

Anna M. Wobus

Stammzellforschung – Perspektiven und Probleme in Deutschland

(Akademievorlesung am 9. Februar 2006)

Zusammenfassung

Stammzellforschung bildet die Grundlage für die Entwicklung von Therapiestrategien in der regenerativen Medizin. Dabei wirkt Stammzellforschung befruchtend auch auf andere Gebiete der Lebenswissenschaften, insbesondere der Humanmedizin, wie Tumor- und Altersforschung, und langfristig wird durch Stammzellforschung die Entwicklung neuer Wirkstoffe für körpereigene Regenerationsprozesse ermöglicht. Während Therapien mit adulten Stammzellen bereits in der Klinik erfolgreich etabliert sind, befinden sich Studien mit humanen embryonalen Stammzellen noch im experimentellen Stadium. Allerdings wird die derzeitige Rechtslage zum Arbeiten mit humanen embryonalen Stammzellen in Deutschland zunehmend zum Forschungshindernis und gefährdet den Forschungsstandort Deutschland. Eine Novellierung der gültigen Stichtagsregelung im Stammzellgesetz könnte die unklare Rechtslage für Wissenschaftler in Deutschland zumindest teilweise lösen und die Forschungssituation verbessern, ohne daß ethische Grundpositionen aufgegeben werden müssten.

Der derzeit vorwiegend experimentelle Stand der Stammzellforschung erfordert Ergebnisoffenheit im Hinblick auf ihren zukünftigen Einsatz in der regenerativen Medizin. Nur aus der vergleichenden Forschung an humanen embryonalen und adulten Stammzellen werden neue Erkenntnisse zur Biologie von Stammzellen gewonnen werden, die insgesamt in die Entwicklung neuer regenerativer Therapiestrategien fließen werden.

1 Einleitung

Wie kein anderes Gebiet hat die Stammzellforschung in den vergangenen Jahren nicht nur die Wissenschaft selbst, sondern auch die Öffentlichkeit und Politik in ihren Bann gezogen und gleichzeitig polarisiert. Stammzellen könnten aufgrund ihres einzigartigen Potentials – ihrer Vermehrungs- und Entwicklungsfähigkeit – zur Therapie zahlreicher Krankheiten eingesetzt werden, wenn es gelänge, dieses regenerative Potential in der klinischen Praxis für Patienten nutzbar zu machen.

Das Phänomen der Regeneration von Körperzellen sowie ganzer Gliedmaßen wurde bereits 1786 von Lazzaro Spallanzani an Salamandern beobachtet. Die Entwicklung komplexer Zellverbände und das Nachwachsen ganzer Körperteile nach Verletzung bei Planarien, Hydra oder Anneliden (Regenwürmer) sind jedem Biologiestudenten bekannt. Wachstum (Vermehrung) und Entwicklung (Differenzierung) von Zellen sind eine grundlegende Eigenschaft lebender Organismen. Im Verlauf der Evolution ist jedoch die generelle regenerative Fähigkeit von Körperzellen verloren gegangen. Im erwachsenen Säugerorganismus ist die regenerative Fähigkeit auf bestimmte Zellen, sogenannte adulte Stammzellen, beschränkt, die die Funktionsfähigkeit der Gewebe aufrecht erhalten und nach Schädigung wieder regenerieren können.

Gleichzeitig bilden Stammzellen aber auch die Grundlage unserer Entwicklung. Aus einer einzigen totipotenten Zelle, der befruchteten Eizelle (Zygote), entsteht im Verlauf der Embryogenese ein komplexer Organismus mit über 200 unterschiedlichen Zelltypen. In der Keimbahn wird das genetische Material des Organismus gespeichert und in einem hochkomplexen Prozeß über die Entwicklung und Reifung von Gameten (Ei- und Samenzellen), ihrer Befruchtung und der nachfolgenden Entwicklung an die kommenden Generationen weitergegeben.

Ziel der Stammzellforschung ist es, die regenerativen Fähigkeiten der verschiedenen Stammzelltypen zu analysieren, um sie auch für Zelltherapien nutzbar zu machen. In der öffentlichen Diskussion um den Einsatz von Stammzellen steht vorwiegend das Für und Wider der Forschung an embryonalen bzw. an gewebespezifischen (adulten) Stammzellen im Mittelpunkt. Für eine Beurteilung der Eignung embryonaler bzw. adulter Stammzellen in der regenerativen Medizin sind jedoch zunächst die ganz unterschiedlichen Eigenschaften der verschiedenen Stammzelltypen zu berücksichtigen (Wobus & Boheler, 2005):

- 1) Totipotent, das heißt, zur allseitigen Entwicklung befähigt, sind die Zygote und die ersten Teilungsstadien (Blastomeren) maximal bis zum 8-Zellstadium (Morula).
- 2) Pluripotent sind die Zellen der Inneren Zellmasse der Blastozyste, die im Verlauf der embryonalen Entwicklung die Gewebe der drei Keimblätter bilden. Diese pluripotenten Stammzellen wurden als embryonale Stammzellen (ES-Zellen) in Zellkultur überführt. Aus ihnen können auch in vitro Zelltypen aller drei somatischen Keimblätter, Ekto-, Meso- und Endoderm, sowie Keimzellen gebildet werden. Pluripotent sind auch die sogenannten embryonalen Keimzellen (EG-Zellen), die aus primordialen Keimzellen aus den Keimleisten von Embryonen etabliert wur-

den. Kürzlich wurde über multipotente Keimbahnzellen berichtet, die aus Testesgewebe der Maus isoliert wurden und über Eigenschaften von ES-Zellen verfügen; allerdings steht ein Nachweis ihrer Pluripotenz nach Blastozysteninjektion noch aus.

