

Stammzellforschung und Zelltherapie

Stand des Wissens und der Rahmenbedingungen in Deutschland

Supplement zum Gentechnologiebericht

Anna M. Wobus, Ferdinand Hucho, Wolfgang van den Daele,
Kristian Köchy, Jens Reich, Hans-Jörg Rheinberger, Bernd Müller-Röber,
Karl Sperling, Mathias Boysen, Meike Kölsch

mit Beiträgen von Christine Hauskeller und Jochen Taupitz

Vorwort

Als Ergänzung und Fortschreibung des Gentechnologieberichts der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften legt die *Interdisziplinäre Arbeitsgruppe Gentechnologiebericht der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften* das Supplement „Stammzellforschung und Zelltherapie“ vor. Stammzellforschung befasst sich nicht im engeren Sinn mit Gentechnologie, da sie nicht primär Veränderungen von DNA zum Ziel und rekombinante DNA-Techniken als Werkzeug hat. Die *Interdisziplinäre Arbeitsgruppe Gentechnologiebericht* bezieht sie dennoch in ihre Arbeit ein, weil sie in der öffentlichen Wahrnehmung zu den Hoffnungsträgern und Problemfeldern aktueller Lebenswissenschaften gerechnet wird. Technisch ist diese Wahrnehmung durchaus sinnvoll, denn Forschungsarbeiten mit Stammzellen beinhalten neben der Analyse der Regeneration, des Ersatzes und der Reparatur von Zellfunktionen auch die Reparatur genetischer Defekte auf molekularer und zellulärer Ebene. Hierbei können Stammzellen als Vehikel für therapeutisch wirksame Gene und Genprodukte verwendet werden. .

Wie der erste deutsche Gentechnologiebericht, der im September 2005 erschienen ist, folgt auch das Supplement „Stammzellforschung und Zelltherapie“ einer bestimmten Systematik des Vorgehens: Im Zentrum steht eine sorgfältige und umfassende Darstellung des Standes der Wissenschaft und der Technik. Sie soll auf hohem wissenschaftlichem Niveau Referenz und faktische Diskussionsgrundlage sein, wäre aber wenig nützlich, wenn sie nicht in den Kontext der ethischen, juristischen und gesellschaftspolitischen Dimensionen eingebettet wäre. Die Arbeitsgruppe der BBAW sieht sich als eine unparteiische Instanz, die die verschiedenen Anwendungen der Gentechnologie kritisch beobachtet. Sie hat sich hierfür ein Instrumentarium geschaffen, indem sie Indikatoren als Grundlage für die Beschreibung und Bewertung dieser zukunftsweisenden Technologie definiert. Anhand der Indikatoren wurde das umfangreiche Datenmaterial gesichtet. Unter Einbeziehung der nicht-fachwissenschaftlichen Querschnittsdimensionen ermöglicht dieses Vorgehen konkrete Schlüsse, im vorliegenden Text als Kernaussagen zusammengefasst, und führt schließlich zur Definition von Handlungsbedarf, bezogen auf die Forschung selbst, aber vor allem auch auf die Festsetzungen der politischen Rahmenbedingungen. Die Methodik dieses Vorgehens wird in Kapitel 3 der vorliegenden Schrift dargelegt.

Wie viele der medizinisch relevanten Gebiete der Lebenswissenschaften entwickelt sich die Zellbiologie und insbesondere die Stammzellforschung in unseren Tagen explosionsartig. Das Supplement gibt den Stand von November 2005 wieder. Wie für den Gentechnologiebericht insgesamt ist eine Aktualisierung in sinnvollem zeitlichem Abstand vorgesehen. Wir sehen den Wert des „Observatoriums Gentechnologiebericht“ gerade in seiner Fortschreibung der Darstellung des Observandums. Trends und Entwicklungen (inkl. Fehlentwicklungen) lassen sich am besten aus Zeitreihen relevanter durch Indikatoren abbildbarer Daten entnehmen.

Im Unterschied zu den anderen Themengebieten des Gentechnologieberichts (Genomforschung, medizinische Diagnostik, Pflanzenzüchtung, wirtschaftliche Bedeutung der Gentechnologie), kann bei der vorliegenden Studie zur Stammzellforschung noch nicht auf zurückliegende Zeiträume Bezug genommen werden. Daher betritt die vorliegende Analyse Neuland, indem sie versucht, ausgehend vom derzeitigen wissenschaftlichen Stand Problemfelder und Indikatoren zu definieren, die – aus heutiger Sicht – den Fortschritt des Gebiets zukünftig widerspiegeln könnten.

Ferdinand Hucho

Sprecher der Arbeitsgruppe Gentechnologiebericht an der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften

Inhalt

1.	Einleitung	9
2.	Zusammenfassung und Kernaussagen	13
	Zusammenfassung	13
	Kernaussagen	20
3.	Methodik des Berichts: Problemfelder und Indikatoren	23
4.	Stand des Wissens und der Technik	33
4.1	Embryonale Stammzellen	33
4.1.1	Eigenschaften embryonaler Stammzellen der Maus	33
4.1.2	Eigenschaften humaner embryonaler Stammzellen	39
4.1.3	Embryonale Stammzellen anderer Spezies und alternative Stammzellmodelle	44
4.2	Genetische Manipulation embryonaler Stammzellen	49
4.2.1	Ungerichtete Transgenese	50
4.2.2	Gen-Targeting	52
4.3	In vitro-Differenzierungspotenzial embryonaler Stammzellen	53
4.3.1	Ektodermale Differenzierung	56
4.3.2	Mesodermale Differenzierung	57
4.3.3	Endodermale Differenzierung	60
4.3.4	Keimzeldifferenzierung	61
4.4	Alternative Verfahren zur Gewinnung von ES-Zellen und somatischer Zellkerntransfer (SCNT-Technik, „therapeutisches Klonen“)	63
4.4.1	Alternative Zellquellen zur Etablierung von hES-Zellen	63
4.4.2	„Therapeutisches Klonen“ („somatic cell nuclear transfer“, SCNT-Technik)	66
4.4.3	Alternative Verfahren für Reprogrammierungsversuche mit Hilfe von SCNT-Techniken	69

4.5	Adulte Stammzellen	72
4.5.1	Funktion adulter Stammzellen im Organismus	72
4.5.2	Eigenschaften adulter Stammzellen und Stammzellmarker	75
4.5.3	Plastizität im Entwicklungspotenzial von adulten Stammzellen in vivo	77
4.5.4	Plastizität und „multilineage“ Potenzial in vitro	81
4.6	Molekulare Charakteristika von embryonalen und adulten Stammzellen (Genomics, Proteomics)	86
4.6.1	Microarrays	88
4.6.2	Serielle Analyse der Genexpression (SAGE)	90
4.6.3	Proteomanalysen	93
5.	Anwendungen	95
5.1	Einsatz von Stammzellen in Grundlagen- und angewandter Forschung	95
5.1.1	Embryonale Stammzellen als Zellmodelle der Entwicklungsbiologie und Pathologie	95
5.1.1.1	„Gene Trapping“	95
5.1.1.2	„Gene Targeting“ zur Untersuchung der Embryonalentwicklung	97
5.1.1.3	Entwicklungs- und Krankheitsmodelle	99
5.1.1.4	Neue genetische Strategien	100
5.1.1.4.1	Extrachromosomale Expression	100
5.1.1.4.2	„Recombineering“	102
5.1.1.4.3	RNA-Interferenz	103
5.1.1.4.4	Expressionsprofiling von ES-Zellen	104
5.1.2	Stammzellen in Pharmakologie und Embryotoxikologie	104
5.2	Stammzelltherapien	107
5.2.1	Anforderungen an Stammzelltherapien	107
5.2.1.1	Genetische und epigenetische Veränderungen	108
5.2.1.2	Stammzellen und Tumorentstehung	110
5.2.1.3	Aufreinigung und Selektion von Zellen	112
5.2.1.4	Nachweis der gewebespezifischen Funktion in Tiermodellen	115

	Inhalt	
5.2.1.5	Immunogenität und Transplantatabstoßung	117
5.2.2	Zelltherapie-Strategien	119
5.2.2.1	Stammzellen zum Ersatz von Herzzellen	121
5.2.2.2	Stammzellen zum Ersatz von Nervenzellfunktionen bei Morbus Parkinson	130
5.2.2.3	Stammzellen zur Behandlung von Diabetes	133
5.2.3	Ausblick	138
6.	Ethische Implikationen: Menschenwürde, Freiheit der Forschung und Missbrauchsgefahr – Die ethische Debatte zur Stammzellforschung in Deutschland zwischen 1999 und 2005	141
6.1	Geschichte und Überblick	141
6.2	Komplexität der ethischen Probleme der Stammzellforschung	144
6.3	Schutz der Menschenwürde und Freiheit der Forschung – ein Grundrechtskonflikt	148
6.4	Missbrauchsgefahr und Menschenwürde. Die Angst vor schleichenden Veränderungen	153
6.5	Austragungsorte der Diskussion	155
6.5.1	Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG)	156
6.5.2	„Fortpflanzungsmedizin in Deutschland“	157
6.5.3	Die „Zeitungsdiskussion“	159
6.6	Abschließende Überlegungen zur Ethikdebatte in Deutschland	160
7.	Rechtliche Rahmenbedingungen der Forschung mit menschlichen Embryonen und embryonalen Stammzellen	165
7.1	Die einfachgesetzliche Lage	165
7.1.1	Das Embryonenschutzgesetz	165
7.1.1.1	Zielsetzung	165

7.1.1.2	Der Embryo im Sinne des Embryonenschutzgesetzes	166
7.1.1.3	Die einzelnen Verbotstatbestände des Embryonenschutzgesetzes	166
7.1.2	Das Stammzellengesetz	169
7.1.2.1	Zielsetzung und Grundkonzept	169
7.1.2.2	Voraussetzungen hinsichtlich der Stammzellgewinnung im Ausland	170
7.1.2.3	Voraussetzungen hinsichtlich der Stammzellforschung im Inland	172
7.1.2.4	Stammzelltherapien	174
7.1.3	Fazit: Wirkung der rechtlichen Rahmenbedingungen auf die Forschung	175
7.2	Die verfassungsrechtlichen Vorgaben	176
7.2.1	Die Wissenschaftsfreiheit nach Art. 5 Abs. 3 GG	176
7.2.2	Verfassungsrechtlicher Schutz menschlicher Embryonen	177
7.2.2.1	Der Schutz menschlichen Lebens	177
7.2.2.2	Der Schutz der Menschenwürde	179
7.2.2.3	Konkretisierung: Die Forschung mit Embryonen und embryonalen Stammzellen	180
7.2.3	Verfassungsrechtliche Rechtfertigung einer Beschränkung des Imports embryonaler Stammzellen aus dem Ausland?	183
7.2.4	Fazit: Beurteilung der verfassungsrechtlichen Vorgaben	186
8.	Erhobene Indikatoren und Indikatorenkennblätter	187
9.	Handlungsbedarf	241
10.	Literatur und Verzeichnisse	243
	Literatur	243
	Abbildungen	265
	Tabellen	268
	Abkürzungen	270
11.	Glossar	275
12.	Stichwortregister	289

1. Einleitung

Die Entwicklung der Medizin und des Gesundheitswesens in den westlichen Industrienationen hat zu einer signifikanten Erhöhung des Lebensalters der Bevölkerung geführt. Damit verbunden ist eine Zunahme von degenerativen Erkrankungen älterer Menschen, die zu einem Verlust von Körperfunktionen, Vitalität und Lebensqualität führen. Klassische Therapiemaßnahmen, wie die Gewebe- und Organtransplantation, sind durch die begrenzte Verfügbarkeit von Spenderorganen limitiert. Zell- und Gewebeersatz auf der Grundlage humaner Stammzellen könnte dagegen die Situation der Transplantationsmedizin für viele Krankheiten verbessern, zum Beispiel bei Krankheiten des Herzens, der Leber oder der Bauchspeicheldrüse (Diabetes), oder erst ermöglichen, wie zum Beispiel bei Morbus Parkinson oder Multipler Sklerose. Stammzellen besitzen somit eine große Bedeutung für zukünftige Strategien der regenerativen Medizin. Ein wichtiges Ziel der derzeitigen Stammzellforschung ist es, die molekularen und zellulären Grundlagen der Vermehrung und Differenzierung humaner Stammzellen zu erarbeiten um daraus Therapieverfahren für eine medizinische Anwendung zu entwickeln.

Der Forschungsstandort Deutschland ist hierbei keineswegs als schlecht zu bewerten: Zell- und Entwicklungsbiologie sind in Deutschland hoch entwickelte Fachdisziplinen. In Zusammenhang mit Molekulargenetik, Genom- und Proteomforschung sowie dem Tissue Engineering und der Polymerforschung bietet die Stammzellforschung die Grundlage für Entwicklungen auf dem Gebiet der Zelltherapie.

International haben bedeutende Entdeckungen der letzten 25 Jahre nicht nur wesentliche Erkenntnisse auf dem Gebiet der Zell- und Entwicklungsbiologie erbracht, sondern zugleich unser Verständnis über grundlegende Entwicklungsprozesse nachhaltig verändert. „Die Stammzellbiologie stellt wie die Genomforschung die klassische Perspektive der Lebenswissenschaften auf den Kopf. Ging es in der Forschung immer um das rückblickende Ergründen von Ursachen, so steht bei der Stammzellforschung vorausblickend das Potenzial, das Mögliche, im Mittelpunkt. Die überraschende Einsicht ist, dass unser Leben eine fortgesetzte Entfaltung von Möglichkeiten ist und Entwicklung nie aufhört“ (Wormer, 2003).

Zu den Meilensteinen der Forschung zählen die Etablierung von pluripotenten embryonalen Stammzell-Linien der Maus (1981) und des Menschen (1998) sowie die Entwicklung

von Mausmodellen für genetische Krankheiten durch homologe Rekombination in embryonalen Stammzellen der Maus bereits 1987. Insbesondere die Reprogrammierung von somatischen Zellen nach Kerntransfer in entkernte Eizellen im Jahr 1997, die zur Schaffung des Klonschafs „Dolly“ führte, sowie der Nachweis, dass sich embryonale Stammzellen *in vitro* zu Keimzellen entwickeln können (2004), haben ein Grundgesetz der Entwicklungsbiologie – dass sich eine einmal spezialisierte Körperzelle höherer Vertebraten nicht mehr in ein embryonales Stadium zurückentwickeln kann – außer Kraft gesetzt. Ein ähnlicher Paradigmenwechsel erfolgte auf dem Gebiet der adulten Stammzellforschung, nachdem Experimente zeigten, dass adulte Stammzellen unter bestimmten Bedingungen sich offenbar nicht nur in Zellen ihrer eigenen „Linie“, sondern auch in Zelltypen „fremder“ Gewebe entwickeln können und damit über ein größeres Entwicklungspotenzial verfügen als bis dahin vermutet worden war.

Erste Erfolge bei der Bereitstellung konkreter Therapien zeigen sich bereits auf dem Gebiet des Tissue Engineerings (Knorpelregeneration, Hauttransplantation, Herzklappenersatz, Leberzellen als Bioreaktor). Die weitere Entwicklung des Tissue Engineerings ist jedoch – neben Problemen der Finanzierung und des Marketings – durch die begrenzte Verfügbarkeit von Zellen limitiert. Aus diesem Grund ist insbesondere auch die weitere Entwicklung der Stammzellforschung erforderlich. Wegen der großen Bedeutung der Stammzellforschung für die regenerative Medizin sind auf diesem Gebiet besondere Anstrengungen in wissenschaftlicher, finanzieller und organisatorischer Hinsicht erforderlich. Der Erfolg dieser Anstrengungen wird in erheblichem Umfang von gesellschaftspolitischen Rahmenbedingungen und gesetzlichen Grundlagen (insbesondere hinsichtlich der embryonalen Stammzellforschung) abhängen. Wichtig ist dabei auch die verantwortungsvolle Diskussion ethischer Grundprinzipien und die fachgerechte Vermittlung und Verankerung neuer Technologien in der Gesellschaft. Hierzu will das Supplement zum Gentechnologiebericht der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaft (Hucho et al., 2005) einen Beitrag leisten. Ausgehend von den Gebieten „Stammzellforschung“ und „Zelltherapie“ wird unter anderem vier Leitfragen nachgegangen:

- 1. Wo liegen Potentiale und Grenzen der Stammzellforschung, was kann Zelltherapie in der medizinischen Praxis derzeit leisten?**

2. Welche ethischen und rechtlichen Probleme sind im Kontext der Stammzellforschung zu lösen?
3. Wie ist Deutschland als internationaler Forschungs- und Wissenschaftsstandort positioniert?
4. Wie bestimmt die gesellschaftliche Diskussion zur Stammzellforschung wissenschaftspolitische Entscheidungen, welche ethischen Konfliktfelder wirken auf die öffentliche Diskussion?

2. Zusammenfassung und Kernaussagen

Zusammenfassung:

Die Regeneration geschädigter, verletzter, degenerierter oder abgestorbener Zellen und Zellverbände erfolgt im gesunden Organismus durch Teilung und Differenzierung spezialisierter Stammzellen. Die universelle Gültigkeit dieses Prinzips für alle Säugetierarten, einschließlich des Menschen, wurde erst in den letzten zwei Jahrzehnten erkannt. Wo Zellen oder Gewebe sich regenerieren können, sind dafür Stammzellen oder entwicklungsfähige Vorläuferzellen verantwortlich. Wo Regeneration nicht möglich ist, sind entweder keine Stammzellen vorhanden oder sie sind defekt bzw. in ihrer Funktion beeinträchtigt.

Im Organismus befinden sich die aktivsten Stammzellen in den Krypten des Darmepithels, im Knochenmark und in der Haut. Im Knochenmark gibt es die blut- und immunzellbildenden Stammzellen, mesenchymale Stammzellen, Stromazellen, sowie endotheliale Progenitorzellen.

Diese Stammzelltypen sind im erwachsenen Leben ständig und bei speziellem Bedarf, nach Schädigung oder Verlust, hochaktiv. Daneben wurden Stammzellen auch in Geweben nachgewiesen, die im erwachsenen Organismus in geringerem Umfang zur Erneuerung befähigt sind, zum Beispiel im Skelettmuskel, in der Bauchspeicheldrüse, in der Netzhaut des Augenhintergrundes, im Zentralnervensystem oder im Herzmuskel. Letztendlich würde Leben ohne die Aktivität von Stammzellen nicht möglich sein.

Diese Stammzelltypen bezeichnet man als somatische oder adulte Stammzellen. Gemeinsam kennzeichnet sie, dass sie im erwachsenen Organismus vorhanden und meist funktionsfähig sind und dass sie in der Regel auf die Produktion bestimmter Zelltypen spezialisiert sind.

Dabei können Stammzellen zum einen die eigene Population vermehren und zum anderen differenzierte Zelltypen bei Erhaltung der eigenen Populationszahl regenerieren.

Stammzellen funktionieren nicht spontan, sondern antworten auf stimulierende oder hemmende Steuersignale. Diese enthalten sie entweder aus dem Gewebe, in dem sie sich wie in einer „Nische“

aufhalten oder in das sie einwandern, oder sie empfangen Signale aus dem Gesamtorganismus. Die für die Steuerung der Stammzellfunktion erforderlichen Signale bilden ein komplexes funktionelles Netzwerk, dessen komplexe Interaktionen noch weitgehend unbekannt sind.

Stammzellen funktionieren nicht nur in dem Gewebe, in dem sie sich befinden, sondern sie können auch in andere Organe übertragen werden (z. B. im Fall von Eigenhauttransplantation). Möglich ist es außerdem, Stammzellen des Knochenmarks zu isolieren und in einen anderen Organismus zu übertragen (z. B. Stammzelltransplantation nach Ganzkörper-Chemotherapie). Hierbei tritt das Problem auf, dass die zellulären Produkte aus Stammzellen immunologisch individuell (genetisch determiniert) sind und somit vom Immunsystem des Empfängers erkannt und bei Unverträglichkeit abgestoßen werden. Transplantierte Knochenmarkszellen können ihrerseits die Zellen des Empfängers als fremd erkennen (allogen) und abstoßen. Produkte aus Stammzellen des gleichen Organismus sind hingegen voll kompatibel (autolog).

Mit Ausnahme der Knochenmarkstammzellen sind adulte Stammzellen im Gewebe nur schwer aufzufinden und in gutem Funktionszustand sowie bei befriedigender Ausbeute zu isolieren. Außerdem bereitet die Vermehrung in Zellkultur Schwierigkeiten. Bei einer therapeutischen Knochenmarkspende werden die Stammzellen deshalb direkt transplantiert. Andere Stammzellen sind offenbar besonders streng konditioniert, vermutlich durch extrazelluläre Signalmoleküle, sodass sie nur in der spezifischen Gewebenische proliferieren können, dort allerdings unter Umständen sehr aktiv, wie zum Beispiel intestinale Stammzellen, die das gesamte Darmepithel in drei bis fünf Tagen erneuern. Dagegen teilen sich neuronale Stammzellen im Körper nur sehr langsam, während sie *in vitro* im gewissen Umfang vermehrbar sind.

Unter den adulten Stammzellen lassen sich vor allem die mesenchymalen Stammzellen des Knochenmarks gut kultivieren. Sie stehen daher im Mittelpunkt des Interesses der Zell- und Gewebezüchtung, dem so genannten Tissue engineering und können sich auch *in vitro* unter anderem in Knorpel-, Knochen- und Skelettmuskelzellen entwickeln.

Im vorgeburtlichen Leben spielen Stammzellen eine besondere Rolle, da hier Zellvermehrung und Gewebeerzeugung in einem geordneten entwicklungsbiologischen Prozess stattfinden.

Embryonale Stammzellen (ES-Zellen) sind im Gegensatz zu adulten Stammzellen (AS-Zellen) noch nicht auf die Bildung einzelner Zell- und Gewebetypen spezialisiert, sondern können als Vorläufer sämtlicher Zelltypen des Organismus fungieren. Während der weiteren embryonalen Entwicklung werden fetale Stammzelltypen gebildet, die in ihren funktionellen Möglichkeiten zwischen den embryonalen und den adulten Stammzellen stehen. Von besonderer Bedeutung sind außerdem die Keimbahn-Stammzellen („embryonic germ cells“, EG-Zellen) und Stammzellen aus dem Nabelschnurblut des Neugeborenen.

ES-Zellen sind bei Mäusen aus den Blastozysten gut zu isolieren. Sie sind zudem in der Lage, sich in Kultur zu vermehren und eine so genannte permanente Zelllinie zu bilden. Diese ES-Zellen degenerieren nicht wie andere (somatische) Zellkulturen von Säugetieren nach einigen Dutzend Zellteilungen, sondern bleiben über viele Zellteilungen nahezu unbegrenzt funktions- und teilungsfähig. Diese Eigenschaft ist ein wesentlicher Grund dafür, dass ein starkes Interesse an der Erforschung und möglichen Nutzung von ES-Zellen besteht. Dabei konzentriert sich die Forschung sowohl auf Zellen der Labormaus (murine ES-Zellen) sowie auf embryonale Stammzellen des Menschen (humane ES-Zellen), die in zahlreichen Labors weltweit als permanente Zelllinien in Kultur gehalten werden.

Mit der erfolgreichen Herstellung der ersten nt-ES-Zell-Linien, die nach Kerntransfer adulter Zellen in (Maus) Eizellen aus den frühen Embryonalstadien generiert wurden (und deren Entwicklungseigenschaften wohl denen von „normalen“ ES-Zellen entsprechen), werden diese nt-ES-Zelllinien zukünftig von ganz besonderem Interesse sein.

Bisherige Versuche, Keimbahnstammzellen als pluripotente embryonale Keimzelllinien (EG-Zellen) aus den primordialen Keimzellen abgestorbener Föten zu kultivieren, waren weniger erfolgreich, da EG-Zelllinien offenbar nur begrenzt vermehrungs- und entwicklungsfähig sind.

Die Kultivierungsmöglichkeiten und der therapeutische Nutzen von Nabelschnurblut-Stammzellen des Neugeborenen sind gegenwärtig noch nicht ausreichend aufgeklärt. Wenn sich die Kultivierungstechniken erfolgreich etablieren ließen, könnte man tiefgefrorenes Eigenblut aus der Plazenta des Neugeborenen für spätere therapeutische Rücktransplantation auf den Spender oder mit diesem immunkompatiblen Empfänger einsetzen.

Die Verwendung von humanen ES-Zellen für Forschungs- und Therapiezwecke stößt aus ethischen Gründen auf verbreitete Ablehnung. Geltend gemacht wird, dass Spenderzellen aus entwicklungsfähigen frühen embryonalen Zellen oder Zellverbänden (Innere Zellmasse von Blastozysten) gewonnen und dabei menschliche „Organismen“ geopfert würden. Solche Versuche wurden aus diesen Gründen in der Bundesrepublik Deutschland gesetzlich beschränkt. In Deutschland regelt das Stammzellgesetz (StZG, von Juni 2002) den ausnahmsweisen Import embryonaler Stammzellen des Menschen für hochrangige Forschungsziele. Nach einer Stichtagsregelung sind nur vor dem 1. Januar 2002 etablierte Linien zugelassen. In anderen Ländern (z. B. Großbritannien, Schweden) werden Etablierung und Verwendung von humanen ES-Zellen für streng geregelte Zwecke erlaubt. Argumentiert wird, dass es sich bei hES-Zellen nicht um menschliche Personen, sondern lediglich um zelluläre embryonale Vorstufen handle, die ohne Implantation in den Uterus einer Frau nicht zur Entwicklung eines Organismus führen. Bei der Verwendung von adulten Stammzellen bestehen Einwände aus ethischer Sicht nicht, da nur somatische Zellen des Spenderorganismus eingesetzt werden.

Neben der Stammzellforschung kommt der Reprogrammierung von adulten Körperzellen mit Hilfe von Eizellen durch die so genannte Kerntransfertechnik („somatic cell nuclear transfer“, SCNT, „therapeutisches Klonen“) eine potentielle Bedeutung zu. Allerdings stößt die Technik wegen der Nutzung von Eizellen in vielen Ländern, einschließlich Deutschlands, auf Ablehnung. An alternativen Verfahren, die keine Verwendung von Eizellen für eine Reprogrammierung adulter Stammzellen erfordern, wird jedoch gearbeitet.

Die Herstellung Patientenspezifischer ES-Zellen durch die SCNT-Technik wäre deshalb so bedeutsam und alternativlos, da sie es ermöglichen würde, die Pathomechanismen der spezifischen Krankheit (des Patienten) aufzuklären und dafür diagnostische und therapeutische Verfahren zu erarbeiten. Bei diesen Forschungen stünde zunächst die molekulare Analyse humangenetischer Krankheiten und nicht das zelltherapeutische Verfahren im Mittelpunkt. Letzteres würde erst mittel- und langfristig zum Tragen kommen.

Seit einigen Jahren wird postuliert, dass adulte Stammzellen unter bestimmten Bedingungen die Eigenschaft zur „Transdifferenzierung“ aufweisen. Dies hätte zur Folge, dass sie nicht streng auf die Bildung von differenzierten Zellen ihres Gewebetyps spezialisiert sind, sondern sich auch in „frem-

de“ Gewebe entwickeln könnten. In Tierversuchen wurde über zahlreiche „Transdifferenzierungen“ berichtet: Nachkommen von neuralen Stammzellen wurden beispielsweise als Blutzellen nachgewiesen, oder Knochenmarksstammzellen traten in Skelettmuskel, Leber, Lunge, Darm, Haut und Herz auf. Diese Befunde wären von großem medizinischem Interesse, da sie die Gewinnung von verschiedensten Zellen aus den relativ leicht zugänglichen Knochenmarkstammzellen erlauben würden. Die Ergebnisse konnten jedoch einer kritischen Überprüfung nicht standhalten. Es handelte sich meist um Fusionen von Spenderzellen mit Zellen im Gewebe des Empfängerorganismus. Allerdings scheinen adulte Stammzellen durchaus eine gewisse „Plastizität“/Flexibilität in ihrem Entwicklungspotential zu besitzen, die jedoch wesentlich geringer ist, als noch vor wenigen Jahren euphorisch postuliert. Wie hoch der Grad der Plastizität adulter Stammzellen jedoch tatsächlich ist, bzw. welche Verfahren (z. B. epigenetische Modifikation, Zellkultivierung) die Entwicklungsfähigkeit erhöhen könnten, ist Gegenstand intensiver Forschungen.

Humane ES-Zellen weisen eine besonders hohe Entwicklungsfähigkeit auf. Sie sind in der Lage, in zahlreiche Gewebezellen zu differenzieren, während ihre Vermehrung noch nicht optimal kontrolliert werden kann. Die Entwicklung von Nervenzellen gelingt relativ leicht, dagegen sind andere Zelltypen, wie Insulin-produzierende Zellen, schwerer zu gewinnen. Erschwerend kommt hinzu, dass in solchen Stammzellkulturen verschiedene Zelltypen nebeneinander und zusammen mit undifferenzierten Stammzellen auftreten. Die Aufreinigung und Isolierung solcher Zellen ist eine große technische Herausforderung. Voraussetzung ist die Kenntnis der zugrunde liegenden Differenzierungssignale, die an der Entwicklung des spezifischen Zelltyps beteiligt sind. Die entwicklungs- und zellbiologische Forschung an Säugern ist deshalb ein wichtiges begleitendes Gebiet der Stammzellforschung.

Es liegt auf der Hand, dass ES-Zellen für Therapieversuche an erkrankten Menschen so lange nicht eingesetzt werden dürfen, wie ihre Entwicklung zur malignen Entartung nicht zuverlässig unterbunden wird. Bei Therapieversuchen mit adulten Stammzellen aus dem Knochenmark des Menschen wurden solche Entwicklungen bisher nicht beobachtet. Neuerdings weisen Ergebnisse mit adulten – insbesondere mesenchymalen – Stammzellen aus dem Knochenmark unter bestimmten Bedingungen auf ein tumorbildendes Potential hin. Dies ist insofern nicht

verwunderlich, da eine kanzerogene Entartung in vielen Geweben tatsächlich auf Dysregulationen der Stammzell-spezifischen Signalmechanismen beruht. Die Analyse der Regulation von Signaltransduktionsmechanismen von Stammzellen und Tumorzellen bedarf dringend erhöhter Forschungsanstrengungen.

Bei der Übertragung von Stammzellen und ihren Abkömmlingen in einen Organismus tritt das Problem der gewebespezifischen und funktionell korrekten Integration des Transplantats auf. Während Abkömmlinge mesenchymaler Stammzellen sich im Tierversuch korrekt in Zellen der mesenchymalen Linie (Knorpel-, Knochen- oder Skelettmuskelgewebe) entwickeln, sind bestimmte therapeutische Erfolge nach der Transplantation von Knochenmarkstammzellen bei Herzinfarkt noch nicht verstanden. So wurde in einigen klinischen Studien nach Transplantation von Knochenmarkstammzellen in das Myokard von Herzinfarktpatienten eine bessere Pumpleistung des Herzens beobachtet, jedoch konnte eine direkte Umwandlung der transplantierten Knochenmarkstammzellen in Herzzellen nicht nachgewiesen werden. Derzeit wird diskutiert, dass von den Stammzellen abgegebene Faktoren zur Bildung neuer Blutgefäße führen, die indirekt zu einer verbesserten Durchblutung des geschädigten Herzens führen.

Die für die Zukunft erhoffte medizinische Anwendung von Stammzellen für die Heilung und Regeneration von Zellen und Geweben von erkrankten Menschen, insbesondere alter Menschen mit degenerativen Erkrankungen oder von Unfallopfern, könnte auf zwei verschiedenen Wegen erreicht werden:

Zum einen könnte eine Therapie mit gezielt isolierten oder *in vitro* entwickelten Stammzellen, entweder aus Stammzellen des Patienten selbst (autolog) oder von anderen Spendern (heterolog, allog), oder von reprogrammierten Zellen aus somatischen Geweben des Patienten (autolog), möglich werden. In diesem Fall müssten die Immunreaktionen beherrschbar oder modifizierbar sein.

Zum anderen würde die Erforschung von Stammzellen dazu dienen, Wirkprinzipien und Wirkstoffe aufzufinden, die es gestatten, die körpereigene Regeneration und Heilung zu aktivieren. Für diese Therapie wäre lediglich die Erforschung von Stammzellen im Vorfeld,

nicht ihre Verwendung im jeweiligen konkreten Fall erforderlich. Zugleich entfielen weitgehend die ethischen Bedenken (Herstellung humaner Stammzellen aus Embryonen) und die Sicherheitsprobleme (Tumorneigung, Immunreaktion) und würden nur in der Erforschungsphase zu berücksichtigen sein.

Für beide Therapiestrategien besteht ein großer Forschungsbedarf.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Zelltherapie mit Stammzellen des Knochenmarks für eine Reihe von Blutkrankheiten erfolgreich etabliert ist. Damit ist gezeigt worden, dass für die Stammzelltherapie der Nachweis der prinzipiellen Durchführbarkeit („proof of principle“) erbracht ist. Ein Erfolg der Transplantation von Knochenmarkstammzellen zur Behandlung anderer Krankheiten, zum Beispiel nach Herzinfarkt, ist in einigen Studien dokumentiert, aber in anderen Untersuchungen nicht belegt. Hierzu bedarf es dringend weiterer Tierversuchsexperimente und standardisierter („double-blind“, Placebo-kontrollierter) klinischer Studien.

Eine der wichtigsten Herausforderungen für das aufstrebende Gebiet der Stammzellforschung wird die Entwicklung von in-vitro-Kulturbedingungen sein, mit denen man aus Stammzellen in Kultur das gewünschte regenerative Potential erhalten und maximieren kann. Dafür wird man mehr über die extrinsischen Signale wissen müssen, die im Organismus *in vivo* die spezifischen Eigenschaften (self-renewal und Differenzierung) von Stammzellen kontrollieren. Ebenso müssen wir unsere Kenntnisse über die intrinsischen (endogenen) Signale und Netzwerke erweitern, die die Fähigkeit einer Stammzelle, auf vorgegebene Signalmoleküle zu reagieren, sowohl festlegen als auch begrenzen. Um detaillierte Einblicke in diese Prozesse zu erhalten, werden die Untersuchungen über die Mechanismen der Biologie embryonaler und adulter Stammzellen fortgesetzt und intensiv erweitert werden müssen, um solche Faktoren und Signalmechanismen zu identifizieren, die für einen therapeutischen Einsatz erforderlich sind. Obwohl zurzeit Behandlungsstrategien, die auf embryonalen Stammzellen aufbauen, beim Menschen nicht eingesetzt werden können, werden sich die neuen technischen Leistungen der Zell- und Molekularbiologie positiv auf die Forschung sowohl embryonaler als auch adulter Stammzellen auswirken und langfristig dazu führen, funktionstüchtige Gewebetransplantate für die klinische Anwendung herzustellen.

Die bisher erzielten Ergebnisse begründen die Stammzellforschung als Voraussetzung und Erfordernis für zukünftige medizinische Anwendungen. Für welche Krankheiten oder Störungen sich Stammzellen erfolgreich einsetzen lassen werden, kann gegenwärtig noch nicht gesagt werden. Für zahlreiche Anwendungen sind zelltherapeutische Verfahren noch keine medizinische Praxis, sondern befinden sich in der Phase von Zellkulturstudien und von Tierversuchen. Heilung mit Stammzellen sind derzeit noch weitgehend Zukunftsvision, wie zum Beispiel bei Hirnschädigung durch arteriell bedingten Schlaganfall, neurodegenerativen Erkrankungen, Typ-1 Diabetes, Multiple Sklerose, akute Leberatrophie nach Vergiftungen, Verletzungen der Nervenbahnen des Rückenmarks einschließlich Querschnittslähmung und erworbene Immunschwäche (AIDS).

Wie bei jeder Forschung, die in unbekanntes Neuland vorstößt, gibt es für solche Visionen im Einzelfall keine Erfolgsgarantie. Sicher ist, dass noch erhebliche Forschungsanstrengungen erforderlich sein werden, ehe zelltherapeutische Verfahren in messbarem Umfang Eingang in die klinische Praxis finden werden. Die Ergebnisoffenheit in die Zukunft kann und darf jedoch kein Argument gegen Forschungsarbeiten sein, die mit guten Gründen auf unbekanntes Terrain vorstoßen. Der Zell- und Gewebetherapie eine große Zukunft vorauszusagen, ist deshalb wissenschaftlich wohl begründet.

Kernaussagen:

- 1. Das hohe regenerative Potential embryonaler und adulter Stammzellen bildet die Grundlage für Forschungsarbeiten zur Entwicklung von Zelltherapiestrategien. Stammzellforschung wirkt darüberhinaus befruchtend auf andere Gebiete der Lebenswissenschaften, wie Tumorforschung, Altersforschung, Wirkstoffforschung, und ermöglicht die molekulare und zelluläre Analyse humangenetischer Krankheiten.**
- 2. Stammzellforschung ist derzeit vorwiegend der Grundlagenforschung zuzuordnen. Derzeit sind Therapien nur mit adulten Stammzellen – zum Beispiel Knochenmark-Transplantation zur Behandlung von Blutkrankheiten – möglich, bzw. werden in klinischen**

Studien überprüft. Dagegen sind Therapien mit embryonalen Stammzellen noch nicht möglich, aber erste klinische Studien sind anvisiert.

3. Gegenwärtig erfüllen weder embryonale noch adulte Stammzellen alle Kriterien, die an ideale regenerative Zellen gestellt werden müssten, wie unbegrenzte Verfügbarkeit, hohe und stabile Vermehrung *in vitro*, breites Entwicklungspotential, immunologische Verträglichkeit und ethische Unbedenklichkeit.
4. Der derzeit vorwiegend experimentelle Stand der Stammzellforschung erfordert Ergebnisoffenheit im Hinblick auf den zukünftigen Einsatz in der regenerativen Medizin. Aus der vergleichenden Erforschung sowohl embryonaler als auch adulter Stammzellen werden sich neue Erkenntnisse zur Biologie von Stammzellen gewinnen lassen, die auch in ethisch nicht umstrittene Therapiestrategien einfließen werden.
5. Die Reprogrammierung adulter Körperzellen mit Eizellen (SCNT-Technik, „therapeutisches Klonen“) könnte eine neue Methode der Zellbiologie zur Erforschung von Entwicklungs- und Alternsprozessen sowie von Pathomechanismen humangenetischer Krankheiten darstellen. Alternative Strategien zur Verwendung von Eizellen könnten in der Zukunft die ethisch umstrittene Gewinnung und Verwendung menschlicher Eizellen für Reprogrammierungsversuche umgehen.
6. Für Forschungsarbeiten an humanen embryonalen Stammzellen in Deutschland existiert mit dem Stammzellgesetz ein Erlaubnisvorbehalt, der wichtige Grundlagenforschung prinzipiell ermöglicht, ohne dass eigens dafür neue Zelllinien hergestellt werden müssten. Allerdings wird die Stichtagsregelung (nur Import von hES-Zellen, die vor dem 1. Januar 2002 hergestellt wurden) zunehmend zum Forschungshindernis, denn es wurden inzwischen ohne Mitwirkung deutscher Wissenschaftler zahlreiche neue und für viele Arbeiten besser geeignete Stammzelllinien hergestellt.
Aus ethischer Sicht kann die Begründung für ein willkürlich gesetztes Datum nicht überzeugen, da der ethische Status der Blastozysten nicht vom Verwendungsdatum abhängt.

7. Das Verbot der fremdnützigen Verwendung von menschlichen Embryonen und damit der Herstellung von hES-Zellen in Deutschland ist im Embryonenschutzgesetz und im Stammzellgesetz festgeschrieben und wird eingehalten. Die das Gesetz begründende moralische Verurteilung der Herstellung von hES-Zellen in Deutschland leitet sich allein aus dem Urteil ab, das der menschlichen Blastozyste den Status einer Person zuschreibt. Diese Zuschreibung ist nicht zwingend. Überdies gelten auch die ethischen Ziele der Forschung an hES-Zellen als hochwertig und geboten. Zwar kann wesentliche Grundlagenforschung auch an nicht-menschlichen ES-Zellen oder an adulten Stammzellen durchgeführt werden. Indes kann das Verbot der Forschung an neuen hES-Zellen zur Belastung der wissenschaftlichen Standortqualität Deutschlands führen, wenn in der Zukunft die Forschung an hES-Zellen zu entscheidenden Fortschritten führen sollte. Aber auch ohne dieses Ergebnis ist ein so einschneidendes Verbot, das in den meisten europäischen Ländern so nicht besteht, ein Motivationshindernis für junge Wissenschaftler, auf diesem Gebiet in Deutschland zu forschen, und für deutsche Unternehmen, in diese Forschung zu investieren.

3. Methodik des Berichts: Problemfelder und Indikatoren

Neuere und aufsehenerregende Erkenntnisse auf dem Gebiet der Stammzellforschung haben dazu geführt, dass Ergebnisse der Grundlagenforschung in diesem Forschungszweig weit über die Grenzen der Fachdisziplin in der Gesellschaft wahrgenommen werden. Die kontrovers und emotional geführte Diskussion in der Öffentlichkeit auch nach dem Inkrafttreten des Stammzellgesetzes (StZG) in Deutschland (1. Juli 2002) zeigte, wie unmittelbar ethische und rechtliche, aber auch ökonomische und soziale Fragen mit Stammzellforschung verknüpft sind. Die Diskussion demonstrierte auch, wie naturwissenschaftliche Forschungsergebnisse ethische Dispute beeinflussen, bzw. wie ethische Fragestellungen Einfluss auf die öffentliche Diskussion nehmen und darüber hinaus die naturwissenschaftliche Forschung selbst beeinflussen.

Grundsätzlich verfolgt die Stammzellforschung wie jede andere Disziplin medizinischer Grundlagenforschung das Ziel, die Gesundheit von Menschen und deren Lebensqualität zu verbessern. In der öffentlichen Wahrnehmung wird Stammzellforschung jedoch häufig in ganz anderen Kontexten wahrgenommen, die sich u.U. nicht mehr am naturwissenschaftlichen Sachstand orientieren, sondern andere, nicht-naturwissenschaftliche Aspekte in den Vordergrund stellen.

So wird Stammzellforschung zum Beispiel aus ökonomischer Perspektive als Schlüsseltechnologie definiert, die einem rohstoffarmen Land wie Deutschland Wirtschaftswachstum und Arbeitsplätze vorhersagt. Dabei konkurrieren nicht nur das Forschungsgebiet, sondern auch zukünftige therapeutische Anwendungen im globalen Wettbewerb um die effizientesten Wissenschaftsstandorte. Es ist daher naheliegend, dass von Seiten der Wissenschaft ein größeres finanzielles Engagement staatlicher und privater Institutionen gefordert wird.

Ein anderer, sozialwissenschaftlicher, Aspekt in der öffentlichen Wahrnehmung der Stammzellforschung und Zelltherapie ist zum Beispiel die Diskussion um die Kostenentwicklung im Gesundheitssystem. Sollten mit Stammzelltherapien Kostensteigerungen gegenüber heutigen Behandlungsmöglichkeiten verbunden sein, ist politisch zu vermitteln, ob und in welcher Höhe die eventuell steigenden Kosten das öffentliche Gesundheitssystem belasten oder negativ beeinflussen.

Diese Beispiele zeigen, dass es vom Blickwinkel des Betrachters abhängt, in welcher Weise bei der Beurteilung der Stammzellforschung naturwissenschaftliche, ethische, soziale, ökonomische oder rechtliche Aspekte im Vordergrund stehen. Und nicht selten divergieren bei komplexen Thematiken und Technologien die Problemwahrnehmung und -beschreibung von Laien und Fachleuten (Marris et al. 2001).

Um das Themengebiet der Stammzellforschung und ihrer zelltherapeutischen Anwendungen zu erfassen, wurden auf Basis der öffentlichen Diskussion zunächst Problemfelder definiert, die mit beiden Gebieten direkt oder indirekt assoziiert sind. Diese Problemfelder dienten als Ausgangspunkt für die Erstellung von Indikatoren. Zuvor wurden die Problemfelder in Bezug zu vier Leitdimensionen angeordnet. Diese vier Leitdimensionen „Ökonomie“, „Soziales“, „Wissenschaft“ und „Ethik“ bilden ein Koordinatensystem, in welches die einzelnen Problemfelder integriert wurden.

Da sich Stammzellforschung derzeit noch vorwiegend im Stadium der Grundlagenforschung befindet, bildet der Bereich „Wissenschaft“ eine zentrale Leitdimension. Entsprechend haben viele Problemfelder einen unmittelbaren Bezug zum Bereich der Naturwissenschaft und Grundlagenforschung. „Ethik“ wurde als Leitdimension gewählt, da einige grundlegende Konflikte im Bereich der Stammzellforschung auf gegensätzlichen ethischen Grundsatze positionen beruhen. Die Leitdimensionen „Soziales“ und „Ökonomie“ sind dagegen für die Stammzellforschung weniger spezifisch, sie definieren aber weitere Problemfelder, die in der Öffentlichkeit thematisiert werden. So wird Forschung an Stammzellen unter anderem mit sozialen Aspekten, wie zum Beispiel der Gesundheitsverbesserung, oder mit ökonomischen Zielen, wie zum Beispiel dem Wirtschaftswachstum, assoziiert.

Nicht als eigenständige Leitdimension konzipiert wurde im vorliegenden Fall der politisch-rechtliche Bereich. Obwohl Politik und Recht mit vielen Problemfeldern assoziiert sind, bilden sie eher den Rahmen zur Erreichung sozialer, ökonomischer oder wissenschaftlicher Ziele. Im vorliegenden Fall wurde der „Rechtsrahmen“ zwischen die Leitdimensionen „Wissenschaft“ und „Ethik“ positioniert.

Neben den Leitdimensionen sind die räumlichen und zeitlichen Bezugspunkte der Studie zu definieren. Im Hinblick auf die räumliche Situation wurde Deutschland als zentraler Bezugspunkt gewählt und im Vergleich zur internationalen Situation betrachtet. In zeitlicher Hinsicht ist die Analyse auf die Jahre 2000 bis 2005 fokussiert.

In der vorliegenden Studie wurden die Problemfelder vorwiegend aus der Sicht der Öffentlichkeit auf die Stammzellforschung und die Wahrnehmung von Stammzellforschung und Zelltherapie in der öffentlichen Diskussion definiert. Dabei trifft die Positionierung einzelner Problemfelder innerhalb des Koordinatensystems der Leitdimensionen (Abbildung 1) keine Aussage darüber, in welcher Intensität diese in der öffentlichen Diskussion mit „Stammzellforschung“ und „Zelltherapie“ assoziiert werden.

Ebenso wurden die Problemfelder aus der heutigen Sicht auf das Gebiet „Stammzellforschung“ definiert. Unter anderem standen folgende Fragen im Vordergrund (Kapitel 1):

1. Wo liegen Potentiale und Grenzen der Stammzellforschung, was kann Zelltherapie in der medizinischen Praxis derzeit leisten?

Hier wurden Problemfelder wie „Realisierung wissenschaftlicher Zielsetzungen“, „Realisierung therapeutischer Zielsetzungen“ und „Alternativen zur Zelltherapie“ definiert.

2. Welche ethischen und rechtlichen Probleme sind im Kontext der Stammzellforschung zu lösen, wie ist Deutschland als internationaler Forschungs- und Wissenschaftsstandort positioniert?

In diesem Kontext wurden unter anderem die Problemfelder „Forschungs- und Wissenschaftsstandort Deutschland“ und „Verwertungsdruck“ als gegenwärtig von zentraler Bedeutung ausgewählt.

3. Wie bestimmt die gesellschaftliche Diskussion zur Stammzellforschung wissenschaftspolitische Entscheidungen, welche ethischen Konfliktfelder wirken auf die öffentliche Diskussion?

Hier bilden die Problemfelder „Missbrauchsrisiko“, „Menschenwürde vs. Forschungsfreiheit“ und „Rechtsrahmen“ einen thematischen Bezug.

Indikatoren sind vor allem wegen ihrer Monitoringfunktion ein geeignetes Werkzeug, um „für schwelende Konfliktslagen eine möglichst sachlich fundierte Entscheidungsgrundlage zu erlangen“ (Hucho et al., 2005). Darüber hinaus können sie auch zur Aufschlüsselung komplexer Sachverhalte beitragen.

In der vorliegenden Studie zeigte sich jedoch, dass nicht alle theoretisch wünschbaren Indikatoren praktisch umsetzbar waren. So ließen sich für bestimmte Problemfelder keine Kenngrößen festlegen, die ein messbares und repräsentatives Abbild des Problemfeldes erlaubten. Die Aufgliederung des gesamten Themengebietes in Teilgebiete (Problemfelder) ermöglichte es jedoch, sich auf die Problemfelder zu beschränken, die durch messbare Indikatoren abgebildet werden können, ohne das Gesamtbild aus den Augen zu verlieren.

Aus der Liste der Indikatoren (Tabelle 2) geht auch hervor, auf welchen Teilgebieten Expertisen den Ist-Zustand darstellen und damit den Indikatorenansatz ergänzen. Die Übersicht weist auch Indikatoren zu Problemfeldern aus, auf die die vorliegende Studie noch nicht eingeht, die jedoch bei einer späteren Fortschreibung des Gentechnologieberichts relevant sein könnten.

Abbildung 1: Problemfelder im Spannungsfeld der Leitdimensionen

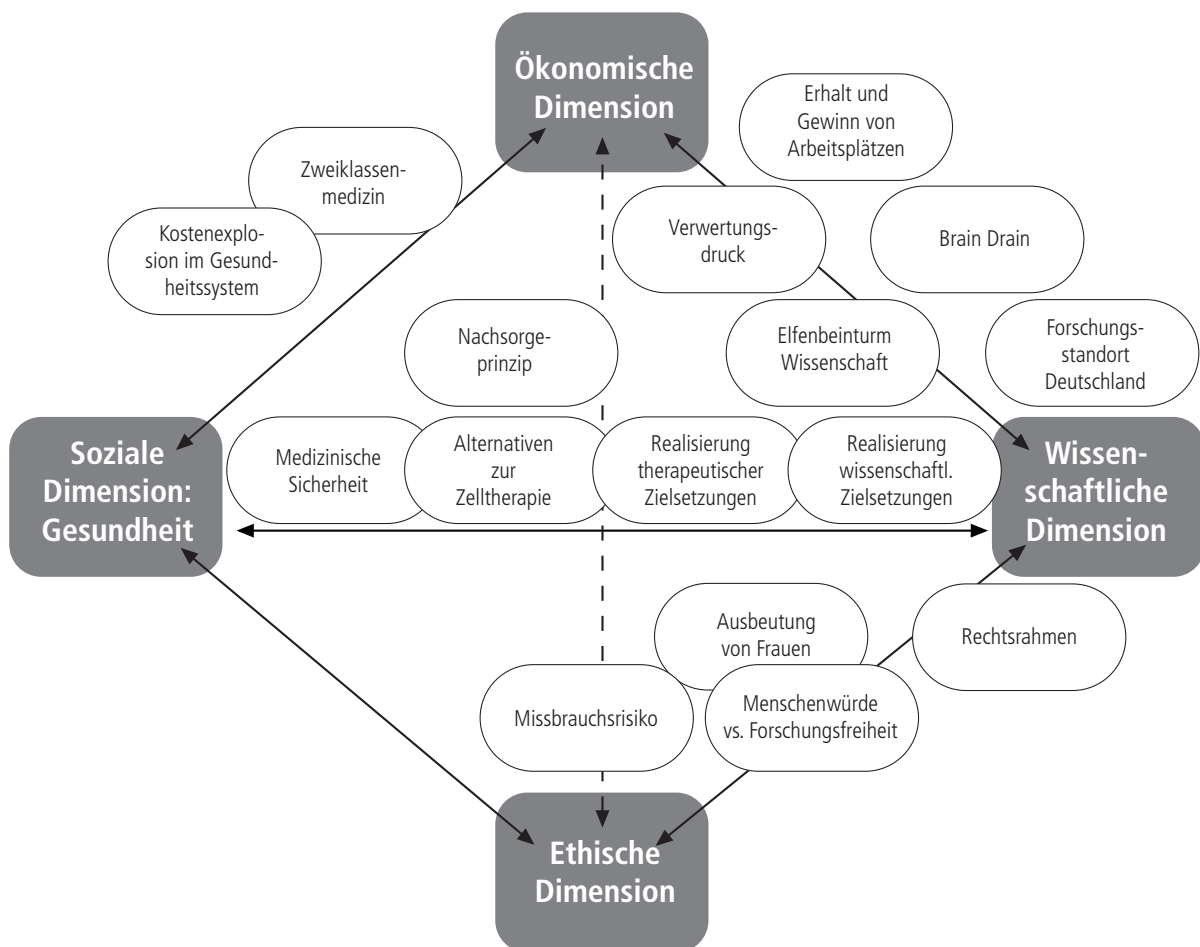


Tabelle 1: Übersicht über die Problemfelder (PF) und Kurzbeschreibung

Problemfeld	Kurzbeschreibung
Realisierung wissenschaftlicher Zielsetzungen	PF ist eng mit der Leitdimension „Wissenschaft“ verbunden. Im Fokus stehen Forschungen, die die Grundlage für spätere medizinische Anwendungen schaffen. Problem ist die Nichtvorhersagbarkeit des Forschungserfolges; Maßstab ist das Erreichen gesetzter wissenschaftlicher Ziele. Mögliche Indikatoren messen nicht die Problemausprägung, sondern den „Stand der Wissenschaft“ („state of the art“).
Realisierung therapeutischer Zielsetzungen	PF ist auf die medizinische Anwendung ausgerichtet, die eine Verbesserung/Steigerung der Lebensqualität/ Lebenserwartung zum Ziel haben; es besteht eine Beziehung zum Problemfeld „Verwertungsdruck“. Probleme ergeben sich dann, wenn nicht alle Zielsetzungen machbar sind und/oder sich als schwieriger oder zeitraubender herausstellen.
Alternativen zur Zelltherapie	PF thematisiert den Vergleich der Zelltherapie mit anderen (bestehenden und in Entwicklung befindlichen) Therapieansätzen hinsichtlich Qualität (Dauer, Nachhaltigkeit, Risiken etc.), Wirtschaftlichkeit (Kosten, Durchführbarkeit), aber auch bezüglich ethischer Probleme zum Finden der bestmöglichen Therapieform für den Patienten.
Medizinische Sicherheit	PF definiert den Themenkomplex der Standardisierung, Einhaltung von Richtlinien und der Gewährleistung der Qualität therapeutischer Anwendungen.
Kostenentwicklungen im Gesundheitssystem	PF thematisiert die Mehrkosten, die im Gesundheitssystem möglicherweise durch neue Therapien entstehen können. Dabei beeinflusst u.a. die demografische Entwicklung die Krankheitskosten.
Zweiklassenmedizin	PF steht für eine Entwicklung, bei der Therapien als Teil einer kostenintensiven „Spitzenmedizin“ nur einer Minderheit zur Verfügung stehen.
Nachsorgeprinzip	PF thematisiert, dass unter Umständen aufwendige therapeutische Verfahren gegenüber prophylaktischen Strategien bevorzugt werden. Die Folge wären möglicherweise höhere Gesundheitskosten für den Einzelnen wie für die Gesellschaft. PF berührt auch den Konflikt der „Apparatemedizin“ gegenüber „ganzheitlicher“ Medizin, bei dem grundsätzlich unterschiedliche Werturteile gegenüber stehen (z.B. Selbstverantwortung gegenüber gesellschaftlicher Verantwortung).
Erhalt und Gewinn von Arbeitsplätzen	PF steht für die kommerzielle Umsetzung des wirtschaftlichen Potenzials zelltherapeutischer Anwendungen. Sofern wissenschaftliche Forschungsergebnisse nicht oder verspätet kommerziell genutzt werden, würde ökonomisches Entwicklungspotenzial verspielt. Wirtschaftliches Potenzial der Stammzellforschung ist derzeit noch unklar
Brain Drain	PF thematisiert, dass hochqualifizierte Wissenschaftler aus politischen, wirtschaftlichen oder rechtlichen Gründen (Stammzellgesetz, Embryonenschutzgesetz) das Land verlassen; damit würde im globalen Standortwettbewerb und Forschungswettlauf wichtiges Know-how verloren gehen und ökonomisches Potenzial verspielt.

