbanek K 2003 (Herz), Beltrami AP 2003 (Herz), Oh H 2003 (Herz)

²⁷ Ourednik J 2002, Akerud P 2002, Kodama S 2003 (auch bei embryonalen EG-Zellen gezeigt: Kerr DA 2003)

²⁸ Ferber S 2000, Benedetti S 2000, Lee JY 2001, Shi S 2002, Jin HK 2002, McKee JA 2003, Steptoe RJ 2003, Simonsen JL 2002, Mangi AA 2003

Trotz der begrenzten präklinischen Datenlage wurden adulte Stammzellen im Unterschied zu embryonalen in den letzten Jahren bereits in mehreren Studien am Menschen erprobt: So gibt es mittlerweile eine ganze Reihe von klinischen Studien bei Herzpatienten mit Infarkt oder Herzmuskelschwäche, die einen ersten therapeutischen Erfolg zeigen: z.B. von Prof. Strauer in Düsseldorf, Prof. Zeiher in Frankfurt und von Prof. Drexler in Hannover.²⁹ Weitere Beispiele beinhalten die Durchblutung von Beinen³⁰ und Knorpel- und Knochenschäden³¹. Hämatopoetische Stammzellen finden neuerdings auch Verwendung bei der Multiplen Sklerose und Autoimmunerkrankungen wie dem M. Crohn³² des Darmes. Außerdem sind mesenchymale Stammzellen wegen ihrer immunsuppressiven Wirkung im Einsatz zur Vermeidung der gefährlichen Spender-gegen-Wirt Erkrankung bei Geschwister- und Fremdspender Transplantationen (Osiris, USA). Studien an M. Parkinson Patienten mit teils negativem Ergebnis beinhalteten bisher nur fetale, also nicht adulte Stammzellen.³³ Vereinzelt wurden hier aber auch schon neurale und retinale Stammzellen eingesetzt.

C) Zu den Fragen der Enquete-Kommission

1. Potenzial der Forschung an adulten Stammzellen

Eine Fülle von bemerkenswerten Publikationen zu adulten Stammzellen ist nach unserem Review vom Februar 2002 erschienen: die Arbeiten von Verfaillie, die Ergebnisse der Humanpathologie, das Phänomen der Zellfusion, Indirekte Mechanismen, Tierversuchsdaten und Klinische Studien am Menschen sind dabei besonders hervorzuheben. - **Siehe hierzu unsere Ausführungen unter Punkt B)**

2. Totipotenz bei adulten Stammzellen

Ein Stadium der Totipotenz bei adulten Stammzellen kann sehr wohl erreicht werden, z.B. beim Klonen³⁴ und bei der Fusion mit ES-³⁵, EG- und EC-Zellen. Ebenso bei der Fusion mit Säugetier-Eizellen.³⁶

Wir glauben aber nicht, dass im Laufe der Umprogrammierung einer adulten Stammzelle ein Stadium der Totipotenz als Zwischenschritt durchlaufen werden muß; Daten hierzu sind uns jedenfalls nicht bekannt (wohl aber pluripotente Zwischenstadien, z.B. *Tada M 2001*). Experimentell ließen sich Transdifferenzierung³⁷ (und Reprogrammierung) ohne Totipotenz als Zwischenstadium (= inkomplette Entfernung der genomischen Imprints bzw. genetischen Prägung) z.B. ansatzweise zeigen, wenn es dabei nicht zur Expression von Oct-4 oder Nanog käme (Ersatzmarkern für Pluripotenz in Säugetierzellen).

3. Potenzial der Forschung an embryonalen Stammzellen

²⁹ Menasche P 2001, Strauer BE 2002, Perin EC 2003, Stamm C 2003, Tse H-F 2003, Britten MB 2003, Urbanek K 2003, Drexler H 2003 (AHA Vortrag)

³⁰ Tateishi-Yuyama E 2002

³¹ Horwitz EM 2002, Osiris (USA), Aastrom (USA), Bio-Seed B von Bio-Tissue aus Freiburg

³² Ditschkowski M 2003

³³ Doppelblindstudie schlecht ausgefallen: Olanow W 2003, New York sowie Freed C 2001. Bessere Daten: Lindvall O, Schweden.