- 3) Multipotent sind in der Regel die gewebespezifischen adulten Stammzellen, die die Zellen der somatischen Gewebe bei Verlust ersetzen können und dadurch die Funktionsfähigkeit der verschiedenen Organsysteme aufrecht erhalten.

Das hohe Entwicklungspotential von Stammzellen begründet die Hoffnung, in der Zukunft Stammzellen für die Therapie zahlreicher Krankheiten einsetzen zu können. Dazu müssen Stammzellen prinzipiell einige Kriterien erfüllen: Sie sollten sich stabil, das heißt ohne genetische und epigenetische Veränderungen vermehren und in die verschiedensten Zelltypen entwickeln können. Auf keinen Fall dürfen sie mit Fremdzellen kontaminiert sein, die möglicherweise Tumoren bilden könnten. Eine weitere Voraussetzung für die Verwendung von Stammzellen als Zelltherapeutikum ist, daß sie sich im Organismus gewebespezifisch integrieren können und funktionell aktiv sind. In der Transplantationsmedizin ist ferner erwünscht, daß Zelltransplantate immunkompatibel sind, das heißt im Empfängerorganismus nicht zu Abstoßungsreaktionen führen. Diese Eigenschaft erfüllen nach derzeitigem Stand nur adulte (autologe) Stammzellen, die dem Patienten direkt entnommen und unmittelbar wieder zugefügt werden, während aus ES-Zellen generierte Transplantate mit dem Empfängerorganismus in der Regel genetisch nicht identisch sind.

Welche prinzipiellen Strategien von Zelltherapien können für die Zukunft prognostiziert werden?

- 1) Erstens besteht die Möglichkeit, differenzierte Zellen zu transplantieren. Hierzu könnten Zellen sowohl aus embryonalen und aus adulten Stammzellen entwickelt werden.
- 2) Zweitens können Stammzellen direkt appliziert werden, wie es mit hämatopoetischen Stammzellen des Knochenmarks zur Behandlung von Leukämien, Immunkrankheiten und bei Tumorerkrankungen seit vielen Jahren praktiziert wird. In diesen Transplantationen können derzeit nur adulte Stammzellen eingesetzt werden.
- 3) Eine dritte zukünftige Option könnte darin bestehen, adulte Stammzellen im Organismus direkt zu aktivieren. Die Aktivierung körpereigener Stamm- und Vorläuferzellen setzt jedoch Kenntnisse darüber voraus, in welcher Weise extrazelluläre Signal-Moleküle auf die Vermehrung bzw. Differenzierung von Stammzellen wirken.
- 4) Eine vierte Möglichkeit ergibt sich durch das Tissue Engineering, wobei eine definierte Zellpopulation mit Wachstumsfaktoren, extrazellulären Matrix-Proteinen und Gerüst-Substanzen eingesetzt wird, um Gewebe-Substitute zu bilden. Hier könnten gewebespezifische Zellen zum Einsatz kommen, die sowohl aus embryonalen als auch aus adulten Stammzellen entwickelt werden.

2 Embryonale Stammzellforschung: Perspektiven und Probleme

Embryonale Stammzellen zeichnen sich durch die einzigartige Eigenschaft aus, einerseits sich nahezu unbegrenzt zu vermehren und andererseits sich zugleich in die zahlreichen unterschiedlichen Zelltypen des Organismus entwickeln zu können. Im Verlauf der vergangenen 20 Jahre sind derartige in vitro-Differenzierungssysteme mit ES-Zellen der Maus erfolgreich entwickelt worden, so unter anderem in Herz-, Skelettmuskel- oder glatte Muskelzellen, Neurone, endotheliale, pankreatische und hepatische Zellen. Es konnte gezeigt werden, daß diese Zelltypen sowohl in vitro als auch nach Integration in das Gewebe in vivo funktionsfähig sind. Da die spontane Differenzierung in den gewünschten Zelltyp meist nicht sehr effizient ist, müssen Verfahren angewandt werden, um die spezifischen Zellen anzureichern und zu selektieren. Dies kann durch genetische Modifizierung, Zugabe spezifischer Differenzierungsfaktoren bzw. flowzytometrische Sortierung erfolgen.

In unseren eigenen Experimenten wurde zum Beispiel ein pankreatisches Entwicklungskontrollgen (Pax4) in ES-Zellen überexprimiert. Die Wahl geeigneter Differenzierungsbedingungen und die Zugabe von Differenzierungsfaktoren ermöglicht die Entwicklung von Insulin-produzierenden Inselzell-ähnlichen Strukturen. Diese bilden tatsächlich Insulin-sekretorische Granula und können nach Transplantation in diabetische Mäuse den Blutglukosespiegel normalisieren.

Für eine zelltherapeutische Anwendung beim Patienten müssen derartige Erkenntnisse, die mit unterschiedlichen Zelltypen an murinen ES-Zellen erarbeitet wurden, auf das humane System übertragen werden. Seit 1998 existieren humane embryonale Stammzellen (hES-Zellen), die aus der Inneren Zellmasse von Blastozysten (nach in vitro-Befruchtung, IVF) gewonnen wurden. Seither ist in zahlreichen Arbeiten gezeigt worden, daß hES-Zellen über ein sehr hohes Entwicklungspotential verfügen.

Etwa zeitgleich wurden auch aus menschlichem fötalem Gewebe sogenannte primordiale Keimzellen isoliert und als embryonale Keimzelllinien (hEG-Zellen) etabliert. Allerdings ist die Entwicklungsfähigkeit humaner EG-Zellen eingeschränkt, und sie sind nicht mehr in der Lage, sich unbegrenzt zu vermehren.