Forschungs- und Wissenschaftsstandort Deutschland	PF reflektiert die Problematik, die mit einer Abkopplung Deutschlands (z.B. aufgrund politisch-rechtlicher Rahmenbedingungen) von der internationalen Forschung im Stammzellbereich verbunden wäre. Einflussfaktoren sind zum Beispiel Forschungsstrukturen an Universitäten, anderen öffentlich geförderten Einrichtungen sowie die Situation in der Industrie.
Verwertungsdruck	PF betrachtet die Kommerzialisierung wissenschaftlicher Ergebnisse sowie den Erfolgsdruck zur Verwertung von Forschungsergebnissen. Hoher Verwertungsdruck könnte zum Beispiel zu einem zu frühen Einstieg in die klinische Forschung oder Therapie führen, auf der anderen Seite würden hoch gesteckte Erwartungen und Versprechungen nicht eingehalten werden. Wissenschaft wird zunehmend anwendungsorientierter. Dadurch sind ihre Auswirkungen auf die Gesellschaft besonders weit reichend.
Elfenbeinturm Wissenschaft	PF reflektiert, dass möglicherweise Forschungsergebnisse nicht oder zu spät kommerzialisiert werden. Ohne die Anwendung von Forschungsergebnissen würde das ökonomische Potenzial der Forschung verspielt.
Missbrauchsrisiko	PF thematisiert eine fragwürdige und umstrittene Anwendung von Forschungsergebnissen, die nicht im Sinne der wissenschaftlichen Aufgabenstellung liegen, bzw. bei der ethische Grenzen überschritten werden.
Ausbeutung von Frauen	PF betrachtet einen kritischen Aspekt der Stammzellforschung, der mit der Gewinnung von Zellmaterial, insbesondere von Eizellen (im Zusammenhang mit dem so genannten therapeutischen Klonen) zusammenhängt. Die Gewinnung von Eizellen erfordert eine Hormonbehandlung, die unter Umständen Frauen aus Entwicklungsländern gegen finanzielle Leistungen eher in Kauf nehmen als Frauen aus Industrienationen (da u. U. gesundheitliche Schäden für die Frau entstehen können).
Menschenwürde vs. Forschungsfreiheit	PF behandelt einen zentralen Konflikt der Stammzellforschung. So sind für die Herstellung von ES-Zelllinien menschliche Embryonen aus In Vitro-Fertilisierungen notwendig. Dafür wird ein früher menschlicher Embryo „verbraucht“. Dieser Embryo ist allein und ohne Implantation in den Uterus nicht lebensfähig, und stellt nach Ansicht vieler Naturwissenschaftler kein dem Menschen gleichwertiges Lebewesen dar, sondern darf für hochrangige Forschungsziele eingesetzt werden. Dagegen steht der Standpunkt des absoluten Lebensschutzes, der jeder Form des menschlichen Lebens (auch einem ganz frühen unspezialisierten Zellhaufen) die gleiche Schutzwürdigkeit zuweist, wie einem geborenen Menschen. Beide Standpunkte („Unantastbarkeit der Schöpfung“: menschliches Lebens darf nicht zu Forschungszwecken erschaffen und zerstört werden versus „Abgestufte Schutzwürdigkeit“: einem Zellhaufen gebührt nicht der gleiche Schutz wie einem geborenen Menschen) stehen sich diametral gegenüber.
Rechtsrahmen	PF definiert die rechtlichen Rahmenbedingungen, in denen Forschung stattfindet und damit die Wirkung, die Gesetze auf Wissenschaft und Gesellschaft haben. Konflikte existieren zwischen dem Schutz des ethischen und würdevollen Umgangs mit frühem menschlichen Leben einerseits und eventueller Eingrenzung der wissenschaftlichen Forschung und Entwicklung andererseits. Der Rechtsrahmen versucht einen Ausgleich konfligierender Grundüberzeugungen und dient als Steuerungsinstrument.

Tabelle 2: Übersicht über die Indikatoren und Problemfelder

Forschungsstandort Deutschland		
	1	Anzahl der eingereichten Patentanträge/ Jahr <ul style="list-style-type: none"> ▶ adulte menschliche Stammzellen ▶ embryonale menschliche Stammzellen ▶ tierische (xenogene) Zellen ▶ Gentherapie ▶ Tissue Engineering ▶ Produkte zur Zelltherapie ▶ Transplantationsmedizin (klinische Studien)
	2	Anzahl der erteilten Patente/ Jahr
	3	Öffentliche Ausgaben für Forschung und Entwicklung für den Bereich Zelltherapie in Deutschland im Verhältnis zu Vergleichsländern
	4	Anzahl der in Deutschland in der ES-Zellforschung genutzten Stammzelllinien
Realisierung wissenschaftlicher Zielsetzungen		
	5	Anzahl von humanen Stammzelllinien, die auf anderem Wege erstellt wurden
	6	Anzahl der beschriebenen hES-Zellen
	7	Anzahl der für die Gewinnung von hES-Linien verbrauchten menschlichen Embryonen
	8	Anzahl der klinischen Studien, Phase I, II, III für spezifische Krankheiten, zum Beispiel Diabetes, Herzinfarkt, Parkinson
	9	Anzahl der Krankheiten/ Krankheitsbilder, die mit Zelltherapie behandelt werden können
	10	Anzahl der wissenschaftlichen Publikationen/ Jahr (nach o.g. Stichwortliste)
Realisierung wissenschaftlicher Zielsetzungen		
	11	Anzahl der zugelassenen Zelltherapien beziehungsweise der entsprechenden Zellprodukte für bestimmte Krankheiten im Vergleich zu anderen Krankheiten (für die allgemeine klinische Anwendung)

	12	<p>Kriterien des Therapieerfolgs bezogen auf Krankheiten</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ Identifikation und Integration des Zelltransplantats im Patienten ▶ Dauer der physiologischen Wirksamkeit ▶ Überlebensrate und -dauer ▶ Dauer der Behandlung ▶ Grad und Dauer der Lebensqualitätsverbesserung ▶ Schwere und Häufigkeit der Nebenwirkungen ▶ Anzahl bestehender Krankheitsfälle ▶ weniger Nebenwirkungen ▶ weniger Komplikationen ▶ für Patienten weniger belastend ▶ kostengünstiger ▶ Behandlung nachhaltiger
Alternativen zur Zelltherapie		
	13	Kosten von Zelltherapien im Verhältnis zu vergleichbaren Behandlungen
	14	Akzeptanz von Zelltherapien (Patienten, Gesellschaft, Krankenkassen)
	15	Anzahl der jährlich mit Zelltherapie behandelten Patienten (aufgeschlüsselt nach Krankheiten)
	16	Anzahl der jährlich mit Zelltherapie behandelten Patienten im Verhältnis zur Anzahl der mit sonstigen Therapien behandelten Patienten (aufgeschlüsselt nach Krankheiten)
Medizinische Sicherheit		
	17	Anzahl der Richtlinien und Empfehlungen zur Gewährleistung der Qualität von Zelltherapien
Brain Drain		
	18	Nicht für das Supplement ausgewählt.
Erhalt und Gewinn von Arbeitsplätzen		
	19	Anzahl der Beschäftigten im Bereich klinischer Anwendungen der Stammzellforschung und Zelltherapie (Angestellte in Unternehmen und Einrichtungen, die an der Bereitstellung von Produkten und Dienstleistungen für Zelltherapien beteiligt sind.)
	20	Beschäftigte auf dem Gebiet der Forschung und Entwicklung von Zelltherapien und Tissue Engineering im internationalen Vergleich

Verwertungsdruck		
	21	Nicht für das Supplement ausgewählt.
Elfenbeinturm Wissenschaft		
	22	Nicht für das Supplement ausgewählt.
Wissenschaftsstrukturen		
	23	Anteil staatlicher Förderung für Stammzellprojekte an Forschungsförderung F&E zum Beispiel Gesamtförderung des BMBF
Menschenwürde versus Forschungsfreiheit		
	24	Anzahl von Stammzelllinien, die auf anderem Wege (d.h., nicht aus Embryonen) erstellt wurden (humane und xenogene)
	25	Anzahl der für die Gewinnung von nt-hES-Linien verbrauchten menschlichen Eizellen
Ausbeutung von Frauen		
	26	Nicht für das Supplement ausgewählt.
Rechtsrahmen		
	27	Nicht für das Supplement ausgewählt.
Missbrauchsrisiko		
	28	Text im Supplement enthalten.
Zweiklassenmedizin		
	29	Nicht für das Supplement ausgewählt.

Kostenexplosion im Gesundheitssystem		
	30	Kosten von Zelltherapien im Verhältnis zu vergleichbaren Behandlungen für ausgewählte Krankheiten
	31	Anzahl von ausgeführten und abgerechneten Zelltherapien in der allgemeinen klinischen Praxis
Nachsorgeprinzip		
	32	Akzeptanz von Zelltherapien (Patienten, Gesellschaft, Krankenkassen)
	33	Anzahl der zugelassenen Zelltherapien/ beziehungsweise der entsprechenden Zellprodukte für bestimmte Krankheiten im Vergleich zu anderen Krankheiten

4. Stand des Wissens und der Technik

4.1 Embryonale Stammzellen

Aufgrund der Bedeutung und des Umfangs der Forschung an embryonalen Stammzellen (ES-Zellen) der Maus stehen nach wie vor murine (m)ES-Zellen im Mittelpunkt der Forschung. Parallel dazu wird im Folgenden auf die Eigenschaften und spezifischen Leistungen humaner (h)ES-Zellen eingegangen. Literaturangaben zu embryonalen Stammzellen (Kapitel 4.1.–4.4, 4.6, 5.1) und ihren potentiellen Einsatz für Zelltherapien (Kapitel 5.2.1) sind in Wobus and Boheler (2005) zu finden.

4.1.1 Eigenschaften embryonaler Stammzellen der Maus

Die Forschung an embryonalen Stammzellen reicht bis in die 1970er Jahre zurück, als aus den Stammzellen von Keimdrüsentumoren (Teratokarzinomen) **embryonale Karzinomzellen** (EC-Zellen) als Zelllinien etabliert wurden (Abbildung 3). Diese EC-Zellen können sich in Kultur unbegrenzt vermehren, und *in vitro* in Zelltypen aller drei Keimblätter, des Ektoderms, Mesoderms und Endoderms, differenzieren. Wichtiger noch: EC-Zellen waren imstande, an der Embryonalentwicklung teilzunehmen, wenn sie in die „Innere Zellmasse“ eines anderen frühen Embryos – einer Blastozyste – eingefügt wurden, sodass chimärische Mäuse entstanden. Im Gegensatz dazu führten EC-Zellen zur Entwicklung von Tumoren (Teratomen oder Teratokarzinomen), wenn sie in Gewebe außerhalb der Gebärmutter transplantiert wurden. Viele EC-Zellen in Kultur hatten jedoch Chromosomenschäden, verloren ihre Differenzierungsfähigkeit oder differenzierten *in vitro* nur unter besonderen Bedingungen, zum Beispiel nach Induktion mit chemischen Agenzien. Der Erhalt des für Stammzellen typischen undifferenzierten Status war von der Kultivierung auf Nährzellen abhängig, und nach dem Transfer in frühe Blastozysten integrierten EC-Zellen zwar in somatische Zelllinien, aber nur sehr sporadisch in die Keimbahn. Diese Befunde deuteten darauf hin, dass die Karzinomzellen die Entwicklungsfähigkeit der embryonalen Zellen teilweise verloren hatten und während des Tumor-Zwischenstadiums in den EC-Zellen genetische Veränderungen (Genmutationen und Chromosomenveränderungen) stattgefunden hatten.

Abbildung 2: Stammzell-Hierarchie

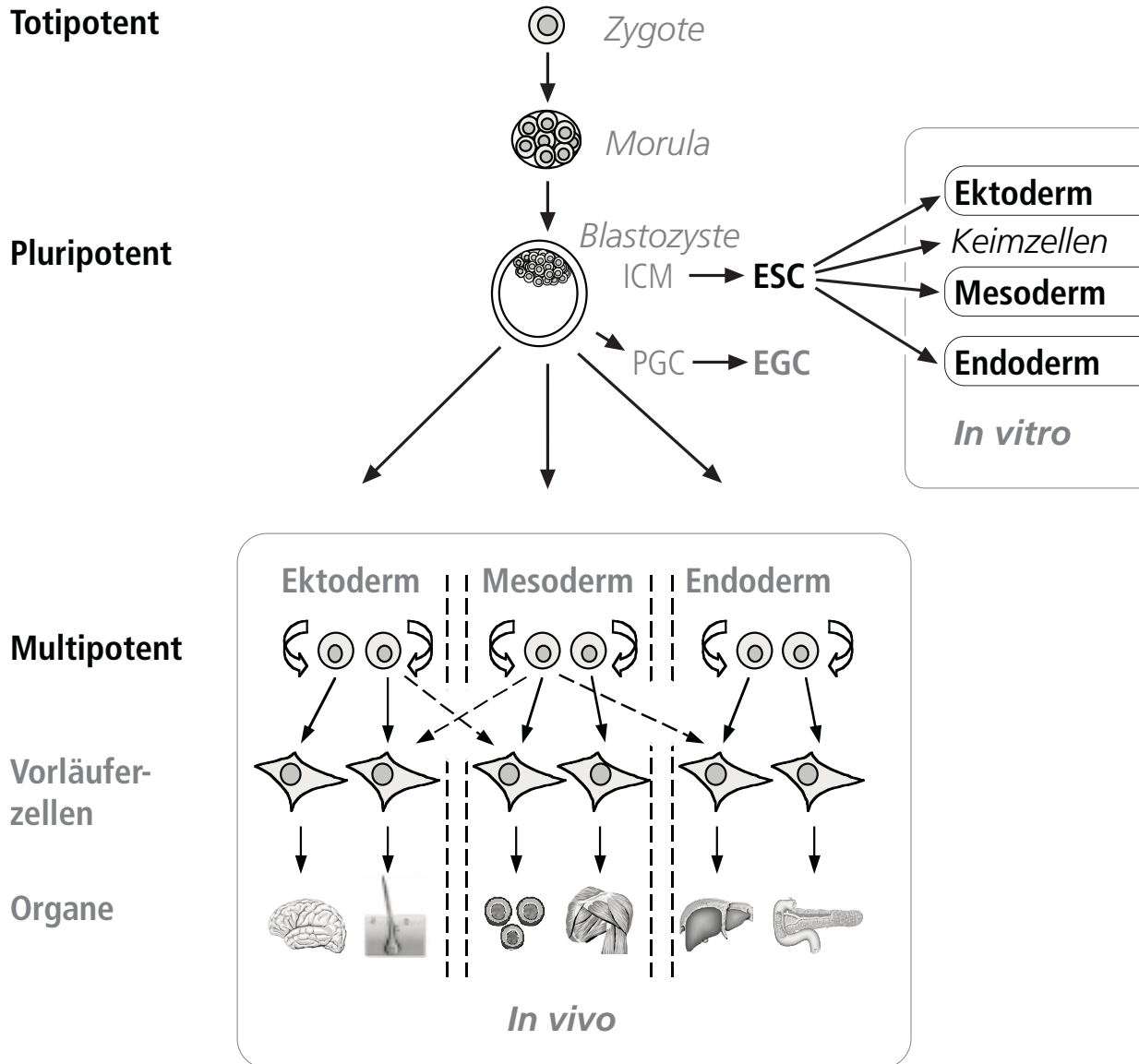


Abbildung 2: Stammzell-Hierarchie. Totipotente Stammzellen bilden einen vollständigen Organismus, während multipotente adulte Stammzellen die spezialisierten Zellen und Gewebe des erwachsenen Körpers bilden, erhalten und nach Schädigung oder Verlust regenerieren. Pluripotent sind die Stammzellen der Inneren Zellmasse (ICM) in Blastozysten, die in Zellkultur in pluripotente embryonale Stammzellen (ES-Zellen, ESC) überführt werden können. Aus primordiales Keimzellen (PGC) sind embryonale Keimzell-Linien (EG-Zellen, EGC) etabliert worden. ES-Zellen können sich in Zellen aller drei somatischen Keimblätter sowie in Zellen der Keimbahn entwickeln. Dagegen bilden multipotente Stammzellen in der Regel nur die Zellen ihres eigenen Gewebes (bzw. ihrer Linie). Darüber hinaus wurde über Ergebnisse berichtet, dass sich adulte Stammzellen unter bestimmten Bedingungen teilweise auch in Zellen anderer Linien entwickeln können (gestrichelte Linie) (nach Wobus and Boheler, 2005).

Insofern war es ein logischer Schritt, embryonale Zellen direkt aus dem Embryo und nicht (auf dem „Umweg“ über das Tumorstadium) aus Teratokarzinomen zu kultivieren. Die *in vitro*-Kultur **embryonaler Stammzellen** (ES-Zellen) der Maus gelang erstmals im Jahr 1981 unabhängig in zwei Gruppen. Die ES-Zellen stammten aus der Inneren Zellmasse (ICM) von Blastozysten oder aus dem Epiblasten des Eizylinderstadiums vor oder kurz nach der Gastrulation. Sie konnten *in vitro* ohne erkennbaren Verlust des Differenzierungspotenzials kultiviert werden. Die „Pluripotenz“ der ES-Zellen wurde *in vivo* durch die Integration in Blastozysten nachgewiesen: ES-Zellen nahmen an der Embryonalentwicklung teil und die entstandenen Maus-Chimären belegten, dass ES-Zellen sich in alle Körperzellen und Zellen der Keimbahn entwickeln können. Entscheidend war jedoch, dass ES-Zellen sich auch unter *in vitro*-Bedingungen in zahlreiche somatische Zellen – und wie erst kürzlich gezeigt wurde – auch in Zellen der Keimbahn entwickeln können (Hübner et al., 2003).

Ein dritter Zelltyp pluripotenter embryonaler Stammzellen sind **embryonale Keimzellen** (EG-Zellen), die aus primordialen Keimzellen in den Genitalleisten des Embryos isoliert und kultiviert wurden (Abbildung 3). Auch EG-Zellen zeichnen sich durch eine hohe Proliferations- und Differenzierungsfähigkeit *in vitro* aus und sind durch nahezu dieselben Zellmarker wie die anderen embryonalen Stammzelllinien charakterisiert. Werden EG-Zellen in Blastozysten transferiert, können sie sich in den entstehenden Chimären ebenfalls zu allen somatischen und Keimbahn-Zellen entwickeln. EG-Zellen zeigen jedoch unterschiedliche maternale oder paternale Prägungen („Imprinting“) und sie sind im Unterschied zu ES-Zellen noch imstande, ihr genomisches „Imprinting“ aufzuheben.

Murine (m)ES-Zellen wurden zunächst auf Nährrasen („Feeder Layer“) von embryonalen Bindegewebszellen (Maus-Fibroblasten, MEF) kultiviert. Einmal etabliert, zeigen mES-Zellen *in vitro* ein unbegrenztes Proliferationsvermögen mit einer sehr kurzen Generationszeit (etwa 12–15 h) und bewahren ihre Entwicklungsfähigkeit in alle Zelllinien („lineages“) des Organismus. *In vitro* sind mES-Zellen weitgehend genetisch stabil, und behalten einen normalen Karyotyp auch nach längerer Kulturdauer.

Da die Erzeugung von ES-Zelllinien ursprünglich nur auf einem Feeder-layer aus inaktivierten Maus-Fibroblasten erfolgreich war, nahm man an, dass diese Zellen Signale aussenden, die entweder die Selbsterneuerung fördern oder die Differenzierung hemmen. Der trophische Faktor,

Abbildung 3: Herkunft und Gewinnung pluripotenter embryonaler Stammzellen der Maus

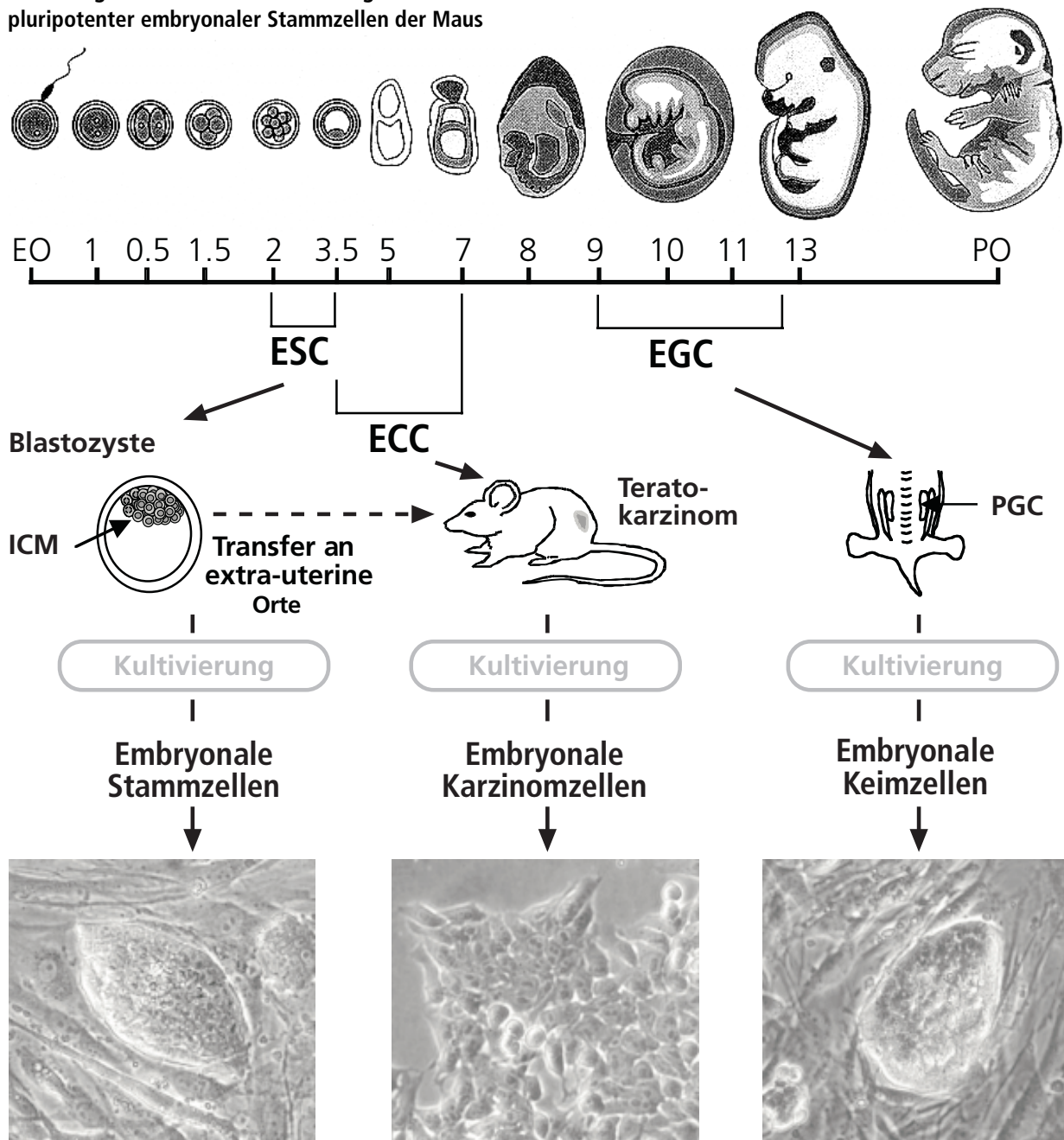


Abbildung 3: Herkunft und Gewinnung pluripotenter embryonaler Stammzellen der Maus. Dargestellt ist die Etablierung von ES-, EC- und EG-Zellen aus frühen Entwicklungsstadien der Maus. Die Transplantation von frühen Embryonalstadien an extrauterine "fremde" Orte (z. B. unter die Nierenkapsel) führt zur Bildung von Teratokarzinomen. Teratokarzinome enthalten Tumorstammzellen, so genannte embryonale Karzinomzellen (EC-Zellen), die *in vitro* kultiviert werden können. Dagegen werden ES-Zellen direkt aus frühen Embryonalstadien in Zellkultur überführt. Die Injektion von ES-Zellen in syngene Versuchstiere kann zur Bildung von malignen (bösartigen) Teratokarzinomen oder benignen (gutartigen) Teratomen führen. EG-Zellen werden aus primordialen Keimzellen (PGC) aus den Genitalleisten von Maus-Embryonen gewonnen. Bar = 100 mm (nach Wobus and Boheler, 2005).

der diese Wirkung erzielte, wurde als LIF („leukemia inhibitory factor“, Leukämie-Hemmfaktor) identifiziert. LIF ist ein lösliches Glykoprotein und gehört der Interleukin-6 (IL-6)-Familie der Zytokine an. Diese Zytokine regulieren über die membrangebundene Rezeptoruntereinheit gp130 eine Vielzahl von Zellfunktionen, indem sie die Signaltransduktion über eine intrazelluläre JAK-STAT („Janus kinase“ – „signal transducer and activator of transcription“)-Kaskade aktivieren. Andere Zytokine der IL-6 Familie [IL-6, IL-11, Oncostatin M (OSM), der ciliäre neurotrophe Faktor (CNTF) und Cardiotrophin-1 (CT-1)] zeigen hinsichtlich der Erhaltung der Pluripotenz von mES-Zellen ähnliche Eigenschaften. Fehlen diese IL-6-Signalmoleküle, werden die Feederzellen entfernt oder wird eines der Signalmoleküle des gp130-Komplexes (STAT3) inaktiviert, wird die Differenzierung von ES-Zellen aktiviert. Entscheidend ist, dass die Zytokine in der richtigen Konzentration vorliegen, um die Selbsterneuerung zu fördern.

Zur Bestimmung des undifferenzierten Status von ES-Zellen (auch als „stemness“ bezeichnet) sind verschiedene Zelloberflächenantigene und molekulare Marker geeignet. Undifferenzierte mES-Zellen zeigen ein spezifisches Antigen an der Zelloberfläche (SSEA-1), membrangebundene Rezeptoren (gp130) und sind durch hohe Aktivität von alkalischer Phosphatase (ALP) und Telomerase charakterisiert. ES-Zellen exprimieren den für frühe embryonale Zellen (Blastomeren, ICM, Epiblasten) und Keimzellen charakteristischen Transkriptionsfaktor Oct-3/4. Ein bestimmtes Expressionsniveau von Oct3/4 in ES-Zellen ist für die Erhaltung der Pluripotenz erforderlich. Eine Erhöhung des Expressionsniveaus löst die Differenzierung in primitives Endoderm und Mesoderm aus, während der Verlust von Oct-3/4 die Bildung von Trophektoderm und damit den Verlust der Pluripotenz bewirkt (Abbildung 4).

Die Selbsterneuerungsfähigkeit von ES-Zellen hängt jedoch vom stöchiometrischen Gleichgewicht weiterer Signalmoleküle ab, und jedes Ungleichgewicht kann dazu führen, dass die ES-Zellen ihre Pluripotenz verlieren. Das Protein Nanog wurde als weiterer wesentlicher Regulator der Pluripotenz identifiziert. Sowohl die kontrollierte Expression von Nanog als auch von Oct-3/4 sind erforderlich, um den undifferenzierten Charakter von ES-Zellen zu erhalten. Fügt man jedoch serumfreien ES-Zellkulturen LIF hinzu, so reicht dies allein jedoch nicht aus, um die Pluripotenz zu erhalten oder die Differenzierung zu blockieren. Neuere Untersuchungen haben Hinweise erbracht, dass zwei weitere Signalsysteme, wie BMP („bone morphogenetic protein“)- und WNT-regulierte Signaltransduktionswege an der Erhaltung der Pluripotenz von ES-Zellen beteiligt sind (Abbildung 4).

Abbildung 4: Regulation der Selbsterneuerung („self-renewal“) in Maus-ES-Zellen durch spezifische Transkriptionsfaktoren.

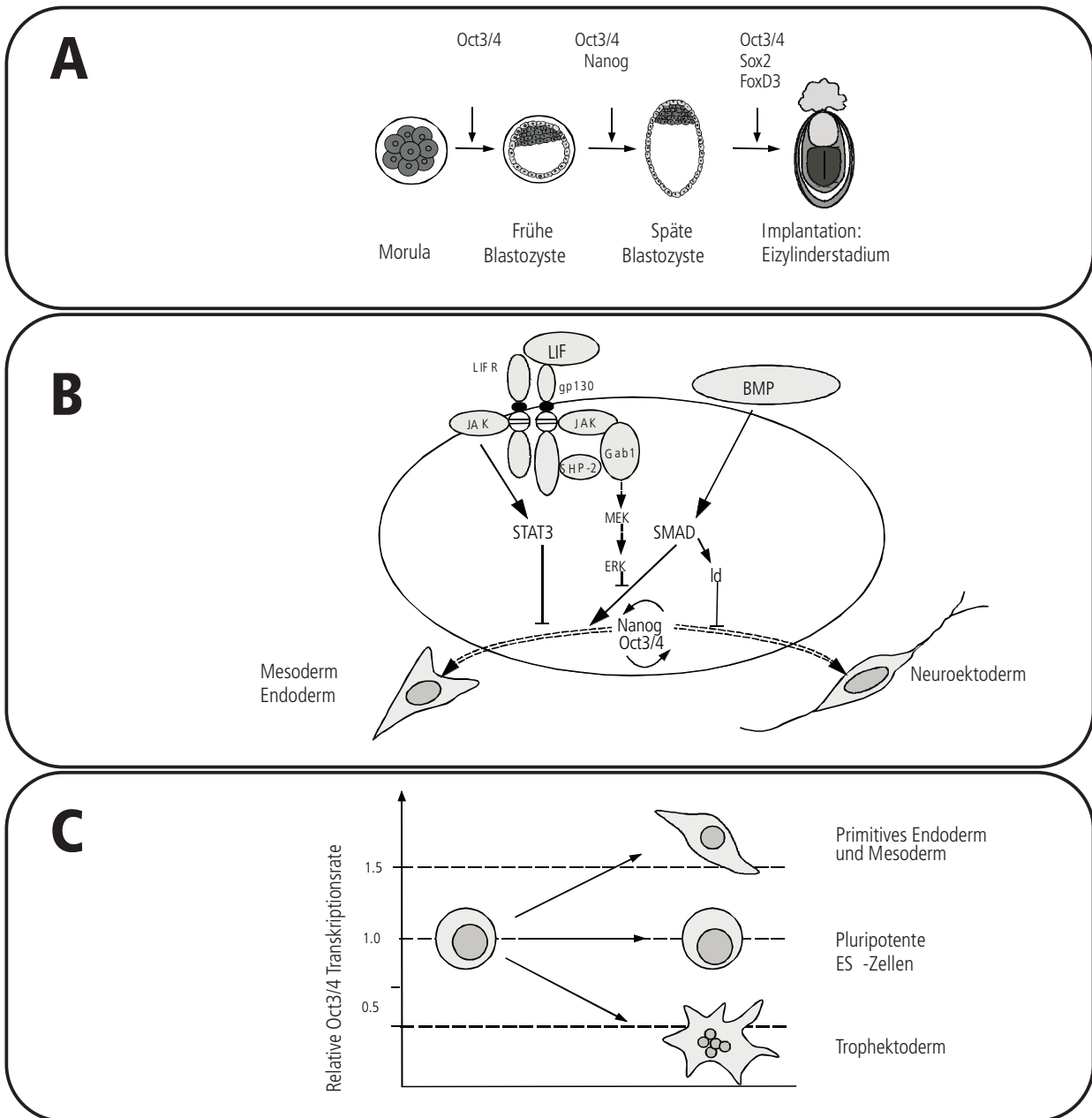


Abbildung 4: Regulation der Selbsterneuerung („self-renewal“) in Maus-ES-Zellen durch spezifische Transkriptionsfaktoren. (A) Transkriptionsfaktoren, wie Oct3/4, Nanog, Sox2 und FoxD3 kontrollieren die Entwicklung des Embryos in frühe embryonale Entwicklungsstadien. (B) Die Proliferation („self-renewal“) undifferenzierter muriner ES-Zellen wird durch Nanog und Oct3/4 sowie die Aktivierung LIF-induzierter JAK/STAT-abhängiger und BMP („bone morphogenetic protein“)-regulierter Signalwege kontrolliert. Ein MEK-ERK-abhängiger Signalmechanismus verhindert „self-renewal“ und aktiviert die Differenzierung. Nanog und Oct-3/4 Expression verhindern die Differenzierung. (C) Das relative Oct-3/4 Expressions-Niveau determiniert das Schicksal von ES-Zellen (nach Cavaleri and Schöler, 2003; Wobus and Boheler, 2005).

Weitere Marker, die auf eine mögliche Pluripotenz hindeuten, sind zum Beispiel Rex-1, Sox2, Genesis, GBX2, UTF1, Pem und L17. Jeder von ihnen wird nachweislich in der ICM von Blastozysten exprimiert und bei der Differenzierung herunterreguliert, allerdings werden sie nicht ausschließlich in pluripotenten embryonalen Stammzellen exprimiert, sondern können auch in anderen Zelltypen des Körpers exprimiert werden, sodass die mögliche Rolle bei der Aufrechterhaltung der Pluripotenz oder Selbsterneuerung noch aufgeklärt werden muss (Kapitel 4.6).

4.1.2 Eigenschaften humaner embryonaler Stammzellen

Arbeiten zur Differenzierungsfähigkeit von mES-Zellen *in vitro* waren bis zum Ende der 1990er Jahre auf eine relativ kleine Gruppe von Forschern begrenzt. Das änderte sich schlagartig, als es 1998 der Gruppe von James Thomson gelang, Zelllinien menschlicher embryonaler Stammzellen zu etablieren.

Die Techniken, die zur Etablierung von mES-Zellen geführt hatten, haben auch die Gewinnung von humanen ES-Zelllinien (hES) aus *in vitro* befruchteten Präimplantationsembryonen ermöglicht (Abbildung 5). Humane ES-Zellen teilen einige grundlegende Eigenschaften mit mES-Zellen, wie Oct-3/4-Expression, hohe Telomerase-Aktivität und (nach Transplantation in immunsupprimierte Mäuse) die Bildung von Teratomen, die Abkömmlinge aller drei Keimblätter enthalten. Wie mES-Zellen können hES-Zellen ihr Proliferationsvermögen in Kultur über viele Passagen aufrecht und ihren Chromosomensatz stabil erhalten. Im Unterschied zu mES-Zellen lassen sich hES-Zellen jedoch schwerer in Einzelzellen dissoziieren und klonal vermehren. Humane ES-Zellen entwickeln zystische Embryoidkörper („embryoid bodies“), und sie enthalten bestimmte Proteoglycane (TRA-1-60, TRA-1-81, GCTM-2) und Zelloberflächenantigene (SSEA-3, SSEA-4), die in murinen ES-Zelllinien fehlen (Tabelle 3).

Darüber hinaus gibt es weitere Unterschiede zwischen ES-Zellen von Maus und Mensch. Humane ES-Zellen haben eine längere Generationszeit als mES-Zellen (ca. 30–35 h). In hES-Zellen reicht LIF nicht aus, um die Differenzierung zu verhindern. Infolgedessen werden hES-Zellen routinemäßig auf den Feederzellen embryonaler Maus-Fibroblasten oder auf Nährzellen aus menschlichem Gewebe kultiviert. Es ist weiterhin gezeigt worden, dass der basische Fibroblastenwachstumsfaktor (bFGF) für die Vermehrung von hES-Zellen erforderlich ist. Doch die weiteren Signalmoleküle, die den Erhalt der Pluripotenz dieser Zellen steuern, sind im Einzelnen noch nicht bekannt. Jedoch ist gerade die Kenntnis dieser Faktoren für die

standardisierte und kontrollierte Vermehrung von hES-Zellen mit dem Ziel einer möglichen zelltherapeutischen Anwendung unumgänglich.

Ein weiteres Problem ist die Verunreinigung von hES-Zellen mit tierischen Feederzellen und Proteinen aus dem Serum (fötales Kälberserum). Ende 2001 waren circa 70 hES-Zelllinien bekannt (und in einem Register der National Institutes of Health, NIH, registriert), die mit Hilfe von Feederzellen aus embryonalen Maus-Fibroblasten (MEF) etabliert worden waren [nur diese hES-Zelllinien können nach dem deutschen Stammzellgesetz (StZG) vom Juli 2002 ausnahmsweise für Forschungszwecke nach Deutschland eingeführt werden; Kapitel 6]. Diese Linien sind daher mit einer Reihe von Mängeln behaftet: Zum Beispiel können die hES-Zellen mit murinen Retroviren aus den Nährzellen infiziert sein, wodurch sie für einen therapeutischen Einsatz als nicht geeignet angesehen werden. Darüber hinaus wurden bisher nur 22 der im NIH-Register (Stand November 2005, <http://escr.nih.gov/>) aufgeführten Zelllinien erfolgreich *in vitro* vermehrt. Inzwischen sind jedoch weitaus mehr humane ES-Zelllinien international verfügbar, die unter verbesserten Kulturbedingungen etabliert wurden [Tabelle 4 (Hoffman and Carpenter, 2005)]. So sind zum Beispiel chromosomal normale hES-Zelllinien entwickelt worden, die durch enzymatische Dissoziation kultiviert (Cowan et al., 2004), oder auf humanen Nährzellen zur Vermeidung xenogener Kontaminationen kultiviert (Amit et al., 2003), oder mit humanen Nährzellen (z. B. Fibroblasten der Plazenta) unter serumfreien Bedingungen etabliert wurden (Genbacev et al., 2005). Inzwischen sind weitere Verfahren der Feederzell-freien Kultur von hES-Zellen beschrieben worden, die die Gefahr der Kontamination mit xenogenen Komponenten weiter minimieren (Hovatta and Skottman, 2005).

Legt man die Angaben aus Tabelle 4 zu Grunde, wurden aus mindestens 628 Embryonen (d. h., Blastozysten oder Embryonen im frühen Pronukleus-Stadium) circa 80 vermehrungsfähige hES-Zelllinien etabliert, das entspräche einer „hES-Zell-Etablierungsrate“ von circa zwölf Prozent. Bei genauer Recherche (PubMed) aller bis 2005 publizierten Arbeiten sind international mittlerweile weit über 100 hES-Zelllinien aufgeführt, die aber teilweise noch nicht genauer beschrieben wurden (Guhr et al., 2005).

Tabelle 3 (rechts)

MEF = Embryonale Fibroblasten der Maus;
EB = „embryoid body“

hFL = humane Feederlayer-Zellen
(nach Wobus and Boheler, 2005)

Tabelle 3: Vergleich von Eigenschaften muriner und humaner embryonaler Stamm(ES)-Zellen

Marker	Murine ES-Zellen	Humane ES-Zellen
SSEA-1	+	–
SSEA-3/ -4	–	+
TRA-1-60/ 81	–	+
TRA-2-54	–	+
GCTM-2	–	+
TG 343	?	+
TG 30	?	+
CD 9	+	+
CD133/Prominin-1	+	+
Alkalische Phosphatase	+	+
Oct-4	+	+
Nanog	+	+
Sox-2	+	+
FGF4	+	–
LIF-Rezeptor	+	+/-
Telomeraseaktivität	+	+
Regulation von „self-renewal“	via gp 130 Rezeptoren, MEF Feeder layer, Nanog, BMP-4	Feeder-Zellen (MEF oder hFL), Serum, bFGF, Matrigel
Wachstumseigenschaften <i>in vitro</i>	kompakte, vielzellige Cluster	Flache Zellaggregate
EB Bildung	einfache und zystische EBs	zystische EBs
Teratom-Bildung <i>in vivo</i>	+	+

Obwohl bisher nicht nachgewiesen werden konnte, dass hES-Zellen (z. B. Linien I-3, I-6, I-8, H-9) mit tierischen Retroviren kontaminiert waren (Amit et al., 2005), **ist das Problem der Kontamination mit tierischen Proteinen weitreichender und von grundsätzlicherer Natur. So wurde über die Kontamination von Stammzelllinien durch Sialinsäure-Moleküle (N-glycolylneuraminsäure, Neu5Gc) berichtet. Humane ES-Zellen hatten durch Kultur in Anwesenheit tierischer Proteine (z. B. Feeder-Zellen, fötales Kälberserum) die tierischen Neu5Gc-Moleküle aufgenommen. Gegen solche immunogenen Moleküle haben die meisten Menschen Antikörper entwickelt, und nach Transplantation würden derartig kontaminierte Gewebe zu Abstossungsreaktionen führen (Martin et al., 2005).**

Diese Befunde unterstreichen nachdrücklich, dass die Etablierung von nicht mit tierischen Proteinen kontaminierten hES-Zelllinien eine unabdingbare Voraussetzung für mögliche therapeutische Anwendungen ist, und dass die in Deutschland eingesetzten hES-Zellen (nur Linien des NIH-Registers) für einen klinischen Einsatz nicht geeignet wären.

Weiterhin müssen nach den neuen EU-Richtlinien zur Verwendung von Zellen und Geweben für therapeutische Anwendungen (2003/94/EC; 2004/24/EC) hES-Zellen in jedem Fall den Anforderungen guter Herstellungspraxis („Good Manufacturing Practice“, GMP) genügen. Auch diese Kriterien werden von den derzeit in Deutschland verfügbaren hES-Zelllinien (Zelllinien nach NIH-Register) in keiner Weise erfüllt. Das heisst, mit den zur Verfügung stehenden hES-Zelllinien wären Arbeiten, die einen unmittelbaren klinisch-therapeutischen Einsatz zum Ziel haben, nicht sinnvoll.

Andererseits sind in den letzten Jahren wichtige molekular- und zellbiologische Techniken zur Kultivierung und genetischen Modifikation von hES-Zellen etabliert worden, wie zum Beispiel Zellpassagierung (bis zu 80 und mehr Passagen), Tiefkühlagerung, Transfektion und Gen-Targeting durch homologe Rekombination. Andere Methoden, wie die Zellvereinzelung und Zellklonierung sowie die effiziente und standardisierte Zellvermehrung und -differenzierung ohne Zusatz von tierischen Proteinen bedürfen noch der Verbesserung.

Aufgrund der Variabilität der hES-Zelllinien hinsichtlich Wachstumscharakteristika, Differenzierungspotenzial und Kultivierungstechniken ist es von großer Bedeutung, molekulare und zelluläre Marker zu kennen, die den jeweiligen Status, das heißt das undifferenzierte Stadium („stemness“) gegenüber einem spezifischen Differenzierungsstadium von hES-Zellen zuverlässig anzeigen.

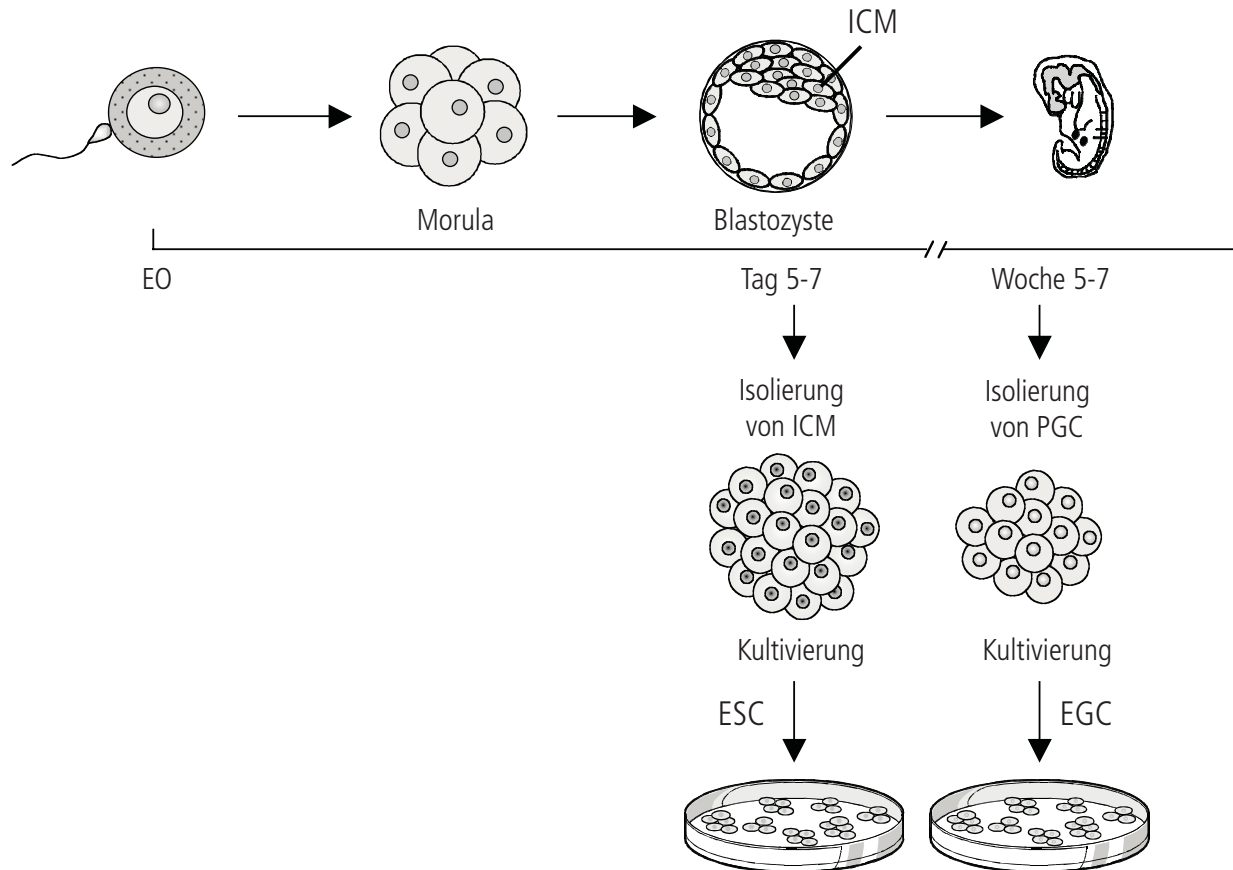
Abbildung 5: Etablierung humaner embryonaler Stammzellen (hESC) und embryonaler Keimzellen (hEGC)

Abbildung 5: Etablierung humaner embryonaler Stammzellen (hESC) und embryonaler Keimzellen (hEGC). Nach *in vitro*-Befruchtung von Ei- und Spermazellen und nachfolgender *in vitro* Entwicklung werden aus den pluripotenten Zellen (der Inneren Zellmasse, ICM) von 5–7 Tage alten Blastozysten humane ES-Zelllinien etabliert. Zur Etablierung von humanen EG-Zellen werden primordiale Keimzellen (PGC) aus 5-7 Wochen alten Feten aus Abortmaterial isoliert und in Zellkultur überführt. (nach Wobus and Boheler, 2005).

Obwohl einige Eigenschaften und molekulare Marker von hES-Zellen bereits bekannt sind (Tabelle 5, siehe auch Tabelle 3), ist die eindeutige molekulare Definition pluripotenter hES-Zellen noch nicht vollständig möglich. Transkriptom-Profile und Proteom-Analysen haben bereits erste Erkenntnisse über Pluripotenz-Marker in hES-Zellen erbracht, doch sind diese

Daten bisher noch nicht ausreichend, um daraus geeignete Wachstumsfaktoren und Kulturbedingungen für hES-Zellen *in vitro* abzuleiten (Kapitel 4.6 und 5.1.1.4.4).

Der Vollständigkeit halber soll hier auch auf die ebenfalls im Jahre 1998 erfolgte Etablierung von pluripotenten **embryonalen Stammzell-Linien aus primordialen Keimzellen (hEG-Zellen)** aus fünf bis sieben Wochen alten menschlichen Föten (aus Aborten) eingegangen werden (Abbildung 5), obwohl diese Zellen in der Forschungslandschaft derzeit eine geringere Rolle spielen. Humane EG-Zellen konnten *in vitro* ebenfalls in Zellerivate aller drei Keimblätter entwickelt werden, aber ihre Proliferationsfähigkeit ist offenbar begrenzt. Derzeit lassen sich hEG-Zellen nur als Derivate aus „Embryoidkörpern“ („embryoid bodies“) vermehren. Nach der Transplantation in ein Tiermodell zur Nervenregeneration zeigten aber auch hEG-Zellerivate ein gewisses Regenerationsvermögen, sodass sie womöglich therapeutisch von Nutzen sein könnten.

4.1.3 Embryonale Stammzellen anderer Spezies und alternative Stammzellmodelle

Pluripotente Stammzelllinien sind aus Nutztieren, wie Schwein und Rind, sowie aus Modellorganismen, darunter Huhn, Hamster, Kaninchen und Ratte, gewonnen worden. Bisher zeigte jedoch keine dieser Stammzellen reproduzierbar und nach längerer *in vitro*-Vermehrung die Fähigkeit, nach Integration in Blastozysten, Keimzellen zu bilden, das heißt, die bisher etablierten Zelllinien sind offenbar nicht wirklich pluripotent.

Von besonderer Bedeutung für die Stammzellforschung ist die Etablierung von ES-Zelllinien nichtmenschlicher Primaten, zum Beispiel von Rhesusaffe, Weißbüscheläffchen (*Callithrix jacchus*) und Javaneraffe (*Cynomolgus monkey, Macaca fascicularis*). Die ES-Zellen von Rhesusaffen sind durch die typischen Marker humaner ES- und EC-Zellen (Oct-4, SSEA-4, TRA-1-60, TRA-1-81) charakterisiert, behalten einen normalen Karyotyp und zeigten *in vitro* ein hohes Differenzierungsvermögen. Diese Eigenschaften qualifizieren die Zelllinien als mögliche Alternativen zu Forschungsarbeiten mit hES-Zelllinien.