³⁴ Wilmut I 1997, Wakayama T 1998, Kato Y 1998

³⁵ Tada M 2001

³⁶ Yamazaki Y 2001 - fetale neurale Stammzellen der Maus, Kato Y 2003 - bovine mesenchymale Stammzellen, Chen Y 2003 - humane somatische Kerne in Kaninchen Eizellen

³⁷ Hakelien AM 2002 (Zellextrakte)

Der Arbeit von *Trapp et al. 2003* hat unseres Erachtens gezeigt, dass embryonale Stammzellen noch viel zurückhaltender als bisher in der Klinik eingesetzt werden sollten, wenn überhaupt ! (Siehe hierzu auch den Artikel zum Tumorrisiko embryonaler Stammzellen von Prof. Hossmann im Deutsches Ärzteblatt vom 17. Oktober 2003.)

Das Teratokarzinomrisiko von embryonalen Stammzellen ist ein inhärentes Risiko bei allen embryonalen Stammzellen (selbst bei vordifferenzierten), das lediglich bei xenologen Transplantaten (über Speziesgrenzen hinweg) durch tumorsupprimierende Effekte meist nicht zum Tragen kommt.³⁸ In der Konsequenz heißt dies: Selbst Reinheiten von 99% sind bei differenzierten embryonalen Stammzellen nicht genug. Im Gegensatz zu embryonalen Stammzellen ist uns kein einziges Paper von adulten Stammzellen mit Teratokarzinom oder Tumorbildung bekannt.

Tierversuchsdaten mit embryonalen Stammzellen (seit 2002): *Björklund LM 2002*, *Kim JH 2002* und *Nishimura F 2003* (M. Parkinson) *Asanao T 2003* (in utero Transplantation), *Min JY 2003 & 2002* (Herzinfarkt), *Hori Y 2002* (Diabetes), *Rideout WM 2002* (Genetischer Defekt). Im Unterschied zu adulten Stammzellen gibt es erstaunlich wenig erfolgreiche Tierversuche mit embryonalen Stammzellen. Unklar ist, ob dies nur an der limitierten Expertise im Umgang mit diesen Zellen und der begrenzten Verfügbarkeit dieser Zellen liegt.

4. Bewertung der Forschungsergebnisse von Hübner/Schöler et al.

Totipotenz von embryonalen Stammzellen der Maus (in vitro):

Hübner/Schöler 2003 konnten zeigen, dass sich weibliche und männliche embryonale Stammzellen der Maus zu Eizellen (= Keimzellen) entwickeln können, die eine Reifungsteilung (Meiose) eingehen. So wiesen sie die Expression spezifischer Gene nach bis hin zu Eierstock-follikel-ähnlichen Strukturen und die Fähigkeit zur Parthenogenese (hierbei entwickelt sich eine unbefruchtete Eizelle zu einem frühen Embryo im Blastozystenstadium durch ungeschlechtliche Teilung). - In der Bewertung dieser Arbeit folgen wir der Ansicht von Prof. Denker, Deutsches Ärzteblatt vom 17. Oktober 2003 und dem Kommentar von Dennis C in *Nature* 2003. Die gezeigten Daten für embryonale Stammzellen erfüllen quasi den Tatbestand der Totipotenz, sogar in vitro (Definition: Fähigkeit zur Bildung aller Zellen, einschließlich der Keimzellen. Als weiteres Kriterium für Totipotenz gilt die Erzeugung eines ganzen Individuums mit der Fähigkeit zur Bildung von Nachkommen). Es bleibt demnach zu zeigen, dass die Chromosomenzahl durch die Meiose halbiert wird, die Eizellen von einem Spermium befruchtet werden können, nach Transfer in einen Uterus Mausnachkommen bilden, sowie nach Kerntransfer als Ausgangspunkt für ES-Zellen dienen.

Toshiaki Noce 2003 konnte für embryonale Stammzellen der Maus ähnliches bei Spermien zeigen, welche in der Lage waren, Eizellen zu befruchten. Auch hier bleibt zu zeigen, dass die Spermien normal sind und hieraus gesunde Nachkommen entstehen können.