Ein Problem mit aus humanen ES-Zellen entwickelten Zellderivaten ist jedoch, daß diese Spenderzellen nach Transplantation in genetisch „fremde“ Empfängerorganismen zu Abstoßungsreaktionen führen würden. Um dieses Problem zu lösen, wurde vor einigen Jahren die Strategie des „therapeutischen Klonens“ propagiert. Bei dieser Kerntransfertechnik (*somatic cell nuclear transfer*, SCNT), die auch als „therapeutisches Klonen“ bezeichnet wird, wird der Kern einer somatischen Zelle im Kontakt mit einer entkernten Eizelle reprogrammiert. Die reprogrammierten „Embryonen“ (genauer „Embryo-Äquivalente“) sollen zur Gewinnung embryonaler Stammzellen verwendet werden, um daraus das gewünschte Zelltransplantat zu entwickeln. Dieses wäre genetisch mit dem Kerngenom des Patienten kompatibel und sollte keine Gewebe-Abstoßungs-Reaktionen auslösen.

Allerdings ist sowohl die Gewinnung von Eizellen für derartige Reprogrammierungs-Prozesse als auch die Herstellung eines „Embryo-ähnlichen“ Zellstadiums aus ethischer Sicht umstritten. Aus diesem Grund wurden verschiedene Alternativen zur Gewinnung von Eizellen für Reprogrammierungs-Experimente vorgeschlagen.

Prinzipiell könnte die Reprogrammierung somatischer Zellkerne auch in tierischen Eizellen stattfinden. Dies ist zum Beispiel mit Eizellen aus Kaninchen gezeigt worden. Jedoch besteht bei diesem Verfahren die Gefahr der (xenogenen) Kontamination mit tierischen endogenen Viren. Eine weitere Möglichkeit wäre, aus ES-Zellen in Zellkultur gewonnene Eizell-Stadien zur Reprogrammierung einzusetzen, wenn es gelänge, die an Maus-Zellen erhobenen Befunde auf humane ES-Zellen zu übertragen. Als entscheidender Vorteil wäre hier die Möglichkeit gegeben, ausschließlich im In-vitro-System zu bleiben. Eine andere Option sind Fusionen zwischen somatischen und ES-Zellen, wobei kürzlich gezeigt wurde, daß die Fusionsprodukte Eigenschaften von ES-Zellen ausprägen und sich in verschiedenste Zelltypen weiterentwickeln konnten. Allerdings haben diese Zellen einen tetraploiden Chromosomensatz, das heißt, vier, anstelle von zwei Chromosomen, und es ist noch nicht klar, wie sich die Polyploidisierung auf die in vitro-Differenzierung und Gewebeentwicklung auswirkt.

An all diesen Reprogrammierungs-Strategien wird intensiv gearbeitet. Zukünftiges Ziel ist es letztlich, die Faktoren selbst zu identifizieren, um sie unmittelbar für eine Reprogrammierung somatischer Zellen einzusetzen. Solche alternativen Experimente sollten auch in Deutschland mit humanen Zellen durchgeführt werden können.

Das Potential des somatischen Kerntransfers liegt in der Gewinnung autologer Spenderzellen und darüber hinaus in der Möglichkeit, therapeutisch effektive Gene einzuführen bzw. Krankheits-relevante Gene auszuschalten. Ein Problem dieser Technologie aus ethischer Sicht ist dabei unter anderem die Verwendung von menschlichen Eizellen (über gezielte Superovulation), sowie die Gefahr der Tumorbildung von nt-ES-Zell-Derivaten. Ebenso ist der Einfluß des Alters der Spenderzellen auf die Gewinnung dieser Zellderivate derzeit noch nicht eindeutig untersucht. Seit den 1960er Jahren ist bekannt, daß humane Zellen, die ein bestimmtes Alter überschritten haben, eine erhöhte Mutationsrate zeigen. Es muß daher sehr genau analysiert werden, inwieweit nt-ES-Zellen genetisch „normal“ sind und ob ihre genetische und epigenetische Stabilität während der Zellkultur erhalten und garantiert werden kann.

3 Der Einsatz adulter Stammzellen

Es ist seit vielen Jahren klinische Praxis, zur Behandlung von diversen Tumorerkrankungen (Leukämien, Lymphomen) und nach Chemotherapie blutbildende Stammzellen, sogenannte hämatopoetische Stammzellen (HSC), einzusetzen. Im Knochenmark liegen die hämatopoetischen Stammzellen in einer ganz spezifischen Umgebung

(„Stammzellnische“) vor, in der sie sich bei Bedarf (Schädigung oder Verlust) kontrolliert vermehren bzw. in die verschiedenen Zelltypen des Blutes differenzieren. Dagegen ist seit vielen Jahren noch nicht befriedigend gelöst, diese Zellen auch in vitro in genügender Anzahl zu gewinnen.

Im Knochenmark gibt es jedoch noch weitere Stammzelltypen. Von besonderem Interesse sind die mesenchymalen Stammzellen (MSC), die sich in die Zellderivate der mesenchymalen Reihe entwickeln können, wie zum Beispiel in Knochen-, Knorpel-, Skelettmuskel-, Sehnen- und Fettzellen.