Darüberhinaus wurde aus parthenogenetisch aktivierten Embryonalstadien von *Macaca fascicularis* eine pluripotente Stammzelllinie (Cyno-1) etabliert, die alle Eigenschaften von hES-Zellen aufweist, darunter hohe Telomerase- und ALP-Aktivität, Expression von Oct-4, SSEA-4, TRA-1-60 und TRA-1-81, sowie die Fähigkeit zur Differenzierung in zahlreiche unterschiedliche Zelltypen (Vrana et al., 2003). Dieses Ergebnis ist insofern von Bedeutung, als offenbar durch parthenogenetische Entwicklung eine einzelne Eizelle ohne Befruchtung durch männliche

Tabelle 4: Herkunft und Kulturbedingungen von hES-Zelllinien

Land	Anzahl Embryonen	Frisch/ eingefroren	Feeder-Zellen	Medium zur Isolation der ICM	Anzahl kultivierte Embryonen	Zelllinien
USA	36	beides	Irrad MEF	20% FBS	20	H1, H7, H9, H13, H14
Australien/ Singapore	k.A.	eingefroren	MC MEF	20% FBS + LIF	k.A.	HES-1, HES-2
USA	k.A.	frisch	Irrad MEF	20% FBS + LIF	40	ES-76, ES-78-1, ES-78-2
Israel	5	eingefroren	MEF	k.A.	k.A.	I-3, I-4, I-6
Singapore	1	eingefroren	MC HEF	20% HS	1	k.A.
Schweden	5	k.A.	Irrad HEF	20% FBS + LIF	k.A.	HS181, HS207
USA	19	eingefroren	Inakt MEF	20% FBS + LIF + bFGF	k.A.	BG01, BG02, BG03, BG04
Korea	k.A.	k.A.	MC MEF	20% SR + LIF + bFGF	30	SCNT-hES-1
Schweden	k.A.	k.A.	MC MEF	VitroHES + bFGF	k.A.	SA002, FC018, AS034, AS038, SA121, SA181
Korea	20 PN Embryonen	eingefroren	MC STO	20% FBS + LIF + bFGF	9	MB01-09
	20 Blastozysten	eingefroren	MC STO	20% FBS + LIF + bFGF	15	
Israel	60 (abnormal entwickelte Embryonen)	k.A.	Inact MEF	k.A.	9	19
USA	286 frühe Embryonen & 58 Blastozysten	eingefroren	MC MEF	8-10% SR, 8-10% „plasmate“, 5% FBS + LIF + bFGF	k.A.	HUES1-17
Iran	k.A.	k.A.	MC MEF	20% FBS + LIF	1	Royan H1

UK	11 2d Embryonen	frisch	Irrad MEF	FBS, SR + bFGF	7	HES-NCL1
USA	117 (46 Morulae, 71 Blastozysten)	k.A.	MC MEF oder BRL	10-20% FBS oder SR + bFGF	46 Morulae 39 Blastozysten 32 ICM	8 Linien 7 Linien 5 Linien
Korea	8 PN-Embryonen	eingefroren	MC humane uterine Endometrium Zellen	k.A.	7	Miz-endo1, -2, -3
Korea	k.A.	eingefroren	MC MEF	20% SR + bFGF	19	Miz-hES4-8, 10-13
Korea	k.A.	eingefroren	MC STO	20% SR + bFGF	73	SNUhES1-3
China	k.A.	frisch	Irrad MEFs	20% FBS + LIF	7	CHES-1
Spanien	40	eingefroren	Humane placentale Fibroblasten	20% SR + bFGF	16	VAL-1, VAL-2
USA	k.A.	eingefroren	Lysierte MEFs	8% SR + 8% „plasmate“ + LIF + bFGF	k.A.	ACT-14

k.A. = keine Angaben

MC = Mitomycin C inaktiviert

Irrad = Bestrahlt

Inakt = Inaktiviert

MEF = Embryonale Fibroblasten der Maus

HEF = Embryonale Fibroblasten aus humanen Zellen

SR = Serum Replacement

HS = Humanserum

FBS = Fetales Kälberserum

STO = STO Feederzellen

LIF = „leukemia inhibitory factor“

bFGF = Basischer Fibroblasten-Wachstumsfaktor

PN = Pronukleus-Stadium

BRL = „Buffalo rat liver“ Zellen

(nach Hoffman and Carpenter, 2005, Zitate dort)

Samenzellen einen entwicklungsfähigen Zellkomplex bilden kann, aus dem ES-Zellen generiert werden können. **Das zeigt, dass ES-Zellen auch ohne Befruchtung (d. h. ohne Entwicklung eines Embryos im Sinne des deutschen Embryonenschutzgesetzes, ESchG) aus parthenogenetisch aktivierten Eizellen gewonnen werden können, ohne dass dafür Embryonen hergestellt werden müssten. Es liegt auf der Hand, dass eine solche Strategie die ethisch umstrittene Gewinnung von ES-Zellen aus *in vitro* befruchteten Embryonen umgehen würde (Kapitel 4.4.1).** Allerdings ist noch nicht untersucht, ob Veränderungen in den Genexpressionsprofilen von ES-Zellen, die

Tabelle 5: Transkript- und Proteinmuster humaner (h) und muriner (m) ES-Zellen nach RT-PCR- und Immunfluoreszenz (IF)-Analyse

Gen	hES-Zellen		mES-Zellen	
	RT-PCR	IF	RT-PCR	IF
Marker undifferenzierter Stammzellen				
OCT^{3/4}	+		+	
SOX-2	+	+	+	+
UTF-1	+		+	
REX-1	+		+	
TERT	+		+	
TRF1	+		+	
TRF2	+		+	
FOXD3	-		+	
Cx43	+	+	+	+
Cx45	+		+	
FGFR-4	+	+	+	+
ABCG-2	+		+	
Glut1	+		+	
SSEA-1		-		+
SSEA-4		+		-
SSEA-3		+		+
TRA-1-81		+		-
TRA1-60		+		-

Trophektoderm-Marker				
Bex1	+		+	
emsd	+		-	
HEB	+		-	
mash2	-		-	
Hand1	+		-	
HIF-1b	-		+	
Marker differenzierter Zellen				
Actc1	-		-	
Brachyury	-		-	
Msx-1	-		-	
Myf5	-		-	
Gata4	+		+	
AFP	+		-	
Islet-1	-	-	-	-
Pdx1	-		-	
HNF3-β	-	-	-	-
Krt1-14	+		-	
Krt1-15	-		-	
Brain-1	-		-	
Nestin	-	-	-	-
vimentin	+	+	-	-

ßIII-tubulin	-	-	+	+
CD44		-		-
GFAP		-		-
PS-NCAM		-		-
A2B5		-		-
TRA2-10		-		-
Notch		-		-
CD15s		ND		-

Transkripte und Proteine, die sowohl in hES- und mES-Zellen nachgewiesen wurden, sind fett markiert (nach Ginis et al., 2004).

von „parthenogenetisch aktivierten Embryonen“ abstammen, den therapeutischen Nutzen einschränken würden. So könnten zum Beispiel die aus parthenogenetisch entwickelten Embryonen hergestellten ES-Zellen eine erhöhte Expression mütterlich imprimerter Gene oder eine verminderte Expression väterlich imprimerter Gene aufweisen.

4.2 Genetische Manipulation embryonaler Stammzellen

In der Frühphase der Isolierung von mES-Zellen und der Erarbeitung von Differenzierungsprotokollen stammten die wichtigsten Techniken aus der Zellbiologie. Für die *in vitro*-Differenzierung wurden in der Regel Zellaggregate, so genannte „embryoid bodies“ gebildet, aus denen sich spezialisierte Zellen entwickelten. Allerdings war relativ wenig über die Abläufe während der Differenzierung in Kultur sowie über mögliche Unterschiede zu den Vorgängen im sich entwickelnden Embryo bekannt. Auch führten die Differenzierungsprotokolle nicht zu genetisch einheitlichen Zellpopulationen, sondern zur gleichzeitigen Entwicklung verschiedener Zelltypen, wodurch die gezielte Untersuchung eines spezifischen Zelltyps behindert wird. Um diese Einschränkungen bei der Analyse von ES-Zellen und ihren differenzierten Abkömmlingen zu überwinden, haben sich molekulargenetische Methoden als unentbehrlich erwiesen.

DNA kann durch konventionelle Infektion, Transfektion oder Elektroporation in Stammzellen eingeführt werden. Die Entdeckung von Thomas und Capecchi im Jahre 1987, dass (klonierte oder genomische) DNA, die in ES-Zelllinien eingeführt wird, an spezifischen chromosomalen Loci homolog rekombinieren kann, hat die Genfunktionsanalyse revolutioniert. **Die Fähigkeit, durch Gen-Targeting in ES-Zellen nahezu jede Mutation in das Genom einzufügen, stellt ein einzigartiges Werkzeug zur Aufklärung von Genfunktionen dar. Stammzellen können bereits heute in Richtung des gewünschten Zelltyps gelenkt werden, indem man sie den spezifischen Differenzierungsfaktoren aussetzt und Schlüsselgene der Entwicklung, so genannte Entwicklungskontrollgene, genetisch verändert. Diese genetischen Manipulationen sind inzwischen auch an hES-Zellen erfolgreich durchgeführt worden. Sie eröffnen die Möglichkeit, Entwicklungsprozesse humaner Zellen und die Entstehung von Krankheiten *in vitro* zu analysieren.**

4.2.1 Ungerichtete Transgenese

Bei der ungerichteten Transgenese wird die eingeführte DNA „ungerichtet“, das heißt, nicht in einen vorher bestimmten Ort des Genoms, integriert. Der Einsatz von Antibiotika-Resistenzgenen (z. B. gegen Neomycin, Puromycin, Hygromycin) und von Reportergenen [(z. B. für das grün fluoreszierende Protein GFP/EGFP, oder β -Galaktosidase (LacZ)] zur Identifizierung und Isolierung von spezifischer Zellen haben dieses Konzept mittlerweile zur Standardtechnik erhoben. Darüber hinaus hat man Konstrukte zur Überexpression von Transkriptionsfaktoren (z. B. GATA4, Twist), Signalmolekülen (z. B. IGF-II, Cripto) oder von charakteristischen Zellproteinen entwickelt, um zum Beispiel myogene, kardiale, erythroide und pankreatische Zellen in höherer Effizienz zu generieren. Allerdings zeigte sich, dass oftmals weder virale Promotoren noch solche aus Säugetieren geeignet waren, um zuverlässig stabil exprimierende transgene ES-Zelllinien zu schaffen, sodass andere Strategien erforderlich waren.

Retrovirale Vektoren werden seit über 20 Jahren benutzt, um genetisches Material in Zellen einzuführen. Ein retrovirales System hat den Vorteil, dass genetische Sequenzen leicht, effizient und permanent in die Zielzellen integriert werden. Tatsächlich waren an den ersten erfolgreichen genetischen Experimenten an ES-Zellen retrovirale Vektoren beteiligt. Diese frühen Experimente belegten, dass integrierte Viren durch die Keimbahn übertragen werden können. Allerdings erwies es sich als schwierig, die integrierten Proviren zur anhaltenden Expression der Transgene zu aktivieren.

ES-Zellen weisen eine hohe Cytosin-de-novo-Methylierung an CpG-Dinukleotiden auf, die eine von viralen LTR-Sequenzen („long terminal repeats“) gesteuerte Genexpression effektiv unterdrückt. Darüber hinaus bewirken *trans*-aktivierende Faktoren, die an die LTRs mancher viraler Promotoren binden, ein Silencing der Provirus-Gene. Die Tatsache, dass in ES-Zellen und ihren Abkömmlingen kaum eine nennenswerte Provirus-Transkription stattfindet, hat jedoch den Einsatz von einfachen retroviralen Vektoren zur Integration von Transgenen erheblich eingeschränkt.

Die Entwicklung komplexerer *lentiviraler Vektoren*, die auf den Immundefizienzviren HIV, FIV, EIV oder SIV basieren, bietet eine Reihe von Vorteilen. Lentiviren infizieren sowohl sich teilende als auch ruhende Zellen, und die Transgen-Expression in ES-Zellen wird nicht unterdrückt. Lentivirale Vektoren konnten hES-Zellen effizient transfizieren, und bei nachfolgenden Analysen stellte sich heraus, dass lentivirale Infektionen äußerst effektiv funktionelle Transgene in hES-Zellen einschleusen. Wichtig ist, dass die Transgen-Expression während der Differenzierung *in vitro* nicht aussetzt, und funktionelle Transgene erfolgreich weitergegeben werden. Die Experimente mit Reportergenkonstrukten haben den prinzipiellen Nachweis erbracht, dass Lentiviren imstande sind, fremde Gene in hES-Zellen – und darüber hinaus, auch in adulte Stammzellen – zu übertragen.

Die lentivirale Einschleusung fremder DNA in Stammzellen ist daher von erheblicher Bedeutung für die Isolierung stabil transfizierter Zellkone und für die künftige Entwicklung von Gen- und Zelltherapien.

Die zufällige Integration von DNA-Plasmidkonstrukten, die gewebespezifische Promotoren enthalten, ist verwendet worden, um unter anderem Neuronen, pankreatische Zellen, Kardiomyozyten und Endothelzellen zu markieren beziehungsweise zu isolieren. Die Resultate dieser Arbeiten müssen aber vorsichtig interpretiert werden, da *in vitro*-Expressionsnachweise und *in vivo*-Analysen nicht immer übereinstimmen.¹

Es ist daher wichtig, *in vitro*-Ergebnisse im Kontext von Tiermodellen zu überprüfen, bevor man derartig gewonnene Zellderivate für eine Therapie in Erwägung ziehen kann. Darüberhinaus

¹ So wird Vimentin, das *in vivo* normalerweise auf Mesenchymzellen beschränkt ist, *in vitro* in den meisten Zelltypen exprimiert. Mit dem Promotor der Ventrikel-spezifischen leichten Typ-2-Kette des Myosins (Mlc-2v) wurden aus ES-Zellen differenzierte ventrikuläre Herzmuskelzellen identifiziert. Allerdings sollte Mlc-2v nur in adulten Nagetierherzen exprimiert werden. Da die aus ES-Zellen entwickelten Kardiomyozyten jedoch nicht dem adulten Myokard entsprechen, kann der Mlc-2v-Promotor wahrscheinlich nicht genutzt werden, um eindeutig differenzierte ventrikuläre Kardiomyozyten zu identifizieren.

können integrationsbedingte Ereignisse die Expression in ES-Zellen nachteilig beeinflussen. So können sich nach Oozyteninjektion der Ort der Integration und die Zahl der integrierten DNA-Kopien auf die Expression des Transgens auswirken. Insbesondere sind Transgene, die willkürlich in ES-Zelllinien integriert werden, für ein fortschreitendes Silencing anfällig, was zu Mosaik-Expression, heterogenen Phänotypen oder vollständiger Unterdrückung des Transgens führen kann. Alle diese Einschränkungen begrenzen den Einsatz der Methode der zufälligen Transgen-Integration für Funktionsanalysen an ES-Zellen und ihren differenzierten Abkömmlingen.

4.2.2 Gen-Targeting

Gen-Targeting-Strategien, die bestimmte Gene selektiv verändern, eignen sich zur Erzeugung von gerichteten Mutationen besser als die „nicht-gerichtete“ Zufallsmutagenese. 1987 haben Thomas und Capecchi erstmals gezeigt, dass transfizierte DNA durch homologe Rekombination in das Genom von ES-Zellen integriert werden kann. Zwei Jahre später wurde der erste Bericht über die Keimbahnübertragung eines derart umgebauten Allels publiziert, womit bewiesen war, dass genetisch veränderte ES-Zellen sich zu lebensfähigen Individuen entwickeln können. Inzwischen ist die Erzeugung von Keimbahn-Chimären eine Standardtechnik der Entwicklungsbiologie, die zu Hunderten von Mausstämmen mit genetischen Defekten geführt hat (Abbildung 6).

Die Fähigkeit, Mausstämmen mit veränderter genomischer DNA zu erzeugen, hat die Untersuchung zahlreicher entwicklungsbiologischer Vorgänge vorangebracht. Doch nicht alle biologischen Funktionen können durch die Inaktivierung von Genen entschlüsselt werden. Gen-Targeting, das *in vivo* zu einem Entwicklungsstillstand oder zum Absterben des Embryos führt, belegt nur die prinzipielle Bedeutung des Gens, schließt aber die Analyse der entwicklungspezifischen Funktion aus. Außerdem können manche Genprodukte während der Embryogenese andere Aufgaben haben als im erwachsenen Organismus (wie z. B. LIF und Vimentin).²

Um diese Probleme zu lösen, wurden eine Reihe von Modifikationen der ursprünglichen Gen-Targeting-Methode, wie konditionale „Knock-outs“ oder „Knock-ins“ in ES-Zellen, entwickelt.

2 Typischerweise erzeugt man ein konditional ein- oder auszuschaltendes Allel, indem man loxP- oder *frt*-Bindungsstellen in zwei Introns oder an den beiden Enden eines Gens inseriert. Die Expression einer aus P1-Bakteriophagen gewonnenen Cre-Rekombinase oder einer aus Hefe gewonnenen FLP-Rekombinase in Mäusen, die das konditionale Allel tragen, katalysiert Rekombinationen (Insertionen, Deletionen, Inversionen, Duplikationen) zwischen den loxP/*frt*-Bindungsstellen, die das Gen entweder aktivieren oder inaktivieren. Indem man die Cre-Rekombinase von einem endogenen oder gewebespezifischen Promotor exprimieren lässt, kann das konditionale Allel gezielt nur in dem gewebespezifischen Zelltyp rekombiniert werden.

Dabei kann man Gene sowohl räumlich als auch zeitlich begrenzt aktivieren beziehungsweise inaktivieren. Stand des Wissens und der Technik

Auch Zeitpunkt und Dauer der Rekombinase-Expression können gesteuert werden, indem man induzierbare Expressionssysteme oder virale Genfähren, wie Adeno- oder Lentiviren einsetzt, mit denen man ein Gen zu einem bestimmten Zeitpunkt inaktivieren kann. Das System ist für ES-Zellen adaptiert worden, sowohl für *in vitro*-Untersuchungen als auch für die Erzeugung neuer Mausmodelle (Abbildung 6).

4.3 In vitro-Differenzierungspotenzial embryonaler Stammzellen

In der Grundlagenforschung stehen die Aufklärung von molekularen Mechanismen der Spezialisierung einzelner Zellen sowie die Untersuchung der Organisation von Zellen im Gewebeverband im Vordergrund. Darüber hinaus sollen die Mechanismen, die der Regulation früher Differenzierungsprozesse in Stammzellen zugrunde liegen, untersucht werden.

Für eine mögliche klinische Anwendung humaner embryonaler Stammzellen ist es erforderlich, dass diese Zellen *in vitro* gezielt und vollständig in den gewünschten Zelltyp differenziert werden können. Zurzeit ist man nur in wenigen Fällen in der Lage, murine oder humane ES-Zellen homogen in einen einheitlichen Zelltyp zu entwickeln, zum Beispiel in neurale Zellpopulationen. Für die meisten Zelltypen kann man Kontaminationen mit undifferenzierten Zellen noch nicht völlig ausschließen.

Während der Embryogenese der Maus bildet das primäre Ektoderm die drei Keimblätter: Ektoderm, Mesoderm und definitives Endoderm. Aus der Wechselwirkung dieser Keimblätter gehen sämtliche Gewebe und Organe des sich entwickelnden Embryos hervor. Man beginnt erst, die komplexen Abläufe zu verstehen, die den Übergang vom embryonalen Ektoderm zum viszeralem und parietalem Endoderm im Embryo steuern und danach im Gastrula-Stadium das Mesoderm und Neuroektoderm entstehen lassen. Die Differenzierungsanalyse von ES-Zellen hat die Untersuchung dieser Vorgänge an *in vitro*-Modellen ermöglicht.

Die Differenzierung wird ausgelöst, indem ES-Zellen in Abwesenheit der Signale, die vom Feederlayer beziehungsweise vom LIF ausgehen, als „embryoid bodies“ (EBs), oder in adhärennten Kulturen ohne Feederlayer beziehungsweise ohne LIF kultiviert werden. Die weitere

Abbildung 6: Gen-Targeting, Konditionelle Expression und ES-Zell-Modelle

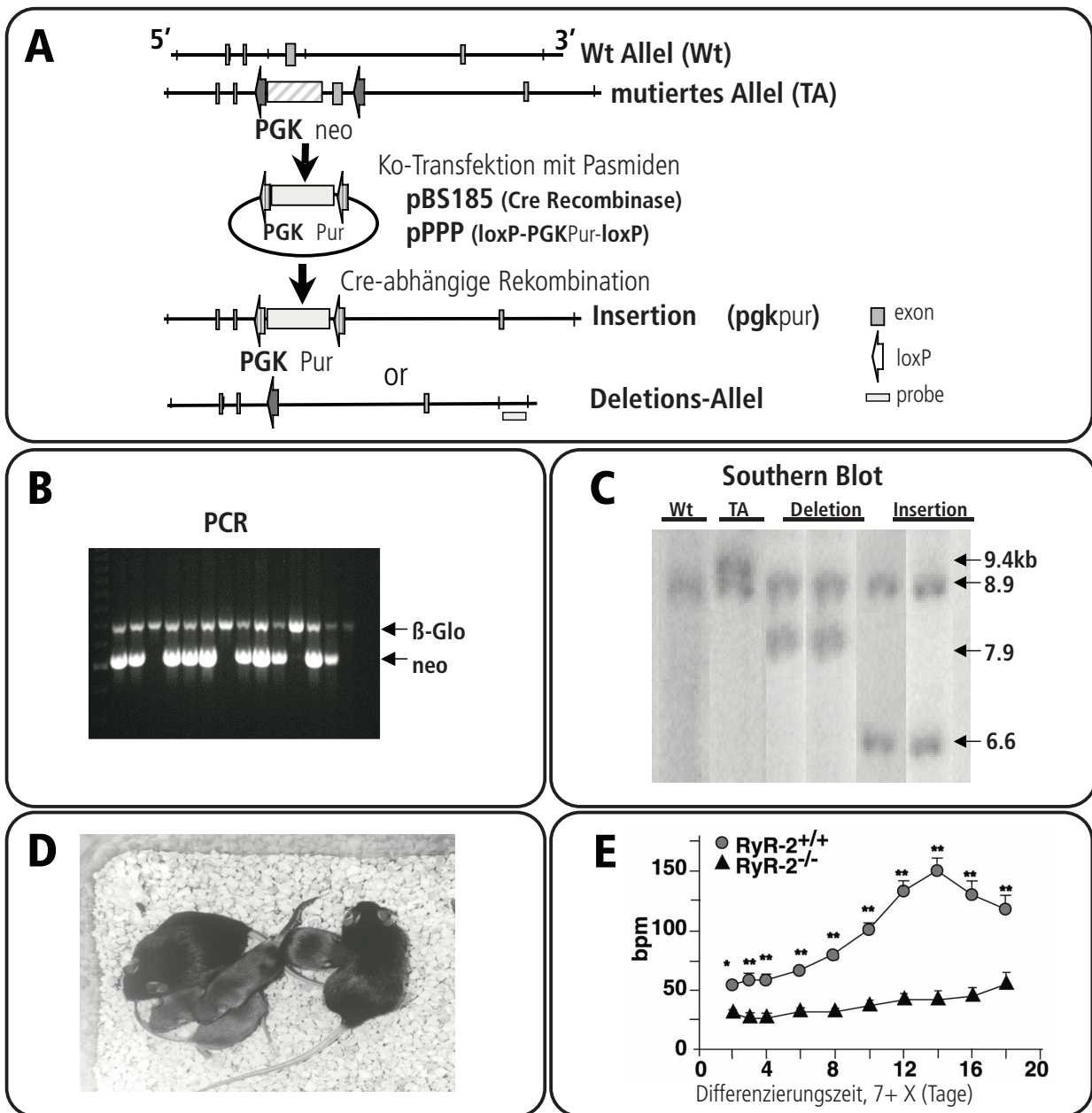


Abbildung 6: Gen-Targeting, Konditionelle Expression und ES-Zell-Modelle *in vivo* und *in vitro*. (A) Gen-Targeting Strategie zur Entwicklung eines Expressions-Vektors zur Induktion homologer Rekombinationen in ES-Zellen (B) Genotypisierung der ES-Zell-Klone nach Gen-Targeting mit Hilfe von PCR, (C) Southern-Analyse von ES-Zell-Klonen zum Nachweis erfolgter Deletions- oder Insertions-Ereignisse, (D) In vivo-Analyse: ES-Zell-Klone nach Gen-Targeting können in Blastozysten der Maus transplantiert werden und zur Entwicklung von „knock out“-Mäusen mit einem spezifischen genetischen Defekt führen, (E) In vitro-Analyse: Das Differenzierungsmuster von ES-Zellen mit einem genetischen Defekt (hier: Mutation im Ryanodin-Rezeptor-

Differenzierung der EBs auf Gewebekulturplatten ermöglicht die Entwicklung einer Vielzahl von spezialisierten Zellen, darunter solche des Mesoderms, wie Herz-, Skelett- und glatte Muskelzellen, Blutzellen, Fett- und Knorpelzellen, des Endoderms, wie Leber- und Pankreaszellen, sowie von Zellen des Ektoderms, wie Neuronen, Gliazellen und Epithelzellen (Tabelle 6 und Abbildung 7). Die transiente Expression von gewebespezifischen Genen und Proteinen während der *in vitro*-Differenzierung deutet darauf hin, dass die frühen Stadien der *in vivo*-Entwicklung, die Bildung der drei Keimblätter, Ektoderm, Mesoderm und Endoderm, *in vitro* rekapituliert werden.

Die Effizienz der Differenzierung in spezifische Zelltypen wird durch Parameter wie ES-Zelldichte, Medienzusammensetzung, Wachstumsfaktoren und Proteine der extrazellulären Matrix (ECM), pH-Wert und Osmolarität sowie die Qualität des fetalen Kälberserums (FCS) beeinflusst. Da die Differenzierungseffizienz in hohem Maße von der Verfügbarkeit des fetalen Kälberserums und sogar von der jeweiligen Serum-Charge abhängt, wurden große Anstrengungen unternommen, um das tierische Serum aus den Kulturen zu entfernen und durch definierte Wachstumsfaktoren zu ersetzen. Derzeit ist eine Kultur von ES-Zellen in chemisch definierten Medien zwar in Ausnahmen möglich, aber auch aufgrund der kostenintensiven Wachstumsfaktoren nicht allgemein einsetzbar. Inzwischen können ES-Zellen auch in halb-automatisierten Verfahren kultiviert und differenzierte Zellen in Bioreaktoren in großem Maßstab produziert werden.

Humane ES-Zellen beginnen sich zu differenzieren, wenn sie mechanisch oder durch enzymatische Dissoziation von den Feederzellen gelöst und als Aggregate in Suspension kultiviert werden. Die zystischen EBs, die unter diesen Bedingungen entstehen, sind heterogen und exprimieren Marker zahlreicher Zelltypen, darunter solche für Nerven-, Herz- und Leberzellen. Tabelle 7 enthält eine Übersicht über die Differenzierungs-Ergebnisse mit den bisher vorrangig verwendeten hES-Zelllinien. Bisher ist jedoch – mit Ausnahme der Differenzierung in neurale Zellen – noch kein Differenzierungssystem in der Lage, die *in vitro* Entwicklung von hES-Zellen derart zu kontrollieren, dass selektiv nur ein einziger Zelltyp entsteht.

2, RyR-2, -/-) und von Wildtyp-Zellen (+/+) wird nach *in vitro* Differenzierung analysiert. Die Zellen werden sieben Tage in „embryoid bodies“ differenziert und nach Plattierung circa 20 Tage *in vitro* auf die Entwicklung von Kardiomyozyten untersucht, deren Schlagfrequenz (beats/minutes, bpm) ermittelt wird. Die Mutation im RyR-2 führt *in vivo* zu embryonaler Letalität am Tag 10,5 der Embryonalentwicklung, sodass solche Entwicklungs-Analysen nur *in vitro* möglich sind. Es zeigt sich eine signifikante Verringerung der Schlagfrequenzrate in den defekten RyR-2 -/- Zellen. (Weiterführende Information in Wobus and Boheler, 2005)

4.3.1 Ektodermale Differenzierung

Die ektodermale Linie ist für die Entstehung des peripheren und zentralen Nervensystems und der epithelialen Zellen zuständig; auch die glatte Gefäßmuskulatur geht zum Teil auf das embryonale Ektoderm zurück.

Die epitheliale Differenzierung von mES-Zellen in Anwesenheit von Proteinen der extrazellulären Matrix, in Gegenwart von BMP-4 und weiteren Faktoren führt zur Entwicklung von Keratinozyten, und zur Bildung einer Pseudoepidermis, wenn die Zellen an der Grenze zwischen Luft und Flüssigkeit auf einem kollagenbeschichteten Substrat kultiviert werden. Dieses Gewebe ist in morphologischer Hinsicht und bezüglich des Expressionsprofils den echten **Hautzellen** sehr ähnlich. Die Befunde deuten darauf hin, dass ES-Zellen imstande sind, *in vitro* voll ausdifferenziertes Hautgewebe zu bilden.

Von besonderem Interesse für potentielle Zelltherapien bei neurodegenerativen Erkrankungen sind **Neurone und Gliazellen**. Erste Befunde zur Differenzierung von mES-Zellen in neuronale Zellen wurden bereits 1995 veröffentlicht. Da die spontane Differenzierung von mES-Zellen in neuronale Zellen ziemlich gering ist, wurden Strategien entwickelt, durch den Einsatz von Retinsäure, über „lineage“-Selektion oder über Induktion mit Stromazellen, die Differenzierungseffektivität zu steigern. Inzwischen wurden alternative Versuchsprotokolle entwickelt, die eine mehrstufige Differenzierung und Selektion neuraler Vorläuferzellen enthalten. Den differenzierenden ES-Zellen wird das Serum entzogen, um die mesodermale Differenzierung zu unterbinden. Danach wird durch Zugabe von bFGF und EGF die Proliferation neuraler Vorläuferzellen angeregt und durch Hinzufügen von Nerven-spezifischen Differenzierungsfaktoren die neuronale Differenzierung aktiviert.

Molekularbiologische und physiologische Untersuchungen solcher Stammzellderivate zeigten, dass aus ES-Zellen drei Zelltypen des Nervensystems gebildet werden: Neuronen (u. a. dopaminerge, GABAerge, serotonerge, glutamaterge und cholinerge Neuronen), Astrozyten und Oligodendrozyten (Tabelle 6). Kürzlich wurde eine elegante Strategie eingesetzt, bei der der früheste bekannte nervenspezifische Marker des Neuroektoderms, Sox1 (ein Gen, das in der frühen Neuralplatte und im Neuralrohr exprimiert wird), durch Targeting mit einem Reporter (GFP)-Gen versehen wurde. In Sox1-GFP-positiven Abkömmlingen von ES-Zellen wurde nur in den frühen neuralen Vorläuferzellen Fluoreszenz festgestellt. Damit stand ein Testmodell für die Analyse der frühen Schritte der neuralen Differenzierung zur Verfügung. Nach neuraler Differen-

zierungsinduktion und flowzytometrischer Sortierung wurde eine stark angereicherte Sox1-GFP-Fraktion neuraler Vorläuferzellen isoliert, die sich spezifisch zu Neuronen, Gliazellen und dem oligodendritischen Zelltyp weiter entwickelten. Es wurde darüberhinaus gezeigt, dass für eine effiziente Differenzierung in die neurale Linie weder multizelluläre Aggregation noch Kokultivierung erforderlich sind.

Die Fähigkeit humaner ES-Zellen, sich in Derivate des neuralen Epithels zu entwickeln, ist ebenfalls in zahlreichen Arbeiten gezeigt worden. Darüberhinaus können neurale Vorläuferzellen, die aus hES-Zellen abgeleitet werden, spezifisch angereichert und in reife (z. B. dopaminerge, GABAerge oder serotonerge) Neuronen, in Astrozyten oder in Oligodendrozyten differenziert werden (Tabelle 7). Differenzierungsfaktoren (Retinsäure, NGF, bFGF und EGF), ECM-Proteine (Matrigel, Laminin) und Stromazelllinien dienen jeweils als wirksame Induktoren der neuronalen Differenzierung. Die Kokultivierung von hES-Zellen auf Stromazellen und die Behandlung mit Differenzierungsfaktoren (FGF8, SHH und BDNF) führt zur effizienten Bildung neuroepithelialer Strukturen, so genannter „neuroepithelialer Rosetten“. Wenn diese Strukturen ihre Differenzierung vollenden, entstehen dopaminerge Mittelhirnneuronen, die die neuronalen Transkriptionsfaktoren Pax2, Pax5 und engrailed-1 exprimieren, Dopamin freisetzen und in elektrophysiologischen und elektronenmikroskopischen Untersuchungen typische Eigenschaften dopaminergere Neuronen aufweisen. **Die Verfügbarkeit einer unbegrenzten Zahl von Dopamin-freisetzenden Neuronen aus hES-Zellen ist die erste Voraussetzung für ihren Einsatz in Tiermodellen der Parkinsonkrankheit, sowie für eine spätere mögliche therapeutische Nutzung.**

4.3.2 Mesodermale Differenzierung

Das Mesoderm bildet das Keimblatt, das sich zu Muskeln, Knochen, Knorpel, Blut und Bindegewebe entwickelt. ES-Zellen können diese mesodermalen Entwicklungsvorgänge *in vitro* nachvollziehen. Spontane Differenzierung von ES-Zellen in komplexen zystischen EBs führt zur Entstehung von Blutinseln, die Erythrozyten und Makrophagen enthalten. Nach Differenzierung von ES-Zellen in Anwesenheit von FCS und Zytokinen, wie IL-3, IL-1 und GM-CSF (Granulozyten/Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor) werden hämatopoetische Vorläuferzellen, sowie Neutrophile, Mastzellen, Makrophagen und Erythroblasten gebildet. Die Kokultur mit OP9-Stromazellen führt zur **Entwicklung aller hämatopoetischen Zelltypen** der

Tabelle 6: Beispiele für das Entwicklungspotenzial von mES-Zellen *in vitro*

Zelltyp
Adipozyten
Astrozyten
Chondrozyten
Definitive hämatopoetische Zellen
Dendritische Zellen
Endotheliale Zellen
Glatte Muskelzellen
Hepatozyten
Kardiomyozyten
Keratinozyten
Lymphoide Vorläuferzellen
Neurone (Dopaminerge Neurone, Serotonerge Neurone, GABAerge Neurone, Cholinerge Neurone, Glutamaterge Neurone)
Motorneurone
Mast Zellen
Oligodendrozyten
Osteoblasten
Pankreatische Zellen
Primitive hämatopoetische Zellen
Skelettmuskelzellen
„Yolk sac“ (Dottersack)- Zellen

(nach Wobus and Boheler, 2005, Zitate dort)

erythroiden, myeloiden und lymphoiden Linien und natürlichen Killerzellen. Neuere Versuche deuten darauf hin, dass das Signalmolekül Wnt3 für die hämatopoetische Differenzierung von ES-Zellen eine große Rolle spielt.

Die aus ES-Zellen abgeleiteten hämatopoetischen Zellen sind durch die typischen Genexpressionsmuster und Antigene charakterisiert. Die eindeutige Definition der Zellen ist jedoch eine funktionale: ES-Zell-Derivate können nur dann als echte hämatopoetische Stammzellen (HSC) gelten, wenn sie langfristig die Fähigkeit zur Repopulation der verschiedenen hämatopoetischen Linien besitzen. Inzwischen ist belegt, dass aus ES-Zellen abgeleitete hämatopoetische Vorläuferzellen das Potenzial zur langfristigen Repopulation der lymphatischen (T-Zellen, B-Zellen) und myeloiden Linien (Erythrozyten, Megakaryozyten, Neutrophile, Eosinophile und Basophile) besitzen. Mit Hilfe gewebespezifischer Promotoren (Brachyury und Flk-1), die Reportergene steuern, wurden Vorläuferzellen der hämatopoetischen Linie und des Endothels identifiziert.

Ein weiterer für regenerative Zelltherapien bedeutsamer Zelltyp der mesodermalen Linie sind **Herzzellen**. Die Eigenschaften der aus ES-Zellen abgeleiteten Kardiomyozyten entsprechen denen von embryonalen/neonatalen Herzzellen, die sich im Organismus entwickelt haben. Die Kardiomyozyten bilden herzzellspezifische Genprodukte, sowie die typischen Sarkomerstrukturen und Aktionspotentiale. Kardiomyozyten entwickeln sich spontan oder können durch Differenzierungsfaktoren wie Dimethylsulfoxid (DMSO), Retinsäure oder Moleküle wie Dynorphin B und Cardiogenol-Derivate induziert werden. Elektrophysiologische Analysen zeigten, dass sich früh differenzierte Kardiomyozyten zu Atrium-, Ventrikel-, Purkinje- und Schrittmacher-typischen Kardiomyozyten weiterentwickeln.

Aus humanen ES-Zellen abgeleitete Kardiomyozyten reagieren ähnlich wie solche aus murinen ES-Zellen. Die Herzzellen sind durch spontane Kontraktionen und hoch organisierte Sarkomerstrukturen charakterisiert. Auch das herzspezifische Genexpressionsmuster, die elektrophysiologischen Eigenschaften sowie die chronotrope Wirkung adrenerger und muskarinerger Agonisten entsprechen denen von Herzmuskelzellen des Organismus. Die bisher eingesetzten Differenzierungsprotokolle sind jedoch für hES-Zellen noch relativ ineffizient. Insofern ist die kürzliche Identifizierung von induktiven Signalen aus dem Endoderm von besonderer Bedeutung für die weitere Optimierung der Herzzell-Differenzierung aus hES-Zellen.

Auch die Entwicklung in die übrigen Zelltypen der mesodermalen Linie, wie **Fettzellen, Knorpelzellen, Osteoblasten und Skelettmuskelzellen**, ist für ES-Zellen gezeigt worden (Tabellen 6 und 7). In allen Fällen wird die Bildung der Zelltypen durch spezifische Differenzierungsfaktoren induziert.

Für die Entwicklung von ES-Zellen in **Gefäßendothelzellen** wurden komplexe Kultursysteme (Spinner-Kulturen) entwickelt. Die Differenzierungsinduktion von ES-Zellen mit Retinsäure und Dibutyryl-cAMP führte zur Entwicklung funktioneller glatter Gefäßmuskelzellen. Das heisst, aus ES-Zellen können *in vitro* komplexe Gefäßstrukturen gebildet werden, die als Teil des kardiovaskulären Systems sowohl auf die mesodermale als auch auf die neuroektodermale Linie zurückgehen.

4.3.3 Endodermale Differenzierung

Pankreas, Leberzellen und das intestinale System sind Derivate des Endoderms. Aus ES-Zellen gewonnene Zellen der Leber können von potentiell therapeutischem Interesse für die Behandlung von Leberversagen; und Insulin-produzierende Zellen könnten für die Diabetesbehandlung von großer Bedeutung sein.

Aus murinen und humanen ES-Zellen abgeleitete Leberzellen bilden leberspezifische Transkripte und Proteine (Tabelle 6 und 7). Zellderivate aus mES-Zellen können sich nach Transplantation erfolgreich in die Leber integrieren. Damit wurde gezeigt, dass **ES-Zellen sich tatsächlich in Zelltypen der Leber, wie Hepatozyten, Epithelzellen des Gallengangs und Ovalzellen, entwickeln können**. In einem ersten Schritt auf dem Wege zur Anwendung von aus hES-Zellen differenzierten Leberzellen könnte ein extrakorporales Leber-System stehen, bei dem diese Zellen- zeitlich begrenzt – zur Entgiftung der Leber genutzt werden.

In erfolgreichen Versuchen zur Bildung von **Insulin-produzierenden Zellen** wurden ES-Zellen verwendet, die mit einem Vektor, bei dem ein Insulinpromoter ein Neomycinresistenzgen reguliert, transfiziert worden waren. Das ermöglichte die Selektion und die anschließende Differenzierung von Insulin-exprimierenden Zellen, die nach Transplantation in diabetische Mäuse den Blutzuckerspiegel normalisierten. In einem weiteren Ansatz wurde der Promoter eines pankreas-spezifischen Entwicklungskontrollgens (Nkx6.1) eingesetzt und eine erhöhte Bildung Insulin-produzierender Zellen erhalten. Dagegen führt die spontane Differenzierung von mES-Zellen nur zu einem sehr geringen Anteil (etwa 0,1 bis 1 Prozent) an Insulin-produzierenden

Zellen. Dieser Anteil konnte durch die Anreicherung Nestin-positiver Vorläuferzellen gesteigert werden. Allerdings zeigte sich, dass der Einsatz von spezifischen Differenzierungsprotokollen entscheidend für die Gewinnung funktioneller insulinproduzierender Zellen ist. So waren in vielen pankreatisch differenzierten Zellkulturen neurale Zellen vorhanden, oder die Zellen produzierten selbst kein Insulin, sondern nahmen es aus dem Kulturmedium auf.

Durch Optimierung der Differenzierungsprotokolle und die Expression von pankreatischen Transkriptionsfaktoren (z. B. Pax4) in ES-Zellen konnten jedoch Insulin-produzierende Zellen gewonnen werden, die das Insulin nach Einwirkung hoher Glukosekonzentrationen abgaben und den Glukosespiegel diabetischer Mäuse normalisierten. Letztlich ist nur die Normalisierung des Blutglukosespiegels der funktionelle Nachweis für eine erfolgreiche pankreatische Differenzierung aus ES-Zellen.

Erste Versuche mit humanen ES-Zellen ergaben, dass nach Differenzierungsinduktion die gebildeten Zellen Insulin abgeben und typische Eigenschaften von endokrinen Pankreaszellen zeigen. **Allerdings sind noch erhebliche Anstrengungen erforderlich, um funktionstüchtige Inselzellen zu generieren, die nicht nur Insulin produzieren, sondern im Organismus auch kontrolliert sezernieren und in der Lage sind, den Blutzuckerspiegel stabil und über einen langen Zeitraum zu normalisieren.**

4.3.4 Keimzellendifferenzierung

Bis Ende 2003 galt es als unverrückbare Tatsache, dass ES-Zellen sich *in vitro* nur in die drei somatischen Zelllinien Ektoderm, Mesoderm und Endoderm, entwickeln können. Erst der Einsatz eines geeigneten Reportersystems erlaubte den Nachweis, dass sich mES-Zellen *in vitro* tatsächlich auch in Keimzellen entwickeln können. Die Gruppe um Hans Schöler nutzte regulatorische Sequenzen des Keimbahn-spezifischen *Oct4*-Gens, um die ersten Schritte der Keimzellbildung in Zellkultur zu analysieren. Es wurde ein genomisches *Oct-3/4-GFP*-Konstrukt in mES-Zellen eingeführt, die anschließend in hoher Zelldichte kultiviert wurden. Nach zwölf Tagen bildeten sich Kolonien, die im Kulturüberstand GFP-positive Zellen enthielten, die *Vasa* (einen Marker für postmigratorische Keimzellen) exprimierten. Die weitere Kultivierung dieser Zellaggregate führte zu Gebilden, die in morphologischer Hinsicht frühen Ovarfollikeln ähnelten. Die Oozyten-ähnlichen Strukturen synthetisierten Östradiol, was auf die Aktivität von Granulosazellen hindeutete. Allerdings waren die Oozyten-ähnlichen Gebilde fragil und es zeigte

Abbildung 7: *In vitro* Differenzierung von ES-Zellen

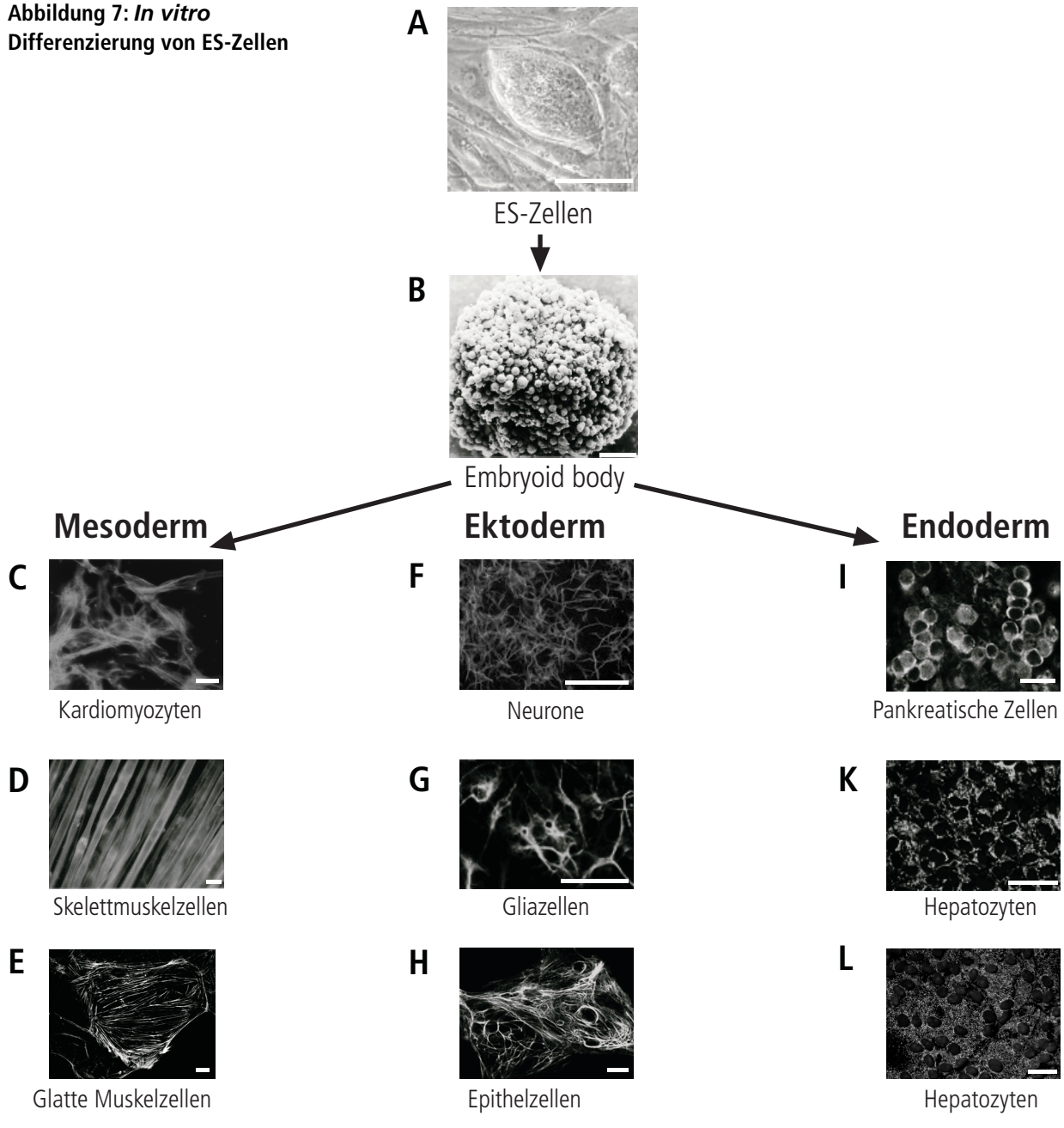


Abbildung 7: *In vitro* Differenzierung von ES-Zellen. Dargestellt ist (A) eine Kolonie undifferenzierter ES-Zellen (der Maus) auf Feeder-layer-Zellen, (B) ein „embryoid body“ (Scanning Elektronenmikroskopie) sowie (C-L) Immunfluoreszenz-mikroskopische Aufnahmen von Zelltypen aller drei Keimblätter. Zelltypen des Mesoderms sind beispielsweise (C) Kardiomyozyten, (D) Skelettmuskelzellen (beide markiert durch (Titin-Z-Banden-spezifische Antikörper) und (E) glatte Muskelzellen (smooth muscle- α -actin). Zellen des Ektoderms sind (F) Neurone (β -III-Tubulin), (G) Gliazellen („glial fibrillary acidic protein“, GFAP), und (H) Epithelzellen (Zytokeratin 8). Endodermale Zellen sind beispielsweise (I) pankreatische endokrine Zellen [Insulin (rot), C-Peptid (grün), Insulin/C-Peptid Koexpression = gelb] und (K, L) Hepatozyten (Albumin, K; α 1-Antitrypsin, L). Bars = 0,5 mm (H), 20 mm (I), 25 mm (C,D,E), 30 mm (K,L), 50 mm (B,G), 100 mm (A γ , F).

sich, dass *in vitro* nicht alle Proteine der Zona-pellucida gebildet werden. Die weitere Kultivierung dieser Oozyten-ähnlichen Zellen führte zu Zellen, die Präimplantationsembryonen von Mäusen ähnelten, und wahrscheinlich durch Parthenogenese entstanden waren.

Weiterhin wurden von einigen Arbeitsgruppen aus ES-Zellen männliche Keimzellen entwickelt, die nach Transplantation *in vivo* Spermatogenese durchlaufen und (normale *in vivo* entwickelte) Oozyten befruchten konnten. Das heisst, aus ES-Zellen hatten sich primordiale Keimzellen zu haploiden männlichen Gameten entwickelt, die nach Injektion in Oozyten zur normalen Reifungsteilung befähigt waren, sodass sich daraus (diploide) Blastozysten entwickelten.

Die Fähigkeit von ES-Zellen zur Entwicklung in Oozyten-ähnliche Zellen eröffnet die Möglichkeit der Untersuchung von Keimbahn-spezifischen epigenetischen Modifikationen sowie der Säuger-Gametogenese *in vitro*. Darüberhinaus könnten *in vitro* erzeugte Oozyten als Ausgangsmaterial zur Reprogrammierung somatischer Zellkerne verwendet werden. Gelänge es, vergleichbare Entwicklungsprozesse in humanen ES-Zellen zu induzieren, würde dies neue Perspektiven für die Erzeugung therapeutisch nutzbarer Zellen mit der Kerntransfer-Methode eröffnen (Kapitel 4.4).

Tatsächlich sind auch humane ES-Zellen imstande, Prozesse zu durchlaufen, die für die meiotische und postmeiotische Keimzellentwicklung typisch sind. Die *in vitro*-Differenzierung von EBs aus hES-Zelllinien führte zur Bildung VASA-positiver Zellen und zur Hochregulierung von Transkripten der Meiosemarker *SCP1* und *SCP3*. Im Unterschied zu mES-Zellen exprimierten *in vitro* differenzierte hES-Zellen sowohl das männliche als auch das weibliche genetische Programm, unabhängig davon, ob ihr Karyotyp XX oder XY ist.

4.4 Alternative Verfahren zur Gewinnung von ES-Zellen und somatischer Zellkernttransfer (SCNT-Technik, „therapeutisches Klonen“)

4.4.1 Alternative Zellquellen zur Etablierung von hES-Zellen

Die Etablierung von humanen ES-Zellen ist auf Grund der Zerstörung eines lebensfähigen Embryos ein ethisch umstrittenes Verfahren und hat zu kontroversen Debatten um die Zulässigkeit solcher Forschungsansätze geführt. Um derartige ethisch umstrittene Verfahren zu umgehen, wurden Alternativen vorgeschlagen, die die Verwendung von lebensfähigen Embryonen umgehen (Landry and Zucker, 2004).

Tabelle 7: Beispiele für das Differenzierungspotential von hES-Zellen

Zelltypen	Analysen und Ergebnisse	Zelllinien
Endodermale, ektodermale und mesodermale Derivate	Analyse der mRNA Expression verschiedener Marker	H9.1
	Expressionsanalyse verschiedener Marker durch PCR und Immunhistochemie	H9
	Genexpressionsanalyse während der Differenzierung mit Mikroarrays	H9, H13
Kardiomyozyten	Analyse struktureller und funktioneller Eigenschaften	H9.2
	Hochauflösende Elektrophysiologie	H9.2
	Differenzierung in angereicherte Populationen funktioneller Kardiomyozyten	H1, H7, H9
	Differenzierung in Kardiomyozyten	HES-2
	Beurteilung elektrophysiologischer und pharmakologischer Eigenschaften	H1, H7, H9, H9.2, H14
	Differenzierung in Kardiomyozyten durch Co-Kultur mit END-2-Zellen	HES-2
	Demonstration funktioneller Integration nach Transplantation in Meerschweinchen-Modell	H1
Hämatopoetische Kolonie-bildende Zellen	Differenzierung von multipotenten hämatopoetischen Vorläuferzellen	H1, H11, H9.2
Hämatopoetische Vorläuferzellen	Differenzierung von multipotenten CD45+ und CD34+ hämatopoetischen Vorläufern	H1, H9
Leukozyten	Differenzierung in Antigen-präsentierende Leukozyten	H1
Endotheliale Zellen	Isolierung und Charakterisierung endothelialer Zellen	H9
	Identifizierung von einfachen „endothelial-like cells“, die endotheliale und hämatopoetische Zellen hervorbringen	H1, H9
	Analyse von endothelialen Markern während spontaner Differenzierung	H9.2

Vaskulogenese	Gefäßbildung in Alginat-Strukturen	H9.2, H13
	Gefäßbildung in Teratomen	H9.2, H13, I6
Neuronale Vorläuferzellen	Differenzierung in neurale Vorläufer	HES-2, HES-3
Neuronen	RA und NGF aktivieren neuronale Differenzierung	H9
	Differenzierung in neurale Vorläufer und Neuronen	BG01, BG02
	Differenzierung in dopaminerge Neurone, Transplantation in Parkinson-Ratten, Ergebnis ist funktionelle Verbesserung	HES-1
	Differenzierung in dopaminerge Neurone	H1, H9, HES-3, BG01, BG03, MB03
	Differenzierung in Motoneurone	H1, H9
Neuronen und Glia	Differenzierung in angereicherte Populationen von funktionellen Neuronen und neuronalen Vorläufern	H1, H7, H9
	Differenzierung in neurale Vorläufer, Neuronen und Glia, Transplantation in neonatale Ratten	H1, H9, H9.2, HES-1
Oligodendrozyten	Differenzierung in angereicherte Populationen von Oligodendrozyten und Myelinisierung nach Transplantation	H7
Insulin-produzierende Zellen	Differenzierung in Insulin-produzierende Cluster	H9, H9.2, H13, I6
Hepatozyten-ähnliche Zellen	Differenzierung in angereicherte Populationen von Hepatozyten-ähnlichen Zellen	H1, H9
Trophoblast-Zellen	Differenzierung in Trophoblast-Zellen	H1, H7, H9, H14
Keim-Zellen	Spontane Differenzierung von Keimzellstadien	HSF-1, HSF-6, H9

(nach Hoffman and Carpenter, 2005, Zitate dort)

So wurde gefordert, von nicht mehr lebensfähigen Embryonen auszugehen, oder nur einzelne Zellen selektiv aus dem Embryo zu entnehmen. Beim letzteren Verfahren würde der Embryo, ähnlich wie bei der Präimplantationsdiagnostik (PID), nicht zerstört, sondern wäre prinzipiell noch lebensfähig. Bei Mäusen ist gezeigt worden, dass aus einzelnen Blastomeren ES-Zelllinien etabliert werden können, und auch für humane Blastomeren aus Morulastadien ist

dies bereits gezeigt. Kürzlich konnte die Gruppe um Robert Lanza zeigen, dass ein Maus-Embryo, dem eine einzelne Zelle (Blastomere) zur Etablierung einer ES-Zelllinie entnommen wurde, normale lebensfähige Nachkommen hervorbrachte (Chung et al., 2005). Damit ist zumindest im Maussystem gezeigt, dass die Entnahme einer einzelnen Zelle des 8-Zell-Stadiums die weitere Entwicklung nicht behindert.

Weiterhin könnten hES-Zellen auch aus parthenogenetischen Embryonen etabliert werden, ein Verfahren, das bei der Maus häufig genutzt wird, und auch bereits für Primatenzellen erfolgreich war (Vrana et al., 2003), Kapitel 4.1.3]. Es ist ausserdem vorgeschlagen worden, in die hES-Zellen, die über Kerntransfer entstanden sind (Kapitel 4.4.2) so genannte „Suizid“- oder „Selbstmord“-Gene einzuführen, die eine Weiterentwicklung über das Gastrulationsstadium hinaus ausschließen. Inwieweit diese alternativen Verfahren eine Zukunft in der Stammzellforschung haben, kann derzeit noch nicht prognostiziert werden.

4.4.2 „Therapeutisches Klonen“ („somatic cell nuclear transfer“, SCNT-Technik)

Klonen ist definitionsgemäß die genetisch identische Reduplikation von Zellen beziehungsweise von Individuen mit dem gleichen Genotyp. Dies geschieht beispielsweise in der Natur bei der ungeschlechtlichen Vermehrung von Hydra, Seeanemonen, Planarien und Anneliden, ist aber auch mit Körperzellen von Säugern möglich, wie die Geburt des Schafes Dolly im Jahr 1996 gezeigt hat (darüberhinaus wird auch bei der Klonierung von DNA-Molekülen oder bei der zellulären Klonierung von „Klonen“ gesprochen).

Aus der Tierzucht sind zwei Verfahren zur identischen Reduplikation bekannt: Erstens die künstliche Teilung eines aus Keimzellen entstandenen Embryos durch Embryosplitting und zweitens das Verfahren des somatischen Kerntransfers („somatic cell nuclear transfer“, SCNT), umgangssprachlich auch „Dolly-Verfahren“ genannt. Allerdings sind bei diesem Verfahren zwar die im Zellkern lokalisierten Gene identisch, doch die in den Mitochondrien vorkommenden Gene sind verschieden und werden in diesem Zusammenhang vernachlässigt. Im engeren Sinne kann deshalb nur von „Kerngenom-identischen“ Nachkommen gesprochen werden. Ausserdem werden Unterschiede, die durch somatische Mutationen in den Zellen (deren Zellkerne für den Transfer genutzt werden) im Laufe des Lebens entstanden sind, ebenfalls außer acht gelassen.