Manipulierbarkeit und Verfügbarkeit von embryonalen Stammzellen: Wenn die bei der Maus erzielten Ergebnisse sich wiederholen und später auch beim Menschen durchführen lassen (wie von Schöler geplant), dann dürfte neben der Totipotenz dieser Zellen (der möglichen Menschwerdung) ein weiterer ethisch relevanter Faktor die unbegrenzte Verfügbarkeit weiblicher Eizellen sein (z.B. für das therapeutische Klonen). Selbst *Thomson JA* hat in seinem ersten Paper zu embryonalen Stammzellen des Primaten 1995 die Bildung eines Trophoblasten beschrieben, ebenso in seinem Review 1998.³⁹ Dies ist aber ein typisches Merkmal für totipotente Zellen.

³⁸ Erdo F 2003 (Trapp et al.)

³⁹ Xu RH 2002

5. Totipotenz embryonaler Stammzellen I

Die tetraploide Komplementierung nach *Nagy et al. 1993* erzeugt Lebens- und fortpflanzungsfähige Mäuse aus embryonalen Stammzellen durch Aggregation einer ES-Zelle mit einer tetraploiden Blastozyste (= ein totipotentes Gebilde). Bei der tetraploiden Blastozyste handelt es sich um einen Embryo, der aus der Fusion zweier Embryonen entsteht; letztere ist allein nicht lebensfähig, aber proliferativ und Trophoblast bildend). Bei der Aggregation einer ES-Zelle mit diesen tetraploiden Embryonen entstehen nach Uterustransfer in Einzelfällen lebensfähige Mäuse (s.a. *Eggan K 2001*).

Für Mäuse und Rinder wurde gezeigt, dass aus einer Stammzelle ein ganzes Individuum entstehen kann. Vielleicht trifft dies eines Tages auch für humane embryonale Stammzellen zu. Sofern die richtigen Signale gegeben werden und Bedingungen vorliegen dürfte einer Anwendung dieses Verfahrens beim Menschen unseres Erachtens in wissenschaftlicher Hinsicht nichts prinzipiell im Wege stehen (höchstens ein erheblicher Aufwand und hohe Kosten).

6. Totipotenz embryonaler Stammzellen II

Siehe oben, zu Frage 4. und 5.

Wir teilen die Einschätzung, dass die **Totipotenz** einer Zelle durch aufwendige und meist nicht erfolgreiche Verfahren herstellbar, manipulierbar und letztlich beim Menschen nicht beweisbar ist (da hierzu unethische Experimente durchgeführt werden müssten). Sinnvoll erscheint es uns allerdings, am Sachverhalt der Totipotenz bei der Herkunft der embryonalen Stammzelle aus einer befruchteten Eizelle festzuhalten. Insofern bleibt in ethischer Hinsicht fraglich bzw. begründungsbedürftig, warum ein früher Embryo mit dem Potenzial zur Entwicklung eines geborenen Menschen, für Forschungswecke verbraucht werden darf. - Eine Zelle kann sich dann zu einem Individuum entwickeln, wenn sie neben den Zellen aller Gewebe auch Trophoblast (bzw. Plazenta) bilden kann. Während es keinerlei Anhalt dafür gibt, dass adulte Stammzellen einen Trophoblasten bilden können, gibt es bei ES-Zellen klare Hinweise dafür (s.o.). Bei der Reprogrammierung durch Klonen handelt es sich um eine Manipulation, die über die ursprüngliche Zelle hinausgeht.

7. Totipotenz embryonaler Stammzellen III

Hierzu ist zu sagen: Alles was wir mit Zellen machen ist artifiziell. Sobald Zellen ihrer natürlichen Umgebung entnommen werden und im Reagenzglas sind, verändern sie sich. Auch embryonale Stammzellen sind ein Artefakt. Lediglich die Zahl der erforderlichen Zellkultur-"Tricks" und die Komplexität des Verfahrens sind unterschiedlich. Insofern besteht auch zwischen einer durch menschlichen Eingriff künstlich geschaffenen Totipotenz und einer durch Bereitstellung geeigneter Bedingungen hervorgeholten, bereits gegebenen Totipotenz kein wesentlicher Unterschied !