Ende der 1990er Jahre erschienen die ersten Publikationen darüber, daß Zellen des Knochenmarks eine wesentlich höhere Entwicklungsfähigkeit haben und nicht mehr nur in der Lage seien, beispielsweise Zellen der hämatopoetischen Linie zu bilden, sondern sich auch in Zellen anderer Gewebe, zum Beispiel der Leber, des Skelettmuskels oder des Nervensystems, entwickeln könnten (Lemoli et al., 2005). In der Folgezeit zeigten inzwischen verfeinerte Nachweisverfahren jedoch eindeutig, daß die Mehrzahl der Befunde darauf zurückzuführen war, daß die übertragenen Stammzellen mit Zellen des Gewebes im Empfängerorganismus fusioniert waren. So bildeten die übertragenen Knochenmarkstammzellen Hybridzellen, beispielsweise mit denen der Leber, des Skelettmuskels oder des zentralen Nervensystems, wodurch eine Differenzierung in den „neuen“ Zelltyp vorgetäuscht wurde (Wagers & Weissman, 2004).

Dagegen existieren tatsächlich einige Verfahren, durch die das Entwicklungspotential von Knochenmarkstammzellen erhöht werden kann. So konnte zum Beispiel nach Kultur von Knochenmarkstammzellen ein multipotenter Zelltyp, sogenannte *multipotent adult progenitor cells* (MAPC) gewonnen werden. Diese Zellen zeigten eine höhere Entwicklungsfähigkeit als die Ausgangszellen. Mittlerweile sind mehrere solcher Zellpopulationen aus Knochenmark und Nabelschnurblut mit einem erweiterten Entwicklungspotential nach Zellkultivierung beschrieben worden. Allerdings sind die neuen Eigenschaften meist nur auf der Transkript- und Protein-Ebene nachweisbar und oft nur relativ gering ausgeprägt.

Die Entwicklungsfähigkeit mesenchymaler Stammzellen begründete den Einsatz von Knochenmarkstammzellen in ersten klinischen Studien zur Zellregeneration am Menschen. Besonders erfolgversprechend ist dabei die Knochen- und Knorpelregeneration. Weltweit wurden zahlreiche tierexperimentelle Untersuchungen durchgeführt und erste klinische Studien zum Einsatz am Patienten begonnen.

Darüber hinaus wurden Stammzellen des Knochenmarks seit einigen Jahren auch für die Regeneration von Herzgewebe eingesetzt. Hier nimmt Deutschland international eine führende Rolle ein. Durch verschiedene Verfahren werden Stammzellen aus dem Knochenmark des Patienten gewonnen und für die Behandlung nach einem akuten Herzinfarkt oder bei chronischer Herzinsuffizienz eingesetzt. Erste Untersuchungen wurden bereits 2002 publiziert und fanden unter anderem an Kliniken in Frankfurt, Düsseldorf, Hannover und Rostock statt. Mittlerweile laufen standardisierte, klinische Studien in umfangreichen (Placebo-kontrollierten) Multizentrenstudien

zur Transplantation von Stammzellen nach Herzinfarkt. In vielen Fällen wurde durch die Behandlung eine Verbesserung der Herzfunktion bei Infarkt-Patienten beobachtet.

Allerdings ist zu beachten, daß trotz einer Verbesserung der Pumpfunktion des Herzens – die in einigen Studien nachgewiesen wurde – die transplantierten Knochenmarkstammzellen keine neuen Herzzellen bilden. Ein eindeutiger Wirkungsmechanismus für dieses Zelltherapieverfahren ist noch nicht beschrieben.

Während in Deutschland diese Strategie seit einigen Jahren in verschiedenen klinischen Studien untersucht wird, waren amerikanische Genehmigungsbehörden zurückhaltender. Die Firma Osiris Therapeutics und die Johns Hopkins Medical School erhielten erst nach umfangreichen Tierversuchen im März 2005 die Erlaubnis der US-amerikanischen FDA für die Durchführung einer randomisierten Phase-1-Studie zur Herzzellregeneration.

Man kann heute mit großer Wahrscheinlichkeit sagen, daß die Verbesserung der klinischen Befunde nach Herzinfarkt nicht auf eine „Transdifferenzierung“ der transplantierten Knochenmarkstammzellen in Herzzellen zurückzuführen ist, sondern daß es sich möglicherweise um einen indirekten Regenerationsprozeß handelt. Derartige indirekte Regenerations-Mechanismen sind auch in anderen Zellsystemen beschrieben worden. Dabei ist zu berücksichtigen, daß im Knochenmark neben HSC und MSC auch endotheliale Vorläuferzellen (EPC) enthalten sind. Gefäßendothelzellen geben bestimmte Signalmoleküle ab, zum Beispiel den *vascular endothelial growth factor*. Diese Faktoren könnten endogene Stamm- oder Vorläuferzellen des Gewebes (z. B. im Herz oder Pankreas) indirekt aktivieren und dadurch zu einer Regeneration der geschädigten Zellen führen. So wurde tatsächlich eine verbesserte Gefäßbildung in der Infarktregion bei Herzinfarktpatienten nach Stammzelltransplantation beobachtet. Bei all diesen Versuchen muß berücksichtigt werden, daß eine Manipulation endogener Stammzellen möglicherweise auch ungewollt in den Prozeß der Tumorentstehung eingreifen kann, denn es sind z. T. die gleichen Signalwege, die sowohl Stammzell-*self-renewal* als auch Tumorbildung kontrollieren. Auch dazu sind in den vergangenen zwei Jahren neue Erkenntnisse gewonnen worden, welche zeigten, daß Knochenmarkstammzellen zum Beispiel zu Epithelzell-Tumoren führen können. Aus anderen Arbeiten ging hervor, daß adulte, insbesondere mesenchymale Stammzellen, an Tumorentstehungsprozessen beteiligt sind. Die potentielle Gefahr der Bildung von Tumoren muß also nicht nur beim Einsatz embryonaler, sondern auch adulter Stammzellen berücksichtigt werden.