Man unterscheidet beim somatischen Zellkerntransfer (SCNT) im Allgemeinen zwei Arten des Klonens: 1. das „reproduktive“ und 2. das „therapeutische“ Klonen. **Beim**

„therapeutischen“ Klonen werden durch die Übertragung von adulten Körperzell-Kernen in entkernte Eizellen embryonale Stammzellen mit dem Genom des Ursprungskerns produziert. Bei dieser Technik wird ein Äquivalent eines Embryos erzeugt. Der somatische Zellkern wird dabei reprogrammiert, er kann totipotent (wie bei „Dolly“) oder nach Etablierung einer ES-Zelllinie pluripotent werden – dies ist angestrebt beim „therapeutischen“ Klonen – und dann die ersten Stadien der embryonalen Differenzierung vollziehen. Würden diese Zellen dann in die Gebärmutter eines Empfängerorganismus eingepflanzt, könnte sich der Embryo in einem Prozess, der als „reproduktives Klonen“ bezeichnet wird, wie das Schaf „Dolly“, möglicherweise zu einem Organismus weiter entwickeln (dass dies aus wissenschaftlicher und ethischer Sicht unverantwortlich ist, und konsequent abgelehnt werden muss, sei hier nur kurz angemerkt; siehe Kapitel 6). Belässt man die fusionierten Zellen jedoch in Kultur, könnten die Zellen aus der inneren Zellmasse der sich bildenden Blastozyste isoliert und so genannte „nuclear transfer“ (nt)-ES-Zellen etabliert werden. Die auf diese Weise gewonnenen **nt-ES-Zellen** wären bis auf das mitochondriale Genom mit dem (Kern)Genom der Spenderzelle identisch und könnten zu (autologen) Ersatzzellen für eine Zelltransplantation differenziert werden, sodass das Problem einer immunologischen Unverträglichkeit nicht bestehen und die Notwendigkeit einer Suppression der Immunreaktion entfallen sollte (Abbildung 8). Darüber hinaus stünde mit den nt-ES-Zellen eine Quelle zur Verfügung, die es erlauben würde, jeweils neue Ersatzzellen zu gewinnen. **„Therapeutisches Klonen“ ist derzeit jedoch noch kein Therapieverfahren, sondern ein Forschungsansatz mit dem Ziel der Zellersatz-Therapie, und wird aus diesem Grund auch als „Forschungs-Klonen“ bezeichnet.**

Forschung an Tieren hat die Technik des SCNT entscheidend vorangebracht. So sind neben dem Klonschaf „Dolly“ in den vergangenen Jahren Rind, Ziege, Maus, Schwein, aber auch Hund und Katze, über das SCNT-Verfahren geklont worden (Hipp and Atala, 2004).

Wie in Kapitel 4.2 ausgeführt, können ES-Zellen genetisch verändert werden. In Verbindung mit der Strategie des Zellkerntransfers bieten Abkömmlinge von nt-ES-Zellen damit die Möglichkeit, einen genetischen Defekt zu kompensieren. Dies wurde erstmals in der Gruppe von Rudolf Jaenisch (Rideout et al., 2002) am Maussystem demonstriert. Man gewann nt-ES-Zellen nach Reprogrammierung von Kernen aus Zellen der Schwanzspitze immunschwacher Mäuse, die für eine Mutation im RAG-2 Gen („recombination activating gene“) homozygot waren. Diese

Mäuse haben weder reife B- noch T-Zellen. Die genetische Veränderung konnte durch homologe Rekombination in den ES-Zellen „kuriert“ werden, und die auf diese Weise entstandenen nt-ES-Zellen ließen sich *in vitro* in hämatopoetische Vorläuferzellen differenzieren. Wenn man diese Vorläuferzellen wieder bestrahlten Tieren mit einem defekten *Rag2* injizierte, sorgten sie zumindest teilweise für eine Rekonstitution des geschwächten Immunsystems. Außerdem konnte man in diesen Mäusen funktionstüchtige B- und T-Zellen nachweisen. Überraschenderweise schlugen die ersten Transplantationsversuche mit diesen Zellen fehl, weil es zu einer Zunahme an natürlichen Killerzellen kam. Um diesen Phänotyp zu erhalten, musste das Immunsystem unterdrückt werden. Dennoch war dieser Versuch ein erster Beweis für ein Therapieprinzip, bei dem man zur Behandlung einer genetischen Erkrankung eine Kernübertragung mit einer Gentherapie kombinierte. Arbeiten der Gruppe um Lorenz Studer (Barberi et al., 2003) zeigten, dass der Phänotyp von Mäusen mit analogen Defekten wie beim Parkinson-Syndrom durch eine Transplantation Dopamin-produzierender Neuronen, die aus nt-ES-Zellen entwickelt wurden, korrigiert werden konnte.

Ausgehend von diesen Befunden könnte man durch Reprogrammierung von Körperzellen des Menschen in humane Eizellen in Verbindung mit der ES-Zell-Technologie autologe Zellen für die Therapie einer Vielzahl von Erkrankungen gewinnen. Damit eröffnet die SCNT-Methode prinzipiell die Möglichkeit, (Patienten-spezifisches) Zellmaterial für therapeutische Anwendungen herzustellen, welches immunologisch mit der zu behandelnden Person identisch ist, und Abstoßungen des Zelltransplantats nicht zu erwarten wären.

Bisher ist der Nachweis, dass diese Strategie tatsächlich mit humanen Zellen von Patienten gelingen kann, noch nicht erbracht. Die Arbeiten des südkoreanischen Wissenschaftlers Woo Suk Hwang (Hwang et al., 2004, Hwang et al., 2005), haben sich als Fälschungen herausgestellt (Karberg, 2005; Karisch, 2006; Gottweis and Triendl, 2006; Reuters Nachrichtenagentur 5. Januar 2006; Int. Herald Tribune, 10. Januar 2006; Normile et al., 2006).

Die Methode des SCNT zur Gewinnung von nt-hES-Zelllinien wirft darüber hinaus zahlreiche ethische und rechtliche Fragen auf, insbesondere ist nach wie vor die Gewinnung von humanen Eizellen stark umstritten (Kapitel 6).

In wissenschaftlicher Hinsicht stellt sich deshalb die besondere Herausforderung, alternative Verfahren zur Eizellgewinnung (anstelle der Superovulation von Frauen!) für die Reprogrammierung somatischer Zellkerne zu entwickeln.

4.4.3 Alternative Verfahren für Reprogrammierungsversuche mit Hilfe von SCNT-Techniken

Auf Grund der ethischen Problematik ist die Gewinnung von menschlichen Eizellen nach Superovulation gesunder Frauen in der Gesellschaft, aber auch in der „scientific community“ sehr umstritten. So ist beispielsweise auch von seiten der Wissenschaft gefordert worden, die SCNT Technologie erst dann weiter zu verfolgen, wenn alternative Quellen für die zur Reprogrammierung benötigten menschlichen Eizellen zur Verfügung stehen.

Alternative Verfahren der Reprogrammierung adulter Zellkerne zum Beispiel mit pluripotenten Zellen sind vorstellbar und wurden zum Teil in ersten Experimenten modellhaft erprobt (Tabelle 8). So ist es prinzipiell möglich, eine Reprogrammierung von adulten Zellkernen mit Eizellen anderer Spezies, wie zum Beispiel von Vertebraten [z. B. Frosch-Oozyten, (Byrne et al., 2003)] oder von Säugern [z. B. Kaninchen (Chen et al., 2003) oder Rind (Chang et al., 2003)] zur Reprogrammierung einzusetzen. Diese Alternative wurde von chinesischen Wissenschaftlern bereits im Jahr 2003 aufgezeigt. Sie verwendeten Eizellen von Kaninchen zur Reprogrammierung von adulten Körperzellen und konnten damit nt-hES-Zellen generieren, die sich *in vitro* in verschiedene differenzierte Zellen entwickelten. Die erfolgreiche Differenzierung von mES-Zellen in Oozyten-ähnliche Zellen (Hübner et al., 2003) würde – wenn es gelänge, die Methode auf hES-Zellen zu übertragen – eine weitere Möglichkeit zur Reprogrammierung von adulten Zellkernen eröffnen.

Als weitere Alternative ist bereits vor einigen Jahren vorgeschlagen worden (Solter, 1999), pluripotente ES-Zellen anstelle von Eizellen für die Reprogrammierung von adulten Zellen einzusetzen. So wurde in ersten Versuchen mit Maus-Zellen gezeigt, dass neurale Vorläuferzellen durch Zellkerne von mES-Zellen (Do and Schöler, 2004) reprogrammiert werden konnten, sodass sie wieder Oct-4 exprimieren. Inwieweit die Reprogrammierung somatischer Zellkerne mit Hilfe von Zellkernen erfolgreich sein wird, beziehungsweise welche Rolle das Zytoplasma pluripotenter Zellen dabei spielt, bleibt zukünftigen Experimenten vorbehalten. Die Enukleation von ES-Zellen beziehungsweise die Gewinnung von ES-Zellplasma ist insofern schwierig, als ES-Zellen einen sehr großen Zellkern, aber nur sehr wenig Zytoplasma besitzen.

Doch inzwischen haben Wissenschaftler ein Verfahren entwickelt, das es erlaubt, Zellkerne adulter Körperzellen mit dem Zytoplasma von entkernten humanen ES-Zellen zu fusionieren (Cowan et al., 2005). Solche Hybriden wurden auch als „stembrids“ bezeichnet (Strelchenko

Abbildung 8: Strategie des „therapeutischen Klonens“ zur Herstellung autologer Zelltransplantate beim Menschen

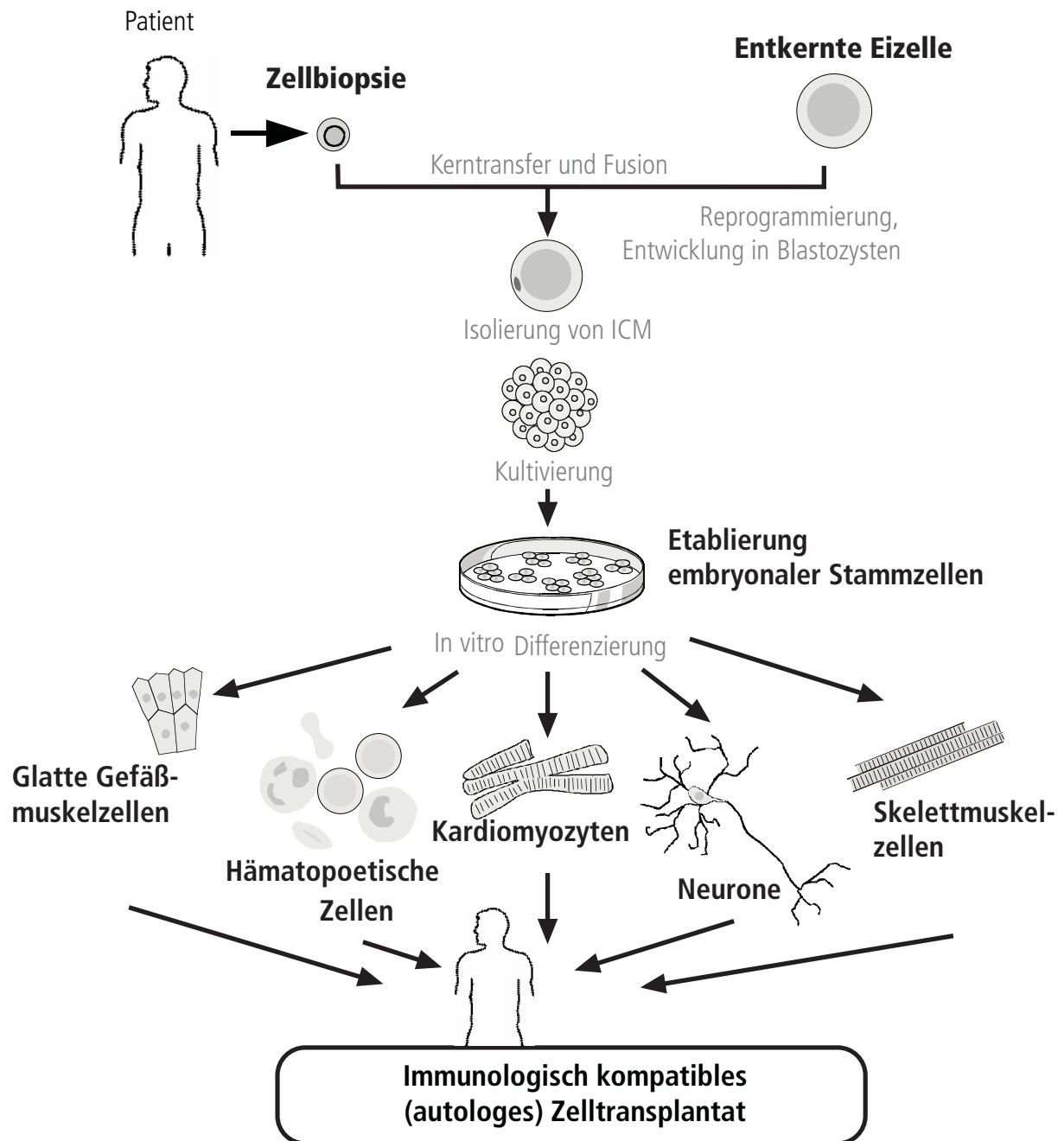


Abbildung 8: Strategie des „therapeutischen Klonens“ zur Herstellung autologer Zelltransplantate beim Menschen. Zellen aus einer Gewebeprobe eines Patienten werden mit entkernten (enukleierten) Eizellen fusioniert. Im Kontakt mit dem Einzell-Plasma wird der somatische Zellkern in ein totipotentes Zellstadium reprogrammiert. Dieses Embryo-ähnliche Zellaggregat wird weiter in Blastozysten entwickelt und aus den pluripotenten Zellen der Inneren Zellmasse werden ES-Zelllinien etabliert. Diese können *in vitro* in die für den Patienten benötigten spezialisierten Zellen differenziert werden. Die entwickelten Zellen enthalten das Kerngenom der Zellen des Spenders und sollten nicht zu Abstossungsreaktionen führen (aus Wobus and Boheler, 2005).

and Verlinski, 2004). Die Hybridzellen mit einem tetraploiden Chromosomensatz beider Elternezellen prägten Eigenschaften der embryonalen Zellen aus und entwickelten sich in differenzierte Zellderivate der drei Keimblätter. Für eine zelltherapeutische Verwendung müssten die überflüssigen Chromosomen allerdings wieder entfernt werden, weshalb das Verfahren zunächst vor allem als Instrument der Forschung angesehen wird (Tabelle 8).

Eine weitere Methode des Kerntransfers ist die so genannte ANT („**altered nuclear transfer**“)-Technik (Hurlbut, 2005), wobei eine abnormale nicht entwicklungsfähige nt-Blastozyste entwickelt wird (und damit das potentiell totipotente Stadium des klonierten Embryos umgangen wird). Meissner und Jaenisch überprüften das Konzept, indem sie Fibroblasten mit einem konditionalen lentiviralen RNA Interferenz (RNAi)-Vektor infizierten, um damit das Cdx2 Gen zu inaktivieren (fehlende Expression von Cdx2 führt zur Bildung des Embryoblasten, jedoch ist die weitere Entwicklung des Embryos aufgrund defekter Trophektoderm-Entwicklung und die Implantation blockiert). Mit diesen Cdx2-defizienten Zellen wurde ein Zellkerntransfer durchgeführt, sodass nach Klonierung Cdx2-defiziente Blastozysten entstanden, die sich *in vivo* und in Kultur (Embryokultur) nicht weiter entwickeln konnten. Aus der Inneren Zellmasse Cdx2-defizienter Blastozysten konnten jedoch *in vitro* ES-Zelllinien etabliert werden. Die nt-ES-Zellklone enthielten gewissermaßen eine transiente „Entwicklungsbremse“, denn der Entwicklungsdefekt kann (aus den Cdx2lox ES-Zellen durch Deletion der Cdx2 shRNA-Sequenzen) wieder entfernt werden. Diese nt-ES-Zellen gewonnen mit Hilfe der ANT-Technik zeigten Eigenschaften pluripotenter Zellen und konnten in Zellderivate aller drei Keimblätter differenzieren (Meissner and Jaenisch, 2005).

Natürlich wäre es eine ideale Alternative, die Reprogrammierungsfaktoren aus dem Eizellplasma direkt für eine Reprogrammierung somatischer Zellen ohne Eizellen einzusetzen. Zumindest im tierischen System ist gezeigt worden, dass dies prinzipiell erfolgreich sein kann (Gonda et al., 2003).

Jedoch erfordern alle oben dargestellten Verfahren noch Antworten auf grundsätzliche Fragen. So ist ein wesentlicher Aspekt der Reprogrammierung adulter Zellkerne – die Rolle des Alters der Spenderzelle auf die Eigenschaften der gewonnenen nt-hES-Zellen – noch völlig unbekannt. Dabei ist seit den frühen 1960er Jahren durch die Arbeiten von Leonard Hayflick bekannt, dass humane Zellen in Zellkultur einem Alterungsprozess unterliegen, der infolge der Ansammlung von Mutationen zur genetischen Transformation der Zellen führt (Hayflick and Moorhead, 1961).

Solche Mutationen finden auch im lebenden Organismus mit zunehmendem Alter statt. Als Schwellenwert („Ende der Garantiezeit“, „end of warranty“ bezeichnet) wird ein Alter von 45 Jahren angesehen, nach dem es zu einem sprunghaften Anstieg der Mutationsrate und in der Population zu einer Erhöhung der Tumorraten kommt. Es ist deshalb ein wichtiges Forschungsziel, den Einfluss des Alters adulter Körperzellen auf Reprogrammierungsprozesse zu untersuchen.

Darüberhinaus sind weitere grundlegende Fragen zu beantworten (Kapitel 5.2.1). So müssen etwaige genetische und epigenetische Modifikationen von nt-hES-Zellen während der *in vitro* Kultur und Differenzierung auf ein Minimum beschränkt bleiben. Es ist ebenso noch unbekannt, wie sich die mitochondriale Genexpression der Eizellen auf die Zellfunktionen der reprogrammierten somatischen Zellen nach Kerntransfer, sowie auf die immunologische Kompatibilität dieser Zellen auswirken.

Ganz sicher sind die hier diskutierten Verfahren nur als potentielle Alternativen zur prinzipiellen Strategie des „therapeutischen Klonens“, die mit einem Verbrauch von Eizellen einhergeht, anzusehen. Es ist allerdings von entscheidender Bedeutung, die Möglichkeiten auszuloten, die diese alternativen Verfahren für zukünftige Zelltherapie-Strategien beim Menschen eröffnen könnten.

4.5 Adulte Stammzellen

4.5.1 Funktion adulter Stammzellen im Organismus

In vielen Geweben des erwachsenen Menschen existieren zeitlebens adulte Stammzellen, die wichtige Aufgaben bei der Geweberegeneration und -reparatur erfüllen. Durch ihre Fähigkeit zur Selbst-Regeneration („self-renewal“) und zur Entwicklung in spezialisierte Zellen erhalten adulte Stammzellen die Funktionsfähigkeit von Geweben und Organen aufrecht, indem sie die spezialisierten Zellen des Gewebes bilden und beschädigte oder abgestorbene Zellen ersetzen. Im entwickelten Organismus befinden sich die aktivsten Stammzellen in den Krypten des Darmepithels, im Knochenmark und in der Haut.

Besondere Bedeutung haben die seit Jahrzehnten bekannten und in der klinischen Praxis erfolgreich eingesetzten Stammzellen des Knochenmarks. Bereits 1961 wurde ihre Fähigkeit zur Selbst-Regeneration und Entwicklungsfähigkeit in verschiedene Zelllinien („multi-lineage

capacity“) beschrieben (Till and McCulloch, 1961). Im Knochenmark sind jedoch neben den blut- und immunzellbildenden hämatopoetischen Stammzellen (HSC), die so genannten mesenchymalen Stammzellen (MSC), sowie endotheliale Vorläuferzellen („endothelial progenitors“, EPCs), die Blutgefäße bilden können, enthalten. Diese Stammzelltypen sind im erwachsenen Leben ständig oder bei speziellem Bedarf hochaktiv. Darüberhinaus wurden Stammzellen auch in solchen Geweben und Organen nachgewiesen, die bisher nur in begrenztem Umfang als regenerationsfähig angesehen wurden. So wurden Stammzellen in der Retina, im Zentralnervensystem, Pankreas, sowie im Skelettmuskel nachgewiesen. In anderen Organen, wie zum Beispiel im Herzmuskel, müssen zwar auf Grund der Gewebe-Homöostase auch Stammzellen vorhanden sein, aber ihre Identität und Funktion sind bisher noch nicht eindeutig definiert.

Diese adulten Stammzellen sind im erwachsenen Organismus in spezifischen Gewebekompartimenten („extrazelluläre Nische“) lokalisiert und nur in dieser spezifischen Umgebung funktionsfähig. In dieser Umgebung antworten Stammzellen auf stimulierende oder hemmende Signalmoleküle, die sie aus dem Gewebe erhalten, in dem sie sich aufhalten oder in das sie einwandern, beziehungsweise die sie über Hormonsignale aus dem Gesamtorganismus empfangen. Für die erstere Form sind die zahlreichen Proliferationsprozesse im verletzten Gewebe ein Beispiel, für die letztere die Regeneration von roten Blutzellen im Knochenmark des gesamten Körpers bei starken Blutverlusten, ausgelöst durch das von der Niere ins Blut abgegebene und im Knochenmark wirkende Hormon Erythropoetin (EPO).

Stammzellen können jedoch nicht nur in dem Gewebe funktionieren, in dem sie sich befinden, sie können auch isoliert und in andere Organismen übertragen werden. Diese Eigenschaft ist die Grundlage für die bereits seit vielen Jahren klinisch erfolgreich eingesetzten Transplantationen von Knochenmarkstammzellen zur Behandlung von Blutkrankheiten, wie Leukämien, oder zur Behandlung von Tumorpatienten nach Chemotherapie.³ Hierbei muss berücksichtigt werden, dass Stammzellen immunologisch individuell sind und somit vom Immunsystem des Empfängers erkannt und bei Unverträglichkeit abgestoßen werden („allogen“). Transplantierte Knochenmarkszellen können umgekehrt die Zellen des Empfängers

3 Auf diese bereits in der klinischen Praxis etablierten Therapien der Knochenmarkstammzelltransplantation und der Hämatologie als eigenständige Fachdisziplin wird in diesem Beitrag nicht eingegangen.

Tabelle 8: Mögliche Alternativen zur Reprogrammierung von adulten somatischen Zellen mit Hilfe der SCNT-Technik (anstelle der Verwendung humaner Eizellen)

Zellquelle/ Herkunft	Referenz
Eizellen von Krallenfröschen (Xenopus)	(Byrne et al., 2003)
Eizellen aus Säugern (Kaninchen)	(Chen et al., 2003)
(Rind)	(Chang et al., 2003)
Eizellen entwickelt aus ES-Zellen nach <i>in vitro</i> Differenzierung	(Hübner et al., 2003)
Zellkerne von ES-Zellen	(Do and Schöler, 2004)
Zytoplasma von pluripotenten ES-Zellen	(Solter, 1999, Tada et al., 2001)
Fusion von enukleierten hES-Zellen mit adulten Körperzellen („Stembrids“)	(Strelchenko and Verlinski, 2004)
Fusion von hES-Zellen mit Fibroblasten	(Cowan et al., 2005)
Dedifferenzierungsfaktoren aus dem Eizellplasma von Vertebraten	(Gonda et al., 2003)
Parthenogenetisch hergestellte Eizellen	(Hipp and Atala, 2004, Roh et al., 2003)
Eizellen aus Abort- oder Operationsmaterial	(Shaw and Trounson, 2002)

als „fremd“ erkennen und abstoßen. Produkte aus Stammzellen des gleichen Organismus sind hingegen genetisch identisch und daher voll verträglich („autolog“).

Ein weiteres Problem der Stammzelltransplantation ist seit vielen Jahren, dass Stammzellen nur in geringer Menge aus dem gesunden Spenderorganismus isoliert und *in vitro* nur schwer vermehrt werden können. So können hämatopoetische Stammzellen aus dem Knochenmark zwar in Blutzellbanken lebensfähig erhalten werden, alle Versuche zur *in vitro*-Vermehrung von HSC sind bisher jedoch nur von begrenztem Erfolg gewesen.

Eine besondere Rolle kommt den **Stammzellen im Nabelschnurblut** Neugeborener zu. Analog zum Knochenmark enthält auch das Nabelschnurblut („cord blood“) hämatopoetische,

mesenchymale und endotheliale Stammzellen. Nabelschnurblut enthält im Vergleich zum Knochenmark eine höhere Konzentration unreifer Stammzellen, die Zellen zeigen eine höhere Proliferation und eine höhere Immuntoleranz nach Transplantation (wegen des geringen Anteils unreifer T-Zellen). Eine Immobilisierung ist nicht notwendig und die Isolierung ist ohne Risiko für den Spender. Die Lagerung und Langzeitkonservierung des Blutes ist technisch problemlos. Verglichen mit der Gewinnung von hES-Zellen ist die Isolierung von Stammzellen aus dem Nabelschnurblut aus ethischer Sicht unbedenklich. Allerdings entspricht das Entwicklungspotential von Stammzellen des Nabelschnurbluts eher dem adulter Stammzellen. Ein Nachteil ist ferner, dass die Menge an Nabelschnurblut, die für die Isolierung von Stammzellen eingesetzt werden kann, relativ gering ist (ca. 60 ml), sodass die Zellen derzeit nur für die Behandlung von Blutkrankheiten bei Kindern ausreichen. Nach ersten Berichten wurden Stammzellen des Nabelschnurbluts jedoch bereits zur Behandlung von Schlaganfall-Patienten eingesetzt. Von weiteren Forschungserfolgen wird es abhängen, ob und inwieweit Stammzellen des Nabelschnurbluts eine größere Bedeutung bei der Entwicklung von Zelltherapien erlangen werden.

Eine weitere **Quelle von adulten Stammzellen sind Gewebe von Föten**. Im Fötus sind besonders viele Stamm- und Vorläuferzellen mit hohem Proliferations- und Entwicklungspotential vorhanden. In einigen Ländern (z. B. Schweden, USA, Ukraine) werden aus fetalen Geweben Zellen unmittelbar für therapeutische Zwecke gewonnen, so unter anderem für die Behandlung von Patienten mit Morbus Parkinson (Kapitel 5.2.2.2). Aufgrund der ethisch umstrittenen Gewinnung von fetalen Zellen aus Abortmaterial mehrerer Feten sind Therapien mit fetalen Zellen in Deutschland nicht zugelassen.

4.5.2 Eigenschaften adulter Stammzellen und Stammzellmarker

Die Isolierung, angestrebte Vermehrung und Differenzierung von adulten Stammzellen in Kultur erfordern ihre genaue Definition und Charakterisierung. Adulte Stammzellen sind durch ganz bestimmte Eigenschaften und Marker charakterisiert, die es erlauben, sie im Organismus zu identifizieren und zu isolieren (Alison et al., 2005). Auch im Vergleich zu ES-Zellen sind adulte Stammzellen verschieden und durch bestimmte Eigenschaften charakterisiert (Tabelle 9).

Die wichtigste Eigenschaft von Stammzellen ist ihre **Vermehrungsfähigkeit (self-renewal)**, die dazu führt, dass Stammzellen (bei symmetrischer Teilung) einen immer wieder sich selbst

regenerierenden Zellpool aufrecht erhalten. Bei der asymmetrischen Zellteilung bildet sich in der Regel wieder eine Stammzelle und eine Vorläuferzelle („transit amplifying cell“, TA-Zelle), welche Proliferations- und **Entwicklungsfähigkeit** besitzt und die spezialisierten Zellen des Gewebes⁴ bildet. Interaktionen der Stamm- und Vorläuferzellen mit der extrazellulären Nische sind für das Schicksal der Stammzelle entscheidend. So sind Cadherine/Catenine und BMP-regulierte Signalwege für die Erhaltung der Anzahl und für die Interaktion von HSCs mit Osteoblasten identifiziert worden.

Stammzellen sind in der Regel nur in **geringer Anzahl** vorhanden. Im Dünndarmgewebe der Maus sind zum Beispiel 4–5 Stammzellen in circa 250 Zellen der Krypte vorhanden. Im Skelettmuskel sind fünf Prozent aller Zellen als Stammzellen, so genannte Satellitenzellen, identifiziert worden. Im Knochenmark liegen hämatopoetische Stammzellen nur in einer Frequenz von 1 HSC in 10 000 bis 15 000 Zellen vor.

Stammzellen sind relativ **undifferenziert**, das heißt, in den Geweben zeigen sie nicht die spezialisierten Eigenschaften und Funktionen ihrer differenzierten Nachkommen. Dagegen sind eine Reihe von **Stammzellmarkern** beschrieben worden, mit denen Stammzellen identifiziert und charakterisiert werden können (Tabelle 10). Am bekanntesten sind die Zell-Oberflächenmarker der HSCs, CD34 und CD133, die in der klinischen Praxis dazu dienen, hämatopoetische Stammzellpopulationen zu isolieren und anzureichern, sodass sie therapeutisch eingesetzt werden können. Dabei sind Stammzellen nie nur aufgrund ihrer Markereigenschaften, sondern allein im Hinblick auf ihre Funktionen zu beschreiben. Neben den Eigenschaften „self-renewal“ und Differenzierung ist die entscheidende Funktion der Stammzellen ihre *Klonalität*, das heißt, eine *einzelne* Stammzelle ist in der Lage, die spezialisierten Nachkommen zu bilden. Allerdings trifft diese Eigenschaft nicht bei allen Stammzellen auch auf ihre *in vitro* kultivierten Abkömmlinge zu (z. B. nicht für Stammzellen des Dünndarmepithels).

Stammzellen sind (im Ruhezustand, „quiescent“) im Gewebe durch ihre *geringe Teilungsrate* charakterisiert. Das führt dazu, dass sich in der Regel TA-Zellen häufiger teilen als die Stammzellen selbst. Erst ein äußeres Signal infolge von Zellschädigung oder Zellverlust kann dann die Stammzellaktivität induzieren.

4 Zum Beispiel im Blutsystem die myeloiden und lymphoiden Zelltypen; oder im Dünndarmepithel, die enteroendokrinen, epithelialen und Panethschen Drüsenzellen.

Seit 1996 ist ein weiteres Merkmal von Stammzellen bekannt: Margaret Goodell beschrieb eine Methode zur Isolierung von HSCs auf Grund ihrer Fähigkeit, einen fluoreszierenden Farbstoff, Hoechst 33342, aktiv auszuschleiden. Nach Flowzytometrie konnten diese Zellen dann in einem spezifischen Profil dargestellt werden, der so genannten „*side population*“ (SP) (Goodell et al., 1996). Der SP-Phänotyp von HSCs von Maus und Mensch ist durch die Expression des ABCG2 [„ATP-binding cassette (ABC) protein subfamily G member 2“] Transporters determiniert. Auch in anderen Geweben, wie Skelettmuskel, Gehirn, Leber und Niere, wurden CD34-positive SP- Zellen gefunden, die fähig waren, im Kolonie-Test HSC Kolonien zu bilden, was darauf hinweist, dass SP-Zellen nicht nur im Knochenmark vorkommen.⁵

Stammzellen haben darüberhinaus Mechanismen entwickelt, ihre genomische Integrität zu erhalten, das heißt, zu verhindern, dass Fehler in der Replikation auf die TA-Zellen übertragen werden, die dann von der weiteren Entwicklung ausgeschlossen wären.

4.5.3 Plastizität im Entwicklungspotenzial von adulten Stammzellen *in vivo*

Während der letzten Jahre wurde in zahlreichen Arbeiten berichtet, dass sich adulte Stammzellen unter bestimmten Bedingungen auch in Zelltypen anderer Gewebe entwickeln könnten, das heißt Knochenmarksstammzellen wurden in Skelettmuskel, Leber, Lunge, Darm, Haut und Herz beobachtet, und Marker von neuronalen Stammzellen wurden beispielsweise im Blut nachgewiesen. Diese mögliche Flexibilität im Entwicklungspotenzial wurde als „Plastizität“ oder „Transdifferenzierungsfähigkeit“ bezeichnet. Sie hätte zur Folge, dass Stammzellen nicht allein auf die Bildung der differenzierten Zellen ihres eigenen Gewebetyps spezialisiert sind, sondern sich auch in Zellen anderer Linien entwickeln können.

Wenn es gelingen würde, ein solches hohes Entwicklungspotenzial effizient und reproduzierbar zu nutzen, käme adulten Stammzellen – neben dem derzeitigen erfolgreichen klinischen Einsatz zur Transplantation von Knochenmarkstammzellen bei Blutkrankheiten – ein hohes therapeutisches Potenzial zu. Es wäre dann möglich, unterschiedliche Zellen, zum Beispiel

5 Die ABC-Superfamilie bildet eine große Gruppe von Membrantransportproteinen, und ABC Transporter spielen eine große Rolle bei Transportprozessen von Wirkstoffen und Xenobiotika. Hier sind es insbesondere MDR1 (ABCB1 oder P-Glykoprotein), MRP1 („multidrug resistance protein 1“, ABCC1) und BCRP1 („breast cancer resistance protein 1“, ABCG2) deren Expression mit „multidrug resistance“ in Tumorzellen assoziiert ist. Auf Grund ihrer ubiquitären und hoch spezialisierten Expression und dem parallelen Vorkommen in Tumorzellen kommt den ABC Transporter-Proteinen eine große Rolle bei der Regulation von Stammzellen zu.

aus den Stammzellen des Knochenmarks, zu entwickeln und für die Reparatur anderer Gewebedefekte einzusetzen. Allerdings zeigte sich nach intensiver Forschung der letzten Jahre, dass die ersten Ergebnisse in den meisten Fällen einer kritischen Überprüfung nicht standhielten.

Im allgemeinen wird „Plastizität“ adulter Stammzellen definiert als die Fähigkeit, sich in Zelltypen anderer Linien zu entwickeln und damit die Expressionsprofile, Phänotypen und funktionellen Eigenschaften von Zellen anderer Zelllinien („lineages“) anzunehmen.

Es zeigte sich, dass die Techniken, die zum Nachweis der Plastizität *in vivo* und *in vitro* eingesetzt wurden, nicht eindeutig und die zelluläre (Trans-) Differenzierung in den meisten Fällen nicht funktionell nachweisbar war. Es blieb auch unklar, wie das Phänomen der Zellplastizität für klinische Anwendungen stabil und reproduzierbar genutzt werden könnte.

Aus diesem Grund wurden an derartige Experimente folgende Anforderungen gestellt:

1. Die Ausgangs-Stammzellpopulation muss durch zelluläre (Kapitel 4.5.2) und genetische Marker (z. B. Y-chromosomale DNA-Proben, Reportergenexpression gekoppelt an Fluoreszenzmarker oder Enzymexpression, wie β -Galaktosidase) eindeutig definiert sein,
2. Stammzellen müssen im Empfängerorganismus anhand dieser genetischen und zellulären Marker in einem anderen Gewebe nachweisbar sein, und
3. Es muss zweifelsfrei gezeigt werden, dass die im „fremden“ Gewebe identifizierten Zellen den Genotyp des Spenders besitzen, und gleichzeitig neue phänotypische und insbesondere die funktionellen Eigenschaften der Zellen des Empfängerorganismus angenommen haben.

Nur mit Hilfe von eindeutigen Stammzellmarkern und sorgfältigen Analysen der Empfängerorgane konnte das Phänomen der „Plastizität“ weiter untersucht und die ursprünglichen Ergebnisse verifiziert werden (Herzog et al., 2003, Wagers and Weissman, 2004, Lemoli et al., 2005).

Dabei zeigte sich, dass viele der beobachteten Phänomene der Plastizität (Abbildung 9) nicht auf einer tatsächlichen „Transdifferenzierung“ beruhten, sondern auf **Fusionen** von Donorzellen mit Zellen des Empfängerorgans zurückzuführen waren. Darüber hinaus waren die für Regenerationsversuche eingesetzten Stammzellpopulationen oft nicht einheitlich, sondern

Tabelle 9: Vergleich der Eigenschaften von ES-Zellen und adulten Stammzellen

Parameter	ES-Zellen	AS-Zellen
Vorkommen	Blastomeren, ICM von Blastozysten	Zahlreiche Körpergewebe
Langzeit „self-renewal“	unbegrenzte symmetrische Teilung	Homöostase der AS-Zellen während der gesamten Lebenszeit des Organismus
Potentialität	Pluripotenz in vivo und in vitro	Multipotenz (HSC), Pluripotenz (z. B. MAPCs) nach in vitro-Kultur
Klonogenität in vitro	1 ES-Zelle kann einen Klon undifferenzierter pluripotenter ES-Zellen bilden	1 AS-Zelle in vivo kann einen Klon differenzierter Zellen bilden, der Mechanismus ist unbekannt
Zellschicksal in vitro	können proliferieren und differenzieren	können zur Differenzierung induziert werden
Zellzyklus	ES-Zellen fehlt der G1-checkpoint, sie befinden sich vorwiegend in der S-Phase	AS-Zellen befinden sich im Ruhestadium, benötigen Stimulus für DNA-Replikation und Übergang in den Zellzyklus
Plastizität	unbegrenzt entwicklungsfähig in funktionelle Zellen	Funktionelle Plastizität ist noch nicht eindeutig definiert

setzen sich aus einem Gemisch verschiedener Stammzellen zusammen; zum Beispiel sind im Knochenmark HSCs, MSCs und EPCs vorhanden (Abbildung 9). Unter Berücksichtigung dieser Befunde – vor allem unter dem Aspekt der Fusionen – ergab sich, dass die anfangs postulierte „Transdifferenzierungs“-Fähigkeit von Stammzellen nicht nachweisbar war oder um Größenordnungen niedriger lag als bisher postuliert (Tabelle 11).

Eine weitere Voraussetzung dafür, dass eine Donorstammzelle sich in einem anderen Gewebe integriert und eine neue Identität annimmt, ist in der Regel eine **Gewebeschädigung**. Dies weist darauf hin, dass Signale der extrazellulären Umgebung („niche“) eine entscheidende Bedeutung für die Funktion und Identität der Stammzellen haben, und die Einwanderung von Donorstammzellen („homing“) kontrollieren. Insbesondere wurde die Bedeutung von vaskulären endothelialen Zellen nachgewiesen. Diese sind zum Beispiel im Gehirn entscheidend für die Funktion von neuronalen Stammzellen im Hippocampus. Im Knochenmark sind es Osteoblasten, die über ein Membranprotein („jagged 1“) spezifische Rezeptoren (Notch) an der Zelloberfläche

von hämatopoetischen Zellen aktivieren und so die Zellteilung stimulieren. Andererseits können Stammzellen auch die Entwicklung von Zellen in ihrer eigenen Nische kontrollieren.

Lange wurde vernachlässigt, dass die Stammzellfunktion vom **Zellzyklus-Stadium** abhängig ist. Stammzellen verlieren auch *in vivo* ihr hohes Proliferationsvermögen mit zunehmender Differenzierung. Undifferenzierte Stammzellen befinden sich im Ruhe-Stadium des Zellzyklus, der G_0 Phase. Spontan oder unter dem Einfluss von Signalmolekülen der extrazellulären Mikroumgebung gehen Stammzellen in die G_1 Phase über, durchlaufen den Zellzyklus und entwickeln sich in differenzierte Zellen. Die zelluläre Differenzierung folgt einer festgelegten Reihenfolge im Entwicklungsablauf, einer so genannten „Hierarchie“ (Abbildung 10).

Viele experimentelle Daten konnten mit diesem „**hierarchischen Modell**“ nicht in Einklang gebracht werden. Die Ergebnisse wurden dahingehend interpretiert, dass eine Stammzellpopulation sich in wechselnden Zellzyklusphasen befindet und damit zwischen verschiedenen Phänotypen kontinuierlich wechseln kann („Continuum Modell“ oder „kinetisches Modell“, Abbildung 10). Die phänotypischen Veränderungen basieren unter anderem auf Chromatinumbauten („chromatin remodelling“), die mit dem Durchlaufen des Zellzyklus verbunden sind und insbesondere in der G_1 Phase des Zellzyklus stattfinden. In dieser Phase finden zum Beispiel auch reversible Veränderungen der Zelloberflächeneigenschaften statt, die die Reaktion der Stammzelle auf Signale der Mikroumgebung verändern. Abhängig von spezifischen Signalen in den Gewebekompartimenten des Organismus befinden sich Stammzellen in den verschiedenen Zellzyklusphasen in unterschiedlichen Entwicklungszuständen. Epigenetische Prozesse, wie Histonacetylierung und DNA-Methylierung sind abhängig vom Zellzyklus, sie sind reversibel und können dadurch das Schicksal der Zellen durch nachfolgende Transkriptionsregulation beeinflussen (Tabelle 12; (Cerny and Quesenberry, 2004)].

Nur proliferierende Stammzellen können wieder in das G_0 Stadium des Zellzyklus eintreten und sind damit offen für Differenzierung, Apoptose oder Transkriptionsaktivierung, die zu einer „Transdifferenzierung“ führen können. Es wird postuliert, dass die beobachteten Phänomene der „Plastizität“ auf einem derartigen reversiblen Mechanismus beruhen [(Quesenberry et al., 2005, Lemoli et al., 2005) Abbildung 10].

Damit kommt epigenetischen Modifikationen eine besondere Bedeutung für die Regulation von Stammzeleigenschaften zu (entsprechend der epigenetischen Modifikation bei der

Tabelle 10: Marker von adulten Stammzellen

Marker	Funktion (bekannt oder postuliert)
CD34, CD133, Integrin	Zell-Adhäsion an Substrate
Bcl-2, Telomerase, ABC-Transporter	Lebensfähigkeit der Zellen
c-kit	Rezeptor für den Stammzellfaktor (SCF)
Musashi-1	Asymmetrische Zellteilung, „self-renewal“
Nestin	„Embryonales“ Intermediärfilamentprotein
p27Kip1	Hemmung der Cyclin-abhängigen Kinasen
p63	p53 Homolog

(nach Alison et al., 2005)

Reprogrammierung adulter Zellkerne im Zusammenhang mit der SCNT-Technik (Simonsson and Gurdon, 2004).

Neben dem Zellzyklus-Status spielen weitere intrinsische Faktoren eine Rolle für die Aktivität der Stammzellen („stemness“), wie Expression von Adhäsionsmolekülen, Telomerlänge oder die Expression von Zytokin-Rezeptoren (Tabelle 12). Extrinsische Faktoren schließen die Mikroumgebung der Stammzellen sowie die Signaltransduktionsmechanismen auf organismischer Ebene ein. So können auch die Art der Gewebeschädigung (chemisch, physikalisch, mechanisch) und die Transplantationsmethode das „homing“ der Stammzellen beeinflussen.

Die Aufklärung der grundlegenden Mechanismen der epigenetischen Regulation und ihre Beziehung zum Phänomen der Plastizität von Stammzellen werden entscheidend zum Verständnis der Stammzellbiologie und zum Fortschritt in der regenerativen Medizin beitragen.

4.5.4 Plastizität und „multilineage“ Potenzial *in vitro*

Ein Vergleich adulter Stammzelltypen zeigt, dass verschiedene Stammzellen einen unterschiedlichen Grad der Vermehrungsfähigkeit besitzen. So haben mesenchymale Stammzellen das höchste

Proliferationspotenzial, während HSCs nur begrenzt vermehrungsfähig sind. Unterstützt durch Transkriptomanalysen sind Signalmoleküle (z. B. Wnt-3) und Transkriptionsfaktoren (z. B. HoxB4) identifiziert worden, die die Vermehrung von HSCs ausserhalb des Organismus unterstützen. Auch andere Stammzellen lassen sich nur begrenzt kultivieren. Während neurale Stammzellen zu einem gewissen Grad in Zellkultur vermehrt werden können, entziehen sich Stammzellen aus dem Dünndarmepithel einer Kultivierung bisher nahezu vollständig.

Die am besten kultivierbaren mesenchymalen Stammzellen (MSC) wachsen *in vitro* als fibroblastoide Kolonie-bildende Zellen („colony-forming unit-fibroblasts“, CFU-F) (Friedenstein, 1982) und können bis zu einem Vielfachen ihrer Ausgangszellzahl vermehrt werden. MSCs verfügen über das breiteste Entwicklungspotenzial. Sie können in die verschiedenen mesenchymalen Zelltypen, wie Knorpel, Knochen, Sehnen, Fett und Skelettmuskel, differenzieren. **Die Kultivierbarkeit, Vermehrungsrate und Differenzierungsfähigkeit machen mesenchymale Stammzellen deshalb zu einer attraktiven Quelle für regenerative Zelltherapien insbesondere auch im Tissue Engineering.**

Tabelle 11: Stammzellen des Knochenmarks und ihre Entwicklungsfähigkeit

Zelltyp	Spezies	Gewebeschäden	Entwicklungsfähigkeit		Häufigkeit %
			in vitro	in vivo	
MAPC					
	Maus, Ratte, Mensch	Mit oder ohne Bestrahlung	Gewebe aller drei Keimblätter	Gewebe aller drei Keimblätter	0-12.5
MSC					
	Maus, Ratte, Mensch	Mit oder ohne Bestrahlung	Chondroblasten Skelettmuskelzellen Osteoblasten Adipozyten Neurale Zellen	Chondroblasten Skelettmuskelzellen Osteoblasten Adipozyten Neurale Zellen	
Unfrakt.	Maus	Bestrahlung		Pankreas	1.7-3

Unfrakt.	Ratte	CCl4		Leber	0.14
Unfrakt.	Mensch (BM,PB)	Bestrahlung		Leber Haut Intestinales Epithel	5-7 2-6 4-6
HSC					
Unfrakt.	Mensch, Maus	Bestrahlung		CNS	
Unfrakt.	Maus	Bestrahlung ± genetischer Defekt (mdx Maus)		Skelettmuskelzellen	von selten bis <10
Unfrakt.	Maus, Hund	Ischämie ± Bestrahlung		Herzmuskel ± Gefäßzellen	2-25
Unfrakt.	Maus, Mensch	Bestrahlung		Leber	2.2
c-Kit	Maus	STZ		Pankreas	14
Sca ⁺	Maus	Ischämie		Niere	2-21
KTSL	Maus	Bestrahlung + FAH		Leber	selten
CD34 ⁺	Mensch, Maus	Bestrahlung ± CCl4		Leber	-
CD34 ⁺	Maus	Ischämie		Gefäßzellen	20-25
Homed SC	Maus	Bestrahlung		Multiple epitheliale Gewebe	0.19-20
Monozyten Vorläufer	Maus	Bestrahlung		Skelettmuskelzellen	von selten bis <10
SP	Maus, Mensch	Bestrahlung ± Ischämie		Leber, Herz, Muskel, Endothelzellen	0.02-4
SP	Maus	Bestrahlung ± genetischer Defekt		Skelettmuskelzellen	1-10
c-kit ⁺ Lin ⁻	Maus	Ischämie		Herzmuskel und Gefäßzellen	54

Abbildung 9: Modelle zur Erklärung des Phänomens der „Plastizität“ adulter Stammzellen

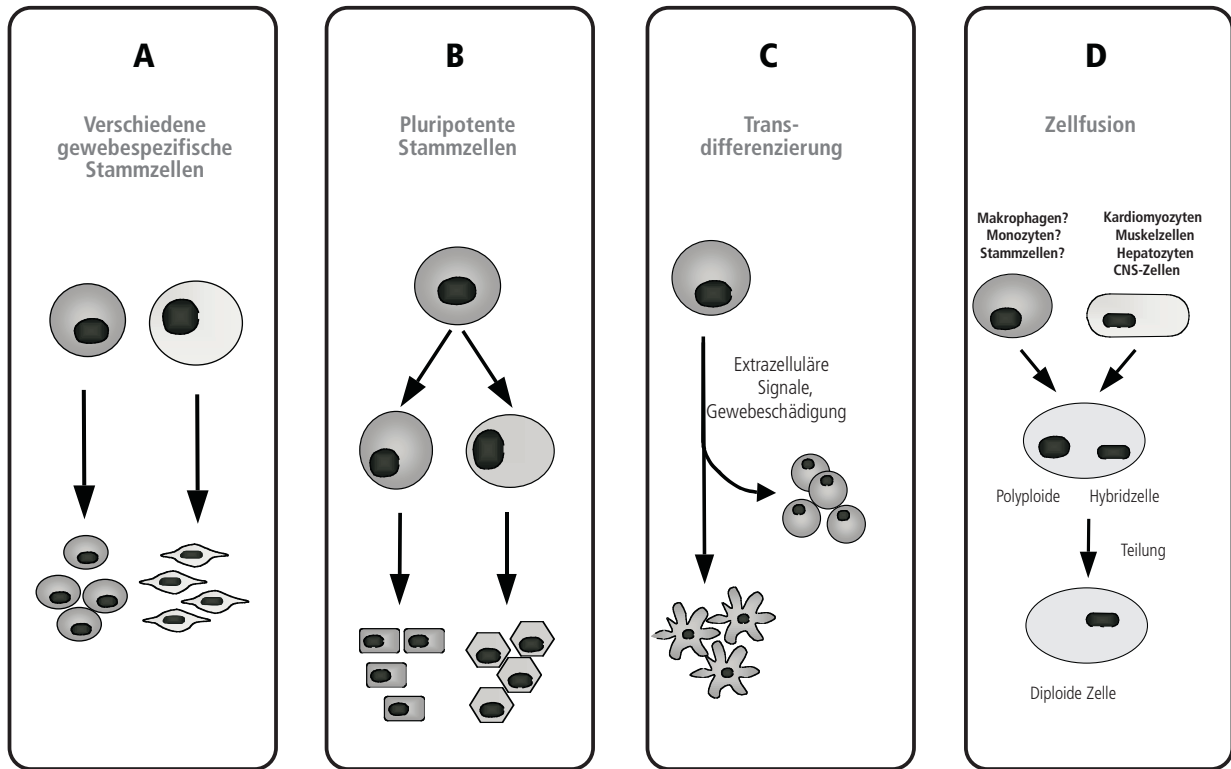


Abbildung 9: Modelle zur Erklärung des Phänomens der „Plastizität“ adulter Stammzellen. (A) Nach diesem Modell sind in einem Gewebe verschiedene Stammzellen vorhanden, die jeweils spezifische differenzierte Zellen entwickeln (und u.U. eine Plastizität adulter Stammzellen vortäuschen können). (B) Pluripotente Stammzellen entwickeln sich in unterschiedlich spezialisierte Zelltypen (z. B. sind pluripotente multipotente adulte Stammzellen, MAPCs, isoliert aus dem Knochenmark nach *in vitro*-Kultur in der Lage, in Zelltypen verschiedener Linien zu differenzieren), (C) Echte "Transdifferenzierung" liegt dann vor, wenn extrazelluläre Signale der Mikroumgebung („niche“) und/oder Faktoren, die vom geschädigten Gewebe abgegeben werden, die Entwicklung eines gewebefremden Zelltyps induzieren, das heißt die Zellen haben die Identität einer gewebefremden Linie angenommen („crossing lineage boundaries“). (D) Zellfusion wurde vorrangig nachgewiesen, wenn adulte Stammzellen, zum Beispiel Zellen des Knochenmarks, in tierische Systeme injiziert wurden, zum Beispiel in Leber- oder Skelett-Regenerationsmodelle. Dabei fusionieren die Spenderzellen mit den Zellen des Empfängerorganismus und bilden eine Hybridzelle, die die genetische Information von Spender- und Empfängerzelle enthält (nach Lemoli et al., 2005).

Tabelle 11 (Seite 82/83)

KTSL, c-Kit, Thy-1low, sca-1+ und „lineage“ Marker
 STZ = Streptozotocin
 CCl4 = Tetrachlorkohlenstoff
 „Homed HSC“ = einzelne HSCs, die nach Transplantation in Knochenmark integrieren („homing“)
 MSC = Mesenchymale Stammzellen

SP = „Side population“
 FAH = fumarylacetoacetate-behandelte Maus
 MAPC = „multipotent adult progenitor cells“
 Unfrakt. = unfraktioniert
 (nach Lemoli et al., 2005)

Ein besonders interessanter mesenchymaler Zelltyp wurde von Catherine Verfallie aus dem Knochenmark isoliert, die so genannten „**multipotential adult progenitor cells**“, MAPCs (Reyes et al., 2001, Jiang et al., 2002b, Jiang et al., 2002a). MAPCs wurden aus Knochenmark von Maus, Ratte, Primaten, Schwein und Mensch isoliert. Die Zellen können über 200 (Maus) beziehungsweise bis zu 80 (Mensch) Populationsverdopplungen durchlaufen. MAPCs können klonal isoliert werden und differenzieren dann *in vitro* in die meisten mesenchymalen Zelltypen und integrieren nach postnataler Transplantation in hämatopoetische und epitheliale Gewebe. MAPCs könnten mit den „ruhenden“ („quiescent“) CD45⁻, Sca1^{lo}, c-kit⁻ und Thy1^{lo} Zellen im Knochenmark verwandt sein. Es ist allerdings nicht geklärt, ob sie tatsächlich bereits im Knochenmark vorkommen, oder ob sie erst durch die *in vitro* Kultur induziert werden. Entscheidend ist jedoch, dass MAPCs nicht nur *in vitro*, sondern auch nach Injektion in Maus-Blastozysten *in vivo* pluripotent sind. MAPCs exprimieren ES-Zell-spezifische Gene, wie Oct4 und Nanog, und bilden nach Integration im Maus-Embryo Zellen aller drei Keimblätter.

Inzwischen sind weitere mesenchymale Stammzellpopulationen beschrieben worden, die über ein hohes Proliferationspotential und Differenzierungsfähigkeit *in vitro* verfügen, wie die so genannten „marrow-isolated adult multilineage inducible cells“ (MIAME) (D'Ippolito et al., 2004), „bone marrow stromal (stem) cells“ (BMSSCs), „stromal precursors“ (SPCs) and „recycling stem cells“ (RS-1 und RS-2) (Baksh et al., 2004). Aus dem Nabelschnurblut wurden so genannte „unrestricted somatic stem cells“ (USSCs) isoliert, die über viele Generationszeiten vermehrbar sind und in mesenchymale Zelltypen entwickelt werden können (Kögler et al., 2004).