8. Totipotenz embryonaler Stammzellen IV

Die Totipotenz von embryonalen Stammzellen der Maus *in vivo* ist nichts Neues; embryonale Stammzellen haben per definitionem die Keimbahnkompetenz (s.a. Anwendung dieses Prinzips bei knock in und knock out Mäusen). Wohl aber *in vitro*; hier haben Hübler/Schöler und Noce erstmalig gezeigt, dass aus embryonalen Stammzellen Keimzellen werden können.

9. Technische Steuerung von Totipotenz

Hierbei handelt es sich unseres Erachtens um eine sehr hypothetische Frage. Im Prinzip läßt sich wohl eine Totipotenz durch eine Entfernung des genomischen Imprinting herbeiführen. Es gibt aber 30-40.000 Gene beim Menschen. Sicherlich gibt es Schlüsselgene, aber wahrscheinlich sind mehrere hundert Gene im Konzert erforderlich, um einen derart komplexen Vorgang wie die Totipotenz zu kreieren. Unserer Meinung nach wird dies voraussichtlich kein leichtes Unterfangen sein und falls überhaupt möglich Jahrzehnte dauern.

Eine wichtige von uns mit Stammzellen im Labor und Patienten in der Klinik immer wieder gemachte Erfahrung lautet: Es gibt keine 100% Effekte und nichts ist absolut in der Zellbiologie: Es gibt Nichtwissen, einen Graubereich des Halbwissens sowie (vermutlich) gesichertes Wissen und für fast alles gibt es früher oder später auch Ausnahmen. Dinge, die vor Jahren noch unmöglich schienen, sind heutzutage mittels neuer Konzepte und Technologien machbar.

10. Parthenogenese und Totipotenz

Parthenogenese auch Jungfernzeugung ist die asexuelle Teilung eines Eies ohne Befruchtung. Hierbei handelt es sich um eine Form, in der sich Totipotenz manifestieren kann.

11. Alternativen zum Klonen mittels Kerntransfer

Weitere Möglichkeiten des Klonens neben dem Dolly-Verfahren beinhalten das Einbringen von humanen Zellkernen in ES-, EG- und EC-Zellen (unseres Wissens noch nicht beschrieben) sowie Eier von Tieren⁴⁰ (Alternative Formen des Klonens beinhalten die Blastomeren Separation und die Parthenogenese.

12. Möglichkeit des Klonens

Zur These, dass reproduktives Klonen beim Menschen nicht möglich sei siehe Science Papers 2003 zu Primaten⁴¹: Warum kommt es bei Rhesusaffen nach somatischem Kerntransfer zwar zu Embryonen, aber nicht zu Geburten ? (Es gibt nur einen einzigen Bericht von *Meng L 1997* über die Geburt eines geklonten Rhesusaffen mittels embryonaler Zellen, dies ist jedoch bisher nicht reproduziert worden.) Dies kann z.B. an der Mitentfernung der Meiosespindel liegen. Es steht zu befürchten, dass die vielen Hürden, welche die Natur für den Forscher bereithält, früher oder später mit speziellen Techniken irgendwie wahrscheinlich überwunden werden können. So hat man z.B. in den sechziger Jahren als der erste Frosch geklont wurde (1966) fest geglaubt, dass dies niemals bei Säugetieren möglich sein werde, bis 1997 das Schaf Dolly auf der Welt erschien.

13. Stammzellen aus Amnionflüssigkeit

Prusa A-R 2003 von der Arbeitsgruppe Hengstschläger: Oct-4 positive Zellen dienen als Indikator für pluripotente Zellen. Hier bleibt jedoch die Pluripotenz bei Differenzierungsversuchen in vitro und beim Tierversuch in vivo noch zu zeigen. Bisher wurde beschrieben, dass Epithelzellen der Amnionflüssigkeit Neurone beim ischämischen Gehirn der Wüstenrennmaus bilden (Okawa H 2001). - Die Gewinnung von Stammzellen aus der Amnionflüssigkeit ist im Gegensatz zu embryonalen Stammzellen evtl. kompatibel mit der Moralthologie des Katholischen Kirche. Eine Überlegenheit gegenüber z.B. mesenchymalen Stammzellen ist aber bisher nicht belegt.