Insgesamt hat die Verwendung adulter (autologer) Stammzellen aber den großen Vorteil, daß diese im Patienten keine Abstoßungsreaktionen hervorrufen und ethisch unbedenklich sind. Allerdings sind adulte Stammzellen in den Geweben in der Regel nur in sehr geringer Anzahl vorhanden. Ihre Vermehrung ist, mit Ausnahme der mesenchymalen Stammzellen des Knochenmarks, meist ungenügend, und auch ihre Entwicklungskapazität ist noch begrenzt und mit der Fähigkeit von ES-Zellen nicht zu vergleichen.

Der Vollständigkeit halber soll an dieser Stelle auf Tissue Engineering-Strategien hingewiesen werden, ein Feld der Biotechnologie, dessen kommerzielle Bedeutung und therapeutische Möglichkeiten hoch einzuschätzen sind. Deutsche Forscher und Firmen sind auf dem Gebiet des Tissue Engineering im europäischen Maßstab relativ stark vertreten. In der Zukunft wird es darauf ankommen, stabile regenerative Zellsysteme zu entwickeln und im Tissue Engineering einzusetzen. Dabei kommt der Grundlagenforschung mit embryonalen als auch mit adulten Stammzellen eine große Bedeutung zu.

4 Die rechtliche Situation und Folgen für die Stammzellforschung in Deutschland

Die Stammzellforschung ist insbesondere durch die Forschung an humanen ES-Zellen in Deutschland umstritten. Aufgrund des Embryonenschutzgesetzes (ESchG) aus dem Jahr 1990 ist in Deutschland jede fremdnützige Verwendung menschlicher Embryonen strafrechtlich untersagt. Somit ist die Etablierung humaner embryonaler Stammzelllinien (hES-Zellen) in Deutschland nicht möglich.

Nach ausführlicher Diskussion im Deutschen Bundestag im Dezember 2001 haben die Parlamentarier mit dem Stammzellgesetz (StZG) im Juli 2002 einen Ausweg aus dieser restriktiven Lage vorgeschlagen, und dabei ethischen Forderungen nach dem Schutz menschlicher Embryonen Rechnung getragen. Nach dem StZG können hES-Zelllinien ausnahmsweise zu Forschungszwecken nach Deutschland importiert werden, wenn die Projekte von einer Zentralen Ethikkommission für Stammzellforschung (ZES) umfassend bewertet und als hochrangig, ausreichend vorgeklärt und plausibel eingeschätzt wurden. Die Stellungnahme dieser Kommission wird an das Robert-Koch-Institut (RKI) weitergeleitet, die auf dem Votum der ZES aufbauend eine Entscheidung über die Genehmigung der Projekte fällt. Ein wesentlicher Bestandteil des StZG ist die sogenannte Stichtagsregelung: danach dürfen nur solche hES-Zellen nach Deutschland eingeführt werden, die vor dem 1. Januar 2002 etabliert worden sind. Hierbei handelt es sich um 22 hES-Zelllinien, die in einem Register der amerikanischen *National Institutes of Health* (NIH) gelistet sind. Ursprünglich waren etwa 70 Linien aufgeführt, jedoch ließen sich die meisten von ihnen nicht vermehren. Damit stehen nur diese 22 „NIH-Linien“ für die Stammzellforschung in Deutschland zur Verfügung.

Derzeit (Juli 2006) wird in Deutschland in 18 verschiedenen Projekten mit hES-Zellen gearbeitet (siehe <http://www.rki.de>). Alle diese Zellen werden mit embryonalen Fibroblasten der Maus, die als Feederzellen dienen, kultiviert und sind folglich mit tierischen Zellen sowie mit Proteinen aus dem fötalen Kälberserum kontaminiert. Es ist jedoch in verschiedenen Labors gelungen, neue hES-Zelllinien zu etablieren, die sich leichter kultivieren lassen, frei von tierischen Feederzellen und von xenogenen Kontaminationen sind. Inzwischen existieren weltweit mindestens 414 hES-Zell-

linien. Allerdings dürfen diese Zellen nach der Stichtagsregelung des Stammzellgesetzes nicht nach Deutschland eingeführt werden. Weiterhin sind die „NIH-Linien“ im Gegensatz zu neu etablierten hES-Zelllinien nicht in chemisch definierten Medien und unter standardisierten Bedingungen kultiviert worden. Die hES-Zelllinien wurden aus verschiedenen Entwicklungsstadien früher Embryonen etabliert (z. B. aus Blastomeren, Blastozysten oder sogenannten „Pronukleus-Embryonen“), das heißt, es handelt sich um sehr heterogene Linien. Bei näherer Betrachtung der Zelllinien und einem Vergleich von Genexpressionsmustern humaner und muriner Zellen stellt man weiterhin fest, daß humane ES-Zellen des NIH-Registers unter anderem Trophectoderm-Marker und Marker differenzierter Zellen exprimieren.

Inzwischen sind auch aus Embryonen von Trägern humangenetischer Krankheiten neue humane ES-Zelllinien etabliert worden, die als Modellsystem humangenetischer Krankheiten dienen können. Derartige Zellen wären außerordentlich hilfreich, um die Pathomechanismen der Entstehung humangenetischer Krankheiten zu untersuchen, sowie diagnostische und therapeutische Verfahren zu entwickeln. Jedoch dürfen auch diese Linien nicht nach Deutschland eingeführt werden, weil sie nach dem Stichtag (01.01.2002) etabliert wurden.

Während in Ländern wie Dänemark, Finnland, Frankreich, Spanien, Niederlande, Schweiz, Großbritannien, Belgien und Schweden neue hES-Zelllinien etabliert werden können – und darüber hinaus in Großbritannien, Belgien und Schweden auch der somatische Zellkerntransfer zur Etablierung von *nuclear transfer* (nt) hES-Zelllinien, möglich ist – dürfen derartige Zellen von deutschen Wissenschaftlern nicht eingesetzt werden.