Alle diese Zellen zeigten eine hohe Vermehrungsrate ohne Alterungsphänomene („senescence“) und eine beachtliche Differenzierungsfähigkeit. Ob es sich bei allen Zelltypen tatsächlich um Stammzellen oder nicht eher um Vorläuferzellen handelt, muss noch eindeutig bestimmt werden (so wäre der Nachweis der Klonalität *in vivo* und *in vitro* eine unbedingte Voraussetzung, die Zellen als Stammzellen zu definieren, Kapitel 4.5.2).

Aus der Epidermis der Haut von Säugern wurden so genannte „skin-derived precursor“ (SKP) Zellen isoliert und kultiviert. SKPs können in neurale und mesenchymale Zellen, sowie in Zellen, die morphologisch glatten Muskelzellen entsprechen, differenziert werden. Die Zellen weisen viele Eigenschaften von „neural crest“-Zellen auf, was auf ihre Herkunft aus dem Neuralstreifen hinweist. Wenn SKPs aus neonataler oder adulter Haut gewonnen werden, können sie als Aggregate (ähnlich den „neurospheres“) kultiviert werden und exprimieren Marker

neuraler Vorläuferzellen. SKPs differenzieren in periphere Nerven- und Glia-Zellen (Schwann Zellen).

Neurale Stammzellen können aus dem Gehirn isoliert und als Aggregate, so genannte „Neurosphären“ („neurospheres“) mit Wachstumsfaktoren (bFGF, EGF) vermehrt werden. Diese neuronalen Stammzellen können in funktionelle Neurone differenzieren, doch zeigte sich eine Präferenz für die Entwicklung spezifischer Zelltypen nach *in vitro* Kultur (GABAerge und glutamaterge Neurone). Bisher ist es noch nicht möglich, die neuronalen Stammzellen ausschließlich und gezielt in einen definierten (z. B. dopaminergen) neuronalen Phänotyp zu entwickeln, oder nach Implantation in das Gehirn, synaptische Verbindungen zwischen transplantierten Zellen mit denen des Gehirns nachzuweisen. Dies spricht dafür, dass im Gehirn Neuronen regional definiert sind. Diese regionale Spezifizierung von Neuronen kann zwar teilweise in Kokulturen (z. B. mit embryonalen Nervenzellen aus dem Hippokampus) induziert werden, sie erfolgt jedoch offensichtlich (noch?) nicht in isolierter Zellkultur (siehe auch Kapitel 5.2.2.2).

Für alle adulten Stammzellen gilt, dass die pluripotenten Zelltypen in relativ geringer Zahl im Ausgangsgewebe vorhanden sind, und aufgrund von Kultivierungsverfahren selektiv angereichert und vermehrt werden müssen. Inwieweit dabei im Verlauf der Zellkultur die Zelltypen durch epigenetische Modifikationen erst entstehen beziehungsweise modifiziert werden, ist Gegenstand intensiver Forschungsarbeiten. Tatsächlich wird bei allen Kultivierungsverfahren die Mikroumgebung der Stammzellen verändert, was zu Veränderungen ihrer Eigenschaften führen kann. Zukünftige Techniken des „Chromatin-Profilings“ könnten helfen, herauszufinden, ob Stammzellphänotypen *in vivo* mit denen aus *in vitro*-Kulturen vergleichbar sind, das heißt, ob und in welchem Ausmaß die kultivierten Zellen mit unterschiedlichen Chromatinzuständen assoziiert sind.

4.6 Molekulare Charakteristika von embryonalen und adulten Stammzellen (Genomics, Proteomics)

Der Vergleich molekularer Eigenschaften von embryonalen und adulten Stammzellen bietet die Grundlage, Stammzeleigenschaften („stemness“) zu definieren, und daraus Konsequenzen für mögliche genetische oder epigenetische Modifikationen zur Erhöhung des Potentials von Stammzellen abzuleiten. Dazu wurden moderne Methoden der Genom- und Proteomforschung eingesetzt.

Abbildung 10: „Hierarchisches“ und „Continuum“-Modell

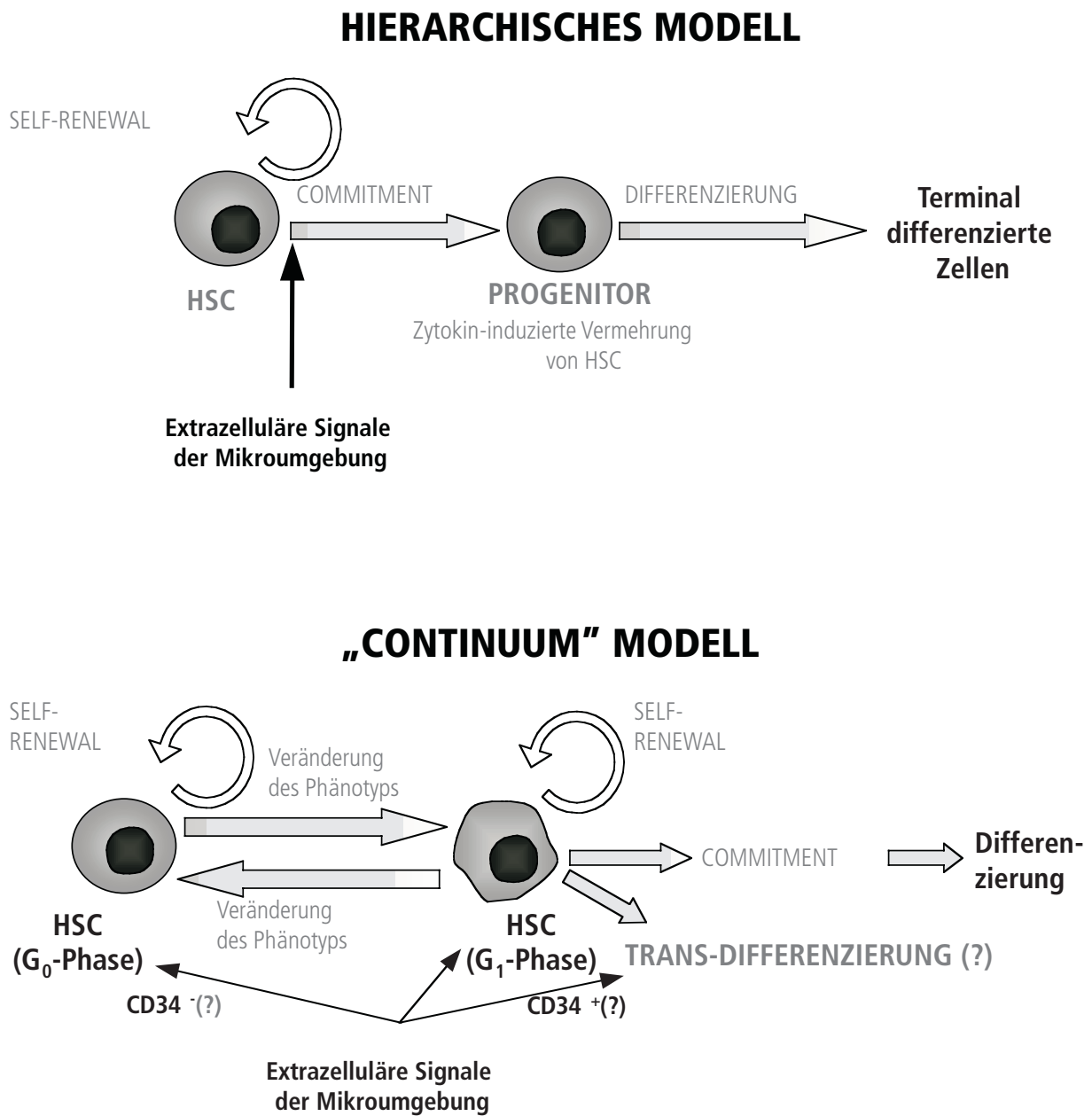


Abbildung 10: „Hierarchisches“ und „Continuum“-Modell: Das konventionelle „hierarchische“ Modell ist zur Erklärung der Phänomene der Plastizität adulter Stammzellen nicht mehr geeignet. Die Berücksichtigung neuer Befunde der Stammzellforschung, unter anderem der Einfluss von extrinsischen und intrinsischen epigenetischen Faktoren auf die Stammzellaktivität, fand ihren Niederschlag im „kinetischen“ oder „Continuum“-Modell (nach Lemoli et al., 2005; Cerny and Quesenberry, 2004).

4.6.1 Microarrays

In ersten Studien wurden Microarrays eingesetzt, um die Transkripte (das „Transkriptom“) von ES-Zellen der Maus mit hämatopoetischen Stammzellen (HSCs) und neuronalen Vorläuferzellen (NPCs) zu vergleichen (Ramalho-Santos et al., 2002, Ivanova et al., 2002). Dabei wurden 216 beziehungsweise 283 Transkripte gefunden, die in allen drei Stammzell-RNA-Banken vermehrt vorkamen. Erstaunlicherweise kamen nur sechs Gene auf beiden Listen vor; und man stieß erst auf Gemeinsamkeiten, als man die mit dem Stammzellcharakter gekoppelten Transkripte zusammenstellte. Die analysierten Stammzellen exprimierten dagegen eine große Anzahl von typischen Transkripten, nämlich Signalfaktoren, Transkriptions- und Translationsfaktoren sowie Proteine, die mit der DNA-Reparatur, dem Proteinabbau und der Proteinfaltung korreliert sind. Sie exprimierten darüber hinaus eine auffällige Gruppe von Gentranskripten, deren Funktion unbekannt ist, was dafür spricht, dass in Embryonen noch viele einzigartige Transkripte zu identifizieren sind, die entweder von bislang unbekannt Genen oder von Spleißvarianten abstammen (Boheler and Stern, 2003). Außerdem traten einige der mit dem Stammzellcharakter assoziierten Faktoren gehäuft auf Chromosom 17 auf, was vermuten lässt, dass unser Wissen über die regulatorischen Netzwerke, die erforderlich sind, damit undifferenzierte Stammzellpopulationen erhalten bleiben, erst dann zunehmen wird, wenn die genomischen Bereiche, die für die Regulation von stammzellspezifischen Faktoren verantwortlich sind, charakterisiert worden sind. Etwa zur gleichen Zeit wurden ES-Zellen mit Stammzellen aus dem Trophoblasten verglichen (Tanaka et al., 2002). Dabei wurde Esg-1 (Dppa5), ein ES-Zell-spezifisches Transkript, das an Pluripotenz gekoppelt ist, identifiziert.

In einer weiteren Studie (Fortunel et al., 2003) wurden 385 Transkripte identifiziert, die in mES-Zellen, neuronalen Vorläuferzellen und retinalen Stamm-/Vorläuferzellen stark exprimiert werden. In dieser Liste gab es nur ein Transkript (α_6 -Integrin), das bereits in den von (Ramalho-Santos et al., 2002) sowie (Ivanova et al., 2002) veröffentlichten Listen von „Stammzell-spezifischen“ Transkripten genannt worden war. Es zeigte sich, dass die meisten der identifizierten Transkripte nicht nur in Stammzellen exprimiert werden, was darauf hinweist, dass die in Stammzellen häufig vorkommenden Transkripte dort vielleicht einfach nur in höherer Konzentration auftreten als in differenzierten Zellen.

In einer weiteren Studie wurde verglichen (Sharov et al., 2003), wie häufig Transkripte jeweils in murinen Oozyten, Blastozyten, Stammzellen und Postimplantationsembryonen sowie in

neugeborenen Mäusen vorkamen. Dabei fand man Gengruppen, die in Präimplantations-embryonen und verschiedenen Stammzelllinien, wie ES- und EG-Zellen, in Stammzellen aus dem Trophoblasten, dem Mesenchym und dem blutbildenden System sowie Osteoblasten, exprimiert waren. Erstmals konnte gezeigt werden, dass pluripotente ES- und EG-Zellen sich durch ein (gegenüber den anderen Zelltypen) eigenständiges genetisches Programm auszeichnen. Bei einer 88 Gene umfassenden Gruppe war die Expression verringert, was mit einem verminderten Entwicklungspotential einherging und daher auf stärker differenzierte Zelltypen hinwies. **Diese Befunde stimmen mit der Beobachtung überein, dass adulte Stammzellen ihre Pluripotenz in dem Maße erwerben oder bewahren, wie sie die Merkmale klar definierter Zelltypen ausprägen, und dass ES-Zellen eine begrenzte, aber einzigartige Gruppe von Transkripten besitzen, die sich von den charakteristischen Stammzell-Markern adulter Stammzellen unterscheiden.** Da es während der Entwicklung vermutlich zu einer sequentiellen Aktivierung und Repression von Genen kommt, sind die gefundenen Unterschiede in der Häufigkeit von Transkripten wahrscheinlich auf unterschiedliche Differenzierungs- oder Entwicklungsstadien zurückzuführen.

Mehrere Gruppen haben inzwischen die Transkriptomprofile von hES-Zelllinien veröffentlicht (Angaben bei Wobus and Boheler, 2005). Generell kam man in all diesen Studien zu dem Ergebnis, dass es Gentranskripte gibt, die in undifferenzierten Zellen sehr viel häufiger vorkommen als in differenzierten Zellen. Jedoch variierten die Ergebnisse der Untersuchungen

Tabelle 12: Epigenetische Faktoren, die die Stammzellaktivität von hämatopoetischen Stammzellen beeinflussen

	Stammzellaktivität		
	sehr hoch	hoch	gering
Zellzyklus	G0	G1	S/G2/M
Adhäsionsmoleküle	VLA-4high		VLA-4low
BM homing	ja		gestört
Telomeraseaktivität	ja		nein
Proteopodienbildung	ja		verschiedene Formen

(nach Cerny and Quesenberry, 2004)

im Einzelnen. So wurde zum Beispiel in FACS-Analysen gezeigt, dass hES-Zelllinien, die im gleichen Labor mit jeweils ähnlichen Methoden etabliert wurden, aus einer heterogenen Zellpopulation bestehen, was eine quantitative Bestimmung ihrer Genexpressionsprofile erheblich erschwert. Von den derzeit untersuchten und zugänglichen hES-Zelllinien sind viele in unterschiedlichen Stadien der Blastozystenreifung und unter verschiedenen Bedingungen isoliert worden [(Carpenter et al., 2004), Tabelle 4]. Daher sind die Transkriptomprofile von diversen hES-Zelllinien nicht unbedingt miteinander vergleichbar.⁶

Einige Stammzell-Marker wurden in allen Studien gefunden. Dazu gehörten die in undifferenzierten hES-Zellen gefundenen Transkripte für Oct-3/4, Nanog, Tdgf1, Utf1 und lin-28, während auffälligerweise Sox2, Dnmt3B, gp130 und Rex-1 (ZFP42) in mehreren Linien unterschiedlich oder nur schwach exprimiert wurden. Unter den unterschiedlich regulierten Gentranskripten waren mehrere, die mit Signaltransduktionswegen assoziiert sind, von denen einige offenbar eine Schlüsselrolle beim Wachstum und/oder der Differenzierung von hES-Zellen spielen. Dazu gehören die Wnt-, BMP-, FGF-Rezeptoren sowie die Nodal-Signalkaskade (Lefty A und B, Nodal und Pitx2), allerdings nicht der LIF-Rezeptor und das gp130-Signal. Obwohl diese Zellen relativ viele FGF-Rezeptoren aufweisen, waren die Rezeptor-Subtypen äußerst heterogen verteilt (Zitate bei Wobus and Boheler, 2005).

4.6.2 Serielle Analyse der Genexpression (SAGE)

Um das unbekannt funktionell aktive Genom von ES-Zellen quantitativ zu erfassen, wurde eine neue Technik, die „serial analysis of gene expression“ (serielle Analyse der Genexpression,

⁶ Die erste vergleichende Analyse von differenzierten und undifferenzierten hES-Zellen wurde mit Zellen der Linie H1 durchgeführt (Sato et al., 2003, Sato et al., 2004). In undifferenzierten Zellen war eine Gruppe von 918 Genprodukten angereichert (darunter solche, die Liganden, Rezeptoren oder Signalmoleküle von FGF-, TGF- β /BMP- und Wnt-kontrollierten Signalwegen kodieren), woraus geschlossen wurde, dass diese für die Regulation der hES-Zellen wichtig seien. 227 Transkripte stimmten mit der Liste der in mES-Zellen angereicherten Transkripte überein (Ramalho-Santos et al., 2002). Daraus wurde abgeleitet, dass die molekularen Programme, die für die ES-Zell-Identität verantwortlich sind, im Lauf der Evolution zumindest teilweise auf molekularer Ebene erhalten geblieben sind. Weitere Analysen sprechen allerdings dafür, dass die Gene, die bei der Maus für embryonale und adulte Stammzell-Identität prägend sind, sich von den entsprechenden in hES-Zellen gefundenen Genen unterscheiden (Dvash et al., 2004).

In einer weiteren Studie wurden die Expressionsprofile von hES-Zelllinien mit Tumorzelllinien von Keimzellen des Menschen, weiteren Tumorproben, somatischen Zelllinien und Proben aus Hodengewebe untersucht, um eventuell Genprodukte zu identifizieren, die spezifisch in pluripotenten Zelltypen exprimiert werden (Sperger et al., 2003). Bei der Microarray-Auswertung lagen alle fünf untersuchten ES-Zelllinien dicht beieinander und gruppieren sich sekundär mit den EC-Zelllinien zu einer eigenen Gruppe, was dafür spricht, dass ES- und EC-Zellen in ihren Expressionsmustern mehr Ähnlichkeiten untereinander aufwiesen als im Vergleich zu allen anderen untersuchten Zelltypen. Daraus ließ sich außerdem schließen, dass EC-Zellen den transformierten Zellen der Inneren Zellmasse oder Zellen des primitiven Ektoderms ähneln.

SAGE) eingeführt (Abbildung 11). SAGE ist eine sequenzabhängige Technik, bei der man die in einer Zelle vorhandenen Transkripte mit Hilfe kurzer Sequenzabschnitte (Tags) auffinden und identifizieren kann (Velculescu et al., 1995). Erstmals wurde die SAGE-Technik eingesetzt, um die Transkriptome von P19-EC- und R1-ES-Zelllinien zu definieren (Anisimov et al., 2002b, Anisimov et al., 2002a). Da es zum damaligen Zeitpunkt nur zwei andere Maus-SAGE-Datenbanken gab, die man für Vergleichsstudien heranziehen konnte, war eine eindeutige Analyse des molekularen Profils von mES-Zellen noch nicht möglich.⁷

Da die SAGE-Analyse quantitative Daten ergibt, kann abgeschätzt werden, wie viele Transkripte insgesamt in ES-Zellen vorhanden sind. Aus statistischen Gründen erwies es sich allerdings als schwierig, die genaue Anzahl der unterschiedlichen Transkripte zu bestimmen. Eine Korrektur ergab, dass über 54 000 verschiedene Transkripte vorhanden sein müssen; und Modellrechnungen auf der Grundlage des Profils von R1-ES-Zellen sprechen dafür, dass 130 000 möglich wären (Stern et al., 2003). Weil etwa zehn Prozent der kurzen Tags in dieser SAGE-Bank nicht in irgendeinem der schon beschriebenen EST-Datensätze kartiert waren, kann man davon ausgehen, dass **sehr viele (etwa 6 000–13 000) spezifische Transkripte (Spleißvarianten oder neuartige Gentranskripte) in ES-Zellen noch nicht identifiziert sind. Das könnte ein Hinweis darauf sein, dass unsere Fähigkeit, die molekularen Grundlagen der ES-Zell-Identität zu definieren, möglicherweise begrenzt ist.**

Zusammenfassend können wir feststellen, dass nach den verfügbaren Transkriptom-Daten ES-Zellen wahrscheinlich eine relativ kleine Gruppe von spezifischen molekularen Markern/Transkripten besitzen, die mit „stemness“ korreliert sind. Wahrscheinlich wird die Entscheidung der Zelle zwischen Replikation („self-renewal“) oder Differenzierung durch Schwellwertkonzentrationen molekularer Determinanten entschieden, die die Weichen für das weitere Schicksal der Stammzelle stellen. Doch sind weitere funktionelle Untersuchungen

⁷ Kürzlich wurden zwei SAGE-Datenbanken aus hES-Zellen erstellt (Richards et al., 2004). Wie bei den bereits erörterten Microarray-Daten wiesen auch die von menschlichen Zellen gewonnenen Daten eine beträchtliche Heterogenität auf. In einer der Zelllinien waren beispielsweise Transkripte für Rex-1 besonders häufig, während sie in einer anderen vollkommen fehlten. Obwohl die Autoren argumentierten, dass Rex-1 möglicherweise für die Definition humaner ES-Zellen nicht entscheidend sei, ist es wahrscheinlicher, dass die hES-Zelllinie, die Rex-1 nicht exprimierte, stärker mit primitivem Ektoderm assoziiert war (Sperger et al., 2003), wo Rex-1 (zumindest in der Maus) normalerweise nicht exprimiert ist. Vergleiche mit den SAGE-Daten von mES-Zellen weisen ebenfalls darauf hin, dass es zwischen dem Transkriptom von ES-Zellen der Maus und des Menschen beträchtliche Unterschiede gibt. Elemente aus dem LIF-Signalweg (STAT3, LIFR und gp130) werden in der Maus sehr viel stärker exprimiert als in hES-Zellen, während Oct-3/4 und Sox2 in ES-Zellen des Menschen sehr viel stärker ausgeprägt sind als in denen der Maus.

Abbildung 11: Prinzipielle Schritte der SAGE („serial analysis of gene expression“) Technik

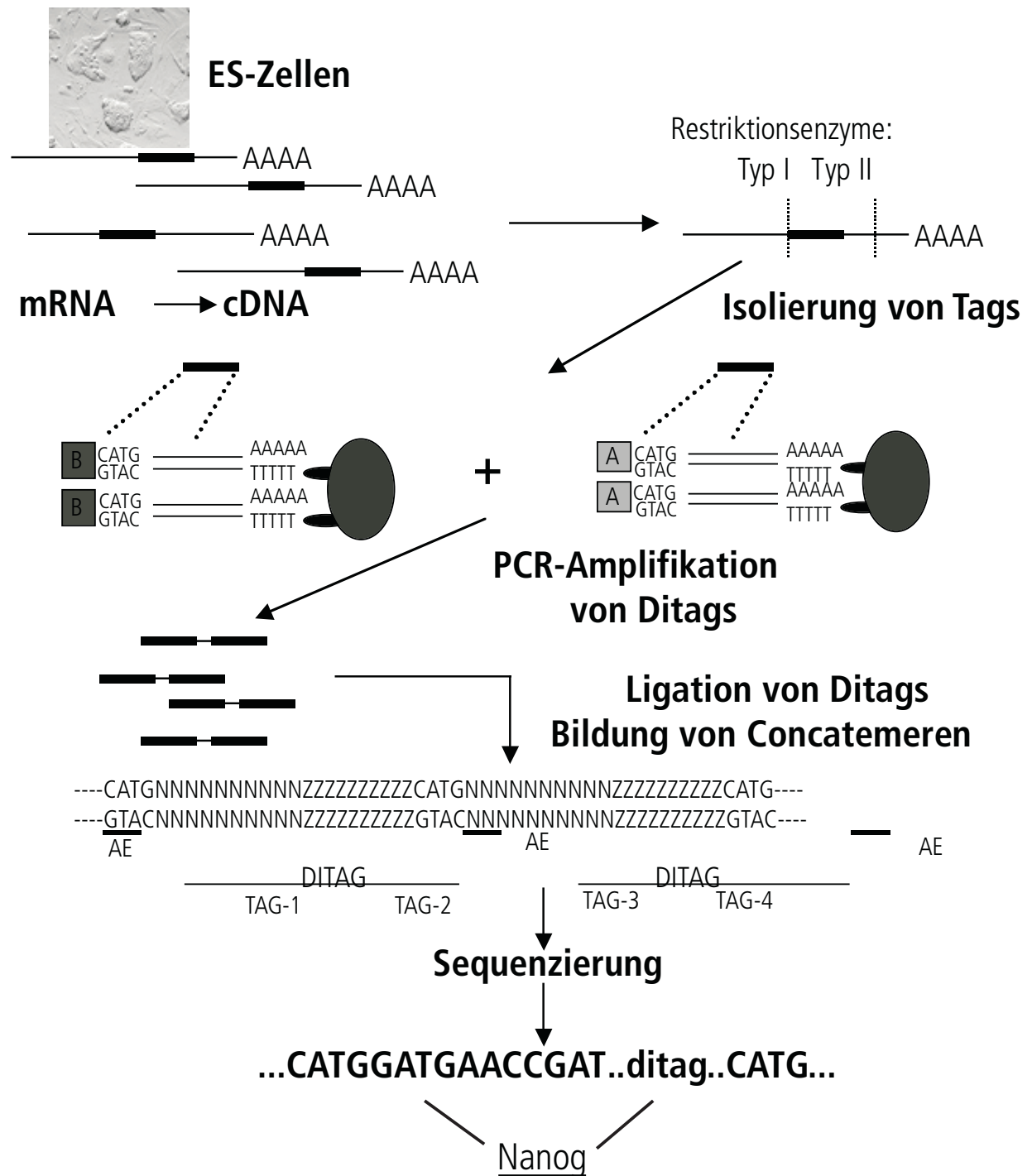


Abbildung 11 (links): Prinzipielle Schritte der SAGE („serial analysis of gene expression“) Technik. Im Unterschied zu cDNA-Microarrays erlaubt die SAGE-Technik die Identifizierung von unbekanntem Transkripten (weiterführende Information in Wobus and Boheler, 2005).

(ähnlich denen für Nanog- und Wnt-abhängige Signalwege) erforderlich, um spezifische Moleküle und Pluripotenz-assoziierte Netzwerke eindeutig zu definieren und mit „stemness“ zu korrelieren.

4.6.3 Proteomanalysen

In Proteomanalysen wird die Gesamtheit der Proteine in einem definierten Zustand der Zelle hinsichtlich ihrer Funktionen und Interaktionen im Organismus untersucht. Die Fähigkeit von ES-Zellen zur Selbsterneuerung und zur Differenzierung basieren auf komplexen molekularen Vorgängen, bei denen in den jeweiligen Zellen die Proteinzusammensetzung variiert, weil sich beispielsweise durch Transkription, Polyadenylierung oder Spleißvorgänge das Genexpressionsmuster ändert oder die Proteine durch Translationsprozesse (Start, Elongation, Termination) sowie durch posttranslationale Modifikationen reguliert werden. Das heißt, dass neben dem Genom auch das Proteom untersucht werden muss, um den zellulären Phänotyp von Stammzellen zu definieren.⁸ Auch für hES-Zellen sowie für adulte hämatopoetische, mesenchymale und neurale Stammzellen sind inzwischen Proteomprofile erstellt worden.

Transkriptom-Analysen reichen definitiv nicht aus, um die molekularen und zellulären Eigenschaften von Stammzellen zu beschreiben. Das heißt, die Bestimmung des Status von Proteinen und Peptiden in den Zellen („Proteomics“), und darüberhinaus des Chromatins („Chromatinomics“), werden in der „post-genomischen Ära“ eine immer größere Rolle bei der Charakterisierung und Definition von Stammzellen spielen (Cerny and Quesenberry, 2004).

⁸ Einen ersten Schritt in diese Richtung haben Elliott und Mitarbeiter unternommen, indem sie mit Hilfe von zweidimensionaler Gelelektrophorese in Verbindung mit massenspektrometrischen Verfahren eine Datenbank des Proteoms von mES-Zellen etablierten (Elliott et al., 2004). Aus den 700 analysierten Proteinspots des 2-D-Gels wurden 241 unterschiedliche Proteinspezies oder Modifikationsformen identifiziert, die 218 Proteinen entsprachen, von denen etwa die Hälfte spezifisch mit Transkription, Translation oder Proteinprocessing assoziiert war. Fast 21 Prozent zeigten posttranslationale Modifikationen (wie Phosphorylierung oder Palmitoylierung)

5. Anwendungen

5.1 Einsatz von Stammzellen in Grundlagen- und angewandter Forschung

5.1.1 Embryonale Stammzellen als Zellmodelle der Entwicklungsbiologie und Pathologie

Experimente, die dazu dienen sollen, Genfunktionen im Kontext eines Organismus aufzuklären, erfordern genetische Strategien. Die im Folgenden behandelten Methoden, wie „enhancer traps“, „promoter traps“, „gene traps“, RAGE („random activation of gene expression“) und GECKO („genome-wide cell-based knockout“) stellen Strategien dar, mit denen man Genfunktionen im ganzen Genom identifizieren, isolieren oder bestimmen kann¹. Auf der Grundlage von Gen-Targeting-Techniken sind transgene Mäuse für die Schaffung von Krankheitsmodellen für menschliche Krankheiten unentbehrlich geworden.

5.1.1.1 „Gene Trapping“

Die zufällige Insertion exogener DNA in einzelne Orte des Säugetiergenoms wird als „gene trapping“ bezeichnet und ist die am häufigsten angewandte Strategie der Insertionsmutagenese (Literatur, Wobus and Boheler, 2005). Es ist zu erwarten, dass diese Technik auch beim Studium der menschlichen Entwicklung zum Einsatz kommen wird, und zwar durch die Analyse der *in vitro* Entwicklung von hES-Zellen. So kann man Antibiotika-resistente ES-Zellkolonien selektieren und expandieren und dann Zellklone für die Injektion in Mausblastozysten oder die *in vitro*-Differenzierung isolieren. Die Expression des „gene trap“ wird durch die Expression eines Reportergens wie zum Beispiel β -Galaktosidase-Aktivität getestet. Das Transgen wird in der Regel nur aktiviert, wenn es sich korrekt in eine aktive Transkriptionseinheit integriert hat.

„Gene trapping“ erlaubt die Selektion von Zellen, bei denen fremde DNA in ein funktionelles Gen integriert wurde, und ist besonders nützlich bei der Analyse von Säugerzellen, deren Genome mit ihren Promotoren, Exons und Introns hoch komplex organisiert sind (Abbildung 12).

¹ Informationen über RAGE und GECKO finden Sie unter <http://www.athersys.com/>.

Abbildung 12: Methode des Gen-Trapping

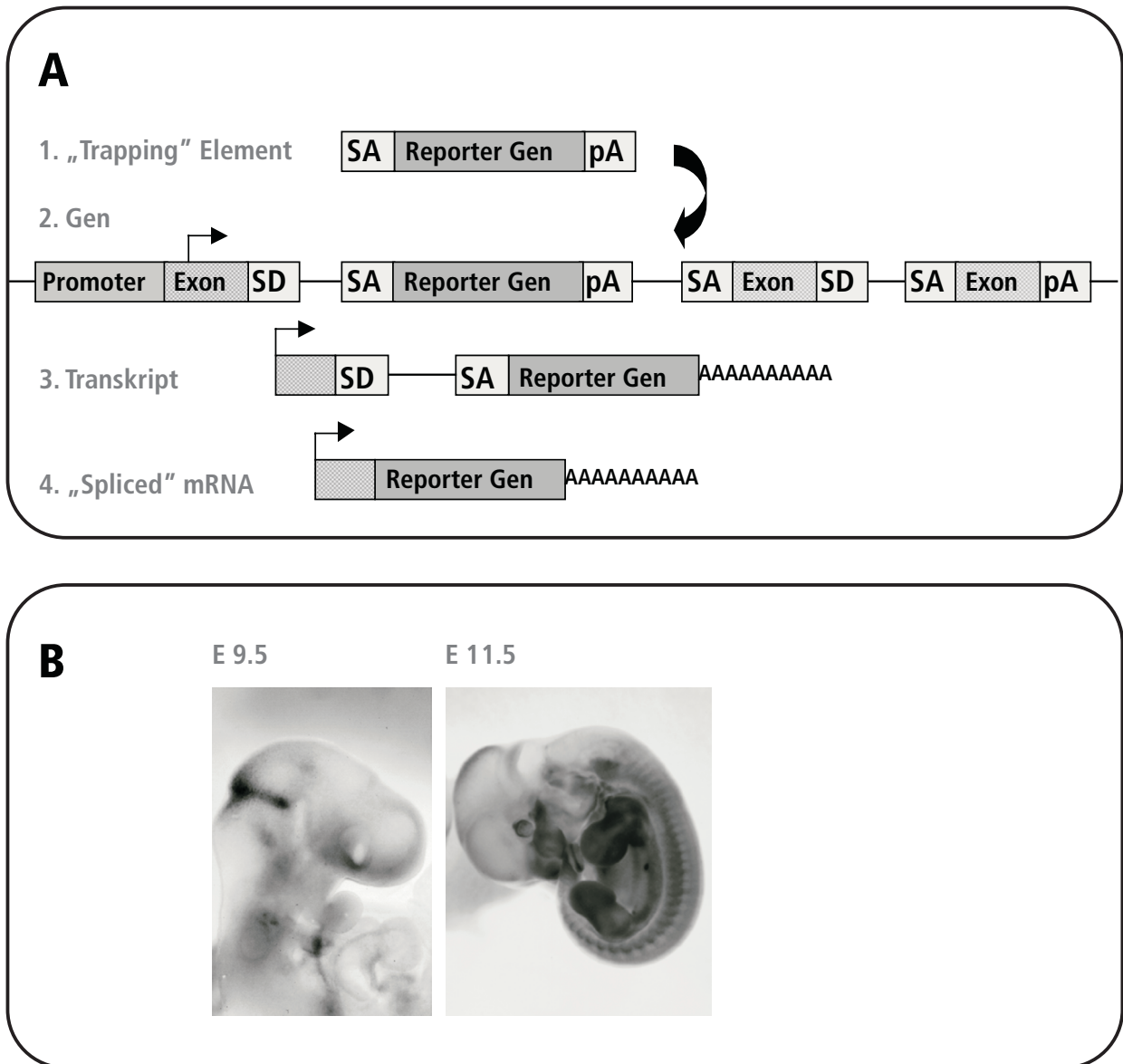


Abbildung 12: Methode des Gen-Trapping: (A) Herstellung eines Genkonstrukts, das eine Reporter-gen-Sequenz zwischen einem „splice acceptor“ (SA) und einem Polyadenylierungs-Signal (pA) enthält. Nach Insertion in ein funktionelles Gen und Rekombinationsereignissen wird ein Fusionstranskript aus endogenem „splice donor“ (SD) und „splice acceptor“ (SA) zur Aktivierung des Reporter-gens (z. B. β -Galaktosidase-Gen) gebildet. Das Transgen wird nur aktiviert, wenn es korrekt in eine aktive Transkriptionseinheit integriert ist. „Gene trapping“ selektiert auf Integrationsereignisse in funktionelle Gene und hat sich als spezifische Methode zur Analyse der Genfunktion von Säugerzellen erwiesen. (B) Nachweis der β -Galaktosidase-Reporter-genexpression in Mausembryonen (Embryonalstadium = E 9.5 d und 11.5 d) nach X-gal-Färbung. Blaufärbung zeigt die Genexpression (Gen jumonji aktiviert β -gal) in spezifischen Geweben des Embryos. (weiterführende Information in Wobus and Boheler, 2005).

In vivo durchgeführte „gene trap screens“ bei Mäusen haben zur Identifizierung zahlreicher Entwicklungskontroll-Gene geführt, die in einem räumlichen und zeitlichen Muster in spezifischen Geweben exprimiert werden, darunter auf Retinsäure reagierende, Neuronen-, Gliazell-, Chondrozyten- und Myozyten-spezifische und hämatopoetische Gene. Dieser Ansatz hat allerdings den Nachteil, dass er die Produktion einer großen Zahl von Mäusen aus ES-Zellklonen erfordert, um eine begrenzte Zahl von Entwicklungsgenen ausfindig zu machen. Um die erforderliche Anzahl von Mäusen zu reduzieren, wurde Gene trapping mit dem Differenzierungspotenzial von ES-Zellen kombiniert (Bonaldo et al., 1998). Indem Zellkulturen bezüglich der Aktivität des Reportergens selektiert werden, kann die Rate der betroffenen Gene in den ausgewählten Klonen auf nahezu 100 Prozent gesteigert werden. Die zufällige Insertion exogener DNA in einzelne Orte des Säugetiergenoms (= „gene trapping“) wird so zur Basis einer das ganze Genom abdeckenden Strategie der funktionalen Genomik.

ES-Zellkulturen stellen ein einfaches Modellsystem zur Untersuchung der genetischen Abläufe dar, die die embryonale Gewebekonstruktion steuern, und ermöglichen ein hoch-effizientes Screening von Zellklonen auf gewebespezifische „gene trap“-Expression.

Im postgenomischen Zeitalter haben Ansätze aus der Bioinformatik die Evaluierung von Mutantenklonen, die durch „gene traps“, RAGE oder GECKO gefunden wurden, beschleunigt und so zur raschen Identifizierung zelltypspezifischer Informationen geführt. Wenn man diese Daten mit Expressionsprofiling durch DNA-Microarrays und In-situ-Hybridisierungsanalysen verknüpft, deuten sie oft auf spezifische biologische oder pathologische Prozesse hin, die dann weiter untersucht werden können. Zum Beispiel wurde eine mit Sequenz-Tags versehene „gene trap“-Datenbank mit über 270 000 mES-Zellklonen entwickelt, die zusammen mit einem Funktionsscreening von „knock out“-Mäusen eingesetzt wurde, um Gene ausfindig zu machen, die den Blutdruck beeinflussen (Zambrowicz et al., 2003). Insgesamt erhofft man sich durch diese Methoden Informationen über die Rolle von Genen in der Entwicklung und bei der Entstehung von Krankheiten zu erhalten².

5.1.1.2 „Gene Targeting“ zur Untersuchung der Embryonalentwicklung

Die genetische Manipulation von ES-Zellen kann zum Absterben der Embryonen führen, was zum Teil durch den Einsatz von konditionalem „Gen-Targeting“ vermieden werden kann.

2 Siehe zum Beispiel <http://baygenomics.ucsf.edu/overview/welcome.html>

Alternativ dazu kann man embryonale Letalität *in vitro* mit Hilfe von ES-Zellen analysieren, die durch „Gene Targeting“ Mutationen auf Chromosomenpaaren tragen. Im Falle X-chromosomaler Gene wie HPRT oder GATA-1 kann man in ES-Zellen durch ein einzelnes Targeting eine Zelllinie erzeugen, bei der ein funktionelles Gen ausgeschaltet ist (Blobel et al., 1995). In der Mehrzahl der Fälle müssen „knock out“-ES-Zelllinien jedoch entweder durch sequenzielles Targeting eines Chromosomenpaars oder über *in vivo*-Zwischenschritte generiert werden (über die Erzeugung homozygoter Mäuse, die kein funktionierendes Allel mehr besitzen). Die Erzeugung und Analyse von „knock out“-ES-Zellen kann bei beiden Methoden sehr arbeitsintensiv sein und ist für viele Studien weder praktikabel noch sinnvoll. Daneben hat sich der Einsatz gezielt veränderter Chromosomenpaare in ES-Zellen zur Aufklärung von Genfunktionen als effiziente Methode erwiesen. So wurde zum Beispiel das Pluripotenz-assoziierte Gen Nanog durch Targeting auf Chromosomenpaaren ausgeschaltet und so gezeigt, dass es für den Erhalt der Pluripotenz und somit für die Identität von ES-Zellen erforderlich ist (Mitsui et al., 2003).

Durch Targeting veränderte Chromosomenpaare wurden in Kombination mit *in vitro*-Differenzierungstechniken auch benutzt, um Mechanismen aufzuklären, die der Embryoletalität bei Mäusen zugrunde liegen. Zum Beispiel wird in der Frühphase der Herzmuskelentwicklung der Ryanodinrezeptor (RyR-2) normal exprimiert. Er dient im Herzen als wichtigster Kalziumkanal im sarkoplasmatischen Retikulum und sorgt für einen raschen Anstieg des freien Ca²⁺ im Zytosol. Ein Funktionsausfall dieses Gens führt zum Absterben des Mausembryos am 10. Tag der Entwicklung. Der dafür verantwortliche Mechanismus war bislang unklar. Erst die Untersuchung von Kardiomyozyten, die aus RyR-2-defizienten ES-Zellen *in vitro* entwickelt wurden, zeigte, dass RyR-2 nötig ist, um die spontane Schlagfrequenz unreifer Herzmuskelzellen zu erhöhen [Abbildung 6 (Yang et al., 2002)]. Wenn sich der Herzschlag in transgenen Mäusen aufgrund des Fehlens von RyR-2 verlangsamte, ging der Schließmechanismus verloren, der im embryonalen Herzen normalerweise die fehlenden Klappen ersetzt, und der Blutdurchsatz reichte nicht mehr aus. Erst aufgrund der Ergebnisse aus *in vivo* Befunden und den *in vitro* Studien mit ES-Zellen konnte nun postuliert werden, dass Embryonen von RyR-2^{-/-}-Mäusen aufgrund einer Funktionsstörung des kontraktiven Myokards absterben. Analog dazu ermöglichten erst ES-Zellen, die homozygot defizient für β 1-Integrin beziehungsweise für Desmin waren, eine detaillierte Funktionsanalyse und Charakterisierung der Phänotypen *in vitro*, da die Tiere, in denen diese Gene defekt sind, bereits früh während ihrer Embryonalentwicklung absterben.

Es wird erwartet, dass die mit murinen ES-Zellen etablierten Techniken auch mit „knock out“ hES-Zellen zum Verständnis der molekularen Ursachen von humangenetischen Krankheiten beitragen werden.

5.1.1.3 Entwicklungs- und Krankheitsmodelle

Genetische Studien mit transgenen Mäusen haben unser Verständnis von Entwicklungsprozessen und Mechanismen der Entstehung vieler Krankheiten ermöglicht. Diese Erkenntnisse beruhen auf der Grundlage von drei Techniken der embryonalen Stammzellforschung und Entwicklungsbiologie, 1. der Isolierung und Kultivierung von ES-Zellen, die die Fähigkeit haben, alle Gewebe eines Empfängertieres einschließlich seiner Keimbahn zu besiedeln, 2. der Möglichkeit, ES-Zellen in Säugetierembryonen (Blastozysten) einzufügen, wonach diese sich in den Embryo integrieren, und 3. der Möglichkeit der Gen-Inaktivierung durch homologe Rekombination oder der Überexpression von Transgenen in ES-Zellen.

Zunächst zielte man beim „Gene Targeting“ vor allem auf die Etablierung von Mausmodellen, die Erbkrankheiten simulieren. Dabei zeigte sich, dass in einigen Fällen die transgenen Modelle nur bedingt nutzbar waren, indem sie von Umweltfaktoren und dem genetischen Hintergrund beeinflusst wurden, wie zum Beispiel beim Mausmodell der zystischen Fibrose, in dem das Regulatorgen der Transmembran-Leitfähigkeit (CFTR) unterbrochen oder mutiert ist. Bei den ersten CFTR-defizienten Mäusen war das Lungengewebe bis zum Tod der Tiere nicht pathologisch verändert; erst spätere genetische Modifikationen und veränderte Haltungsbedingungen haben diese Tiere zu geeigneten Modellen für die Untersuchung der Pathogenese der zystischen Fibrose gemacht (Wilson, 1996).

Derzeit sind online (PubMed) mehr als 1 200 Artikel über transgene Mäuse und etwa 7 000 über Mausmutanten zu finden. Viele dieser Modelle waren entscheidend für die Aufklärung von Promotor- und Genfunktionen, die Ermittlung redundanter Genfunktionen und räumlicher Expressionsmuster und die Analyse von Zellen. Zahlreiche Arbeiten haben die Bedeutung des „Gene Targeting“ für die Entwicklung von Mausmodellen für entwicklungsbiologische und pathogenetische Prozesse bei kardiovaskulären, pankreatischen und renalen Entwicklungsprozessen dokumentiert. Darüberhinaus wurden Cre/loxP-Systeme für die konditionale Regulation eingesetzt.

Tiermodelle menschlicher Krankheiten sind die Voraussetzung sowohl für die Entwicklung als auch für die Evaluation von Gen- und Zelltherapien. Aus diesem Grund bilden die bisherigen

Untersuchungen mit mES-Zellen die Grundlage für die gegenwärtigen und künftigen Arbeiten mit hES-Zellen mit dem Ziel der Untersuchung von Entwicklungsprozessen des Menschen, sodass hES-Zellen direkt für die Analyse von unterschiedlichen Krankheiten eingesetzt werden können. So bieten hES-Zellen die Möglichkeit, pathologische Entwicklungsprozesse auf zellulärer Ebene zu analysieren, wenn hES-Zelllinien von Embryonen etabliert werden, die von Trägern humangenetischer Krankheiten stammen. Derzeit stehen bereits hES-Zelllinien als Modellsysteme für die Untersuchung von Thallassämie, Huntingtonscher Krankheit, Muskeldystrophie und anderer genetischer Krankheiten zur Verfügung [Tabelle 13 (Verlinsky et al., 2005)].

5.1.1.4 Neue genetische Strategien

5.1.1.4.1. *Extrachromosomale Expression*

Wie bereits ausgeführt, können integrationsabhängige Ereignisse die Genexpression in ES-Zellen beeinträchtigen. Genauso wie retrovirale Sequenzen „verstummen“ auch Transgene, die zufällig in ES-Zelllinien eingebracht werden, häufig nach und nach; dadurch kommt es zu einer mosaikförmigen Expression oder zur Ausprägung heterogener Phänotypen, oder aber die Expression erliegt vollständig. Durch extrachromosomale Replikation von Plasmiden kann das Problem des „silencing“ verhindert werden. Damit ist ein sehr effizientes Verfahren vorhanden, um Gene spezifisch zu aktivieren, ohne die Pluripotenz oder Differenzierungsfähigkeit von ES-Zellen zu beeinträchtigen.

Bei einem System der extrachromosomalen Replikation nutzt man die replikativen Eigenschaften des Polyoma-Virus. Mutanten des Polyoma-Virus, denen entweder das gesamte „große“ T-Intron oder die Spleißstellen für das richtige Processing der „mittleren“ und „kleinen“ T-mRNAs fehlen, können keine Zellen transformieren. Solange T-Transkripte vorhanden sind, kann sich die mutierte Polyoma-Virus-DNA in den infizierten Mäusezellen in Form von freien, nicht integrierten Minichromosomen replizieren. ES-Zellen, die das Polyoma-T-Protein stabil exprimieren, tragen dazu bei, dass die Plasmide, die den Replikations-Origin von Polyoma aufweisen, episomal bleiben. Zunächst wurde ein selbstreplizierendes Vektorsystem für ES-Zellen entwickelt (pMGD20neo), das den Replikations-Origin von Polyoma und einen mutierten Enhancer, eine modifizierte frühe Polyoma-Region, die das (große) T-Antigen kodiert, sowie eine Neomycin-Resistenz-Kassette enthält (Gassmann et al., 1995).

Tabelle 13: Humane ES-Zelllinien, die von Embryonen etabliert wurden, die von Trägern humangenetischer Krankheiten stammen

Erkrankung	Oozyten/Embryonen	Anzahl hES-Zelllinien
Thalassämie (beta locus)	10	1
Thalassämie (beta locus)	9	1
Fanconi Anämie (Komplementationsgruppe A)	7	1
„Dystrophia myotonica“ 1	4	2
Huntingtonsche Krankheit	15	2
Huntingtonsche Krankheit	7	1
Marfan Syndrom	18	1
Neurofibromatose (Typ 1)	16	5
Adrenoleukodystrophie	3	1
„Fragile site mental retardation“ 1	22	1
Muskeldystrophie (Becker Typ)	8	1
Muskeldystrophie (Duchenne Typ)	3	1
Gesamt	122	18

(nach Verlinsky et al., 2005)

Mit Hilfe einer Variante dieses extrachromosomalen Replikationssystems konnte kürzlich gezeigt werden, dass das SFRP2 („secreted frizzled related protein 2“) Gen gleichmäßig transgen exprimiert werden kann. Es zeigte sich, dass sowohl undifferenzierte ES-Zellen als auch die Zellen, die sich von ihnen ableiten, Transgene einheitlicher und stabiler exprimieren als das normalerweise bei Transgenen der Fall ist, die zufällig ins Genom integriert wurden. Während die stabilen Integrationsereignisse in der Regel bei unter 0,1 Prozent lagen, erhielt man bei extrachromosomaler Expression eine Steigerung auf 1–5 Prozent. Entscheidend ist, dass eine

Expression des Polyoma-T-Proteins (die ausreicht, um eine episomale Replikation zu unterstützen) keinen Einfluss auf die Pluripotenz der ES-Zellen hatte.

Mit Hilfe extrachromosomaler Vektoren können einige der technischen Probleme gelöst werden, die mit zufälligen Integrationsereignissen, wie Silencing, Mosaikbildung oder Komplikationen mit endogenen Genen, verbunden sind.

5.1.1.4.2 „Recombineering“

Sowohl die ungerichtete Transgenese als auch die homologe Rekombination unterliegen aufgrund des DNA-Engineerings in *Escherichia coli* Beschränkungen, was den Zeitpunkt und den Genort des Eingriffs angeht – vor allem, wenn konditionale „knock out“-Modelle entwickelt werden. Die Herstellung von Targeting-Vektoren, für die oft große Bereiche genomischer DNA verwendet werden, kann sehr arbeitsaufwändig und kompliziert sein. So liegen etwa die Restriktionschnittstellen nicht immer an geeigneten Stellen, und in die Genomsequenzen müssen Mutationen eingeführt werden, um Selektionskassetten oder loxP-Sequenzen einzusetzen. Bei neueren Verfahren nutzt man den Prozess des so genannten „Recombineering“, um mit Hilfe homologer Rekombination Targeting-Vektoren herzustellen. Diese Form des Chromosomen-Engineerings verkürzt die Zeit für die Herstellung von Targeting-Vektoren deutlich; ausserdem lassen sich damit selektierbare Marker an beliebigen Stellen in das Gen einführen.

So wurden auf diese Weise etwa „knock-in“-Konstrukte für Olig-2 hergestellt, einem Transkriptionsfaktor, der zuerst in Vorläuferzellen exprimiert wird, aus denen Oligodendrozyten und Motorneuronen hervorgehen, der jedoch im Rückenmark nur in Oligodendrozyten vorhanden ist. Das Olig-2-Gen wurde aus einer genomischen Maus-BAC-Bank isoliert, dann wurde durch homologe Rekombination in Hefe ein Targeting-Konstrukt hergestellt. Nach der Rekombination wurde das Konstrukt wieder in *E. coli* überführt, dort verändert und schließlich in ES-Zellen eingebracht. Man selektierte G418-resistente Kolonien, die dann *in vitro* differenziert wurden. Dabei stellte sich heraus, dass die GFP-positive Zellen zur Oligodendrozyten-Linie gehören. Die Olig-2-EGFP-Zellen kann man im Flowzytometer isolieren und als reine Zellpopulation kultivieren. Obwohl das Recombineering ursprünglich in Hefe durchgeführt wurde, eignet sich diese Technik dazu, durch homologe Rekombination in *E. coli*, genomische Sequenzen zu verändern. Die homologe Rekombination in *E. coli* wird durch Bakteriophagen-gestützte homologe

Rekombinationssysteme erleichtert, in denen man lineare doppelsträngige DNA-Fragmente (d. h. solche, die loxP-Sequenzen und Selektionsmarker aufweisen) verwenden kann. Diese besitzen an ihren Enden kurze homologe Regionen mit den Zielsequenzen, mit denen sie praktisch in jede große Ziel-DNA (Plasmide, BACs oder PACs) integriert werden können (Testa et al., 2003).

Das Recombineering-Verfahren hat sich bei mES-Zellen bewährt. Es ist zu erwarten, dass es auch bei hES-Zellen erfolgreich eingesetzt werden kann.

5.1.1.4.3 RNA-Interferenz

Beim Prozess der RNA-Interferenz (RNAi) führt eine doppelsträngige (ds) RNA zu einem gezielten Abbau von RNA-Molekülen mit homologen Sequenzen. Mit diesem Verfahren wurden Genfunktionen durch die Unterdrückung spezifischer Genprodukte insbesondere bei *Caenorhabditis elegans* und Pflanzen untersucht (Fire et al., 1998). Inzwischen hat sich die RNAi-Technologie auch in Untersuchungen von Säugersystemen als erfolgreich erwiesen (Bahramian and Zarbl, 1999). Die Hauptschwierigkeit beim Einsatz kurzer interferierender RNAs (siRNA) bestand darin, die dsRNA mit ausreichender Effizienz und Nachhaltigkeit in die Säugerzellen einzubringen. Die RNAi Technologie hat den großen Vorteil, hochspezifisch zu sein: dsRNA führt ausschließlich in der dazugehörigen identischen Region zum spezifischen Abbau homologer mRNA.

Durch direkte Injektion von dsRNA konnte in Präimplantationsembryonen der Maus und in Oozyten eine sequenzspezifische RNAi nachgewiesen werden. Auch ES-Zellen, sowohl undifferenzierte als auch differenzierte Zellen, können auf eine dsRNA mit Gen-Silencing reagieren (Zou et al., 2003). In dieser Arbeit wurde mit Hilfe von dsRNA die Expression von PU.1 und C/EBP α in CD34-positiven ES-Zellen unterdrückt. Daraufhin sank das Expressionsniveau sowohl des M-CSF-Rezeptors (CD115, einem Target-Gen von PU.1) als auch des C/EBP α Proteins nach Transfektion.

Angesichts der ersten Erfolge, Gene in ES-Zellen kontrolliert abzuschalten, sowie der Fortschritte beim Einbringen von siRNA in Säugerzellen, gilt die RNAi-Strategie als ein wirkungsvolles Verfahren, um sowohl die Differenzierung von ES-Zellen zu untersuchen als auch in zukünftigen Gentherapie-Strategien eingesetzt zu werden (Caplen, 2003).

5.1.1.4.4. Expressionsprofiling von ES-Zellen

Obwohl davon auszugehen ist, dass die Biologie von ES-Zellen durch Transkriptionsmechanismen reguliert wird, werden ES-Zellen immer noch überwiegend funktional definiert. ES-Zelllinien verdanken ihr Entwicklungspotential einer Reihe von Genen, die in anderen Zelltypen niemals exprimiert werden. Allerdings ist das Wissen um die komplizierten Mechanismen, die die Pluripotenz und das Differenzierungsvermögen von ES-Zellen steuern, im Augenblick noch auf wenige Signaltransduktionswege (wie LIF, BMP, Wnt) und Regulationsfaktoren (wie Oct-3/4, Nanog) beschränkt. Theoretisch sollte eine umfassende Analyse des zellulären Transkriptom genügen, um den molekularen Phänotyp von Stammzellen zu definieren, und die Faktoren zu bestimmen, die darüber entscheiden, welchen Weg eine ES-Zelle einschlägt. Dieser Annahme liegt die Hypothese zugrunde, dass einige mRNAs in embryonalen und/oder adulten Stammzellen in einer besonderen Weise beziehungsweise höher exprimiert werden als in irgendeinem anderen Zelltyp und dass diese Unterschiede bei einem Vergleich der Zellpopulationen deutlich werden.