14. Stammzellen aus Nabelschnurblut

⁴⁰ Chen Y 2003 - Kaninchen, Zavos PM 2003 / unveröffentlicht - Rind

⁴¹ Schatten G 2003, Simerly C 2003, Vogel G 2003

Betr. Mazurier et al. 2003 - Hier handelt es sich um die Identifikation einer Untergruppe der langjährig bekannten hämatopoetischen Stammzellen des Nabelschnurblutes (UCB) mit der Fähigkeit zum schnellen bzw. kurzfristigen Engraftment (Anwachsen). Es wurde ein weiterer Oberflächenmarker CD36- mit hinzugezogen und ein neuer Assay (Test) für blutbildende Zellen in der Maus beschrieben. Bei diesem Assay werden Stammzellen in die Markhöhle des Oberschenkels gegeben und nicht in eine Vene; dies kann wichtig sein für Zellen mit verschlechterter Homing Kapazität (also Zellen, die nicht von alleine ihren Weg ins Knochenmark finden). Durch Optimierung der Zellkultur und gezielte Expansion dieser Zellen wird gehofft, das große Problem beim Nabelschnurblut - nämlich zahlenmäßig zuwenig hämatopoetische Stammzellen - zu überwinden. Insofern ist dieser Artikel wichtig für die Anwendung dieser blutbildenden Stammzellen in der Klinik. Der Assay, welcher die direkte Injektion von Zellen ins Knochenmark beinhaltet, kann auch für andere blutbildende Stammzellen aus Leber und Muskel genutzt werden. Für die Frage der adulten im Unterschied zu den embryonalen Stammzellen, also für die ethische Diskussion, ergibt sich aus diesem Paper aber kein neuer Aspekt.

Betr. Adulte, nicht hämatopoetische Stammzellen aus dem Nabelschnurblut:

Mesenchymale Stammzellen finden sich auch im Nabelschnurblut, die Isolierung gelingt in ca. 25% der Fälle.⁴² Sie haben ebenfalls ein beachtliches Differenzierungspotenzial, welches aber deutlich geringer ist als bei den MAPC nach Verfaillie.⁴³ Entscheidend für unsere Beurteilung ist jedoch, dass mesenchymale Stammzellen im Nabelschnurblut in deutlich geringeren Mengen vorkommen als im Knochenmark⁴⁴ und dass sie keine bekannten Vorteile gegenüber mesenchymalen Stammzellen aus dem Knochenmark haben.

⁴² Erices A 2000 & 2003, Lee OK 2003

⁴³ mesenchymale Stammzellen & Herz - Cheng F 2003, mesenchymale Stammzellen & Neurone - Hou L 2002, UCB & Leber - Kakinuma S 2003, Ishikawa F 2003, Wang X 2003; UCB & Animal Models: Stroke - Chen J 2001, ALS - Garbuzova-Davis S 2003

⁴⁴ Mareshi K 2001, Wexler SA 2003

D) Abschließendes Statement

Gleich, ob es sich um adulte oder embryonale Stammzellen handelt, sowohl in vitro als auch im Tierversuch bleiben noch erhebliche Forschungsanstrengungen zu leisten ! Trotz erster Versuche ist es für beide Stammzellarten noch ein sehr weiter Weg in die Klinik (dies gilt insbesondere für die embryonalen Stammzellen).

Adulten Stammzellen und ihrem Potenzial wird nach wie vor zuwenig Aufmerksamkeit gewidmet - sowohl in den Medien, der politischen Diskussion, als auch bei der Forschungsförderung. **Die medizinisch-ethischen Bedenken gegen die embryonalen Stammzellen bleiben ein Vielfaches höher als bei adulten Stammzellen.**

Hervorzuheben sind folgende **Vorteile der adulten Stammzellen**

- Großes Potenzial der adulten Stammzellen (Wachstum, Differenzierung, Engraftment, z.T. auch ohne in der Zellkultur zu altern).
- Ganz anders als embryonale Stammzellen bisher keine Teratokarzinome und Tumore (weder beim Tier noch am Menschen).
- Sie können vom Patienten selbst gewonnen werden und später ohne Immunsuppression zurückgegeben werden (autologe Gabe).
- Ganz anders als bei embryonalen Stammzellen besteht eher eine Immuntoleranz⁴⁵
- Erste Erfolge in der Klinik (Herz) und jahrzehntelange Erfahrungen mit hämatopoetischen Stammzellen im Rahmen der Knochenmarktransplantation (z.B. bei der Leukämie).