Zusammenfassend muß festgestellt werden, daß alle humanen ES-Zelllinien, die nach dem StZG nach Deutschland eingeführt werden können, nicht nach standardisierten Verfahren etabliert worden sind und damit nicht die Anforderungen der EU-Richtlinien für Zelltherapieprodukte erfüllen. Sie kämen demnach für therapeutische Anwendungen nicht in Frage. Neu etablierte, nicht kontaminierte und standardisierte hES-Zelllinien stehen jedoch Wissenschaftlern in Deutschland nicht zur Verfügung. Grundlagenforschung nach dem StZG mit hES-Zellen ist in Deutschland zwar grundsätzlich möglich; allerdings ist die Entwicklung kommerzieller Produkte und Zelltherapeutika mit den in Deutschland verfügbaren hES-Zellen unter den derzeitigen Bedingungen nicht, bzw. nur sehr eingeschränkt möglich.

Weitaus entscheidender für die Entwicklung des Forschungsstandorts Deutschland sind jedoch die wissenschaftspolitischen Probleme, die sich aus der derzeitigen Rechtslage ergeben.

Eine Zusammenstellung der bisher zu hES-Zellen publizierten Originalarbeiten ergab (Guhr et al., 2006), daß im Zeitraum von 1998 bis 2005 nur drei Arbeiten von deutschen Wissenschaftlern publiziert wurden. Das heißt, deutsche Forscher haben von insgesamt mindestens 315 Publikationen bisher nur drei experimentelle Arbeiten zu hES-Zellen publiziert. Von den insgesamt 414 weltweit etablierten hES-Zelllinien können nur 22 in Deutschland für Forschungszwecke verwendet werden.

Es kann davon ausgegangen werden, daß die geringe Zahl von Publikationen deutscher Wissenschaftler zu hES-Zellen auf den besonderen restriktiven Bedingungen der hES-Zellforschung in Deutschland beruht. Internationale Kooperationen zur Arbeit mit hES-Zellen sind im Regelfall schwer zu realisieren. Aus einem Rechtsgutachten der DFG geht hervor, daß das Stammzellgesetz zwar Rechtssicherheit für deutsche Wissenschaftler im Inland, aber nicht für deutsche Forscher im Ausland geschaffen hat. So ist eine gleichberechtigte Mitarbeit deutscher Wissenschaftler in internationalen Gremien und Kommissionen, in Stammzellbanken oder bei EU-Projekten nicht oder nur unter erschwerten Bedingungen möglich, insbesondere dann, wenn in diesen Projekten mit neu etablierten hES-Zelllinien gearbeitet wird. Vor allem die direkte wissenschaftliche Kooperation in EU-Projekten ist rechtlich problematisch. Dies bezieht sich insbesondere auf den Austausch wissenschaftlichen Materials bzw. wissenschaftlicher Mitarbeiter. Derzeit gibt es einige EU-Projekte, in denen auch deutsche Wissenschaftler mit hES-Zellen arbeiten. Bei EU-Projekten ist es ausdrückliches Ziel, daß die beteiligten Wissenschaftler an gemeinsamen Fragestellungen forschen, wobei nicht nur Zellen und Materialien, sondern auch Forschungsergebnisse ausgetauscht werden sollen. Es entsteht aber eine rechtlich unklare Situation, wenn Wissenschaftler Erkenntnisse der hES-Zellforschung, die in Deutschland nach dem StZG erarbeitet wurden, an Kollegen zum Beispiel in Großbritannien übergeben, die wiederum mit Linien arbeiten können, die in Deutschland nicht zulässig sind. In der Konsequenz bedeutet dies, daß deutsche Wissenschaftler in der internationalen Zusammenarbeit benachteiligt sind.

Eine weitere Restriktion der humanen embryonalen Stammzellforschung in Deutschland als Folge des Stammzellgesetzes betrifft die kommerzielle Nutzung der Erkenntnisse der Stammzellforschung. Der Import humaner ES-Zellen nach StZG macht Deutschland vom Ausland abhängig. Wissenschaftler müssen restriktive *Material Transfer Agreements* abschließen, durch die sie sich verpflichten, regelmäßig ihre Forschungsergebnisse an den Lizenzgeber, beispielsweise das Labor, das die hES-Zellen etabliert hat, zu übermitteln. Auch die aus der Forschung entstandenen patentfähigen Ergebnisse gehören damit den Lizenzgebern (z. B. Firmen in den USA).

Durch diese Abhängigkeit entsteht in Deutschland die fragwürdige Situation, daß durch mit deutschen Mitteln finanzierte Forschung möglicherweise solche Arbeiten im Ausland subventioniert werden, die im eigenen Land strafrechtlich untersagt sind. Es bedeutet ferner, daß deutsche Forschungsergebnisse u. U. im Ausland ertragreich umgesetzt werden können.

Auf dem Gebiet der Stammzellforschung wird wissenschaftliches Arbeiten in Deutschland primär an rechtlichen Möglichkeiten und nicht an wissenschaftlichen Notwendigkeiten ausgerichtet. Das hat zur Folge, daß es nahezu unmöglich ist, in Deutschland auf dem Gebiet der hES-Zellforschung in wissenschaftlicher Hinsicht, aber insbesondere bezüglich der kommerziellen Nutzung führend zu sein. Dabei sind erste Arbeiten zur in vitro-Differenzierung von ES-Zellen von Wissenschaftlern

in Deutschland publiziert worden. Es ist zu befürchten, daß Deutschland langfristig in der humanen Stammzellforschung isoliert und dadurch die Entwicklung der gesamten regenerativen Medizin behindert wird.