Obwohl bereits verschiedene Transkriptomanalysen veröffentlicht wurden, die für sich in Anspruch nahmen, Stammzell-spezifische Faktoren identifiziert zu haben, zeigte eine genauere Analyse der Daten, dass die spezifischen Faktoren, die Stammzellen von anderen Zellen unterscheiden, aus diesen Ergebnissen nicht abzuleiten waren. Als Erklärung für diese unterschiedlichen Resultate werden unter anderem verschiedene Zelllinien, Kulturbedingungen, Protokolle für Mikroarrays und Hybridisierungen, Datenanalysen sowie mögliche Zellkontaminationen genannt (Kapitel 4.6). Wie bereits ausgeführt, werden darüber hinaus Proteomanalysen und Analysen der Chromatinstruktur („Chromatinomics“) erforderlich sein, um den Phänotyp von undifferenzierten Stammzellen und ihren differenzierten Zellderivaten sichtbar zu machen (Kapitel 4.6.3).

5.1.2 Stammzellen in Pharmakologie und Embryotoxikologie

Stammzellen bilden ein dynamisches System, das sich zur Identifizierung neuer molekularer Endpunkte und zur Entwicklung neuer Medikamente eignet, die man zur Beurteilung ihrer möglichen Toxizität für den Menschen *in vitro* testen kann (Davila et al., 2004). **Mit hES-Zellen kann direkt an menschlichen pluripotenten Zellen die Wirkung toxischer Substanzen auf Differenzierungsprozesse während sehr früher Entwicklungsstufen untersucht werden. Durch solche in vitro-Untersuchungen könnte teilweise auch die Anzahl von Tierexperimenten in der**

Reproduktions-Toxikologie verringert werden. Humane ES-Zelllinien könnten sich daher als außerordentlich wichtig erweisen, um sicherere und effizientere Medikamente für menschliche Krankheiten zu entwickeln. In diesem Zusammenhang sind drei Aspekte von Bedeutung:

1. Bisher gibt es in einigen Bereichen der *in vitro*-Toxikologie noch keine befriedigenden Methoden, um die Toxizität für humane Zielzellen vorherbestimmen zu können.
2. Im Bereich der Embryonaltoxikologie ist es aufgrund großer Spezies-Unterschiede oft nicht möglich, die Befunde aus Tierversuchen und *in vitro*-Versuchen an Säugerzelllinien auf den Menschen zu übertragen. Zellsysteme des Menschen könnten die Identifizierung gesundheitsschädigender Chemikalien ermöglichen beziehungsweise beschleunigen.
3. Pluripotente ES-Zellen des Menschen würden erstmals die Identifizierung embryotoxischer Chemikalien und Pharmaka an einem *in vitro*-Differenzierungssystem menschlicher Zellen ermöglichen.
4. Mit toxikologischen und pharmakologischen Untersuchungen an Zellen, die aus hES-Zellen *in vitro* entwickelt werden, könnte die Anzahl der Tierversuche in der Toxikologie und Pharmakologie verringert werden.

Damit könnte der Einsatz von hES-Zellen in Pharmakologie und Embryonaltoxikologie in der medizinischen Forschung und Therapie direkt zum Tragen kommen, wenn mit diesen Testsystemen sicherere Medikamente für den Menschen entwickelt würden. Allerdings sind für einen solchen Ansatz bisher vor allem murine ES-Zellen verwendet worden.

Die ersten pharmakologischen Untersuchungen zur chronotropen Wirkung von Herz-Kreislaufmitteln wurden mit Herzmuskelzellen durchgeführt, die von mES-Zellen abstammten (Wobus et al., 1991). Außerdem wurden herzzell-spezifische Agonisten und Antagonisten eingesetzt, um die physiologischen Eigenschaften von Herzmuskelzellen im jeweiligen Entwicklungsstadium zu charakterisieren. Mit Hilfe von elektrophysiologischen Methoden (Patch-Clamp-Technik) wurden auch die physiologischen Eigenschaften neuronaler Zellen, insbesondere dopaminergener Neurone, die von ES-Zellen abstammten, charakterisiert.

ES-Zell-Differenzierungssysteme sind jedoch insbesondere für die Untersuchung der Embryotoxizität chemischer Agenzien oder Pharmaka wichtig. Eine der effizientesten teratogenen Substanzen ist Retinsäure, ein Mittel, das zur Behandlung von Hautkrankheiten beim Menschen angewendet wird. In der Forschung wird Retinsäure eingesetzt, um die Differenzierung von Zellen zu induzieren. Behandelt man jedoch differenzierende ES-Zellen mit unterschiedlichen Retinsäure-Konzentrationen, werden in Abhängigkeit von Behandlungszeit und Konzentration entweder neuronale, myogene oder kardiale Zellen induziert.

Das ES-Zell-Differenzierungsmodell wurde unter anderem eingesetzt, um die Wirkung von Medikamenten auf die Gefäßzellbildung zu untersuchen. Sauer und Wartenberg haben mit Hilfe des mES-Zell-Systems die molekularen Mechanismen aufgezeigt, die für die teratogene Wirkung von Thalidomid verantwortlich sind. Thalidomid ist ein potentes Teratogen, das in den 1960er Jahren als Arzneimittel bei Schwangeren eingesetzt wurde und weltweit Fehlbildungen bei den Nachkommen auslöste. Die Autoren fanden, dass über die Bildung von Hydroxylradikalen die Angiogenese gehemmt wird und dadurch die teratogenen Effekte induziert werden (Sauer et al., 2000).

Als routinemäßiges Verfahren wurde der so genannte embryonale Stammzell-Test (EST) entwickelt. Der EST gründet auf Beobachtungen, nach denen bei der EB-Bildung zumindest teilweise ähnliche Entwicklungsprozesse wie in der frühen Embryogenese ablaufen. Der EST umfasst Zytotoxiäts- und Differenzierungstests mit Stammzellen und differenzierten Zelllinien. Während der *in vitro*-Differenzierung von ES-Zellen werden embryotoxische Agenzien zugefügt und die zytotoxische und entwicklungshemmende Wirkung analysiert. Aufgrund dieser Daten wurde ein Modell vorgeschlagen, mit dem man Chemikalien in die Gruppen „nicht embryotoxisch“, „gering embryotoxisch“ und „stark embryotoxisch“ einordnen kann. Dabei konnte gezeigt werden, dass die *in vitro*-Daten sehr gut mit der Embryotoxizität *in vivo* korrelierten.

Weil der EST relativ arbeitsaufwändig ist und geschultes Personal erfordert, wurden alternative Testsysteme zur Bestimmung der Embryotoxizität vorgeschlagen. So kann die toxische Wirkung von Substanzen beispielsweise mit Hilfe von FACS-Analysen transgener Zellen untersucht werden. Diese ES-Zellen enthalten ein Reportergen (z. B. EGFP, kodiert ein fluoreszierendes Protein), das von einem gewebespezifischen Promotor reguliert wird. Mit Hilfe der Flowzytometrie können Unterschiede in der Expression des gewebespezifischen Promoters quantitativ bestimmt werden.

Eine weitere Variante umfasst den Einsatz eines Systems, in dem Pro-Teratogene, wie Cyclophosphamid, mit Hilfe einer Kombination aus stoffwechselkompetenten Zelllinien und ES-Zellen untersucht werden. Abgesehen von Embryotoxizitätstests wurden ES-, EC- und EG-Zellen auch zum Nachweis der Zytotoxizität und Mutagenität chemischer Substanzen eingesetzt (weiterführende Literatur: Wobus and Boheler, 2005). ES-Zellsysteme wurden auch eingesetzt, um die Wirkung physikalischer Faktoren, wie elektromagnetischer Felder, zu untersuchen. Durch die Kombination von genomischen und proteomischen Techniken mit Stammzellsystemen ergeben sich weitere molekulare Ansätze für ein Screening auf pharmakologische oder embryotoxische Effekte von chemischen Wirkstoffen (Kapitel 5.1.1.4.4).

5.2 Stammzelltherapien

In zukünftigen Zelltherapien mit humanen Stammzellen steht die Frage im Vordergrund, wie das Differenzierungspotenzial der Zellen für therapeutische Anwendungen kontrolliert und sicher genutzt werden kann. Zellen, die für zelltherapeutische Anwendungen eingesetzt werden sollen, müssen eine Reihe von Kriterien erfüllen.

5.2.1 Anforderungen an Stammzelltherapien

Nach wie vor ist das größte Problem der Transplantationsmedizin der Mangel an geeigneten Spenderorganen. Zelltherapien auf der Grundlage von Stammzellen könnten zumindest einen Teil des Bedarfs decken. Derzeit sind Transplantationstherapien nur für wenige Systeme, insbesondere das Blut-bildende System, etabliert (Gage, 1998, Weissman et al., 2001).

Die für eine Reparatur nötigen Zellen können vom Patienten selber (autologe Transplantation), von Spendern derselben Art (allogene Transplantation) oder einer anderen Spezies (Xenotransplantation) stammen, von primären oder permanenten Zelllinien, oder von adulten Stammzellen abgeleitete Donorzellen sein. Die Eignung dieser unterschiedlichen Zelltypen für spezielle Therapieansätze hängt davon ab, wie gut sie sich jeweils isolieren, vermehren und verändern lassen.

Zurzeit werden für Therapien, bei denen menschliche Zellen übertragen werden, autologe oder allogene adulte Stammzellen von immunkompatiblen Spendern benutzt. Dabei sind hämatopoetische Stammzellen (z. B. als CD133+ oder CD34+ Zellen charakterisiert) relativ

leicht zu isolieren, sie lassen sich aber nur begrenzt vermehren und das Ausmaß des Transdifferenzierungspotentials von HSC ist nach wie vor nicht eindeutig definiert (Kapitel 4.5.3 und 4.5.4). Dagegen sind mesenchymale Stammzellen als adhärenente Zellen zu vermehren, und zeigen ein breites Differenzierungspotenzial. Erste Ergebnisse zeigen auch für endotheliale Vorläuferzellen (EPCs, CD31+ Zellen) ein relativ breites Differenzierungspotenzial. Auf einige spezifische Aspekte der Transplantation dieser Zellen zur Geweberegeneration wird in den folgenden Kapiteln eingegangen. Weiterhin eröffnen erste Erfolge mit murinen und humanen ES-Zellderivaten in Tiermodellen die Möglichkeit, diese Zellen als potentielle Quelle für Transplantationstherapien von menschlichen Krankheiten zu untersuchen.

Es kann davon ausgegangen werden, dass die Forschung an humanen Stammzellen Millionen von Menschen helfen würde, die an derzeit nicht oder nur begrenzt heilbaren Krankheiten leiden, wie zum Beispiel an Morbus Parkinson, Verletzungen des Rückenmarks, Herzversagen nach Infarkt oder Diabetes.

Intensive Forschungsarbeiten sind weltweit darauf gerichtet, Zelltherapiestrategien mit embryonalen und adulten Stammzellen zu entwickeln. Eine Grundvoraussetzung für therapeutische Anwendungen mit Stammzellen ist, dass sie ohne genetische oder epigenetische Veränderungen unter standardisierten und kontrollierten Bedingungen über lange Zeiträume stabil in Zellkultur vermehrbar sind. Weitere Anforderungen werden an die Sicherheit des Zelltransplantats gestellt. So müssen toxische Effekte, Kontaminationen mit fremden Zellen, tierischen Proteinen oder die Gefahr der Entartung zu Tumorzellen definitiv ausgeschlossen sein. Eine Grundforderung der Transplantationsmedizin an Stammzelltransplantate ist natürlich deren Funktionalität und Immunverträglichkeit, sodass Abstossungsreaktionen zwischen Spenderzellen und Empfängerorganismus ausgeschlossen sind. Diese Aspekte sollen im Folgenden diskutiert werden.

5.2.1.1 Genetische und epigenetische Veränderungen

Man kann davon ausgehen, dass in somatischen Zellen höherer Organismen bei jeder Zellteilung ungefähr eine Mutation auftritt, das heißt, eine Zelle, die sich in Kultur 200 mal geteilt hat, kann bis zu 200 Mutationen aufweisen (Kunkel and Bebenek, 2000). Auch wenn die Mehrheit dieser Mutationen für die Zelle folgenlos ist, können Mutationen, die Protoonkogene oder regulatorische Gensequenzen betreffen, dazu führen, dass die daraus entwickelten Zellen für eine

Zelltherapie ungeeignet wären. In einigen hES-Zelllinien wurden chromosomale Aberrationen gefunden, andere Studien ergaben keinen Hinweis auf Karyotyp-Veränderungen. Jedoch ist allein der Befund fehlender chromosomaler Veränderungen in hES-Zelllinien kein Beweis dafür, dass diese Zellen auch nach Langzeitkultur genetisch stabil sind (Draper et al., 2004). In der Tat ergab eine genauere Analyse kultivierter hES-Zelllinien und ein Vergleich der genomischen Profile von hES-Zellen aus frühen und späten Passagen eine Zunahme an Mutationen mit zunehmender Kulturdauer (Maitra et al., 2005). Diese Ergebnisse würden dafür sprechen, hES-Zellen nur aus frühen Passagen zu verwenden, beziehungsweise vor ihrer Verwendung als Zelltherapeutika genetische Tests durchzuführen.

Neben genetischen Veränderungen spielen epigenetische Modifikationen wie DNA-Methylierung oder -Acetylierung, Histonmodifikationen sowie andere Veränderungen der Chromatinstruktur, die sich nicht auf die Sequenz des Genoms auswirken, eine wichtige Rolle für das Entwicklungspotenzial von ES-Zellen. So können Serumgaben oder Serumentzug, Kultivierungsbedingungen oder ungeeignete Wachstumsfaktorsupplemente zu epigenetischen Veränderungen führen, die das Differenzierungspotenzial von Stammzellen beeinflussen. Für mES-Zellen ist gezeigt worden, dass Veränderungen der Oct-3/4 Transkript-Menge die ES-Zell-Entwicklung beeinflussen, und epigenetische Veränderungen, die zu einer geringeren Oct-3/4-Konzentration führen, in Blastozysten aus Mausklonen die Zellzahl und das Entwicklungspotenzial reduzieren (Boiani et al., 2003). Die Möglichkeiten epigenetischer Veränderungen werden inzwischen auch in hES-Zellen analysiert.

Nach diesen Befunden reicht der gegenwärtige „Vorrat“ an hES-Zelllinien (Kapitel 4.1.2) sicher nicht aus, um ihr Potential für Zelltherapien adäquat zu erforschen. Neue, ohne Kontamination mit tierischen Zellen und Proteinen, und unter standardisierten Bedingungen isolierte und kultivierte hES-Zelllinien sind erforderlich. So sind die derzeit vorrangig studierten hES-Zellen hinsichtlich ihrer Herkunft aus unterschiedlichen Entwicklungsstadien, der Verwendung verschiedener Feederzellen, Kulturmedien und Supplemente äußerst heterogen (Tabelle 4). Vergleicht man darüber hinaus die Transkriptmuster von hES-Zellen, stellt man fest, dass Transkripte identifiziert wurden, die für Trophektoderm-Zellen und für epitheliale beziehungsweise mesenchymale Zellen charakteristisch sind (Tabelle 5). Das heisst, hES-Zellen weisen – im Unterschied zu Maus-ES-Zellen – Marker von differenzierten Zellen auf, wie zum Beispiel Alpha-Fetoprotein (AFP, Expression in endodermalen Zellen), Krt1-14 (= Zytokeratin

14, Expression in epithelialen Tumorzellen) und Vimentin (Expression in mesenchymalen Zellen). **Dies ist ein Hinweis darauf, dass die untersuchten hES-Zellen (aus NIH-Register) nicht die Kriterien erfüllen, die an undifferenzierte, pluripotente ES-Zellen gestellt werden müssen und die „stemness“ repräsentieren.**

Die Frage des Auftretens genetischer oder epigenetischer Veränderungen in adulten Stammzellen ist insbesondere für solche Zelltypen relevant, die durch Kultivierungsverfahren gewonnen und vermehrt werden, wie mesenchymale Stammzellen. In Klonierungsassays wurde die Heterogenität mesenchymaler Stammzellen deutlich, wobei nur circa ein Drittel der MSC-Klone pluripotent waren, während die meisten Zellen eine begrenzte Entwicklungsfähigkeit (Bi- oder Unipotenz) zeigten. Offenbar werden während der Zellkultur spezifische Phänotypen selektiert. Dabei können sowohl genetische als auch epigenetische Veränderungen stattfinden, die einerseits einen bestimmten Phänotyp selektieren, aber andererseits auch zur Entstehung von Tumoren führen könnten.

5.2.1.2 Stammzellen und Tumorentstehung

Stammzellen weisen viele Merkmale auf, die für Krebszellen charakteristisch sind: sie zeigen beispielsweise ein uneingeschränktes Proliferationsvermögen und klonales Wachstum. Außerdem fehlt ihnen die „Kontaktinhibition“, das heißt, sie sind nicht mehr auf gegenseitige Kontakte mit anderen Zellen oder Substraten angewiesen. Undifferenzierte, frühe embryonale Zellen führen in der Regel zu Tumoren (gutartige Teratome oder bösartige Teratokarzinome), wenn sie an Stellen außerhalb des Uterus transplantiert werden. Es ist seit langem bekannt, dass sich sowohl aus murinen als auch aus humanen ES-Zellen nach subkutaner Transplantation oder Transplantation unter die Nierenkapsel von (syngenen oder immunsupprimierten) Versuchstieren Teratokarzinome oder Teratome bilden.

Dabei ist zu beachten, dass auch die Transplantation von differenzierten Zellen zur Entwicklung von Tumoren führen kann, wenn diese noch mit einigen undifferenzierten ES-Zellen kontaminiert sind. Um ein Krebsrisiko auszuschließen, genügt es demzufolge nicht, eine 99 Prozent reine Zellpopulation von Spenderzellen zu gewinnen. Es werden zusätzliche Strategien entwickelt werden müssen, um *alle* potentiell tumorbildenden Zellen zu eliminieren, beispielsweise indem entsprechende Gene, so genannte „Suizid“-Gene, eingeführt werden, die die Apoptose von Zellen regulieren und zum Absterben aller noch undifferenzierten Zellen

führen. Strategien zur Selektion und Aufreinigung von aus ES-Zellen entwickelten Spenderzellen sind in Kapitel 5.2.1.3 beschrieben.

Während es bisher als gesichert galt, dass adulte Stammzellen kein Tumorrisiko darstellen, sind in letzter Zeit Studien bekannt geworden, nach denen auch adulte Stammzellen unter bestimmten Bedingungen Tumoren auslösen können. So wurde beobachtet, dass nach chronischer Infektion mit *Helicobacter*, einem bakteriellen Verursacher von Tumoren, im Magen von Mäusen eine Repopulation mit Knochenmarkstammzellen erfolgte, und dass diese Zellen zur Bildung von Metaplasien, Dysplasien und schließlich epithelialen Tumoren führten (Houghton et al., 2004). Das heißt, in diesen Experimenten führte die Applikation von Stammzellen mit einem tumorpromovierenden Faktor zur Krebsentstehung.

Ein anderes Problem ist die unter Umständen lange Kultivierungsdauer, die zur Vermehrung von Stammzellen, insbesondere mesenchymaler Stammzellen, benötigt wird, und die zu epigenetischen oder genetischen Veränderungen führen kann. So lösten aus Fettgewebe isolierte mesenchymale Stammzellen, die sich im Verlauf von acht Monaten in Kultur circa 90 bis 140 mal geteilt hatten, nach Injektion in Versuchstiere Krebs aus (Rubio et al., 2005). Möglicherweise finden während der Zellkultur Veränderungen statt, die den Phänotyp der Zellen verändern. Es wurde zum Beispiel beobachtet, dass eine permanente Telomerase-Expression in MSCs nach längerer *in vitro* Kultur zu Deletionen (im INK4a/ARF Locus) und zu epigenetischem „silencing“ eines Tumor-Suppressor Gens führte (Burns et al., 2005). Das könnte bedeuten, dass zahlreiche der weltweit in Zellbanken gelagerten mesenchymalen Stammzellen für eine klinische Anwendung nicht mehr geeignet sind. Konsequenterweise wurde inzwischen gefordert, nur solche Stammzellen therapeutisch einzusetzen, die maximal 60 Generationszeiten *in vitro* vermehrt wurden.

In einer weiteren Studie wurden aus humanen Gehirntumoren Tumorstammzellen isoliert. Eine kanadische Gruppe isolierte CD133+ Zellen aus dem menschlichen Gehirn (CD133+ Stammzellen aus dem Knochenmark oder Blut sind als hämatopoetische Stammzellen definiert!) und transplantierte 100 dieser CD133-positiven Zellen in immundefiziente Mäuse, die daraufhin Tumoren entwickelten. CD133-negative Zellen entwickelten dagegen keine Tumoren (Singh et al., 2004). In diesem Zusammenhang ist bemerkenswert, dass Prominin-1, das Orthologe des CD133 Antigens in der Maus, in mES-Zellen und frühen Vorläuferzellen nachgewiesen wurde, das heißt, hämatopoetische Stammzellen werden durch einen Zelloberflächenmarker charakterisiert, der auch in (tumorbildenden!) ES-Zellen ausgeprägt wird (Kania et al., 2005).

Obwohl diese Befunde Aufsehen erregten und die Stammzellforscher überraschten, könnten sie jedoch auch neue therapeutische Möglichkeiten eröffnen: Wenn Stammzellen in Tumoren präsent sind, beziehungsweise sich in Tumoren „einnisten“ können („homing“), dann sollten Stammzellen auch als Vehikel nutzbar sein, um antitumorogene Faktoren zu transportieren. Genau dieses Prinzip wurde in einer ersten Studien verfolgt, wobei die Stammzellen selbst „den Weg“ zum Tumor „fanden“. Diese Strategie wurde mit endothelialen Vorläuferzellen erstmals untersucht (Wei et al., 2004) und könnte sich als neue Behandlungsmethode bei Krebskrankheiten erweisen.

Tatsächlich ist die zellbiologische Korrelation zwischen Tumor- und Stammzellen sehr eng. Da das Wachstum sowohl von Tumorzellen als auch von Stammzellen über ähnliche Signalwege (z. B. Wnt- oder Notch-abhängige Mechanismen) reguliert wird, verwundert die Tumor-induzierende Fähigkeit von adulten Stammzellen prinzipiell nicht. Dysregulation entsprechender Signalkaskaden und stammzellspezifischer Genexpression, Aktivierung von Oncogenen und/oder von Tumorsuppressorgenen, Veränderung von Adhäsionsmechanismen (Aktivierung von β -Catenin) und Apoptoseprozessen können dazu führen, dass sich eine Zelle nicht mehr als Stammzelle verhält, sondern zur Tumorzelle wird [(Al Hajj et al., 2004, Trounson, 2004), Abbildung 13].

Aus diesen Gründen ist eine verstärkte Erforschung der Beziehungen zwischen Stammzellfunktion und Tumorigenität dringend erforderlich.

5.2.1.3 Aufreinigung und Selektion von Zellen

Spenderzellen für Transplantationen müssen hoch selektive Isolationsverfahren durchlaufen. Dies trifft sowohl auf adulte Stammzellen, aber insbesondere auf aus ES-Zellen gewonnene Zellerivate zu, da aus ES-Zellen selbst Tumore entstehen können.

Für ES-Zellen werden solche Verfahren von Bedeutung sein, bei denen frühe gewebe-spezifische Stamm- und Vorläuferzellen isoliert werden. Vorläuferzellen („progenitor cells“), die sich nur noch begrenzt selbst erneuern können (also normalerweise keine Tumoren mehr bilden), verfügen noch über ein beachtliches Proliferationsvermögen und die Fähigkeit, differenzierte Zellen zu bilden. Sie könnten entweder *in vitro* weiter in den spezialisierten Phänotyp differenziert werden, oder *in vivo* im Kontext des Gewebes ausreifen. Mit Hilfe von zwei experimentellen Strategien können solche Vorläuferzellen oder gewebespezifische Stammzellen aus differenzierenden ES-Zellen isoliert werden:

Abbildung 13: Beziehungen zwischen adulten Stammzellen und der Entstehung von Tumorzellen

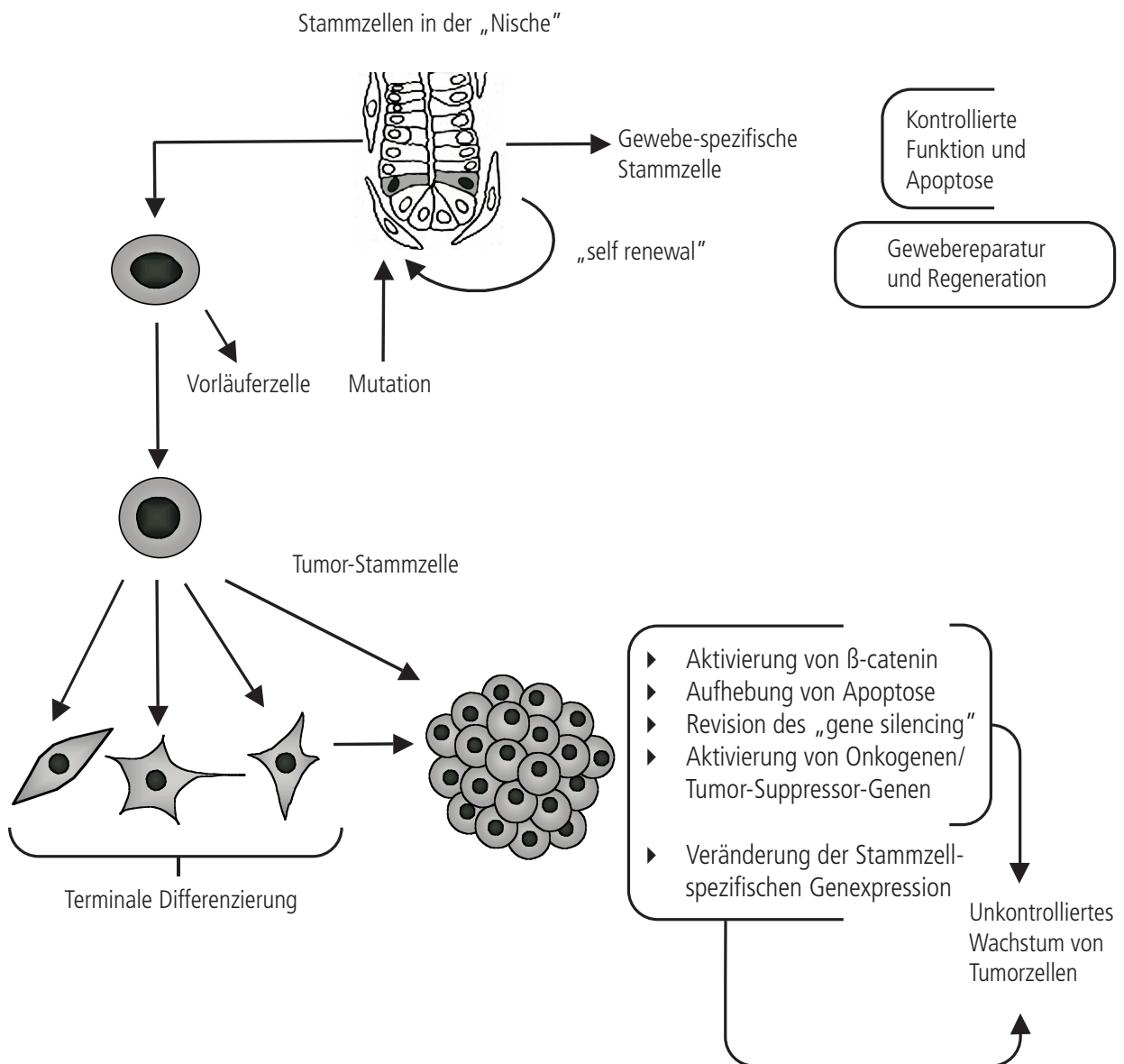


Abbildung 13: Beziehungen zwischen adulten Stammzellen und der Entstehung von Tumorzellen: Adulte Stammzellen regenerieren die zellulären Funktionen in Organsystemen des erwachsenen Körpers. Mutationen in adulten Stammzellen können zu Veränderungen der Genexpression, wie z. B. zur Aktivierung von Onkogenen und/oder Tumor-Suppressor-Signalwegen, und zum Ausfall zellulärer Regulationsmechanismen führen (modifiziert nach Trounson, 2004).

1. Die spezifischen differenzierten Zelltypen werden mit Hilfe von Zelloberflächenmarkern mit Hilfe der Durchflusszytometrie (FACS) oder magnetisch aktivierter Zelltrennung („magnetic activated cell sorting“, MACS) isoliert,

oder/und
2. ES-Zellen werden genetisch markiert, indem Selektionsmarker, die eine selektive Anreicherung des gewünschten Zelltyps erlauben, in ES-Zellen eingeführt werden.

Bei dieser „lineage“-Selektion genannten Strategie wird ein Expressionsvektor mit einem Resistenzgen (z. B. Neomycin-Gen) unter der Kontrolle eines zelltypspezifischen Promotors (z. B. des SOX2 Gens) in ES-Zellen transfiziert. Nach Selektion mit Neomycin (G418) überleben nur Zellen, die das Neomycin-Gen (z. B. unter der Kontrolle des SOX2-Promotors) exprimieren. So konnte eine hoch reine Population neuronaler Zellen gewonnen werden, die anschließend in neuronale Zellen differenziert wurde (Li et al., 1998).

Ähnliche Strategien wurden für die Isolierung von Skelett- und Herzmuskelzellen eingesetzt. Nach Selektion von Herzzellen wurde eine Population isoliert, die zu 99,6 Prozent nur aus Herzmuskelzellen besteht. Wie oben begründet, ist dieser Reinheitsgrad für therapeutische Zwecke jedoch noch nicht ausreichend.

Als weitere Möglichkeit der Selektion (mit Hilfe selektiver Expressionsvektoren) bietet sich ein FACS-Sorting von Zellen an, die EGFP („enhanced green fluorescent protein“) exprimieren. Damit wurden zum Beispiel Herzmuskelzellen aus mES-Zellen isoliert, die EGFP unter der Kontrolle des herzspezifischen α -Aktin-Promotors exprimierten.

Für die Selektion hämatopoetischer Zellen eignen sich definierte Oberflächenantigene und Selektion über MACS. Dabei arbeitet man mit fluoreszierenden Antikörpern und solchen, die mit magnetischen Mikrobeads beladen sind, beziehungsweise man kombiniert FACS und MACS Selektion. Für die Selektion von HSCs ist es letztlich unwesentlich, ob sie aus ES-Zell-Derivaten entwickelt wurden, oder direkt aus dem Organismus, zum Beispiel aus Knochenmark, aus peripherem oder Nabelschnurblut gewonnen werden.

Verfahren zur Aufreinigung und Selektion von HSCs sind seit langem klinische Praxis bei der Transplantation von Blutstammzellen zur Behandlung von Immunkrankheiten, zum Beispiel

bei erblicher Immundefizienz, und bei der Therapie von akuten Leukämien. Derartige Transplantationen von Stammzellen aus Blut oder Knochenmark haben sich für unzählige Menschen als lebensrettende Therapie erwiesen.³

5.2.1.4 Nachweis der gewebespezifischen Funktion in Tiermodellen

Für den therapeutischen Nutzen von Stammzellen ist entscheidend, ob sie sich in das Gewebe des Empfängers einfügen und die spezifischen Funktionen der geschädigten oder defekten Zellen übernehmen können. Obwohl es einige Besonderheiten gibt, müssen letztlich an embryonale und an adulte Stammzellen die gleichen Anforderungen gestellt werden.

Bisherige Studien zeigten, dass nach der Transplantation von aus ES-Zellen abgeleiteten Spenderzellen in einem hohen Maß die verloren gegangenen spezifischen Funktionen wiederhergestellt werden konnten. Transplantationsexperimente mit aus hES-Zellen differenzierten neuralen Vorläuferzellen in das sich entwickelnde Nagergehirn ergaben eine Integration in das Nervensystem (Zhang et al., 2001). Bei einem ähnlichen Versuch mit Hühnerembryonen wurden Kolonien von hES-Zellen direkt neben das Neuralrohr des Empfängers verpflanzt. Die Zellen differenzierten sich daraufhin zu Neuronen mit entsprechenden molekularen Eigenschaften (Goldstein et al., 2002). Aus hES-Zellen entwickelte dopaminerge Neurone integrierten in Versuchstieren in die entsprechenden Regionen des Gehirns (Conti et al., 2005). Transplantationen von Insulin-produzierenden Zellen in diabetische Mäuse ergaben eine Normalisierung des Blutglukosespiegels (Kapitel 5.2.2.3, Literaturangaben bei Wobus and Boheler, 2005).

Diese ersten Befunde sind ermutigend. Es werden jedoch noch wesentlich tiefergehende Untersuchungen und Langzeitstudien auch an großen Tiermodellen (Hund, Schwein, nicht-menschliche Primaten) nötig sein, bevor ein Einsatz am Menschen vorstellbar ist.

Auch für adulte Stammzellen liegen zahlreiche Daten vor, die die Integration von Stammzellen in verschiedene Gewebe zeigten. Transplantationen von menschlichen Blutstammzellen in das Blutssystem oder von Hautstammzellen in die Haut erwachsener Mäuse demonstrierten, dass Stammzellen die Fähigkeit zur Langzeitrepopulation und zum Ersatz von Gewebefunktionen

³ Die etablierten klinischen Therapieverfahren der Transplantation von Knochenmarkstammzellen sind jedoch nicht Gegenstand dieses Beitrags.

besitzen (Karpowicz et al., 2004). Bei diesen Experimenten wurden somatische Zellen in einen erwachsenen Organismus transplantiert, und Blutstammzellen integrierten in das Blutssystem beziehungsweise Hautzellen bildeten Hautgewebe.

Jedoch hat die Transplantation von aus hES-Zellen entwickelten beziehungsweise aus adulten Geweben isolierten Stammzellen in Tiermodelle die Frage nach der ethischen Verantwortbarkeit aufgeworfen (Kapitel 6). Dabei geht es zumeist um die Frage, **ob aus solchen Spezies-übergreifenden Transplantationen Chimären entstehen könnten.**

„Echte“ Chimären entwickeln sich nur aus der Kombination von Zellen früher Embryonen, beispielsweise in so genannten „Aggregationschimären“ (Vereinigung von Morulae verschiedener Elternstämme), oder nach Transplantation von ES-Zellen in Maus-Blastozysten. Solche Versuche mit hES-Zellen und Maus-Embryonen durchzuführen, das heißt, die Herstellung von Maus-Mensch-Chimären, verbieten sich von selbst. **Dagegen kann die Fähigkeit von differenzierten Zellen oder von adulten Stammzellen des Menschen zur Repopulation oder Regeneration somatischer Gewebe nur in einem Tiermodell untersucht werden.** Solche Tiermodelle sind zum Beispiel immun-defiziente (NOD-SCID) Mäuse, diabetische Mäuse nach Streptozotocin-Behandlung, Ratten mit Merkmalen der Parkinson'schen Krankheit oder Tiere mit experimentell erzeugtem Herzinfarkt. Dabei besteht ein Unterschied, ob Blutstammzellen nur in die Blutbahn fetaler oder erwachsener Tiere übertragen werden, oder ob **Nervenzellen** in das Gehirn anderer Säuger oder nicht-menschlicher Primaten integriert werden (Karpowicz et al., 2004).

Bei der Transplantation von neuronalen Zellen wurde die Frage aufgeworfen, ob sich bei der Integration von humanen neuronalen Stammzellen in das Nager- oder Affengehirn menschliche Hirnfunktionen im tierischen Organismus entwickeln könnten. Dagegen wurde argumentiert, dass die Anzahl der transplantierten Nervenzellen nur einen winzigen Bruchteil der Hundertmilliarden von Nervenzellen mit ihren jeweils Zehntausenden von Synapsen im Empfänger bilden und deshalb keine Organismen mit menschlicher Hirnfunktion entstehen können.

Eine internationale Expertenkommission hat kürzlich die folgenden Parameter benannt, die in solchen Versuchen besonders berücksichtigt werden müssen: 1. Der Umfang des menschlichen Transplantats im Verhältnis zum Umfang des tierischen Empfängerhirns, 2. der Entwicklungsstand des Empfängerorganismus zurzeit der Implantation, 3. die Tierart, 4. die Größe des Tierhirns, 5. die Hirnregion, in die die tierischen Zellen transplantiert werden sollen, und 6. der pathologische Status des Gehirns des Empfängertiers (Greene et al., 2005).

Als Schlussfolgerung wurden folgende Anforderungen an Chimärenexperimente hinsichtlich der Analyse von Hirnfunktionen gestellt: Die **geringsten Bedenken bestehen gegen Experimente, bei denen eine relativ geringe Anzahl menschlicher Zellen in das ausgewachsene Gehirn nicht-menschlicher Primaten transplantiert werden, insbesondere, wenn sie dem Homo sapiens verwandtschaftlich nicht zu nahe stehen.** Hier sei keine Beeinflussung der mentalen Kapazität zu erwarten. Dagegen **bestehen Bedenken, wenn menschliche Stammzellen während ganz früher Entwicklungsstadien transplantiert werden.** Weiterhin können der Integrationsort im Gehirn sowie die Art der pathologischen Veränderungen, die untersucht werden soll, bedeutsam sein. So ist das Großhirn der Ort kognitiver geistiger Fähigkeiten, die unter Umständen durch die Einführung humaner Zellen beeinflusst werden könnten. Weiterhin sollten dissoziierte Zellen und nicht gewebe- oder organähnliche Strukturen in Tierhirne transplantiert werden (Karpowicz et al., 2004, Greene et al., 2005).

Wir müssen uns darüber im klaren sein, dass derzeit kein anderer Versuchsansatz als die Transplantation in geeignete Tiermodelle die Frage beantworten kann, welche Entwicklungsfähigkeit differenzierte Zellerivate oder adulte Stammzellen *in vivo* besitzen.

5.2.1.5 Immunogenität und Transplantatabstoßung

Die Frage der Gewebeverträglichkeit ist eines der Grundprobleme der Transplantationsmedizin. Die Suche nach immunkompatiblen Spenderzellen bei der Behandlung von Immunkrankheiten und akuten Leukämien erfordert große logistische und medizinische Anstrengungen, da in der Regel keine genetisch identischen Spender zur Verfügung stehen und unter Tausenden von allogenen Spendern immunverträgliche Zellen gewonnen werden müssen.

Wenn für die Geweberegeneration Zellen verwendet würden, die von hES-Zellen abstammen, ist dies ebenfalls in der Regel mit einer immunologischen Unverträglichkeit zwischen Spenderzellen und Empfängerorganismus verbunden. Unkontrollierte Immunreaktionen würden zu einer Abstoßung des genetisch „fremden“ Transplantats führen. Obwohl die MHC-I-Expression in hES-Zellen nur gering ist, steigt diese nach Differenzierung *in vitro* oder *in vivo* moderat beziehungsweise nach einer Interferon-Gabe deutlich an. Fehlen die MHC-Moleküle, können die transplantierten Zellen auch durch natürliche Killerzellen abgestoßen werden. Es

wurden daher mehrere Ansätze vorgeschlagen, um die Abstoßung von Transplantaten, die von ES-Zellen abstammen, zu reduzieren oder ganz zu unterbinden:

1. Zur Verringerung von Abstossungsreaktionen auf allogene Transplantate, die von ES-Zellen abstammen, könnte eine **klassische Immunsuppression** eingesetzt werden, wie sie routinemäßig bei Organtransplantationen angewandt wird (Gage, 1998). Leider haben die meisten der heute verwendeten Immunsuppressiva Nebenwirkungen (wie z. B. Infektionen, medikamentenbedingte toxische Schädigungen, maligne Entartung von Hautzellen oder nach der Transplantation auftretende Krankheiten, die mit einer Proliferation von Lymphozyten einhergehen usw.). Man kann jedoch offenbar die immunologische Abstoßung gezielt unterdrücken, wenn mit dem therapeutischen Gewebe gleichzeitig auch hämatopoetische Stammzellen übertragen werden, die aus der ES-Zelllinie desselben Elternteils kommen, oder indem man die Empfänger vorher mit eigenen Stammzellen präimmunisiert, was nach ersten Berichten zu einer langfristigen Akzeptanz von allogenen Transplantaten führte (Faendrich et al., 2002).
2. Eine Alternative zur Immunsuppression wäre es, **die Abstoßungsreaktion vollständig zu verhindern, indem man die dafür verantwortlichen Gene gezielt inaktiviert**. Mit der homologen Rekombination in hES-Zellen ist das Ziel, genetisch modifizierte ES-Zellen für eine Transplantation herstellen zu können, näher gerückt (Zwaka and Thomson, 2003). Eine Möglichkeit bestünde, in hES-Zellen die Genexpression des Histokompatibilitätskomplexes I (MHC-I) zu inaktivieren, wodurch so genannte „universelle“ Donorzellen entstünden, die für alle Patienten geeignet wären. Bei einem Versuch mit mES-Zellen konnten die MHC-Klasse-I und -II-Moleküle bereits mittels homologer Rekombination ausgeschaltet werden. Jedoch lassen sich die Folgen eines solch massiven Gen-Targetings nur schwer abschätzen. Darüber hinaus bedeutet der Verlust der MHC-Klasse-I und -II-Moleküle nicht zwangsläufig, dass keine Gewebeabstoßung eintritt, da es auch zu einer indirekten Abstoßung, die über die Allogen-Erkennung vermittelt wird, und/oder zu einem durch natürliche Killerzellen vermittelten Zellabbau kommen kann.
3. Eine weitere Option basiert darauf, **HLA-isotypisierte und/oder genetisch veränderte hES-Zelllinien zu erzeugen und in genügender Anzahl in einer Zellbank zu lagern**. Als Spender

für einen genetisch fremden Empfänger kommen nur Menschen mit ähnlichen HLA-Molekülen in Frage. Das würde praktisch bedeuten, dass man die allogene Verträglichkeit von hES-Zellprodukten jeweils bestimmen muss. Im Prinzip könnte man Stammzellbanken von ES-Zellen mit bekanntem HLA-Hintergrund anlegen. Schätzungen, die auf den Daten von Organtransplantationen beruhen, postulieren, dass dafür mindestens 200 – nach anderen Angaben jedoch etwa 2 000 – hES-Zelllinien benötigt würden, die von unabhängigen HLA-Subtypen abstammen. Weil dafür viele reine ES-Zellpopulationen mit definierten HLA-Molekülen isoliert werden müssten, wäre das ein enormer Arbeitsaufwand. Erschwert wird diese Möglichkeit weiterhin durch die gegenwärtige Gesetzeslage, die in vielen Ländern die Etablierung von „neuen“ hES-Zelllinien definitiv untersagt, beziehungsweise nur (z. B. in den USA) von privaten Institutionen erlaubt.

4. Die vierte generelle Möglichkeit beruht darauf, dass durch den Prozess des **somatischen Zellkerntransfers** („therapeutisches Klonen“, Kapitel 4.4.2) oder durch alternative Verfahren **autologe Spenderzellen hergestellt** würden. Beim „therapeutischen“ Klonen werden Kerne von somatischen Zellen des Patienten in entkernte menschliche Eizellen übertragen, die dann bis zum Blastozysten-Stadium *in vitro* kultiviert werden. Aus diesen Zellen ließen sich hES-Zelllinien gewinnen, die dann in den gewünschten Zelltyp differenziert werden. Solche Zellen sollten immunologisch verträglich sein, weil sie bis auf das Mitochondriengenom dieselbe genetische Information aufweisen wie der Patient, dem die Körperzellen entnommen wurden. Auf Grund der derzeitigen Verwendung menschlicher Eizellen zur Herstellung autologer Spenderzellen ist dieses Verfahren jedoch aus ethischer und rechtlicher Sicht problematisch (Kapitel 4.4.2, 6 und 7).

5.2.2 Zelltherapie-Strategien

In den vorangegangenen Kapiteln wurden die molekular- und zellbiologischen Grundlagen behandelt, die die Basis für Zelltherapie-Strategien mit embryonalen und adulten Stammzellen darstellen. Auf Grund ihrer unterschiedlichen Eigenschaften müssen für beide Zellsysteme verschiedene Therapie-Verfahren erarbeitet werden: Neben den Kultursystemen zur Stammzellendifferenzierung kommen Tiermodelle zum Einsatz, um die regenerative Fähigkeit von Stammzellen zu analysieren. Darüberhinaus wird das regenerative Potential einiger adulter

Stammzellen bereits in klinischen Studien am Menschen untersucht. Prinzipiell können folgende Stammzell-basierte Therapie-Strategien zum Einsatz kommen:

1. **Stammzellen werden direkt in Patienten übertragen.** Dabei können (adulte) Stamm- oder Vorläuferzellen lokal oder systemisch verabreicht werden, sodass sich die Zellen unter dem Einfluss von gewebespezifischen Faktoren an den „richtigen“ Stellen im Körper ansiedeln und in die gewünschten Zelltypen entwickeln („homing“). Bei diesem Vorgehen sind ES-Zellen wegen der Gefahr der Tumorbildung (Kapitel 5.2.1.2) ungeeignet, es sei denn man isoliert vorher solche Vorläuferzellen, die ausschließlich Marker adulter Zellen ausprägen (Abbildung 14).
2. **Es werden differenzierte Zellen transplantiert,** die sowohl aus hES-Zellen als auch aus adulten Stammzellen gewonnen werden können. Hierbei werden die Stammzellen *in vitro* kultiviert, differenziert und selektiert, bevor sie in das Zielorgan transplantiert werden. Wie bereits erwähnt (Kapitel 5.2.1.1), muss sichergestellt sein, dass keine genetischen oder epigenetischen Veränderungen stattgefunden haben, die die Funktion der Zellen negativ beeinflussen. Die Methode hat den Vorteil, dass man ein Transplantat reiner definierter Zellpopulationen herstellen kann. Nachteil dieser Strategie ist die Gewebeabstossung bei der Verwendung von Spenderzellen aus genetisch „fremden“ hES-Zellen.
3. **„Tissue engineering“ mit Stammzellen** eröffnet zahlreiche Möglichkeiten, aus Stammzellen abgeleitete Zellen in dreidimensionalen Strukturen zu organisieren und in das geschädigte Organ zu transplantieren, um somit Gewebeschädigung oder -verlust zu behandeln. Beim Gewebe-Engineering werden biologisch abbaubare Gerüstsubstanzen oder neuartige Biomaterialien in dreidimensionale Strukturen entwickelt, die mit Stammzellen beziehungsweise deren Abkömmlingen besiedelt werden. Nach histotypischer Kultur werden diese Gewebesubstitute in das geschädigte Organ verpflanzt. Dieses Prinzip wird bereits klinisch zur Behandlung von Hautschäden, oder Knochen- und Knorpel-Defekten eingesetzt. „Tissue engineering“ ist ein eigenes Fachgebiet mit großer wirtschaftlicher Bedeutung. Der Einsatz in der regenerativen Medizin wird jedoch in entscheidendem Maße davon abhängen, inwieweit es gelingen wird, eine geeignete Menge von Zellen

kontrolliert zu vermehren und für das „Tissue engineering“ bereit zu stellen (weiterführende Information: Übersichtsartikel von Vacanti and Langer, 1999, Langer, 2000, Holmes, 2002, Fodor, 2003).

4. **Die Stimulation der regenerativen Fähigkeit endogener Stammzellen** durch geeignete Faktoren stellt die ideale Therapiestrategie dar. Sie basiert auf der Möglichkeit, direkt im Körper des Patienten einen Regenerationsprozess auszulösen oder zu verstärken, indem die eigenen Stammzellen durch Zugabe von Zellen oder von diesen abgegebenen Faktoren stimuliert werden. Welche der beiden therapeutischen Ansätze – die unmittelbare direkte Aktivierung der endogenen Stammzellen oder die indirekte Freisetzung von Faktoren durch transplantierte Stammzellen – letztendlich für die Regeneration wichtiger beziehungsweise zutreffender sind, kann derzeit noch nicht beantwortet werden. Allerdings sprechen einige Befunde der Stammzelltransplantation nach Herzinfarkt für die Auslösung indirekter Regenerationsmechanismen.

Für zelltherapeutische Anwendungen beim Menschen wurden bisher ausschließlich adulte Stammzellen von geeigneten Spendern verwendet. Ein Beispiel sind Knochenmarktransplantationen, die nach der Zerstörung der eigenen Knochenmarkzellen (myeloablative Therapie) zur Behandlung von Leukämien eingesetzt werden.⁴

Zellen, die von murinen oder humanen ES-Zellen abstammen, wurden in verschiedenen Tiermodellen menschlicher Krankheiten analysiert. Im Folgenden werden exemplarisch an den drei Krankheitsbildern Herzinfarkt, Morbus Parkinson und Diabetes potenzielle Strategien von Stammzelltherapien vorgestellt und diskutiert.

5.2.2.1 Stammzellen zum Ersatz von Herzzellen

Herz-Kreislaufkrankheiten, wie Atherosklerose, Bluthochdruck, Herzinfarkt und schließlich Herzversagen gehören zu den wesentlichen Krankheits- und Todesursachen in den westlichen Industrienationen. Für Herztransplantationen stehen transplantierbare Organe nicht in ausreichender Anzahl zur Verfügung (z. B. in den USA nur 5 Prozent). Therapien mit Stammzellen könnten für bestimmte Behandlungsstrategien nach Herzinfarkt eingesetzt werden.

4 Auf diese etablierten Therapien wird hier jedoch nicht eingegangen.

Abbildung 14: Zelltherapie-Strategien mit humanen ES-Zellen

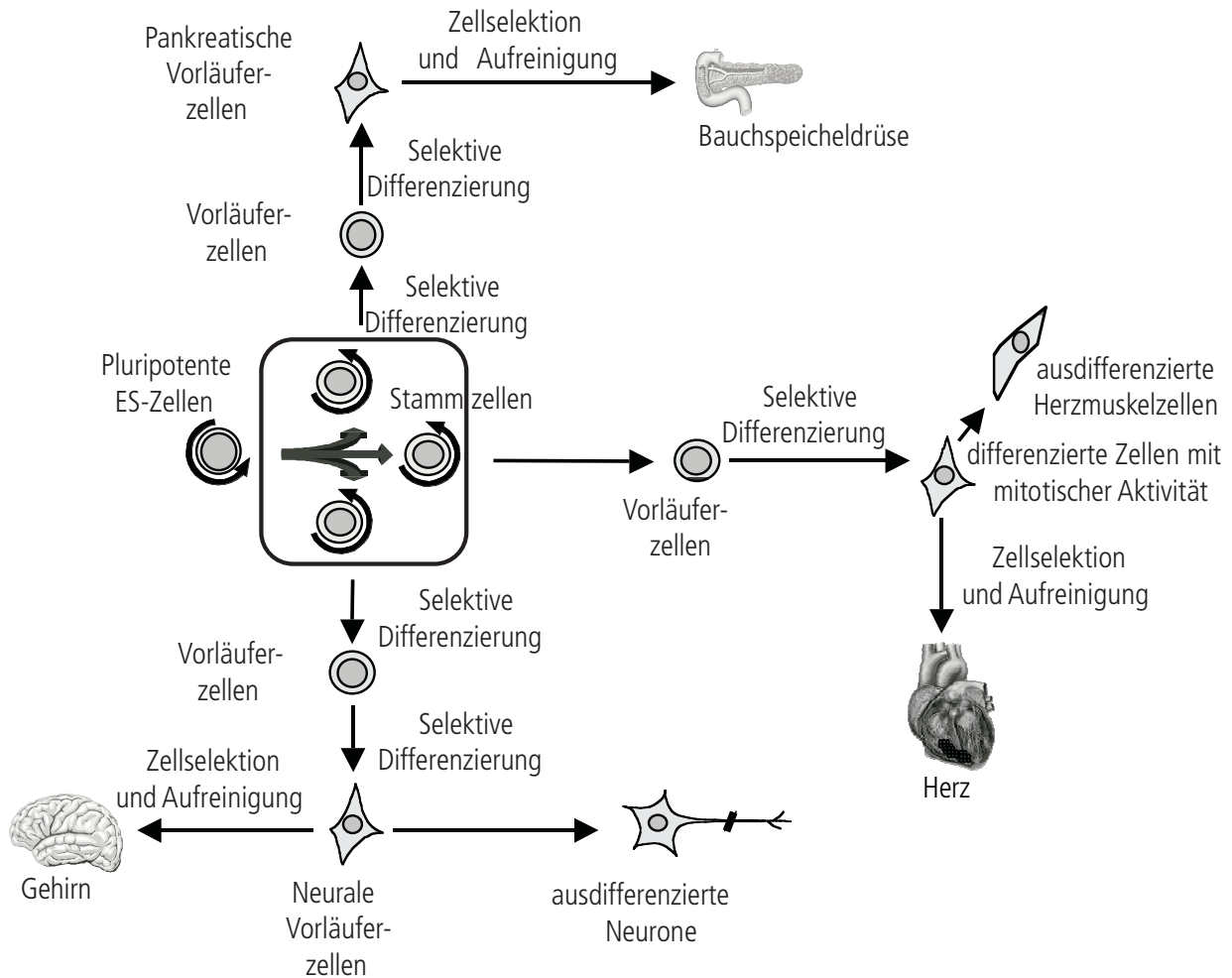


Abbildung 14: Zelltherapie-Strategien mit humanen ES-Zellen. Pluripotente ES-Zellen können *in vitro* nahezu unbegrenzt vermehrt werden. Dies ist die Voraussetzung, um genügend Ausgangsmaterial für die Entwicklung von spezialisierten Zellen bereit zu stellen. Nach der Differenzierung in die gewünschte Linie und Selektion von Vorläuferzellen der spezifischen Gewebe müssen die Zellen selektiert und aufgereinigt werden. Die Reifung in funktionelle Zelltypen findet entweder *in vitro* oder nach Transplantation in das geschädigte Gewebe *in vivo* statt (nach Wobus and Boheler, 2005).

Der Ausfall der Herzfunktion bei Herzinfarkt führt zu einem Verlust von kontrahierenden Kardiomyozyten, die die Pumpfunktion im Herzen ausführen. Das erwachsene Herz enthält keine leicht isolierbare Stammzellfraktion wie das Blutsystem. Es ist bekannt, dass die Regenerationsfähigkeit von Kardiomyozyten im erwachsenen Herzen begrenzt ist, obwohl in der Nähe von Infarktherden ein geringer Prozentsatz (4 Prozent) proliferierender Zellen

nachgewiesen wurde. Berechnungen haben jedoch ergeben, dass die Funktionsfähigkeit des Herzens ohne konstante Erneuerung von Kardiomyozyten innerhalb von fünf Monaten beendet wäre. Das heisst, auch im erwachsenen Herzen müssen Zellen mit Stammzeleigenschaften vorhanden sein.