Es bleiben auch unsere **Hauptbedenken gegen embryonale Stammzellen**

- Lebenslange Immunsuppression da sonst Immunabstoßung nach Differenzierung (aufgrund der Expression von MHC-Molekülen)
- Bildung von Teratokarzinomen (s.a. Trapp et al. am homologen Mausmodell)
- Verdacht auf Totipotenz auch der humanen embryonalen Stammzellen
- Infektgefährdung durch (Retro)Viren falls Fütterzellen der Maus verwendet werden (bei neueren Verfahren der letzten beiden Jahre wird dieses Problem umgangen).

Das eigentliche Problem für den Forschungsstandort Deutschland bildet unseres Erachtens die **Unterfinanzierung der Stammzellforschung** im engeren Sinne, egal ob es sich hierbei um embryonale oder adulte Stammzellen handelt. Hier muß bald und entscheidend etwas getan werden, sonst wird der Anschluß an die internationale insbesondere US-amerikanische Forschung endgültig verpaßt. Z.B. wird in den USA von der öffentlichen Hand ein Vielfaches pro Kopf (im Jahre 2001 ca. das Fünffache) für die Stammzellforschung ausgegeben im Vergleich zu Deutschland. Von Bedeutung ist auch eine Reduktion der an deutschen Unikliniken aufgrund von Geldmangel nach wie vor üblichen "Feierabend"-Forschung. Dass dies Auswirkungen auf junge Wissenschaftler und Patente hat versteht sich von selbst.

Desweiteren bleibt auch 2003 festzustellen: In den Medien findet sich zuviel Rummel um die Ergebnisse der Stammzellforschung. Unseres Erachtens wird hier sowohl mit Ängsten wie auch mit Hoffnungen in teilweise fahrlässiger Weise gespielt. Im Parlament gibt es nach unserer Ansicht zuviel Aufregung um embryonale Stammzellen, statt mehr die Frage von Prioritäten bei der Forschungsfinanzierung zu stellen. Insgesamt herrscht in unseren Augen zuviel Lagerdenken (embryonale versus adulte Stammzellen) vor dem Hintergrund gedeckelter Budgets und der starke Einfluß handfester wissenschaftlicher und wirtschaftlicher Lobbyinteressen in der

⁴⁵ Saito T 2002, LeBlanc K 2003, Hori J 2003

öffentlichen Diskussion (Einzelergebnisse werden hierbei hochgespielt und instrumentalisiert).

Zusammenfassend sind wir der Meinung, dass die Möglichkeiten der adulten Stammzellen bei weitem noch nicht ausgeschöpft sind. Hier wäre eine gemeinsame nationale wie europäische, systematische Strategie dringend von Nöten. Embryonale Stammzellen könnten wegen der oben genannten, großen, ungelösten Probleme für die klinische Anwendung dabei eher zurückgestellt werden.

Beigefügte Literatur:

Zander, Stute, Kolb, Seeber, Schmitz. - "Stammzellforschung. Diesseits des Rubikon."

Review im Deutsches Ärzteblatt vom 8. Februar 2002, 99(6): B275-277.

Kurzfassung im Internet: <http://www.aerzteblatt.de/v4/archiv/pdf.asp?id=30372>

Langfassung im Internet: <http://www.aerzteblatt.de/v4/plus/down.asp?typ=PDF&id=856>

Zander, Stute, Fehse, Lange. - Adulte oder embryonale Stammzellen ?

Artikel in "Stammzellforschung - Debatte zwischen Ethik, Politik und Geschäft",

Albrecht, Dierken, Freese, Höhle (Hg.), Hamburg University Press, Hamburg, 2003, pp. 9-23

http://hup.rrz.uni-hamburg.de/pdf/Albrecht_Stammzellforschung.pdf