5 Förderung der Stammzellforschung in Deutschland

Ungeachtet der komplizierten Rechtslage wird Stammzellforschung in Deutschland an allen großen Forschungsinstitutionen (der Max-Planck-Gesellschaft, Helmholtz-Gemeinschaft, Fraunhofer-Gesellschaft oder Leibniz-Gemeinschaft) durchgeführt. Ebenso wird an nahezu allen Universitäten, in medizinischen und naturwissenschaftlichen Fakultäten, Stammzellforschung betrieben. Darüber hinaus wurden regionale und überregionale Zentren zur Förderung der Stammzellforschung gegründet, wie zum Beispiel das „Stammzellnetzwerk Nordrhein-Westfalen“, das skandinavisch-baltische Netzwerk „ScanBalt“ in Rostock, die Arbeitsgemeinschaft „Regenerative Medizin“ in Leipzig oder die Initiative zur Regenerativen Medizin in Berlin (RMIB). Forschungsinitiativen wurden unter anderem an Universitäten und Institutionen in Würzburg, Lübeck, Karlsruhe und München etabliert.

Die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) unterstützt darüber hinaus in verschiedenen Schwerpunktprogrammen, Sonderforschungsbereichen und Forschergruppen die Stammzellforschung in Deutschland. In diesen Forschungsprogrammen werden die unterschiedlichsten Fragestellungen zu embryonalen und gewebespezifischen Stammzellen bearbeitet und damit die Voraussetzungen für die Erarbeitung regenerativer Zellsysteme geschaffen. Ein besonderer Schwerpunkt der Stammzellforschung wird in Dresden mit dem von der DFG gegründeten Forschungszentrum „Regenerative Therapien“ entstehen.

Es ist immer wieder thematisiert worden, in welchem Umfang die Forschung an humanen ES-Zellen finanziert wird. Laut DFG-Datenbank gibt es derzeit etwa 140 Projekte zum Thema Stammzellen. Diese sind mit einem Finanzvolumen von ungefähr 21 Millionen Euro ausgestattet (einschließlich der Projekte im Schwerpunktprogramm 1109 „Embryonale und gewebespezifische Stammzellen – Regenerative Systeme für einen Zell- und Gewebeersatz“).

Innerhalb all dieser Programme wird lediglich in vier Projekten mit einem Fördervolumen von etwa 1,6 Millionen Euro mit humanen ES-Zellen gearbeitet, das heißt insgesamt ein sehr geringer Prozentsatz im Vergleich zur Forschung an adulten Stammzellen sowie zur Gesamtförderung der Zellbiologie.

Das Bundesministerium (BMBF) finanziert und unterstützt die Stammzellforschung vorwiegend in Form großer Verbundprojekte. Innerhalb dieser Schwerpunkte wurden bisher vorwiegend Projekte mit adulten Stammzellen oder mit Stammzellen der Maus und anderen Modellorganismen gefördert, sowie Projekte im Bereich des Tissue Engineering. Erst in einem vor kurzem angelaufenen Forschungsverbund zur regenerativen Medizin ist auch die Forschung an humanen ES-Zellen eingeschlossen.

Auch in Forschungsprojekten im 6. Rahmenprogramm der Europäischen Union wird mit Stammzellen gearbeitet, vorwiegend mit murinen ES-Zellen und mit adulten Stammzellen. Nur in einigen ausgewählten Projekten sind hES-Zellen Forschungsobjekt. Auf die Probleme deutscher Forscher auf dem Gebiet der hES-Zellforschung bei der Beteiligung an EU-Projekten wurde bereits hingewiesen. Kürzlich hat das Europaparlament über die Förderung der Forschung an hES-Zellen abgestimmt und mit knapper Mehrheit die Förderung der hES-Zellforschung mit EU-Geldern im 7. Rahmenprogramm gebilligt. Nach dem Votum des Europaparlaments könnten dann auch Projekte gefördert werden, die nicht dem deutschen StZG entsprechen. Ausgeschlossen bleiben sollen jedoch weiterhin Projekte, die auf die Klonierung menschlicher Embryonen oder die Änderung des menschlichen Erbguts abzielen; ebenso soll die Züchtung von Embryonen zu Forschungszwecken von der Förderung ausgeschlossen bleiben.

6 Schlußfolgerungen

Die Stammzellforschung hat ein großes Potential für die Entwicklung regenerativer Zellsysteme. Jedoch ist bis zur Überführung der Erkenntnisse der Stammzellforschung in die klinisch-medizinische Praxis noch ein sehr langer Weg zu gehen und eine Fülle von offenen Fragen zu beantworten.

So besteht ein erstes Ziel darin, alle tierischen Zellen und Zellprodukte aus den Stammzellkulturen zu entfernen. Des weiteren müssen die Wachstumsfaktoren identifiziert werden, die zur kontrollierten Vermehrung und Entwicklung der Stammzellen dienen. Hier sind insbesondere die Zell- und Molekularbiologie und die Genom- und Proteomforschung (Genomics, Proteomics) gefordert. Eine molekulare Definition der Stammzellen und der Pluripotenz („stemness“) ist erforderlich. Es werden hochselektive Isolationsverfahren für Spenderzellen benötigt, mit deren Hilfe die Bildung von Tumoren ausgeschlossen werden kann. Ein weiteres Ziel liegt in der Erweiterung der Entwicklungsfähigkeit adulter Stammzellen. Hier wird in der Zukunft der Epigenetik eine besondere Rolle zukommen, indem mit epigenetischen Modifikationen die Entwicklungsfähigkeit von Stammzellen erhöht und Prozesse der Reprogrammierung untersucht werden können. Weiterhin sind Kulturbedingungen zu etablieren, um endogene Kontrollmechanismen und exogen gesteuerte Signalwege zu analysieren. Therapie-relevante Gene können in Stammzellen eingeführt werden. Für eine funktionelle Analyse der Stammzellaktivität sind verbesserte Tiermodelle, insbesondere auch von höheren Säugern (Schwein, Hund, sowie nicht-menschliche Primaten) erforderlich. Ferner müssen auf internationaler Ebene Qualitätsstandards für die Gewinnung und die therapeutische Nutzung von Stammzellen definiert werden.