Die geringe regenerative Fähigkeit des Myokards ist jedoch in keiner Weise ausreichend, um die große Anzahl von Herzzellen zu ersetzen, die bei Infarktprozessen absterben. So sind verschiedene Strategien vorstellbar und zum Teil bereits in ersten klinischen Studien erprobt, um verloren gegangene Herzzellen zu ersetzen oder die Neubildung von Herzzellen zu induzieren:

1. **Die Reaktivierung der Zellzyklusaktivität** von Herzzellen durch Aufhebung der Zellzykluskontrolle und Aktivierung des Zellzyklus: So führte die Expression von Cyclin C2 in Kardiomyozyten zur Aktivierung der DNA-Synthese in Herzzellen und zu einer Verbesserung der Pumpfunktion nach induziertem Infarkt in Mäusen (rev. Pasumarthi et al., 2005).
2. **Die Reaktivierung der endogenen Stammzellaktivität** durch Mobilisierung von kardiomyogenen Stammzellen: In verschiedenen Studien an Laborsäugetieren und am Menschen wurden im Herzen Zellen identifiziert, die Stammzellmarker ausprägen, zum Beispiel c-Kit+, Sca-1+ und MDR1+ Zellen in Mäusen (Anversa and Nadal-Ginard, 2002) oder c-Kit+ (Lin-, CD45-, CD34-) Zellen in Ratten (Beltrami et al., 2003). Kürzlich wurden kardiale Vorläuferzellen aus dem murinen und humanen Herzen kurz nach der Geburt isoliert, die durch die Expression des Transkriptionsfaktors Islet-1 (Isl-1), jedoch nicht durch die Anwesenheit von Sca-1 oder c-Kit charakterisiert sind (Laugwitz et al., 2005). Diese Zellen konnten *in vitro* vermehrt und in kontrahierende Kardiomyozyten differenziert werden. Die genaue Identität dieser verschiedenen kardialen „Stammzell“-Typen ist jedoch noch unklar.
3. **Die Transplantation von Kardiomyozyten, die aus Stammzellen entwickelt wurden oder von Zellen mit kardiogenem Entwicklungspotential:** Hierzu zählen Skelettmuskelzellen und Knochenmarkstammzellen (HSCs, MSCs, EPCs), mesenchymale Stammzellen aus Fettgewebe, und Kardiomyozyten, die potentiell aus hES-Zellen gewonnen werden können (Reviews von Laflamme and Murry, 2005, Dimmeler et al., 2005, Lemoli et al., 2005).

a) Transplantation von Skelettmuskelzellen

Zahlreiche Tierversuche hatten gezeigt, dass sich Skelettmuskelzellen nach Transplantation in das geschädigte Myokard integrieren, über längere Zeiträume überleben und zu einer funktionellen Verbesserung der Herzfunktion in Tierversuchen beitragen können. In ersten klinischen (Phase 1) Studien mit autologen Skelettmuskelzellen zeigte sich jedoch, dass die Skelettmuskelzellen zwar in der Infarktregion nachweisbar waren, dass jedoch bei einigen Patienten Arrhythmien auftraten (Menasche et al., 2001). Derzeit kann noch kein Urteil über die Effizienz dieser Methode abgegeben werden. Weitere klinische Studien sind geplant.

b) Transplantation von Knochenmarkstammzellen

Basierend auf den Ergebnissen der ersten Tierversuche (Ferrari et al., 1998) wurde Stammzellen des Knochenmarks eine regenerative Fähigkeit zugesprochen. In zahlreichen Folgestudien zeigte sich jedoch, dass hämatopoetische Stammzellen in erster Linie das koronare Endothel besiedelten, während die endogenen Kardiomyozyten mit den transplantierten Knochenmarkzellen fusionierten. Ohne Schädigung des Myokards bildeten sich offenbar nach Transplantation von Knochenmarkzellen sowohl bei Maus als auch beim Menschen vorwiegend Hybridzellen aus Stammzellen und Herzzellen (Alvarez-Dolado et al., 2003). Anversa und Mitarbeiter transplantierten EGFP-markierte HSC in Mäuse mit akutem Myokard-Infarkt und fanden eine Kolokalisation der EGFP⁺ Zellen mit Kardiomyozyten-spezifischen Markern. Daraus leiteten sie den Nachweis der Regeneration von Herzzellen durch Knochenmarkzellen ab. Allerdings zeigten die EGFP⁺-markierten Zellen nicht die Morphologie „normaler“ Kardiomyozyten: die Zellen waren rund, klein oder spindelförmig, und hatten keine Sarkomere. Dagegen konnte mit physiologischen Messungen eine Verbesserung der herzspezifischen Funktionen nachgewiesen werden. Andere Laboratorien konnten diese Beobachtungen nicht reproduzieren, das heißt, es wurden fast immer Fusionen von Kardiomyozyten mit HSCs beobachtet. Mit einer weniger aufgereinigten Zellpopulation von Knochenmark-Stammzellen wurden jedoch die ursprünglichen Ergebnisse der Regeneration von Infarktgewebe durch die Anversa-Gruppe bestätigt (Kajstura et al., 2005). Auch eine andere Studie, bei der von einer nicht-hämatopoetischen Knochenmarkfraktion ausgegangen wurde, konnte kürzlich die Ergebnisse der Anversa-Gruppe bestätigen (Yoon et al., 2005).

Diese ersten positiven Effekte von Knochenmarkstammzellen auf kardiale Regenerationsprozesse haben unmittelbar klinische (Phase 1) Studien am Menschen ausgelöst. Mononukleäre Knochenmarkszellen wurden Patienten mit akutem Myokardinfarkt in die Koronararterie injiziert, oder über Herzkatheter in Patienten mit chronischer Ischämie und Infarkt appliziert. Die meisten Studien zeigten eine Verbesserung der kontraktilen Funktion der Herzzellen des Myokards. Kürzlich sind zwei randomisierte kontrollierte Studien (Wollert et al., 2004 und Chen et al., 2004) mit Kontroll-Gruppen nach „sham“-Transplantation publiziert worden, wobei klinisch in den meisten Fällen eine Verbesserung der Herzfunktion beobachtet wurde. Eine dritte („Doppel-blind“ randomisierte und Placebo-kontrollierte) klinische Studie in Belgien ergab dagegen nur geringe therapeutische Effekte, sodass weitere Ergebnisse abgewartet werden müssen.

Eine im November 2005 vorgestellte randomisierte, „Doppel-blind“ und Placebo-kontrollierte Multizentren-Studie „REPAIR-AMI“ („randomized, double-blind, placebo-controlled multicenter trial“) durchgeführt in deutschen und Schweizer Kliniken ergab dagegen einen signifikant positiven Effekt auf die Herzfunktion nach Infarkt (Verbesserung der Pumpfunktion des Herzens, Neovaskularisierung). Insgesamt nahmen 204 Patienten (n=103 Patienten der Placebogruppe, n=101 Patienten nach Transplantation mononukleärer Knochenmarkstammzellen) an der Studie teil (Schächinger et al., 2005). Dagegen konnte eine parallele Studie aus Norwegen keinen positiven Effekt nachweisen.

Ein zugrunde liegender Mechanismus der möglichen kardialen Regeneration durch Knochenmarkstammzellen ist derzeit noch nicht bekannt. Es muss aber davon ausgegangen werden, dass unter anderem die Isolierungsbedingungen, die spezifische Vorbehandlung der Zellen sowie Zeitpunkt und Art der Applikation den Erfolg der Transplantationen entscheidend mitbestimmen.

c) Transplantation endothelialer Vorläuferzellen

Im Blut zirkulieren endotheliale Vorläuferzellen (EPCs), die isoliert und *in vitro* vermehrt werden und Neovaskularisierung (Gefäßneubildung) in ischämischen Tiermodellen induzieren können. EPCs können mit Wachstumsfaktoren (VEGF, SDF-1) und Zytokinen (G-CSF, GM-CSF, EPO u. a.) mobilisiert werden und sich in Geweben integrieren („homing“). Diese Eigenschaften von EPCs sind seit 1997 bekannt (Asahara et al., 1997).

Es wurde gezeigt, dass (mit G-CSF-mobilisierte) CD34+ Zellen des Menschen nach intravenöser Transplantation in Ratten zwei Tage nach Auslösung eines Herzinfarkts zur Gefäßneubildung in der Infarktregion führten und die Myokardfunktion signifikant verbesserten, während CD34- negative Zellen keinen Einfluss hatten (Kocher et al., 2001). **Aus diesen Daten wurden zwei verschiedene potenzielle Wirkungsmechanismen abgeleitet:**

1. **aus den CD34+ Zellen entwickeln sich direkt neue vaskuläre Endothelzellen, wodurch die Durchblutung erhöht und der ischämische Prozess unterbunden wird, und/oder**
2. **die CD34+ Zellen produzieren parakrine Faktoren, die – unabhängig von einer Integration der Zellen in die Infarktregion – die Blutzirkulation erhöhen und dadurch indirekt zu einer Verbesserung des klinischen Befundes beitragen.** Es wurde gezeigt, dass auch andere Zellen, wie zum Beispiel Stromazellen des Knochenmarks, solche Gefäß-bildenden Zytokine abgeben.

d) Endogene Zytokin-Mobilisierung

Die Beobachtung, dass endogene Knochenmark-Stamm- oder Vorläuferzellen Infarktprozesse heilen oder teilweise beheben können, initiierte zahlreiche Tierversuche, wobei die Zellen durch die Gabe von Zytokinen, insbesondere G-CSF (Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor), im Organismus mobilisiert wurden. Allerdings wurde beobachtet, dass durch G-CSF fast ausschließlich Granulozyten und Monozyten mobilisiert werden. In einem Kaninchen-Modell wurde gezeigt, dass die G-CSF-induzierte Mobilisierung die Einwanderung von Makrophagen in die Infarktregion erhöhte, wodurch die Infarktregion reduziert und ein positiver Effekt auf die Herzfunktion erzielt wurde. Eine kürzlich publizierte Studie postulierte einen anderen indirekten Wirkungsmechanismus: Die Autoren wiesen nach, dass Kardiomyozyten G-CSF-Rezeptoren exprimieren und eine G-CSF-Behandlung die Herzzellen vor Zelltod durch reaktive Sauerstoffradikale schützt (Harada et al., 2005).

Derzeit scheint sicher, dass G-CSF Behandlung die Reparatur des infarktgeschädigten Myokards positiv beeinflussen kann. Jedoch sind offenbar keine direkten Herzzell-Neubildungen, sondern zytoprotektive und/oder anti-inflammatorisch wirkende Mechanismen beteiligt. Trotz der noch bestehenden Unklarheiten bezüglich des Wirkungs-

mechanismus wurden erste klinische Studien in Europa und den USA begonnen. Eine abschließende Wertung der Effizienz dieser Methode kann derzeit noch nicht vorgenommen werden, zumal erste klinische Daten auch widersprüchliche Ergebnisse zeigten.

e) Transplantation mesenchymaler Stammzellen (MSCs)

MSCs sind in der Lage, in mesenchymale Zellerivate (Knorpel, Knochen, Sehnen, Fett, Skelettmuskel) zu differenzieren. Eine direkte Entwicklung in Kardiomyozyten galt als unwahrscheinlich, bis Versuche bekannt wurden, die eine Herzzelldifferenzierung aus MSCs postulierten und gezeigt wurde, dass die Injektion von MSCs in das Infarkt-geschädigte Herz die Herzfunktion verbesserte (Laflamme and Murry, 2005). Kritische Überprüfungen mit markierten MSCs ergaben jedoch, dass die Zellen weder in Kardiomyozyten differenziert waren, noch elektromechanische Kopplungen zwischen injizierten Zellen und Wirtszellen beobachtet wurden und möglicherweise vorwiegend Fusionen stattfanden. Tatsächlich konnte nachgewiesen werden, dass sich MSCs in die Infarktregion integrierten und (in parallelen Studien) zu einer Verbesserung der Infarktsituation beitrugen.

Darüberhinaus ist bekannt, dass MSCs über immunsuppressive Eigenschaften verfügen, das heißt, dass Zellen gewebefremder Spender wenig immunogen sind, sodass allogene Transplantationen möglich werden. Obwohl auch hier der genaue Wirkungsmechanismus der kardialen Regeneration noch nicht bekannt ist, wurde eine klinische (Phase 1) Studie an der Johns Hopkins University in Baltimore (MA) mit der Firma Osiris Therapeutics mit allogenen MSCs bei Patienten mit akutem Infarkt begonnen.

Die bisherigen Ergebnisse der Transplantationen von Stammzellen des Knochenmarks in das infarktgeschädigte Herz lassen sich in folgender Weise zusammenfassen:

1. Nach Übertragung von Knochenmarkstammzellen in das Herz finden vorwiegend Fusionen mit den Wirtszellen statt, die eine Entwicklung von Knochenmarkstammzellen in Kardiomyozyten vortäuschen.
2. Eine direkte Umwandlung („Transdifferenzierung“) von HSC und MSC in Kardiomyozyten tritt, wenn überhaupt, nur äußerst selten auf. Die teilweise Verbesserung

der klinischen Symptome kann definitiv nicht auf die Anwesenheit der wenigen nachgewiesenen Knochenmarkszellen im Myokard zurück geführt werden.

3. Eine Neubildung von Gefäßendothelzellen wird nach Transplantation von allen Knochenmarkstammzellen, insbesondere von EPCs, beobachtet. Es ist jedoch noch nicht bekannt, ob die Neubildung von vaskulären Endothelzellen durch Knochenmarkstammzellen direkt, oder – über die Sekretion von Zytokinen und Wachstumsfaktoren – indirekt induziert wird.

Zukünftige Forschungsarbeiten sollten vorrangig darauf gerichtet sein, die Wirkungsmechanismen und Prozesse aufzuklären, die bei der kardialen Regeneration von humanen Knochenmarkstammzellen beteiligt sind und dabei Tiermodelle höherer Säuger (Hund, Schwein) einbeziehen.

f) Transplantation von Kardiomyozyten, die aus ES-Zellen entwickelt wurden

Wie bereits beschrieben (Kapitel 4.3.2), ist die Differenzierung von murinen und humanen ES-Zellen in funktionelle Herzzellen, die alle Zelltypen des Myokards repräsentieren, seit langem bekannt und, zumindest für ES-Zellen der Maus, inzwischen Standardtechnik (Wobus and Boheler, 2005). Mit Hilfe herzspezifischer Promotoren aus sich differenzierenden mES-Zellen konnten Herzmuskelzellen selektiert werden, die im Tierversuch auf ihre therapeutische Wirkung analysiert wurden: In dieser Studie wurden differenzierte aufgereinigte (99,6 Prozent reine Population) Herzmuskelzellen in das ventrikuläre Myokard adulter dystrophischer (mdx) Mäuse injiziert. Die Zellen waren noch sieben Wochen nach der Implantation im Herz nachweisbar, ohne Tumoren zu bilden (Klug et al., 1996). In einer weiteren Studie wurde berichtet, dass der Herzmuskel von Ratten nach einem Herzinfarkt seine Funktion besser erfüllen konnte, wenn den Tieren aus ES-Zellen stammende kontrahierende Kardiomyozyten transplantiert worden waren. Die implantierten Herzmuskelzellen exprimierten die charakteristischen Sarkomerproteine, zeigten die typische Morphologie und Querstreifung, sodass man davon ausgehen konnte, dass sie sich zu reifen Herzmuskelzellen entwickelt hatten (Min et al., 2002). Aus diesen und weiteren Studien an Versuchstieren ging hervor, dass mit Hilfe kardialer Promotoren (α -MHC, Nkx2.5, MLC-

2v) und Reporterexpression gefolgt von FACS-Selektion Herzzellen in hoher Effektivität gewonnen werden können. Nach Transplantation der Herzmuskelzellen gingen diese einen normalen Zellverbund mit den endogenen Herzzellen ein und verbesserten die Funktion des Infarkt-geschädigten Myokards.

Die Entwicklung von Herzzellen aus humanen ES-Zellen ist derzeit noch weniger effizient, was zum Teil an der Heterogenität der Linien und den unterschiedlichen Kulturbedingungen liegen kann. Interessanterweise zeigen Kardiomyozyten aus hES-Zellen (im Unterschied zu solchen aus mES-Zellen) eine höhere Proliferation *in vitro* und nach Transplantation *in vivo*. Derzeit sind Ergebnisse von drei *in vivo* Studien an Versuchstieren mit Kardiomyozyten aus hES-Zellen bekannt (Kehat et al., 2004, Xue et al., 2005, Laflamme and Murry, 2005). Die transplantierten Kardiomyozyten nahmen in der Regel an Zahl zu, zeigten charakteristische Sarkomerproteine und elektromechanische Kopplung mit den Herzzellen des Wirtstiers. Zukünftige Versuche müssen zeigen, in welcher Weise die transplantierten Herzzellen die Schrittmacher-Aktivität unter den Bedingungen des Infarkts langfristig erfüllen (ohne Arrhythmien zu entwickeln).

Grundsätzlich bestätigen diese Ergebnisse jedoch, dass Herzmuskelzellen, die von ES-Zellen abstammen, zur Therapie von Herzkrankheiten genutzt werden könnten. Ein Einsatz humaner ES-Zellen für die Regeneration des Infarkt-geschädigten Herzens beim Menschen setzt allerdings die Entwicklung von 100 Prozent reinen und stabilen kardialen Zelltransplantaten voraus (Kapitel 5.2.1.2 und 5.2.1.3).

Aus hES-Zellen wurden ebenfalls endotheliale Zellen entwickelt. Während der Differenzierung wurden Transkripte gefunden, die für Endothelzellen charakteristisch sind, darunter GATA-2, PECAM1, Flk1 sowie VE-Cadherin. Nach enzymatischer Dissoziation des Zellverbands isolierte man mit Hilfe von PECAM1-spezifischen Antikörpern Endothelzellen. Die isolierten PECAM1+ Zellen wurden auf stark poröse, biologisch abbaubare PLLA/PLGA-Polymerstrukturen aufgebracht und diese Schwämme dann SCID-Mäusen unter die Haut implantiert (Levenberg et al., 2002). Aus diesen Zellen entwickelten sich nach Weiterdifferenzierung in immundefekten SCID-Mäusen, sowie nach *in vitro*-Differenzierung in Matrigel, Mikrogefäße. ES-Zellen von Rhesusaffen differenzierten sich in ähnlicher Weise zu Endothelzellen und bildeten, wenn man sie in Matrigel überführte oder subkutan in Mäuse transplantierte, intakte Gefäße (Kaufman et al., 2003).

5.2.2.2 Stammzellen zum Ersatz von Nervenzellfunktionen bei Morbus Parkinson

Für die Behandlung neurodegenerativer Erkrankungen sind große Erwartungen an das regenerative Potenzial von Stammzellen geknüpft. Am Beispiel des Morbus Parkinson („Schüttellähmung“) sollen Möglichkeiten Stammzell-basierter Behandlungen erörtert werden. Morbus Parkinson ist charakterisiert durch den zunehmenden Verlust Dopamin-produzierender (DA) Neurone in der Substantia nigra des Mittelhirns. Da die Fortsätze dieser Neurone in das Striatum reichen, kommt es hier zu einem signifikanten Abfall der Dopamin-Konzentration. Die zelltherapeutischen Anstrengungen sind nun darauf gerichtet, die dopaminergen (DA) Neurone zu ersetzen, oder eine Neubildung direkt oder indirekt anzuregen.

Wie in den Kapiteln 4.3.1 und 4.5.4 bereits ausgeführt, können sowohl embryonale als auch fetale beziehungsweise adulte neurale Stammzellen funktionelle Nervenzellen bilden. Zur Behandlung von Patienten mit Morbus Parkinson haben fetale allogene Stammzellen bereits Eingang in klinische Studien am Patienten gefunden, desweiteren wird intensiv an der Entwicklung Dopamin-produzierender Neurone aus ES-Zellen gearbeitet.

Xenogene neurale Zellquellen, zum Beispiel aus Schwein, haben dagegen wegen des potentiellen Risikos der Kontamination mit endogenen Retroviren („porcine endogenous retrovirus“, PERV) und der lebenslangen Immunsuppression langfristig keine therapeutische Bedeutung. Allerdings wurden bereits einige Morbus Parkinson Patienten mit embryonalen Neuronen aus Schweinehirn behandelt, Studien, die aus Sicherheitsgründen nicht weitergeführt wurden (Paul, 2005).

1. Therapie von Morbus Parkinson mit fetalen oder adulten Neuronen des Mittelhirns

Zahlreiche Studien an Tiermodellen hatten in den 1970er und 1980er Jahren nachgewiesen, dass neurale Zellen des Mittelhirns aus Embryonen oder Feten isoliert, in geeigneter Weise transplantiert werden und die experimentell erzeugten Symptome des Morbus Parkinson verbessern konnten. Die transplantierten Zellen überlebten, zeigten keine Immunreaktionen, und bildeten synaptische Verbindungen mit den Neuronen des Striatums (Übersichten Bjorklund and Lindvall, 2000; Paul, 2005).

Diese ermutigenden Ergebnisse im Tierversuch initiierten bereits in den 1980er Jahren die ersten offenen klinischen Studien („open-labeled trials“) mit fetalen Mittelhirn-Neuronen bei Patienten mit Morbus Parkinson. Weltweit sind inzwischen über 400 Patienten in solchen

unkontrollierten Studien (ohne Placebo-Transplantation) behandelt worden. Die Ergebnisse zeigten, dass sich embryonale Mittelhirn-Neurone nach Transplantation in das erwachsene Gehirn integrierten, Dopamin produzierten und über lange Zeiträume (z. T. bis zu zehn Jahren) funktionell aktiv waren. Symptomatische Verbesserungen wurden in 30 bis 50 Prozent der Patienten erzielt. Darauf aufbauend wurden zwei klinische Studien unter kontrollierten Bedingungen durch die National Institutes of Health (NIH) initiiert [Denver/New York „Surgical trial“ (Freed et al., 2001) und Tampa/Mount Sinai „Surgical trial“ (Olanow et al., 2003)]. Bei diesen operativen Behandlungen wurden jeweils einer Gruppe (19 bzw. 23 Patienten) fetale Mittelhirn-Neurone transplantiert, während an einer Kontrollgruppe von jeweils 21 beziehungsweise elf Parkinson-Patienten „Sham“-Operationen (ohne Zellgabe) durchgeführt wurden. Die Ergebnisse waren trotz teilweise ermutigender Resultate insgesamt enttäuschend. In der Denver/New York-Studie wurden die Nervenzellen zunächst einige Tage *in vitro* kultiviert und ohne Immunsuppression übertragen. Ein Jahr nach der Transplantation wurde keine Verbesserung in der Kontroll („Sham“)-Gruppe beobachtet, während einige – meist jüngere Patienten – von der Zelltherapie profitierten. Bei einigen (15 Prozent) der transplantierten Patienten entwickelte sich jedoch ein bis drei Jahre nach dem Eingriff eine anhaltende motorische Fehlfunktion („Dyskinesie“) (Freed et al., 2001). In der Tampa/Mount Sinai-Studie wurde diese Störung ebenfalls beobachtet, das heißt, der therapeutische Effekt der Transplantation von fetalen Neuronen in das Mittelhirn vom Morbus Parkinson Patienten war ungenügend und entsprach nicht den Erwartungen, die aus früheren Tierversuchen begründet waren. Als Gründe für die fehlende Effizienz wurde die Heterogenität und Variabilität der fetalen Spenderzellen, sowie fehlende Immunsuppression herangezogen. Als Ursache für die Dyskinesien wurde eine Überproduktion von Dopamin verantwortlich gemacht. Dennoch gab diese Studie wichtige Aufschlüsse darüber, inwieweit transplantierte dopaminerge Neuronen im menschlichen Gehirn überleben und ihre Funktion erfüllen können.

2. Dopaminerge Neurone entwickelt aus ES-Zellen

Brüstle und Mitarbeiter konnten erstmals zeigen, dass aus ES-Zellen abgeleitete Nervenzellen nach Transplantation in ein sich entwickelndes Gehirn überleben, auf Signale aus ihrer Umgebung reagieren und in gewissem Umfang eine regionenspezifische Differenzierung durchlaufen können (Brüstle et al., 1997). In einer weiteren Untersuchung zeigten die Autoren,

dass Vorläufer von Oligodendrozyten und Astrozyten nach Transplantation in ein Rattenmodell der Pelizaeus-Merzbacher-Krankheit des Menschen (bei der die Myelinscheide der Nervenzellen zerfällt) mit den Neuronen des Wirts interagieren und im Gehirn und Rückenmark die Axone mit Myelin umhüllen (Brüstle et al., 1999). Die erneute Myelinisierung der Axone führte bei den Tieren zu einer Rückbildung des pathologischen Erscheinungsbildes.

In weiteren Studien wurde gezeigt, dass ES-Zellen von Maus, nicht-menschlichen Primaten und Mensch auch in dopaminerge (DA) Neurone entwickelt werden können. Ko-Kultursysteme mit Stromazellen (PA6 und MS5) und Wachstumsfaktoren (FGF8 oder FGF20, sonic hedgehog) erwiesen sich als geeignete Differenzierungsinduktoren. Nach Transplantation in das Gehirn von Ratten- und Primaten (*Cynomolgus*)-Modellen der Parkinson'schen Krankheit, integrierten die transplantierten Zellen und führten zu einer symptomatischen Verbesserung (Takagi et al., 2005). Allerdings zeigte sich im Primatenversuch, dass 99 Prozent der transplantierten Zellen innerhalb von 14 Tagen abstarben. Die Gründe für die geringe Überlebensrate der injizierten Zellerivate sind noch nicht bekannt. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass die vorselektierte Zellpopulation sich unter dem Einfluss gewebespezifischer Signale nicht nur in dopaminerge (Tyrosinhydroxylase-exprimierenden) Zellen, sondern auch in serotonerge und GABAerge Neurone und Gliazellen entwickelte.

Obwohl in Tierversuchen der prinzipielle Nachweis einer Verbesserung von Symptomen des Morbus Parkinson durch dopaminerge ES-Zellderivate erbracht wurde („proof-of-principle“), wird es noch großer Anstrengungen bedürfen, ehe an eine klinische Anwendung gedacht werden kann. Die Entwicklung von Neuronen, die über lange Zeiträume Tyrosinhydroxylase exprimieren, in das Empfängergewebe ohne Entwicklung von Fremdgewebe integrieren, Dopamin kontrolliert abgeben und zu stabilen symptomatischen Verbesserungen in Tiermodellen führen, ist eine unbedingte Voraussetzung für eine Überführung in die klinische Praxis.

3. Dopaminerge Neurone entwickelt aus adulten Stammzellen

Neurale Stammzellen können aus verschiedenen Regionen des Gehirns, wie dem Hippocampus und der subventrikulären Zone, sowie aus dem Rückenmark isoliert, als Aggregate, so genannte Neurosphären, kultiviert und in Neurone, Astrozyten und Oligodendrozyten differenziert werden (rev. Gage, 2000). Gelingt es, diese neuralen Stamm- oder Vorläuferzellen in Kultur zu vermehren,

klonal zu isolieren, in DA-Neurone zu differenzieren und so zu manipulieren, dass sie als hochreine spezifische neuronale Zellfraktionen gewonnen werden könnten, wären diese Zellen die geeignete Quelle für regenerative Therapien im ZNS. Bisher ist dies jedoch nicht möglich.

DA-Neurone konnten aber auch aus anderen somatischen Geweben gewonnen werden. Besonderes Aufsehen erregten die mesenchymalen multipotenten Vorläuferzellen, MAPCs, aus denen 30 Prozent Tyrosinhydroxylase-exprimierende Neurone *in vitro* gewonnen wurden (Jiang et al., 2002a, Jiang et al., 2002b, Jiang et al., 2003). Eine andere Arbeit beschrieb humane Stroma-Zellen des Knochenmarks, die neuronale Marker ausprägten, darunter circa elf Prozent Tyrosinhydroxylase-positive Neuronen (Hermann et al., 2004). Ob und in welcher Weise solche adulten Stammzellen zu einer Regeneration von verloren gegangenen nigrostriatalen Neuronen für die Behandlung des Morbus Parkinson beitragen können, ist jedoch völlig offen und muss in zukünftigen Studien gezeigt werden.

5.2.2.3 Stammzellen zur Behandlung von Diabetes

Diabetes, eine Insulin-Mangelkrankheit, ist eine der häufigsten Krankheiten der westlichen Industrienationen. Die permanente Erhöhung des Blutzuckerspiegels (Hyperglykämie) bei Patienten aufgrund einer Autoimmunkrankheit (= angeborener Typ1-Diabetes) oder aufgrund der Entwicklung von Insulin-Resistenz (= erworbener Typ 2-Diabetes) hat gravierende gesundheitliche Folgen. So sind trotz medikamentöser Behandlung durch Gabe von Insulin und blutzuckersenkenden Pharmaka häufig die Entwicklung von Retinopathien, Nieren-, Herz- und Gefäßkrankheiten die Folge von Diabetes.

Zur Behandlung des Insulinmangels werden seit den 1970er Jahren Organtransplantationen durchgeführt. Erst seit 1990 – mit Entwicklung des so genannten „Edmonton-Protokolls“ (Shapiro et al., 2000) – konnte mit der Transplantation von Inselzellen nach einem spezifischen Behandlungsregime ein größerer Patientenkreis therapiert werden. Da aber auch bei dieser Inselzell-Transplantation Nebeneffekte nicht ausbleiben und die Menge benötigter Inselzellen bei weitem nicht ausreichen, um alle Patienten zu therapieren, besteht nach wie vor die Notwendigkeit, neue Quellen Insulin-produzierender Zellen zu erschließen.

Verschiedene Strategien der Entwicklung von Insulin-produzierenden Beta-Zellen zur Transplantation sind in ersten Versuchen an Tiermodellen erarbeitet worden (Bonner-Weir and Weir, 2005). Dazu gehören zum Beispiel die Expansion existierender Beta-Zellen, die

Differenzierung von ES-Zellen in Beta-ähnliche Zellen, die Umwandlung von pankreatischen oder nicht-pankreatischen adulten Stamm- oder Vorläuferzellen in Beta-ähnliche Zellen, oder die Regeneration von Beta-Zellen im Pankreas, entweder durch Vermehrung existierender Beta-Zellen oder die Entwicklung von Beta-Zellen aus anderen Zelltypen. Die Methoden sollen im Folgenden kurz vorgestellt werden.

1. Expansion existierender Beta-Zellen in vitro

Während sich Beta-Zellen aus Nagetieren *in vivo* und *in vitro* relativ gut vermehren lassen, ist die regenerative Kapazität von humanen Beta-Zellen wesentlich geringer. In drei Studien wurde jedoch gezeigt, dass humane Inselzellen in Zellkultur vermehrt, dedifferenziert und dann wieder in Beta-Zell-ähnliche Phänotypen differenziert werden können (Bonner-Weir and Weir, 2005). Bei dieser *in vitro* Kultur finden Umwandlungen von epithelialen in mesenchymale Zellen (so genannte „epithelial mesenchymal transitions“) statt. Die kultivierten Zellen exprimieren Nestin und Vimentin, aber ebenso einige Endoderm-spezifische Proteine, wie Amylase, Karbonsäure-Anhydrase II, and Albumin. Die Differenzierung in Beta-ähnliche Zellen wurde mit Wachstumsfaktoren (z. B. Nikotinamid, GLP-1, Exendin-4, Activin A, Betacellulin, HGF) und spezifischen Kulturbedingungen (Aggregation) induziert, jedoch konnten nur sehr geringe Insulin-Mengen erhalten werden (0,01 Prozent der mRNA-Werte von humanen Beta-Zellen).

Ein Problem dieser Kultivierungen ist, dass Kontaminationen durch andere wachsende Zellpopulationen (z. B. duktales Epithel, der exokrinen acinösen Drüsen, von Stroma- und Endothelzellen) nicht ausgeschlossen werden können. Zellelektion und klonale Analyse sind erforderlich, um dieses Problem zu lösen.

2. Differenzierung von ES-Zellen in Beta-Zellen

Wie in Kapitel 4.3.3 ausgeführt, können murine ES-Zellen in funktionstüchtige Insel-ähnliche Zellen entwickelt werden, die in Mausmodellen einen experimentell ausgelösten hohen Blutzuckerspiegel – zumindest kurzfristig – rückgängig machen können (Soria et al., 2000, Blyszczuk et al., 2003, Blyszczuk et al., 2004, Hori et al., 2002, Leon-Quinto et al., 2004). Auch hES-Zellen können in Insulin-produzierende Zellen entwickelt werden, doch ist die Effizienz spontaner Differenzierung sehr gering. Neben dem Einsatz von Wachstumsfaktoren, wie bFGF,

Activin, Nikotinamid, Laminin unter anderem wurden genetische Strategien entwickelt, um die Effizienz der Differenzierung Insulin-produzierender Zellen zu erhöhen. So wurden effiziente Selektionsmethoden („gene trapping“) mit pankreasspezifischen Promotoren (Insulin, Nkx 6.1) oder die konstitutive Expression von pankreatischen Transkriptionsfaktoren (Pax4, Pdx1) erfolgreich eingesetzt (Wobus and Boheler, 2005, Bonner-Weir and Weir, 2005). Wesentlich scheint auch die Glukose-Konzentration im Kulturmedium während der Differenzierungsperiode zu sein, da leicht vorstellbar ist, dass Beta-Zellen sich unter kontinuierlicher Einwirkung sehr hoher Zuckerspiegel nicht „normal“ entwickeln (Ku et al., 2004).

Jedoch sind weitere grundlegende Arbeiten zur Differenzierung von hES-Zellen in Beta-Zellen erforderlich, um die derzeitigen Unzulänglichkeiten, wie die niedrigen Insulinspiegel sowie die potenzielle Tumorbildung in Transplantaten zu überwinden. Auch muss noch gezeigt werden, dass die *in vitro* entwickelten Insulin-produzierenden Zellen im Hinblick auf sekretorische Funktion und Stoffwechselaktivität tatsächlich den Beta-Zellen des Organismus entsprechen und *in vivo* auf eine Erhöhung des Blutglukosespiegels präzise reagieren können. Damit Beta-Zellen ihre gewebespezifische Funktion erfüllen können, sind Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Zelltypen der Langerhans'schen Inseln erforderlich. *In vitro* wäre dies mit histotypischen Kultursystemen zu erreichen, die noch zusätzlich durch die Ko-Kultur mit Endothelzellen unterstützt würden.

3. Entwicklung von pankreatischen adulten Stamm- oder Vorläuferzellen in Beta-Zellen

Dass eine Neubildung von Inselzellen aus pankreatischen Stamm- oder Vorläuferzellen, die im duktalem Epithel lokalisiert sind, im Organismus stattfindet, ist seit langem bekannt. So ist die Anzahl von Inselzellen beispielsweise während der Schwangerschaft erhöht. Aus der Bauchspeicheldrüse der Maus konnten adulte Stamm- oder Vorläuferzellen klonal vermehrt, über FACS isoliert und in Inselzell-Kolonien entwickelt werden. Eine weitere Studie zeigte die klonale Isolierung von Stamm- beziehungsweise Vorläuferzellen aus dem duktalem Epithel, die nach *in vitro*-Kultur Marker von neuralen und pankreatischen Zellen ausprägten. Pankreas-spezifische Proteine wurden allerdings nur in 4–6 Prozent der Zellen nachgewiesen. Inselzell-spezifische Marker (Insulin, Nestin, Ngn3, Beta2/NeuroD und Pax6) waren vorhanden, aber keine Endoderm-Marker (GATA-4, HNF-3b) und Zytokeratine, die für Stammzellen des duktalem Epithels charakteristisch sind (Seaberg et al., 2004).

Im Gegensatz zu den bisherigen Daten postulierte eine andere Studie, dass neue Beta-Zellen nur durch Replikation bereits existierender Beta-Zellen entstehen (Dor et al., 2004). Der Versuchsansatz konnte jedoch einige methodische Unklarheiten nicht ausräumen, sodass dieses Ergebnis kontrovers bleibt und noch einer Klärung bedarf.

Bonner-Weir und Mitarbeiter haben die Ergebnisse ihrer langjährigen intensiven Untersuchungen dahingehend interpretiert, dass wenige Zellen aus dem duktalem Epithel zunächst dedifferenzieren und danach in der Lage sind, neue endokrine und exokrine Zellen zu bilden. Sie charakterisieren die duktalem Zellen als pankreatische Vorläuferzellen, deren Fähigkeit zur Proliferation begrenzt ist (rev. Bonner-Weir and Weir, 2005). Dieses Konzept der Dedifferenzierung und anschließenden Inselzell-Neubildung konnte in weiteren in vitro-Studien untermauert werden.

Die bisherigen Untersuchungen sprechen dafür, dass Zellen des duktalem Epithels Vorläuferzellen für die Bildung von Inselzellen sein können. Der Beweis für diese Hypothese muss noch durch eindeutige Markierungsversuche („lineage tracing“) erbracht werden.

4. Entwicklung von nicht-pankreatischen adulten Stamm- oder Vorläuferzellen in Beta-Zellen

Zellen des Knochenmarks wurden unter Einsatz des Cre-lox-Systems (Kapitel 4.2.2) in bestrahlte Mäuse übertragen, wo sie als Glukose-sensitive Insulin-sekretierende Zellen in den Inselzellen im Pankreas nachgewiesen wurden (Janus et al., 2003). Andere Arbeitsgruppen konnten diese Befunde nicht bestätigen. Jedoch zeigte eine kürzliche Untersuchung, dass klonale Zellen aus dem Knochenmark, die in hoher Glukose kultiviert wurden, eine Reihe von Beta-Zell-spezifischen Genen exprimierten und Insulin produzierten. Allerdings entsprach der Insulinspiegel nur etwa 1 Prozent der Insulinkonzentration normaler Beta-Zellen (Tang et al., 2004).

In einer weiteren sorgfältigen Studie wurden Knochenmarkstammzellen in diabetische Mäuse transplantiert und gezeigt, dass die Integration der Stammzellen in die Bauchspeicheldrüse mit einer Normalisierung des Blutzuckerspiegels verbunden war. Dabei wiesen die meisten neu gebildeten Zellen den phänotypische Marker von endothelialen und nicht von Beta-Zellen auf (Hess et al., 2003). Die Wirkung der Knochenmarkstammzellen auf die Funktion Insulin-produzierender Zellen im Pankreas ist derzeit noch nicht bekannt.

Es wurde postuliert, dass endotheliale Vorläuferzellen (EPCs) aus dem Knochenmark sich im Empfängerorganismus in Endothelzellen entwickeln könnten, die VEGF und andere Zytokine

und Wachstumsfaktoren abgeben, und dadurch *indirekt* die Regeneration von pankreatischen Vorläuferzellen in den Langerhans'schen Inseln induzieren. Hierbei bewirken die Knochenmarkstammzellen keine direkte Umwandlung in den „fremden“ Zelltyp (es findet also keine „Transdifferenzierung“ statt!). Die Zellen geben offenbar Faktoren ab, die ihrerseits die endogene Regeneration der Insulin-produzierenden Zellen im Gewebe des Empfängers aktivieren; der Mechanismus ist noch nicht bekannt (Kapitel 5.2.2.1).

5. „Transdifferenzierung“ von Zellen der Leber und des intestinalen Epithels in Beta-Zellen

Es ist naheliegend, neben Stammzellen aus „fremden“ Systemen (wie z. B. Stammzellen aus dem Knochenmark) auch endodermale Zellen für die Regeneration von Pankreaszellen zu nutzen. Sowohl Leberzellen als auch intestinale Epithelzellen als Abkömmlinge des Endoderms kämen in diesem Zusammenhang in Frage.

In den ersten Experimenten zur Entwicklung von Leberzellen in Insulin-produzierende Zellen wurden die Lebern von Mäusen mit adenoviralen Vektoren, die Pdx-1 exprimierten, infiziert. Dies führte zur konstitutiven Aktivierung der Expression von Beta-Zell-spezifischen Markern und der Synthese beträchtlicher Insulin-Mengen im Serum. Ebenso führte die Transgen-Expression von Betacellulin (wirkt als Mitogen) und NeuroD (pankreatischer Transkriptionsfaktor) in Leberzellen zu einer Normalisierung des Blutzuckerspiegels in Streptozotocin-behandelten Mäusen.

Die Versuche wurden dahingehend interpretiert, dass die Transgenexpression zu einer Stimulierung der Inselzell-Neubildung, jedoch nicht zu einer Entwicklung in Beta-Zellen beitrug (Bonner-Weir and Weir, 2005).

Weiterhin wurden fetale humane Leberzellen mit Telomerase (hTERT) und Pdx-1 Expressionsvektoren transfiziert. Die Zellen sekretierten nicht nur Insulin, sondern regulierten auch den Blutzuckerspiegel nach Transplantation in immundefiziente diabetische Mäuse (Zalzman et al., 2003).

Bisher ist ungeklärt, welcher Zelltyp der Leber Eigenschaften von Beta-Zellen entwickelt. So genannte Ovalzellen („oval cells“) werden als Leberstammzellen angesehen und die Kultur in Anwesenheit hoher Glukosekonzentrationen konnte tatsächlich zur Bildung von Insel-ähnlichen Zellen führen. Zusätzliche genetische Manipulation und stabile Expression pankreatischer Gene, wie zum Beispiel *pdx-1*, kann zur Bildung Insulin-positiver Zellen

beitragen, allerdings entspricht auch hier der Insulin-Spiegel weniger als 1 Prozent der Konzentration normaler Beta-Zellen (Bonner-Weir and Weir, 2005).

6. Regeneration von Beta-Zellen im Pankreas

Über das regenerative Potential von Beta-Zellen und die Neubildung von Zellen im Organismus ist beim Menschen wenig bekannt. Wie für die Maus wird eine Neubildung auch beim Menschen postuliert, da Stoffwechselveränderungen bei Schwangerschaft und nach Gewichtszunahme („obesity“) zu einem dramatischen Anstieg an Beta-Zellen führen.

Substanzen, die Beta-Zell-Neubildung und Erhöhung der Insulin-Sekretion bei der Maus induzieren (z. B. INGAP Peptid, GLP-1, Exendin-1, Betacellulin, Activin A, EGF und Gastrin) könnten prinzipiell auch bei der Diabetes-Behandlung beim Menschen eingesetzt werden.

Erste klinische Versuche wurden mit Exendin-4, GLP-1 Analogen oder INGAP Peptiden durchgeführt, jedoch fielen die Ergebnisse nicht eindeutig aus. **Es ist naheliegend, dass die Hoffnung vieler Diabetes-Patienten sich insbesondere auf derartige pharmakologische Behandlungsmethoden richtet. Welche der anderen Strategien zur Beta-Zell-Regeneration jemals zum Erfolg führen wird, kann heute noch nicht prognostiziert werden. Allerdings nehmen hES-Zellen eine besondere Stellung ein, da aus ihnen *in vitro* große Zellmengen produziert werden können.**

5.2.3 Ausblick

Alle drei Beispiele für Zelltherapie-Strategien zeigen, welche Anstrengungen noch vor uns liegen, um das Potenzial von Stammzellen in klinisch-therapeutische Anwendungen zu überführen. Dabei ist ersichtlich, dass sich die meisten Untersuchungen noch in der Phase von Zellkultur-Studien oder Tierversuchen befinden beziehungsweise mit Zellen der Maus erarbeitet wurden. Die signifikanten Unterschiede bezüglich zellulärer und Stoffwechseleigenschaften zwischen Laborsäugetern und dem Menschen erfordern aber die vorrangige Forschung mit menschlichen Zellen in Tierversuchen.

Abgesehen von der Komplexität ethischer Fragen bei der Isolation von hES-Zellen aus *in vitro* befruchteten menschlichen Embryonen beziehungsweise der Herstellung von nt-ES-Zellen bestehen noch weitere offene Fragen hinsichtlich humaner ES-Zellen. So sind Probleme zu lösen die mit einer noch nicht ausreichend effizienten Differenzierung sowie der potentiellen Karzinogenität und Immunogenität von Stammzelltransplantaten verbunden sind.

Parallel zu den Forschungsarbeiten an hES-Zellen haben umfangreiche Studien der letzten fünf Jahre mit adulten Stamm- und Vorläuferzellen gezeigt, dass das tatsächliche Entwicklungsvermögen adulter Stammzellen wesentlich geringer ist, als ursprünglich angenommen. Klinische Studien zur Regeneration von Herzgewebe haben jedoch mögliche Wege der Zelltherapie mit adulten Knochenmarkstammzellen aufgezeigt. Aus diesen Studien ist zu schlussfolgern, dass keine direkte „Transdifferenzierung“ in Herzmuskelzellen auftritt, sondern parakrine Mechanismen beziehungsweise Signalmoleküle der Stammzellen, die die Bildung von endogenen Zellen aktivieren, eine besondere Rolle bei der Regeneration von Geweben im Organismus spielen können.

Zur weiteren Entwicklung von Zelltherapien mit Stammzellen liegt die Hoffnung auch auf dem Einsatz neuer Techniken (Kulturverfahren, Epigenetik, „Chromatinomics“), durch die das Entwicklungspotenzial humaner Stammzellen modifiziert beziehungsweise erweitert werden kann.

6. Ethische Implikationen: Menschenwürde, Freiheit der Forschung und Missbrauchsgefahr – Die ethische Debatte zur Stammzellforschung in Deutschland zwischen 1999 und 2005

(Dr. Christine Hauskeller, EGENIS University of Exeter)

6.1 Geschichte und Überblick

Stammzellforschung kann als eine konsequente Weiterentwicklung etablierter Forschungsfelder gesehen werden. Beispiele sind der Einsatz blutbildender Stammzellen zur Behandlung von bestimmten Krebserkrankungen, oder entwicklungsbiologische Arbeiten zur Verbesserung und Herstellung agrarwirtschaftlich oder wissenschaftlich nutzbarer Tiere. Weitere wichtige Voraussetzungen der Entstehung der embryonalen Stammzellforschung sind die extra-korporale Befruchtung oder in-vitro Fertilisation (IVF) beim Menschen und die Entwicklung von Verfahren zur Klonierung höherer Säugetiere, für die symbolisch die Geburt des Klonschafes „Dolly“ im Jahr 1997 steht. Ohne diese Vorarbeiten wäre das, was Stammzellforschung heute ist und bedeutet, insbesondere bezüglich des so hoch veranschlagten potentiellen medizinischen Nutzens, kaum in der vorliegenden Form entstanden.

Forschung sowohl mit humanen adulten als auch mit nicht-humanen adulten und embryonalen Stammzellen war in Deutschland etabliert und ethisch kaum problematisiert, als Ende 1998 die ersten Berichte über erfolgreiche in-vitro Vermehrungen menschlicher embryonaler Stammzellen (hES-Zellen) erschienen in *Science* und *Proceedings of the National Academy of Sciences* (Shamblott et al., 1998; Thomson et al., 1998; Gearhart et al., 1998). Die damit praktisch gewordene Möglichkeit, hES-Zellen in Kultur zu halten und zu züchten, erregte umgehend ethische Diskussionen, führte aber auch zur Formierung einer neuen wissenschaftlichen Disziplin, der Stammzellforschung. Unter diesem Oberbegriff organisierte sich eine Vielzahl vormals vereinzelter Forschungsprojekte in Biologie und Medizin. Heute schließt Stammzellforschung diese beiden Disziplinen diskurs- und arbeitstechnisch in neu entstandenen Laborsituationen eng zusammen. Stammzellforschung wuchs schnell zu einem biomedizinischen

Großprojekt, das, verbunden mit enormen Therapiehoffnungen, zunächst mit Investitionen aus dem Privatbereich, seit 2001 jedoch hauptsächlich mit öffentlichen Geldern (Vogel, 2001), finanziert wird. So hat zum Beispiel die Regierung Großbritanniens seit 2000 weit über 100 Mio Pfund explizit für Programme zur Stammzellforschung bereitgestellt. Das Projekt Stammzellforschung war insofern als neue Disziplin forschungspolitisch sehr erfolgreich.

Der Zusammenschluss höchst unterschiedlicher Forschungsprojekte in Medizin und Biologie hatte aber auch Auswirkungen auf die ethische Diskussion, besonders in Deutschland mit seiner weit entwickelten Technologiefolgenforschung in Ethik und Sozialwissenschaft. Damit fiel Forschung, die bislang als unproblematisch galt, in eine Kategorie mit solcher, die in Deutschland durch das Embryonenschutzgesetz von 1990 (ESchG) verboten ist, nämlich Forschung an menschlichen Embryonen. Dies machte eine stetige Bekräftigung der Grenzen innerhalb des neuen Feldes nötig. Forschungsergebnisse zum Phänomen der „epigenetischen Umprogrammierung“ in differenzierten Stammzellen rüttelten ebenso an diesen Grenzlinien zwischen „embryonal“ und „adult“ wie der Mangel an eindeutigen Markern für Totipotenz, Pluripotenz und Multipotenz. Da die Totipotenz von Zellen im Rechtstext des ESchG definatorisch relevant ist, wurde von vielen an der Neubestimmung dieses Begriffs gearbeitet (Beier, 2002; Denker, 2002; Eine Rekonstruktion der Definitionen von Toti- und Pluripotenz in Deutschland in dieser Zeit: Hauskeller, 2005a). Oben genannte Forschungsfunde und auch die wieder aufgeflamten moralischen Diskurse mit rechtlicher Signifikanz riefen die Konstruiertheit der scheinbar säuberlichen Unterscheidung von Stammzellen mit und Stammzellen ohne moralische Bedeutung ins Bewusstsein der Kritiker. Dies ist einer der Gründe, warum sich in der Ethikdiskussion die dominantesten Beiträge nahezu völlig auf die moralische Kritik oder Rechtfertigung der Embryonennutzung als Verletzung der Menschenwürde beziehungsweise des Lebensschutzes konzentrierten und auf die Risiken der Entwicklung von Klonierungstechniken. Da in Deutschland Forschung an Embryonen verboten ist, betraf diese moralische Auseinandersetzung keine bereits in Deutschland stattfindende Forschung, sondern richtete sich kritisch auf Forschung im Ausland und inländische Stimmen, die forderten, dass Deutschland seine Verbotshaltung modifizieren und sich an dieser Forschung beteiligen solle.

Die extra-korporale Befruchtung, entwickelt im Jahre 1978 (Edwards et al., 1978; Edwards et al., 1980), basiert auf Techniken, mittels derer weibliche Eizellen und Embryonen außerhalb des weiblichen Körpers zugänglich gemacht und in der Petrischale befruchtet werden können.

Diese Behandlung stellt damit die technischen Voraussetzungen zur molekularen Erforschung und Nutzung menschlicher Embryonen bereit. Neben der technischen Möglichkeit bedarf Forschung jedoch auch der gesellschaftlichen Akzeptanz, besonders wenn sie von der Öffentlichkeit finanziert wird. Solche Akzeptanz für Embryonenforschung war in den 1980er Jahren in Deutschland nicht gegeben. Im Gegenteil, politisch verabschiedet wurde das ESchG, das unter anderem die Herstellung von Embryonen verbietet, die nicht direkt zur Herbeiführung einer Schwangerschaft benutzt werden, und auch jeglichen Eingriff an Embryonen, der nicht deren Lebenserhaltung dient.

Schon in den 1980er Jahren wurden medizinische Argumente für die Forschung mit menschlichen Embryonen vorgetragen: Solche Forschung könne der Verbesserung der IVF dienen und die Züchtung von Geweben für neue Formen der Transplantationsmedizin ermöglichen. In Großbritannien wurde ersteres Argument für wichtig erachtet und die Verbesserung der Sterilitätsbehandlung wurde als Hauptziel jeglicher Forschung an menschlichen Embryonen in die Richtlinien der Human Fertilisation and Embryology Authority eingetragen. Das galt unverändert bis 2001, als Forschung mit hES-Zellen zu diesem Kriterienkatalog hinzugefügt wurde (HFEA; dazu auch Hauskeller, 2004a). In Deutschland traten beide therapeutische Argumente an Bedeutung hinter den Embryonenschutz zurück. Die bessere Behandlung von Unfruchtbarkeit – vor der Entwicklung der intrazytoplasmatischen Spermieninjektion (ICSI) nur der Unfruchtbarkeit von Frauen – war erwünscht, wurde jedoch nicht als wichtig genug bewertet, um dafür zukünftiges menschliches Leben herstellen oder zerstören zu dürfen. Auch in der 1999 bis 2005 geführten Debatte wurde die Verbesserung der IVF, trotz ihrer Nebenwirkungen und niedrigen Erfolgsraten, kein Argument für Embryonenforschung. Die Transplantatzüchtung hingegen war in der 1980er Diskussion wohl zu hypothetisch, um wichtig gemacht werden zu können. Das änderte sich 1998 mit dem „Durchbruch“ (Vogel, 1999) in der Kultivierung menschlicher embryonaler Stammzellen. Zelltherapie und Transplantatzüchtung schienen greifbar nah, wenngleich das Versprechen auf effektive Therapien mit hES-Zellen bislang nicht eingelöst wurde.

Die Möglichkeit einer profitablen und für viele bisher kaum behandelbare Krankheiten einsetzbaren Stammzellmedizin verschob die Fronten der 1980er Jahre. Die erneute Diskussion des ESchG und seiner Kriterien kamen auf die politische und gesellschaftliche Tagesordnung. Das Einfallstor für diese Wiedervorlage war schon in der Zeit der Beschließung des ESchG vorbereitet

worden, nämlich der § 218 StGB. Dieser verbietet unter bestimmten Bedingungen bei Straffreiheit die Abtreibung. Argumentationslogisch bedeutet der § 218, dass die Menschenwürde Ungeborener nicht absolut, sondern im Prinzip aufwägbar ist, sonst könnten soziale Umstände oder das psychische Wohlbefinden der zukünftigen Mutter kein hinreichender Grund für die Nichtverfolgung der „Tötung“ ihres Ungeborenen sein. Den verschiedenen Diskutanten, die sich auf den Widerspruch zwischen ESchG und § 218 berufen, geht es entweder a) um eine Vereinheitlichung des Schutzes ungeborener Menschen und ein striktes Verbot der Abtreibung; oder b) um eine Öffnung des ESchG, wenn sie fragen in welcher Hinsicht genau sich die Gesundheit der Schwangeren von der anderer Menschen so kategorial unterscheidet, dass erstere aber nicht letztere einen Grund für die Relativierung des Embryonenschutzes im Einzelfall darstellen kann; oder c) darum zu zeigen, dass der scheinbare prinzipialistische Streit um Embryonenforschung und Lebensschutz des Ungeborenen zwei verschiedene Formen der Ausblendung der Rolle der Frau und des „anderen Umstandes“ der Schwangerschaft sind, in welchem Wissenschaft und Kirche um das Recht kämpfen, das Selbstbestimmungsrecht der Schwangeren auszusetzen.