Die Perspektiven für den Einsatz von Stammzellen in Medizin und Grundlagenforschung liegen nicht nur im Bereich der regenerativen Zelltherapien, sondern auch auf dem Gebiet der Krebsforschung. Die Testung medizinischer Wirkstoffe und Pharmaka an Stammzell-Modellsystemen ist ein weiteres Anwendungsfeld. Darüber hinaus kann die Stammzellforschung auch einen Beitrag zur Analyse der Embryonalentwicklung *in vitro* liefern. Letztendlich werden die Erkenntnisse der Stammzellforschung Informationen über die Entstehung, Diagnose und Therapie von Krankheiten erbringen.

Hieraus ergeben sich die folgenden Schlußfolgerungen: Um weitere Nachteile für die Stammzellforschung zu vermeiden, müssen auch in Deutschland Möglichkeiten geschaffen werden, nach wissenschaftlichen Grundsätzen mit humanen ES-Zellen zu arbeiten. Als Lösung aus dem „deutschen Dilemma“ wird die Novellierung der Stichtagsregelung im Stammzellgesetz in Form eines flexiblen (oder „nachlaufenden“) Stichtags vorgeschlagen. Dies ist durchaus möglich, ohne dabei die ethischen Grundprinzipien aufzugeben, die in der Diskussion um die humane Stammzellforschung in Deutschland maßgeblich waren und sind. Denn mit einer sogenannten „nachlaufenden“ Stichtagsregelung wäre kein neuer Embryonenverbrauch für die Etablierung von hES-Zelllinien verbunden, da nur mit bereits im Ausland vorhandenen etablierten hES-Zellen gearbeitet würde.

Die Interaktion zwischen der grundlagenorientierten Stammzellforschung und dem eher anwendungsorientierten Tissue Engineering muß verbessert werden. Tissue Engineering erfordert das Vorhandensein vermehrungs- und entwicklungsfähiger Zellen, eine Anforderung, die nur von Stammzellen erfüllt wird. Dabei können Erkenntnisse der Grundlagenforschung unmittelbar in therapieorientierte angewandte Forschung einmünden. Die Etablierung eines gesamtdeutschen Netzwerks zur Stammzellforschung wäre ein weiteres wünschenswertes Ziel.

Die Forschung an embryonalen und somatischen Stammzellen ist derzeit noch der Grundlagenforschung zuzurechnen, aber therapieorientierte *Forschung* ist erforderlich. Klinische Studien mit adulten Stammzellen werden bereits in vielen Ländern durchgeführt, aber erste klinische Studien mit humanen ES-Zellen zur Neuroregeneration sind angekündigt.

Es ist unstrittig, daß weder die embryonalen noch die somatischen Stammzellen alle Kriterien erfüllen, die an den idealen Zelltyp für Zellersatztherapien gestellt werden müßten: Vermehrbarkeit *in vitro*, gerichtete und selektive Entwicklung des gewünschten Zelltyps *in vitro*, Gewebeverträglichkeit und ethische Unbedenklichkeit. Deshalb muß Forschung sowohl an embryonalen als auch an adulten Stammzellen gefördert werden, um zukünftige Verfahren regenerativer Therapiestrategien zu erarbeiten. Aus der gleichzeitigen Förderung von Forschungsarbeiten an *allen* Stammzelltypen werden sich Synergien entwickeln, die das Gebiet der regenerativen Medizin insgesamt befruchten werden.

Ausgewählte Übersichtsarbeiten zur Stammzellforschung

- Guhr, A., Kurtz, A., Friedgen, K. & P. Löser: Current state of human embryonic stem cell research: An overview of cell lines and their usage in experimental work. In: *Stem Cells*, 2006, June 15 (Epub ahead of print).
- Lemoli, R. M., Bertolini, F., Cancedda, R., De Luca, M., Del Santo, A., Ferrari, G., Ferrari, S., Martino, G., Mavilio, F., & S. Tura: Stem cell plasticity: time for a reappraisal? In: *Haematologica* 90 (2005), S. 360–381.
- Wagers, A. J. & I. L. Weissman: Plasticity of adult stem cells. In: *Cell* 116 (2004), S. 639–648.
- Wobus, A. M. & K. R. Boheler: Embryonic stem cells: Prospects for developmental biology and cell therapy. In: *Physiol. Rev.* 85 (2005), S. 635–678.
- Wobus, A. M., Hucho, F., van den Daele, W., Köchy, K., Reich, J., Rheinberger, H.-J., Müller-Röber, B., Sperling, K., Boysen, M. & M. Kölsch: Stammzellforschung und Zelltherapie – Stand des Wissens und der Rahmenbedingungen in Deutschland, Berlin-Brandenburgische Akademie der Wissenschaften (Hg.), Band 15, München: Elsevier Spektrum Akademischer Verlag, 2006.

Danksagung

Herrn Dr. Löser, Geschäftsstelle der Zentralen Ethikkommission für Stammzellforschung (ZES) am Robert-Koch-Institut und Frau Dr. Annette Schmidtman, Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), danke ich für wertvolle Informationen.