6.2 Komplexität der ethischen Probleme der Stammzellforschung

Der im ESchG erreichte Konsens konnte bis zur Stammzelldebatte aufrechterhalten werden, trotz einzelner schwelender Unzufriedenheiten. Das Klonen – im Sinne des Klonens von Menschen – wurde in Deutschland nach der Geburt von „Dolly“ diskutiert und als Verletzung der Menschenwürde durch künstliche Vervielfachung der genomischen Einmaligkeit von Individuen abgelehnt. Diese Position hat Deutschland auch wirksam geltend gemacht in der Europäischen Debatte zur Bioethikkonvention (Europarat, 1996) und der Resolution gegen das Klonen von Menschen (Europäisches Parlament, 1997), sowie international in einem Deutsch-Französischen Resolutionsantrag an die UN 2001, einen weltweiten Bann des Klonens zu beschließen – im Frühjahr 2005 wurde eine solche Resolution verabschiedet.¹

Die Verbindung zwischen der Technik des somatischen Zellkerntransfers² (mit der das Klonschaf Dolly erzeugt wurde) und einer zukünftigen Stammzellforschung ist, obgleich

¹ Die Allgemeine Versammlung der UN hat auf ihrer 82. Zusammenkunft am 8. März 2005 Resolution 59/280 verabschiedet. Der Text United Nations Declaration on Human Cloning ist der Resolution angehängt.

nicht zwingend, schon vor der erfolgreichen Kultivierung von hES-Zellen konzeptionell präsent gewesen. Die Unterscheidung zwischen einem „therapeutischen“ und „reproduktiven“ Einsatz dieser Technik wurde bereits Anfang 1998 eingeführt, um ihren Einsatz in der Forschung von der Klonierung von Menschen terminologisch abzugrenzen.³ Neben dem Problem, dass die heutige Forschung mit hES-Zellen unter anderem Techniken entwickelt, die das Klonen von Personen ermöglichen könnten, wirft eine Stammzellmedizin jedoch eine Reihe anderer moralischer Fragen der Biomedizin wieder auf, die intensiv diskutiert worden waren. Sie kratzt gleichzeitig an etablierten Grenzziehungen in den Bereichen Selbstverständnis des Menschen, Ordnung des Wissens, und soziale Gerechtigkeit. Sie vereint die Konfliktpotentiale von Reproduktionsmedizin, Organtransplantationsmedizin, und Mensch-Tier-Chimärismus und Gentechnik. In dieser Bündelung werden bislang relativ separat behandelte Probleme neu aufgeworfen. Ein qualitativer Sprung der Problemverdichtung zeigt sich, wenn zugleich die gängigen Praktiken der Fortpflanzungsmedizin mit genetischer Diagnostik und Selektion, die ungeahnte Breite der sich entwickelnden Transplantationsmedizin und des Tissue Engineering, die Klonierung von Menschen, Gerechtigkeitsprobleme im Sinne sowohl der grundsätzlichen Orientierung subventionierter Forschung und die Kosten für Gesundheitssysteme oder Einzelpatienten, die eine solche Medizin mit sich bringt, zur Verhandlung anstehen. Stammzellmedizin bewegt dieses Feld moralisch-gesellschaftlicher Fragen und stellt sie in neue Zukunftskontexte. Es handelt sich um einen Komplex moralischer und sozialetischer Fragen.

Diese Komplexität jedoch wurde in Stil und Form der deutschen Debatte nicht reflektiert und aufrechterhalten, obwohl alle Elemente angesprochen wurden. Angesichts des Verbotes dessen, was neu war an der Stammzellforschung, nämlich hES-Zelllinien und Keimzell-Linien, erlangte der potentielle Nutzen der Forschung, so auch von der DFG 1999 begründet (DFG, 1999), zentrale diskurspolitische Bedeutung. Mögliche Therapien gegen Volkskrankheiten wie Diabetes, Morbus Parkinson etc. in naher Zukunft änderten die Rahmenbedingungen, in denen das ESchG verfasst worden war. Die Forschungsergebnisse aus Ländern, in denen Embryonen-

2 Auch bezeichnet unter anderem als „cell nuclear replacement technology“ oder „somatic cell nuclear transfer“.

3 Die begriffliche Unterscheidung zwischen therapeutischer und reproduktiver Nutzung dieser Technologie wurde eingeführt in einer gemeinsamen Stellungnahme der Britischen Human Genetics Commission und der Human Fertilisation and Embryology Authority betitelt „Cloning Issues in Reproduction, Science and Medicine“, das datiert vom Januar 1998. Siehe Department of Health.

forschung nicht verboten war, ließen den Konflikt zwischen dem Schutz der Menschenwürde und dem Recht auf Freiheit der Forschung wiederaufleben.

Gerade in der breiten öffentlichen Diskussion, für die exemplarisch die vielen Beiträge in regionalen und überregionalen Zeitungen stehen können, wie in multidisziplinären Fachdiskussionen (u. a. auf dem Symposium des Bundesgesundheitsministeriums im Mai 2000), wurde neben ethischen und moralphilosophischen auch ein ökonomisches Argument wichtig. Dieses lautet, dass Deutschland durch den Selbstausschluss von der Embryonenforschung in einem potentiell sehr bedeutenden Wissenschafts-, Wirtschafts- und Technologiebereich zurückzufallen drohe und an internationaler Bedeutung verliere. Hingewiesen wurde auf die Bedeutung von Wissenschaft und Technologie für Deutschland als Industrienation, und zumeist implizit auch auf die wirtschaftliche Mobilisierung und die Profite, die eine früh und marktgerecht entwickelte Stammzellmedizin kreieren könnten. Diskursdynamisch war dieses Motiv wohl auch gerade wegen der angespannten wirtschaftlichen Lage in Deutschland brisant und damit einflussreich.

In Deutschland wurde schon vor und noch weit mehr nach 1999 in Forschung mit adulten Stammzellen investiert. Diese Forschung, die auch internationale Anerkennung fand (Strauer et al., 2001), ist zwar vielleicht medizinisch und mit Sicherheit wissenschaftlich interessant und viel versprechend, nicht jedoch ökonomisch, weil sie individualistisch verfährt. Zur Behandlung verwendet werden Zellen, zumeist vom Patienten selbst, die nicht patentierbar sind und nicht zur Massenfertigung eines Therapeutikums führen. Die Vermehrung dieser Zellen ist nur begrenzt möglich. So gilt bislang, dass, wenn überhaupt, „industrielle“, lukrative Fertigung von Stammzelltransplantaten nur aus fetalen Keim- oder hES-Zell-Kreationen mit hohem Vermehrungspotential gelingen kann. Das Potential adulter Stammzellforschung wird darum wirtschaftlich ganz anders bewertet als das der Forschung mit hES-Zellen.

Der ethische Diskurs zur Stammzellforschung entwickelte sich entlang zweier miteinander verschränkter Hauptlinien. Die erste ist der Konflikt zweier Grundrechtsprinzipien: Menschenwürde und Forschungsfreiheit. Die andere ist aus technik- und wissenschaftsethischen Diskursen ebenfalls wohl vertraut: die Angst vor dem Missbrauch. Die inhaltliche Konzentration auf diese beiden Aspekte des ethischen Problemkomplexes und die Streuung der Positionen zwischen „pragmatisch“ und „fundamentelethisch“, „fortschrittszugewandt“ und „bewahrend“ findet sich in allen westlichen Ländern in ähnlicher Weise (Bender et al., 2005). Außergewöhnlich an der

deutschen Diskussion war ihre gesellschaftliche Breite und Intensität. Es beteiligten sich zahlreiche Personen aus der Politik, aus einer Fülle akademischer Disziplinen und Berufe, und aus verschiedenen gesellschaftlichen Interessengruppen mit differenzierten Stellungnahmen. Dadurch wäre jede Nennung einzelner Beiträge unfair und unvollständig. Dass den beiden Themen Missbrauchsgefahr und Interpretation fundamentaler Freiheits- und Schutzrechte im Kontext biomedizinischer Wissenschaft so viel breite Aufmerksamkeit zuteil wurde, hat allerdings viel mit deutscher Geschichte und deutschem Selbstverständnis zu tun. Diese deutsche Diskussion kreist um oberste politische Wertsetzungen und Menschenrechte und deren Geltungsraum beziehungsweise Relativierung. Die Geschichte des Grundgesetzes als Reflexion in Abgrenzung und Mahnung an die Menschen-verachtende Politik des Nationalsozialismus, zu der besonders auch biomedizinische Experimente in den Konzentrationslagern gehören, wird gewöhnlich als Erklärung für den Verlauf und die Intensität der Diskussion identifiziert.

Im Folgenden werden diese Hauptmotive in der Spannung dargestellt, in der sie zueinander stehen, und anhand einiger exemplarischer Austragungsorte der Debatte beleuchtet. Auch andere moralische Argumentationslinien waren in der Debatte vertreten, sie blieben jedoch hinsichtlich der Diskutanzahl und der medialen Aufmerksamkeit zumeist an der Peripherie. Einige, wie die Kritik an Praktiken der Eizellspende, rücken in den letzten Jahren infolge der Forschungs- und Diskussionsentwicklung auf prominentere Diskurspositionen vor. Die Frage nach dem ontologisch-moralischen Status früher Embryonen ist grundsätzlich unlösbar, wie zum Beispiel in der Auswertung des Symposiums „Fortpflanzungsmedizin in Deutschland“ von der Staatssekretärin Christa Nickels festgestellt, wenn auch nicht begründet wurde (Nickels, 2000). Die Begründung ist, dass die Bedeutung des Wortes Embryo schon unterschiedlich mit moralischem Gehalt aufgeladen ist und die Prioritäten im Schutz der Menschenwürde und was diese für uns heute als Aufgabe bedeutet, unterschiedlich gesetzt werden können. Allenfalls wenn Einigung über die Bedeutung der Begriffe Menschenwürde und Embryo bestünde, ließe sich feststellen, ob der menschliche Embryo Menschenwürde hat oder nicht. Dies ist jedoch nicht der Fall. Dennoch beharrt die Mehrzahl der Diskutanten darauf, dass die Embryonenproblematik die bedeutendste ethische Frage zur Stammzellforschung ist. Zweifellos ist es für das Selbstverständnis moderner Gesellschaften und vielleicht in besonderer Weise der deutschen, wichtig, auf ihre fundamentalen Werte und ihr Selbstverständnis als moralische Gemeinschaften zu reflektieren. Was jedoch die Stammzellforschung und die ethischen Probleme, die sie mit sich bringt, angeht,

so kann festgestellt werden, dass die Konzentration auf unlösbare Probleme erfolgreich von der Detailanalyse der Praktiken aller in dieser Bewertung als relativ unproblematisch erscheinenden Wissenschaftspraxis mit adulten Stammzellen abgelenkt hat. Insofern ist sie diskursstrategisch für alle, die eine ernsthafte Auseinandersetzung mit dem, was Stammzellforschung bedeuten und bringen kann scheuen, vorteilhaft. Die sich gerade erst andeutende Verschiebung in dieser fixierten Diskurslandschaft kann als Indikator für eine sachgerechtere und konstruktivere Technologie- und Wissenschaftsbeurteilung auch der Biomedizin in Deutschland gelten.

6.3 Schutz der Menschenwürde und Freiheit der Forschung – ein Grundrechtskonflikt

Häufig wurde, wie in dieser Überschrift, das moralische Problem mit der Stammzellforschung als ein juridisches formuliert. Das ist nicht selbstverständlich, insofern Moral und Recht weder das Gleiche noch aufeinander abbildbar sind. Aus ethischer Sicht muss der Primat bei der Moral liegen, die im Idealfall ungebrochen in Rechtssätze überführt wird – was realiter nicht der Fall sein kann, da Recht vom Einzelfall abstrahiert und damit oft dessen angemessener moralischer Berücksichtigung entgegensteht. In einer sich schnell verändernden Gesellschaft muss geltendes Recht darum reversibel sein und hinsichtlich seiner Übereinstimmung mit dem moralisch Guten im Zweifel neu bewertet werden. In diesem Sinne ist die Neuverhandlung des moralischen Status von Embryonen in Deutschland ein normales gesellschaftspolitisches Phänomen.

Das oberste Rechtsgut der Achtung der Menschenwürde spielt in einem Konflikt zwischen einer Forschung, die Embryonen benutzen möchte, und einem Strafgesetz, das diese Nutzung verbietet und dies mit der Menschenwürde begründet, die ausschlaggebende Rolle. Artikel 1 GG kann aus moralischen wie politischen Gründen als solcher nicht infrage gestellt werden, doch er wurde so formuliert, dass er für Interpretationen offen ist und damit Änderungen der Auslegung untergeordneter, spezifischerer Rechtsregelungen erlaubt.

In weiten Teilen war der Streit um die Stammzellforschung in Deutschland ein Streit um die Auslegung des Grundgesetzes und seiner moralischen Bedeutung. Die verschiedenen Ebenen in diesem Konflikt können in drei Hauptfragen zusammengefasst werden:

1. Wie ist das Verhältnis von GG Artikel 1.1, Artikel 2 (Schutz der Rechte von Personen) und 5.3 (Freiheit von Kunst und Wissenschaft, Forschung und Lehre) zueinander zu bestimmen?

Plausibel argumentiert wurde dafür, Art. 1 Abs. 1 den „Charakter eines obersten Konstitutionsprinzips allen objektiven Rechts“ (Maunz et al., 1999) zuzuerkennen, es zu verstehen als oberstes Moralprinzip, das den Grundrechten Rechtsgeltung sichert (Geddert-Steinacher, 1990).

2. Fallen frühe menschliche Embryonen unter den Schutz des Artikels 1 GG oder, haben Embryonen Menschenwürde, beziehungsweise sollen Embryonen Menschenwürde haben?⁴
3. Muss oder kann die gegenwärtig angenommene Menschenwürde von Embryonen abgewogen werden gegen den Schutz oder die Rechte anderer Personen? Mit dem § 218 als Vorgabe wurde überlegt, wie es um das Recht Kranker auf Heilung bestellt ist. Sichert GG Artikel 2 kranken Personen ein Recht auf Therapien oder deren Entwicklung zu und wenn ja, darf das zu Lasten anderer Menschen gehen?

In der Diskussion wurde Menschenwürde hinsichtlich beider Wortteile „Mensch“ und „Würde“ unterschiedlich ausgelegt, aber es wurde auch das Recht auf Leben für Embryonen gegen das Recht auf Leben und Gesundheit von Kranken gestellt; die Forschungsfreiheit gegen den unbedingten Lebensschutz für Embryonen, der für viele nicht die ultimative (minimale) Bedeutung von Menschenwürde ist. Die verschiedenen Positionen zu dieser Frage wurden aus den Disziplinen Recht, Philosophie, Ethik, Theologie, Medizin und Biologie heraus diskutiert. In jeder Disziplin wurden, trotz der unterschiedlichen Sprachspiele, strukturell und inhaltlich die folgenden konfligierenden Lesarten des Problems vorgetragen.

Befürworter wie Gegner embryonaler Stammzellforschung forderten eine Klärung des moralischen Status des menschlichen Embryos. Die Mittel, die zur Austragung des Konfliktes benutzt wurden, reichten von suggestiv gewählten Bildern – vereinzelt wurden zwölf Wochen und mehr alte Feten als Illustration zu Artikeln zur embryonalen Stammzellforschung benutzt – bis hin zur rhetorischen Stilisierung des frühen Embryos gleichsam als Sinnbild reiner Menschenwürde, dem Bedeutung zu versagen den schrittweisen Niedergang der Menschenwürde

4 Viele Beiträge zu dieser Diskussion finden sich in Geyer 2001 und in Kettner 2004; Ein wichtiger Referenzpunkt der Debatte war Spaemann 1996.

5 Laut der Deklaration des Weltärztebundes von Helsinki dürfen medizinische Eingriffe nur zum Nutzen der davon betroffenen Person durchgeführt werden, nicht zum Nutzen anderer. Dadurch benötigt mancher heute übliche Eingriff eine kunstvolle Rechtfertigung, wie zum Beispiel die Nieren-Lebendspende oder ICSI. Dazu auch: Taupitz 2001b und Satzinger 1999 in: Pichlhofer 1999.

als oberstem Moralprinzip zur Folge haben müsse und damit der Moral im Lande. Daran war wenig neu, auch wenn zwei Faktoren die Diskurslandschaft verschoben: Weniger wichtig, aber auf der emotionalen Ebene der Debatte sicher wirkungsreich, war der Umstand, dass es heute viel bessere fotografische Darstellungen von frühen Embryonen gibt als in den 1980er Jahren. Wichtiger jedoch war, dass mit der etwas realeren Hoffnung auf Therapien jetzt Patienten oder Patientengruppenvertreter sich an der Diskussion beteiligten. Patienten selbst oder Verwandte etc. von Menschen mit früh einsetzendem Parkinson oder Alzheimer wurden interviewt, und begrüßten die Möglichkeit baldiger Therapien. Insgesamt war der Einsatz dieser Mittel relativ verhalten, verglichen mit dem hoch personalisierten US amerikanischen Aufgebot an Prominenz, wie zum Beispiel Christopher Reeves und Nancy Reagan, und ihrer Lobbyarbeit für hES-Zellen-Forschung.

In diesem Zusammenhang wird es wichtig, dass in Deutschland das „Rohmaterial“ für hES Zell-Forschung, frühe menschliche Embryonen, im Unterschied zu nahezu allen IVF-praktizierenden Ländern weltweit, infolge des ESchG nicht im Überfluss vorhanden ist und damit für etwaige Forschung zumindest gegenwärtig gar nicht verfügbar wäre. Der Streit um die Embryonenforschung bezog sich insofern nicht auf eine reale Möglichkeit, im Lande vorhandene Embryonen zur Forschung nutzen zu dürfen. Auch zeigte sich andernorts schnell, dass eingelagerte Embryonen oft Schäden aufweisen, die ihre Nutzbarkeit beeinträchtigen. Ambitionierte Forschung mit hES-Zellen bittet heute bereits um Spenden von „frischen“, „überzähligen“ Embryonen bereits bevor die IVF Behandlung begonnen hat, geschweige denn zu einem Abschluss gekommen ist (Choudhary et al., 2004; Rothmüller, 2005). Damit verbunden sind jedoch Probleme auch hinsichtlich des Status der Patientinnen der IVF, oder der potentiellen Eizellspenderinnen. Deren Position als Patientinnen wird performativ in Frage gestellt durch die Bitte um eine Spende ihrer Eizellen oder Embryonen, die sie statt dessen in die Rolle von Zulieferern bringt. Die damit symbolisch hergestellte aber eben fiktive Reziprozität in der Arzt-Patient Beziehung, die die Machtverhältnisse verschleiert, ist ein implizit wirksames Motiv beim Spenden. Medizinsoziologisch werden die Motive und Situationskonstellationen die zur Spende bewegen in diesem Spezialfall Keimzell- und Embryonenspende gegenwärtig untersucht (z. B. Haimes et al., 2006). In Deutschland jedoch ging es in der Diskussion zum Stammzellgesetz vorerst nur um die Erlaubnis, mit importierten hES-Zelllinien forschen zu dürfen.

Bezüglich des Konfliktpunktes Abwägung oder kategorischer Schutz der Menschenwürde und des moralischen Status' menschlicher Embryonen wurde der Widerspruch zwischen Artikel 1.1 GG und § 218 StGB argumentationsstrategisch auf folgende Weise aufgelöst: Embryonen in der Petrischale unterstehen dem Schutz der Öffentlichkeit. Ihr Überleben ist nicht zwingend mit dem Leben einer bestimmten Frau verbunden. Bei Vorliegen einer Schwangerschaft hingegen können Konflikte entstehen zwischen dem Lebensrecht des Ungeborenen und den grundgesetzlich zugesicherten Rechten der Schwangeren darauf, ihr Leben selbst zu bestimmen. Diese Lösung ist nicht nur rhetorisch, und doch angesichts der allgemeinen Objektzentrierung in der deutschen moral- und rechtsphilosophischen Diskussion ungewöhnlich kontextorientiert. Wenn, wie in der westlichen Welt üblich, der moralische Status von Embryonen diskutiert wird, ist dieser Problemstellung immanent, dass es um Embryonen als solche geht, als Objekte an sich. Die Kontexte, aus denen die Materialien für diese Objekte entnommen, erzeugt, implantiert, und als zukünftige Kinder ersehnt werden treten zurück angesichts ihres prinzipiellen moralischen Wertes als werdendes menschliches Leben. Demgegenüber scheint – angesichts der prinzipiellen Möglichkeit, ein Kind zur Adoption freizugeben – die Bewertung des mütterlicher Selbstbestimmungsrechts als gleichwertig (auch zum Nachteil dieses Lebensrechts bei Föten, die außerhalb des Mutterleibes überlebensfähig wären), vielen nicht einleuchtend. Freilich, vor der IVF gab es menschliches Leben, das nicht entweder geboren und damit physisch unabhängig oder untrennbar mit dem Leib einer Frau verbunden war, nur imaginiert – nicht im Labor zugänglich und manipulierbar. Dieser Aspekt wird zumeist aus der Diskussion ausgeklammert, die von gegenwärtigen Fakten ausgehend über einen allgemeinen Status des Ungeborenen oder der befruchteten Eizelle als Menschenleben reflektiert.

Diese Diskussion macht zweierlei deutlich. Zum einen: wie ausgeprägt Konsistenzanforderungen im Sinne objekt- beziehungsweise handlungsorientierter moralischer Urteile in Deutschland sind. Moralische Fragen werden regelmäßig in generalisierte Probleme umformuliert und dann für das allgemeine, grundsätzliche Problem an Handlungsprinzipien orientierte Antworten gesucht. Die kontextualistische Konstruktion wird bemüht, um den Schwangerschaftsabbruch straffrei lassen zu können – ein Verbot wäre politisch nicht durchsetzbar – und zugleich Embryonenforschung unmöglich zu machen und dabei stringent argumentieren zu können, was in Deutschland aufgesetzt wirkt und darin nur erneut bestätigt, wie üblich kategorische Ethik in Deutschland ist. Zum zweiten zeigt sie, dass in komplexen

gesellschaftlichen Konflikten Argumente leicht als Spielbälle fungieren. Es wird hier nicht um moralische Haltungen zu den verschiedenen Fragen gestritten, sondern oft angesichts vorgefundener Situationen letztlich pragmatisch ein Argumentationsmuster benutzt, das rhetorisch hilft, disparate Positionen argumentationslogisch unter einen Hut zu bringen. In Deutschland haben Vertreter der Denk- und Argumentationstraditionen des Christentums und der Kantischen Philosophie herausragenden Einfluss in diesen Diskussionen, was die Dominanz einer fundamentalistisch und wenig an Details einzelner Technologien orientierten Haltung fördert und für andere Herangehensweisen an Wissenschafts- und Technologiebewertung wenig Raum lässt.

Das Verständnis von Menschenwürde wurde in einer Komplexität diskutiert, die über den Konflikt zur Freiheit der Wissenschaft weit hinausging. Viele Aspekte der Bedeutung von Menschenwürde im Zusammenhang mit den Zukunftsvisionen der biomedizinischen Technologien wurden in die Diskussion eingebracht. Darüber hinaus wurden systematische Fragen des Umgangs mit einem solchen obersten moralischen Prinzip relevant. Schon der Horizont, in dem in den 1980er Jahren und jetzt wieder über die Geltung der Unantastbarkeit der Menschenwürde für Embryonen gestritten wird, impliziert eine Interpretation und Lesart des Artikel 1.1 GG und verdrängt andere. Wenn der biologische Lebensanfang und die funktionelle Erhaltung von Lebensvorgängen ausschlaggebende Kriterien werden, sind damit andere Kriterien für eine Verletzung der Würde eines Menschen tendenziell geschwächt. Manche sehen in dieser Verteidigungsstrategie und Lesart die moralisch bedeutsame Motivation für den Artikel 1 GG performativ unterminiert (z. B. Werner 2004, Wetz, 1998; Wetz, 2004; Hauskeller, 2004; Wils, 2005).

Zwischen den 1980er Jahren und der jüngsten Debatte hat sich wenig an der juristischen Diskussion und Gesetzeslage geändert. Was hingegen radikal zunahm, ist die Einschätzung des Potentials der Stammzellforschung und die gesellschaftliche Bedeutung von „High-tech“ Biomedizin. Auch verändert hat sich die öffentliche Haltung zu Fragen zum Beispiel der Unfruchtbarkeitsbehandlung, die immer mehr in Anspruch genommen wird, der selektiven Abtreibung und der Nutzung von Körpermaterialien von Lebenden in der Medizin. IVF und genetische Diagnostik, Knochenmarkspende, Nieren-Lebendspende, Nabelschnurblut-Einlagerung und andere biomedizinische Technologien haben sich etabliert und eine andere gesellschaftliche Normalität im Umgang mit dem biologischen Leib als Ressource and Behandlungsgegenstand neuerer Biomedizin geschaffen.

6.4 Missbrauchsgefahr und Menschenwürde. Die Angst vor schleichenden Veränderungen

Die Angst vor dem Missbrauch neuer Technologien oder vor unbekanntem schädlichen Auswirkungen speist sich aus problematischen Erfahrungen des Doppelnutzens von Technologien und Rationalisierungsverfahren, für welche die Industrialisierung des Massenmordes im Nationalsozialismus steht, und der Risiken von Hochtechnologien, symbolisch repräsentiert durch Tschernobyl. Mit der Biomedizin werden jedoch dem Typ nach andere Gefahren heraufbeschworen, nämlich der instrumentelle Umgang mit menschlichem Leben und eine schleichende Veränderung des gesellschaftlichen Verständnisses davon, was Menschsein bedeutet. Die Gewöhnung an eine zwar relativ reglementierte, aber zu Tausenden pro Jahr in Anspruch genommene Praxis der Technisierung der Fortpflanzung und Sicherung des erwünschten Ausgangs einer Schwangerschaft – nämlich ein gesundes Kind – ist ein Beispiel dafür. Bezüglich der Stammzellforschung ist die Angst vor dem Missbrauch eng verknüpft mit dem Thema Menschenwürde und der Möglichkeit einer Erosion von Werten, die als fundamental für das gesellschaftliche Zusammenleben angesehen werden. Deutlichstes Beispiel dafür ist wohl die Angst vor dem Klonen von Menschen. Schon vor der Stammzellforschung herrschte Übereinkunft, dass dieses nicht stattfinden soll. Entsprechend dominierten weltweit ablehnende Stellungen und Reaktionen gegenüber Behauptungen von einzelnen Personen (wie Dr. Severino Antinori) oder Gruppen (wie die Sekte der Raelianer), ein Baby geklont zu haben. Doch das so genannte therapeutische Klonen, das aufgrund des Risikos von Immunreaktionen auf hES-Zell-abgeleitete Transplantate heute medizinisch besonders aussichtsreich scheint, würde zwangsläufig die Technologie zum Klonen von Menschen bereitstellen. Embryonen, die für die Stammzellforschung verwendet werden, werden länger in der Petrischale gezüchtet (bis zum Blastozystenstadium) als solche, die in die Gebärmutter einer Frau eingebracht werden, um eine Schwangerschaft zu erreichen. Insofern gibt es wenig gute Gründe anzunehmen, dass neben dem in der IVF wie der Säugetierklonierung generell bestehenden Problem der Nicht-Einpflanzung des Embryos in die Gebärmutter Schleimhaut, beziehungsweise seiner späteren Abstoßung, technische Probleme mit dem Klonen entstehen würden. Diese Doppelnutzung aller für die medizinische Transplantatherstellung verwendbaren Verfahren der Klonierung ist für viele Kritiker eines der großen Probleme der Stammzellforschung.

Die aus der Literatur und Film lange bekannte Figur des „mad scientist“ (Majo, 2001; und Wulff 2002), für die im Bereich der Biologie als häufigste Vorlagen die literarische Figur des Dr Frankenstein (Shelley, 1819) und der historisch reale deutsche KZ-Arzt Josef Mengele stehen, wird als Urheber einer gewissenlosen Produktion von Serienklonen imaginiert. Obgleich Selbststilisierungen wie die Dr. Antinoris in der Mediengesellschaft offenbar nicht ausbleiben, ist doch in der Diskussion nie Klarheit darüber erzielt worden, worin eigentlich die Gefahr des Klonens gesehen wird.

Systematisch betrachtet bestehen Risiken durch das Klonen für drei unterschiedliche Gruppen von Menschen, die in der Diskussion Thema geworden sind. Was die Entwicklung allen Klonens angeht – unabhängig davon, ob es gelingt – sind da zuerst die Frauen, deren Eizellen dafür gebraucht werden. Beim heutigen Stand der Forschung können menschliche Eizellen, in welche hinein die zu klonende DNA injiziert wird, nur durch einen hormonellen und chirurgischen Eingriff aus dem Körper einer Frau gewonnen werden. Frauen sind die einzige Gruppe, die gegenwärtig real vom Risiko des Missbrauchs, nicht dem Missbrauch des Klonens sondern ihrer weiblichen reproduktiven Funktion und damit ihres Körpers und ihrer Gesundheit, betroffen ist. Die anderen beiden Betroffenenengruppen sind bislang hypothetisch, nämlich Klone und die Gesellschaft. Die Gruppe der Kinder oder Menschen, die im Falle erfolgten reproduktiven Klonens als Klone leben müssten, trügen wohl zwei Risiken: Erstens wäre dies ein gesundheitliches, wobei (nach Ergebnissen aus Tierversuchen) mit negativen Folgen für die Lebenserwartung und den Gesundheitszustand zu rechnen wäre. Sie trügen des weiteren ein soziales Risiko, das Stigma des Klon-Seins und der Unterstellung, in ihrem Personsein präformiert zu sein in der Wahrnehmung der anderen. Letzteres Risiko ist fiktiv und ein gesellschaftspolitisches, das mit der gegenwärtigen hochemotionalen Ablehnung des Klonens zusammenhängt, die zu manifester sozialer Diskriminierung geklonter Menschen führen könnte. Da es keine Legitimitätsgrundlage dafür gibt, Menschen, die in jeder relevanten Hinsicht solche sind, aufgrund von Eigenschaften zurückzuweisen, für die sie gar nicht können, handelt es sich um eine von vielen Diskriminierungsfragen deren adäquate gesellschaftliche Bearbeitung anstünde. Die dritte potentielle Risikogruppe, die in der Diskussion den meisten Raum einnimmt, ist unbestimmt und umfasst „die Gesellschaft“ oder „die Menschheit“. Das Risiko für sie wird zumeist in der Aufhebung der Einzigartigkeit der Individuen auf phänotypischer Ebene gesehen (wie wäre es, wenn in einem Raum 30 gleich aussehende Menschen säßen etc.). Die Vorstellung, dass die Einzigartigkeit des Menschen in der biologischen Substanz der Doppelstrang-

DNA besteht, ist als solche erst in den letzten 30 Jahren in den Debatten um die Regulierung der Abtreibung und der Fortpflanzungsmedizin und deren Verhältnis zur Gentechnologie entwickelt worden und hat sich niedergeschlagen in Dokumenten wie dem Menschenrechtsübereinkommen zur Biomedizin des Europarates. Fraglich ist, ob diese Vorstellung angesichts etablierter biomedizinischer Technologien wie der Transplantationsmedizin überhaupt Bestand haben kann und sollte, ganz unabhängig vom Klonen (Hauskeller, 2004c). Die gelegentlich literarisch heraufbeschworenen Szenarien der Massenzüchtung von besonders „guten“, „schönen“, oder „brutalen“ und „bösen“ Menschen, Armeen von „Hitlers“ etc. werden wohl schon aus technischen Gründen kaum Wirklichkeit werden.

Wie in der Diskussion zu den Risiken der Biomedizin zunehmend betont wird, liegt die gesellschaftlichen Veränderungen durch die Biomedizin, ihre Gefahren, weniger im totalistischen Zugriff durch einzelne oder gesellschaftliche Systeme, als vielmehr darin, dass liberale Gesellschaften die Individuen auffordern, Technologie-Anwendungen je nach ihren persönlichen Präferenzen anzunehmen oder abzulehnen. So hat zum Beispiel die individuelle Verantwortung für Entscheidungen über Pränataldiagnostik und selektive Abtreibung zu einem signifikanten Rückgang von Neugeborenen mit Down Syndrom geführt, ohne dass eine Institution oder Person dies explizit vorangetrieben hätte (Stichwort „Eugenik von unten“). Diese Situation gilt parallel für alle Therapie- und Behandlungsformen. Darum geht die vermutete Gefahr einer Erosion von Werten, wenn es denn eine ist, wohl weniger vom öffentlich so präsenten „mad scientist“ aus, als vielmehr von der Verfügbarmachung und den sie begleitenden gesellschaftlichen Wertschätzungen.

6.5 Austragungsorte der Diskussion

Kernereignisse der Debatte sollen hier kurz vorgestellt werden, an welchen die unterschiedlichen Diskutanten sich vehement beteiligten und ihre Positionen öffentlich machten. Den ersten Block bilden die Stellungnahmen der DFG vom März 1999 und die „Empfehlungen der DFG zur Forschung mit menschlichen Stammzellen“ vom 3. Mai 2001, die die anfängliche und später stark modifizierte Position der deutschen Wissenschaft mit großem öffentlichem Einfluss vorstellte. Der zweite Austragungsort war das Symposium „Fortpflanzungsmedizin in Deutschland“, veranstaltet vom Bundesministerium für Gesundheit unter Andrea Fischer im Mai 2000 und das dritte die ausführliche Diskussion in deutschen Zeitungen in den letzten Jahren.

6.5.1 Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG)

Die „DFG-Stellungnahme zum Problemkreis menschliche Stammzellen“ (DFG, 1999) ist sechs Seiten lang und enthält eine knappe Darstellung des naturwissenschaftlichen Hintergrundes, eine ethische und rechtliche Beurteilung, eine Darstellung der Konsequenzen der gegenwärtigen Rechtslage für die Arbeit mit humanen Stammzellen und die Vorschläge der DFG, wie damit umgegangen werden sollte. Wichtig für die Haltung der DFG zu diesem Zeitpunkt ist, dass sie die Arbeit an primordialen Keimzellen von toten Föten für forschungstechnisch aussichtsreich erachtet. Mit dieser Annahme wird dem ESchG und der Politik konzidiert, dass sie sinnvolle Restriktionen schaffen. Abgelehnt werden explizit das Klonen, die Keimbahnmanipulation und die Erzeugung von Mensch-Tier-Chimären. Weitergehend versteht die DFG das Grundgesetz als Auftrag an die Forschung. Forschung darf nicht nur, sie muss an der Verbesserung der medizinischen Versorgung des Menschen arbeiten. Insofern sind alle Forschungsziele, die die DFG im Text benennt, nicht nur verfassungsrechtlich vertretbar, sondern geboten. Der Abschnitt „Gewinnung humaner ES Zellen und humaner EG Zellen“ erklärt, dass Forschung an embryonalen, totipotenten Zellen zwar verboten ist, nicht jedoch die Benutzung primordialer Keimzellen aus abortierten Föten. Damit hielt die DFG Stammzellforschung in Deutschland für möglich, solange sie nicht mit der Reprogrammierung solcher EG Zellen arbeitet. Obgleich die Forschung in Deutschland durch das ESchG eingeschränkt war, sah die DFG keinen dringenden Handlungsbedarf, spekulierte jedoch, ob nicht „therapeutisches“ Klonen auch in Deutschland in Zukunft vertretbar sein könnte, angesichts seines diagnostischen und therapeutischen Potentials.

Während James Thomsons Forschungsgruppe hES-Zellen aus humanen Blastozysten gewonnen hatten, hatte die Gruppe um John Gearhart 1998 (Gearhart et al., 1998) berichtet, ähnlich vielseitig einsetzbare Zelllinien aus primordialen fetalen Keimzellen entwickelt zu haben. Letztere Methode der Stammzellforschung stellte sich jedoch in den Folgejahren als wenig aussichtsreich heraus. Insofern waren wichtige Grundannahmen der Stellungnahme der DFG vom März 1999 bald überholt. Das im Text bezeichnete Dilemma zwischen Anerkennung des Grundgesetzes und des ESchG einerseits und den Forschungszielen, die als verfassungsrechtlich der Wissenschaft aufgetragen angesehen werden, andererseits, wird schnell weniger akzeptabel – und im Ausland schreitet die Forschung mit ES Zellen voran. Handlungsbedarf scheint doch gegeben, und so folgen gut zwei Jahre später die „Empfehlungen der DFG zur Forschung mit

menschlichen Stammzellen“, in denen die DFG einen Stufenplan zur Etablierung der embryonalen Stammzellforschung in Deutschland vorschlägt.

In diesen Empfehlungen lehnt die DFG das „therapeutische“ Klonen eindeutig ab (Abs.4), und hat sich auf die Ansicht verständigt, dass embryonale Stammzellen pluripotent und nicht totipotent sind (Abs. 6)⁶. Aufgrund ihrer Pluripotenz fallen hES-Zellen nicht unter das ESchG und insofern sei ihr Import erlaubt. Die Forschungsfreiheit wird in diesem Zusammenhang zu einem wichtigen Argument für die Forderung nach unbeschränkter Erlaubnis des Imports von hES-Zellen (Abs. 7). Doch auf Dauer reiche eine Importerlaubnis alleine nicht aus, um mit der internationalen Forschung Schritt halten zu können. Deshalb schlägt die DFG in Absatz 9 des Dokuments zuerst eine DFG-finanzierte Entsendung deutscher Wissenschaftler ins Ausland und in einem zweiten Schritt eine Neuverhandlung über das Lebensrecht des Embryos vor (das ja vom Gesetzgeber im Falle von Nidationshemmern und dem § 218 schon als nicht uneingeschränkt markiert worden sei). Es folgt ein Katalog von Bedingungen, der aus moralischen Gründen bei der Gewinnung von hES-Zellen in Deutschland eingehalten werden müsse. Dieser Katalog harmoniert mit dem Moralkodex, der sich von Grossbritannien ausgehend mittlerweile international weitgehend durchgesetzt hat (Hauskeller, 2005b).

Die Stellungnahme der DFG bestimmte anfangs das öffentliche Bild der Position der Wissenschaft in der Diskussion. Mit den Empfehlungen hat die DFG diesen geschützten Raum verlassen. Der Inhalt der Empfehlungen wurde sorgfältig bis zur Stunde der medienwirksam inszenierten Publikation geheim gehalten und erreichte unter anderem dadurch breite Berichterstattung. Aus Sicht des 2002 beschlossenen Stammzellgesetzes kann die Lobbyarbeit, die die DFG damals geleistet hat, als kurzfristig gescheitert angesehen werden, auch was die Freigabe des Importes angeht. Die mittelfristigen Wirkungen aber können noch nicht abgeschätzt werden.

6.5.2 „Fortpflanzungsmedizin in Deutschland“

Anhand von sieben Leitfragen diskutierten Experten verschiedener Disziplinen auf dem so betitelten Symposium, veranstaltet vom Bundesgesundheitsministerium, zentrale Fragen der

6 Diese Position habe ich als „traditional biological view“ bezeichnet, im Unterschied zu der „tissue engineering perspective“, in der sie totipotent sind in dem Sinne, dass sich daraus alle Gewebearten des Organismus erzeugen lassen, siehe Hauskeller 2005a.

Fortpflanzungsmedizin. Anliegen der damaligen Ministerin Andrea Fischer war ein Gesetzesvorschlag zu einer einheitlichen und systematischen Regelung der Reproduktionsmedizin. Vorab wollte sie einen Überblick über die Fragen, Probleme und Einstellungen gewinnen. Dementsprechend stammten die Redebeiträge von Experten und Vertretern aller relevanten akademischen Disziplinen, von Betroffenen und Patientengruppen, sowie von anderen Berufsgruppen wie zum Beispiel dem Deutschen Hebammenverband. Bezüglich des Auditoriums kann verkürzt gesagt werden, „alle“ waren da. Die Diskussionen präsentierten ein sehr facettenreiches Spektrum von Meinungen, das weder disziplinar, konfessionell, ideologisch oder statusbezogen in eine einfache Ordnung gebracht werden könnte.

Zwei der Leitfragen waren direkt relevant für das Stammzellthema: Leitfrage 1 „Welchen Status hat ein Embryo in vitro?“ und Leitfrage 6 „Welche Möglichkeiten und Grenzen bestehen für die Gewinnung und Verwendung humaner embryonaler Stammzellen?“

In einer Rede am 26. Mai, direkt nach dem Symposium, fasst Christa Nickels, damals Parlamentarische Staatssekretärin im Bundesgesundheitsministerium, die Ergebnisse der Diskussion zu diesen Leitfragen zusammen und sagt zum Status des Embryos in vitro: „Gesellschaftliche Einigkeit wird für die dabei unausweichlichen politisch-rechtlichen Entscheidungen wohl nicht erreicht werden können. Unser Eindruck von der Debatte der letzten drei Tage ist aber so, dass hier Konsens darüber gefunden wurde, dass die Wertentscheidungen unseres Grundgesetzes und unserer Gesellschaftsordnung einen sehr weitreichenden Schutz des Embryos verlangen.“ Bezüglich der Leitfrage 6 sagt sie: „Die derzeitige Forschungsarbeit mit menschlichen embryonalen Stammzellen eröffnet möglicherweise spektakuläre Möglichkeiten in der modernen Transplantationsmedizin. Die Behandlung dieses Themas heute morgen hat jedoch auch gezeigt, dass über das Ausmaß dieser Möglichkeiten noch wissenschaftlicher Streit besteht.“ (BerliNews, 2000)

Das Besondere an diesem Symposium waren jedoch nicht seine direkten Ergebnisse, sondern die beispielhafte Breite an Positionen, die auf dem Podium vertreten waren. Freilich wurden die vorgegebenen Leitfragen diskutiert, aber es waren eben auch andere als die prominenten Vertreter aus Medizin, Wissenschaft, Recht und Bioethik zur Darstellung ihrer Sicht eingeladen. Der Schwerpunkt der nachfolgenden Mediendiskussion lag wieder auf den oben beschriebenen Themen und wurde von den Experten aus Philosophie, Recht und Wissenschaft geführt. Das Symposium jedoch hatte den oft ungehörten Positionen eine Stimme gegeben, den

Soziologinnen, Hebammen, Patientinnen – den Frauen. Dadurch kamen abweichende Standpunkte in die Diskussion. Zunehmend häufiger werden inzwischen Fragen nach dem Materialverbrauch der Stammzellforschung gestellt, besonders bezüglich des Verbrauchs menschlicher Eizellen für das Klonen, aber auch zum Beispiel der Jagd nach möglichst jungen adulten Stammzellen, wie sie unter der Geburt aus dem Nabelschnurblut gewonnen werden können (Schneider, 2001; Haker, 2005; Manzei, 2005). Während die erstere Frage im Rahmen des üblichen Problemfeldes liegt, nämlich der hES-Zell-Forschung, überschreitet die Problematisierung der Praktiken und der politischen Ökonomie der Stammzellgewinnung aus adulten Körpern explizit diesen nahezu weltweit akzeptierten Diskursrahmen. Gleiches gilt für eine andere Frage, die aufgrund ihrer immanenten Logik keine annehmbare Lösung erwarten lässt, nämlich die nach der Zielorientierung der Stammzellforschung. Im Westen verbreiteten und sozialpolitisch problematischen Zivilisationskrankheiten gilt das Hauptaugenmerk. Probleme der Zugänglichkeit solcher Therapien für Menschen in ärmeren Teilen der Welt, wie auch solche nach der Moral der generellen forschungsmedizinischen Orientierung wurden formuliert, fanden Zustimmung, blieben aber bislang ohne Einfluss auf eine grundsätzliche Umorientierung der Debatte. All diese Überlegungen haben mit dem Verhältnis und der Bestimmung von Menschenwürde und Forschungsfreiheit zu tun. Sie sind jedoch aufgrund ihrer Verflechtung mit ökonomischen und machtpolitischen Fragen unbequem und anders, aber nicht weniger konfliktrichtig als die Frage nach dem moralischen Status früher Embryonen.

6.5.3 Die „Zeitungsdiskussion“

Das Symposium kann, wie auch die Diskussion zu Sloterdijks Rede Regeln für den Menschenpark (Sloterdijk, 1999), als ein Stimulator der Debatte gelten, die sich mit ungeheurer Dichte vor allem in der ersten Hälfte des Jahres 2001, aber auch noch lange danach, quer durch die deutsche Medienlandschaft zog und die mit großer Aufmerksamkeit von Seiten der Akteure wie eines breiten Publikums bedacht wurde. Die breite öffentliche Präsentation und Beteiligung an dieser bio- und medizinethischen und moralphilosophischen Reflexion ist ein besonderes Phänomen der deutschen Diskussion. Ihre Intensität und Grundsätzlichkeit ist wohl nur zu verstehen, wenn man sich die Spannung bewußt macht, die besteht zwischen der Schuld an und dem Entsetzen über die Verbrechen des Nationalsozialismus und der Bedeutung, die avancierte Wissenschaft, schon historisch auch gerade in Biologie und Medizin, für das deutsche Selbstverständnis haben.

Der Diskurs und die wechselseitigen Referenzen, die in Artikeln und Serien insbesondere in DIE ZEIT und in der Frankfurter Allgemeinen Zeitung (FAZ) aber auch in anderen regionalen und überregionalen Tages- und Wochenblättern stattfand, war wieder deutlich von den Zentralthemen Menschenwürde, Forschungsfreiheit, Therapienutzen und Missbrauchsgefahr dominiert.⁷ Insofern kann sie auch als diskursstrategisch erneute Marginalisierung jener Dimensionen des Ethikkomplexes Stammzellenforschung verstanden werden, die stärker mit ökonomischen, pragmatischen oder Gerechtigkeitsfragen verbunden sind. Die Einmütigkeit, mit der in dieser Diskussion Biologie, Medizin, Recht, Theologie und Bioethik die Embryonennutzung zum zentralen Problem ernennen und ökonomische, anthropologische und sozialetische Probleme der Gerechtigkeit und des sich verändernden Menschenbildes und Sozialgefüges ausblenden, ist bedenkenswert und bedarf der kritischen Analyse.

6.6 Abschließende Überlegungen zur Ethikdebatte in Deutschland

Die Motive für die Fixierung auf Embryonenforschung und Klonierung sind in den beteiligten Gruppen unterschiedlicher Art. Prinzipiell ist eine objektive Feststellung des moralischen Status menschlicher Embryonen nicht möglich (Hauskeller, 2000; Hauskeller, 2001) und insofern die Diskussion, so intensiv sie auch ist, in dieser Frage zum Scheitern verurteilt. Warum also wird sie seit 20 Jahren immer wieder so heftig geführt? Feministische Autorinnen haben dazu einige plausible Hypothesen vorgetragen (z. B. Satzinger, 1988; Kollek, 1999; Kollek, 2000). Strukturell ist klar, dass solange diese Fragen dominieren, andere relativ unbedeutend erscheinen. Davon profitiert besonders die deutsche Stammzellforschung, die das Übel nicht begeht. Der internationale Kampf um die schnellstverfügbaren, besten Therapien aus Stammzellen fordert gewisse Opfer an Genauigkeit und wissenschaftlicher Ergründung der scheinbaren Erfolge. Im Sommer 2001 erschien vielen Bodo Strauers Publikation seiner Behandlung von nur sechs Herzinfarktpatienten mit autologen, adulten Stammzellen medizinethisch skandalös. Heute ist Deutschland in diesem Bereich in Europa führend und weltweit mit an der Spitze. Die Medizin mit adulten Stammzellen schreitet schnell in Richtung Patientenversuche voran, auch in Deutschland, obwohl und weil noch völlig ungeklärt ist, zum Beispiel im Fall der Herzinfarkt-

⁷ Eine Auswahl wichtiger Beiträge ist versammelt in Geyer 2001.

Behandlung, ob die scheinbare, aber kaum messbare Kräftigung der Infarktzone überhaupt und wenn, in welcher Weise, von der Stammzellgabe ausgelöst wird. Die Risiken der Entnahme der Stammzellen aus dem Hüftknochen des Patienten in einem akuten Krankheitszustand gelten dagegen als unbedeutend.

Die pragmatische Wirkung der Fokussierung auf die Fragen der Embryonenforschung und des Klonens ist, dass sich die Forschung relativ ungehindert und unbeobachtet entwickeln kann, solange sie die „bedeutenden“ Regeln nicht verletzt. Da die Stammzellforschung ein Amalgam von Biologie und Medizin ist und sich aus Teilprojekten in den beiden Disziplinen heraus entwickelt hat, verschwimmen in ihr die Grenzen der Zurechenbarkeit der ärztlichen Standesethik. Die enge Verquickung beider Disziplinen teilt die Geltung des moralischen Kodex auf in manche, die daran gebunden sind, und andere, die es nicht sind, obgleich die Rhetorik der Rechtfertigung dieser Forschung diese allein in ihrem medizinischen Nutzen ansiedelt. Das mag sich auf Forschungsdesigns auswirken und auf die Schnelligkeit der Übertragung von Laborergebnissen in die klinische Arbeit – wobei gegenwärtig die medizinische Seite stärker nach Anwendung drängt, während die biologische noch nach Verständnis sucht. Es darf jedoch keine Rolle spielen in der Klinik selbst, obgleich auch hier eine akzidentelle Schwächung der Bedeutung des Gebotes des nihil nocere vorzuliegen scheint.

Eine tatsächliche Gefahr des internationalen Rennens um die ersten Preise in der Stammzellforschung besteht darin, dass diese Forschung, gleich ob im Bereich der autologen adulten Stammzellbehandlung oder der hES-Zell-Therapien, an Patienten ausprobiert wird, noch ehe ihre Wirkungen im Körper gut genug erkannt sind. Dies ist ein weiterer Aspekt, in welchem sich die Medizin-Biologie Mischung in der Stammzellforschung auswirkt. So wird aus medizinischer Sicht wenig gewonnen durch die Einhaltung der üblichen Tierversuchsreihe Maus, Ratte oder Hase, Schwein, Mensch (je nach Problemstellung), und wenig riskiert mit autologen Anwendungen adulter Stammzellen zum Beispiel bei akuten Herz-Gefäß-Erkrankungen. Die Biologie betont demgegenüber oft das Kenntnisideal der Wissenschaft und fordert zuerst mehr molekulare Grundlagenforschung, hat aber lange die immunologischen Probleme der Behandlung mit hES-Zellen unterschätzt. Gesetzeslage und damit zusammenhängend die Richtung der Wissenschafts-Investitionen haben in verschiedenen Ländern unterschiedliche Forschungsschwerpunkte und Wissenskomplexe zum Feld Stammzellforschung hervorgebracht, die in der internationalen Wissenschaft und in der Erschließung von Märkten konkurrieren. Die daraus sich

ergebende Gefahr der übereilten klinischen Versuche mit Stammzellen adulten oder embryonalen Typs ist gegenwärtig sehr real und bedarf eingehender Untersuchung.

Ethische Fragen zur Stammzellforschung beziehen sich neben der Embryonenforschung und Klonierung auf die (absehbaren) Folgen einer kommerziellen Verwertung von menschlichen Zellen aus dem Knochenmark, aus Nabelschnurblut, aus den Eierstöcken, und aus vielen anderen Geweben des Körpers erwachsener Menschen unter Bedingungen des globalisierten neoliberalen Kapitalismus. Diese marginalisierten ethischen Probleme scheinen gerade aufgrund der Forschungspraktiken mit hES-Zellen international an Bedeutung zu gewinnen. Hinweise darauf geben die Berichte im Jahr 2004 zum britischen Import menschlicher Eizellen aus rumänischen IVF-Kliniken oder der jüngste Skandal um die Einhaltung ethischer Richtlinien in einem südkoreanisches Labor, das Eizellen von Labormitarbeiterinnen für seine Klonversuche einsetzte (Cyranoski et al., 2005) und gegenwärtig in einen Prozess um wissenschaftlichen Betrug verwickelt ist.

Die Stammzellforschung hat eine ganze Reihe neuer medizinischer und biologischer Forschungswege eröffnet. Dazu gehört zum Beispiel die nun angedachte Erweiterung der herkömmlichen Transplantationsmedizin um eine Knochenmarkspende vom Organspender, die nach ersten Schlagzeilen zur Hand- und Gesichtstransplantation zum zukünftigen Versuchsrepertoire gehören könnte. Auch hat sie das herkömmliche biologischen Verständnis von frühen Entwicklungsprozessen, sowohl was deren Unumkehrbarkeit als auch was ihre Fragilität und Abhängigkeit von Umgebungsbedingungen angeht, verstärkt und damit Dogmen, auf denen auch die Praktiken der IVF und Präimplantationsdiagnostik beruhen, ins Wanken gebracht. Vorstellungen wie die von der genomischen Identität der Person, biologisch schon immer unhaltbar, werden medizintechnologisch ausgehebelt und neue Diskussionen zum Selbstverständnis des Menschen und der Integrität seines Körpers unumgänglich. Ebenso wird deutlich, dass die Bedingungen der in-vitro Befruchtung und Kultivierung von Embryonen und das Gelingen ihrer Einnistung in die Gebärmutter einer Frau extrem störanfällige Prozesse sind. Die ES Zellforschung, die durch die IVF erst möglich wurde, re-problematisiert derzeit indirekt die IVF als Therapie und ruft dazu auf, sie zu verbessern oder als allgemeine Behandlung von Sterilität zu überdenken.

Die Spannung zwischen den in Deutschland vertretenen moralischen und sozialetischen Diskurspositionen und ihr jeweiliger Marktwert sind abhängig von vielen Parametern, zu denen insbesondere therapeutische Erfolge der Stammzellforschung gehören. Diese gibt es bislang

nicht in nennenswerter Weise und sie sind aus heutiger Sicht noch nicht zuverlässig vorhersagbar. Aus eben diesem Grunde jedoch ist es wichtig, dass Forschungspraktiken und Forschungsgegenstände mit dem kulturellen und moralischen Selbstverständnis der Menschen in Einklang bleiben. Wissenschaft muss Rechenschaft geben können und lernen in den komplexen Strukturen einer pluralen Gesellschaft ihre Ziele und Methoden zu kommunizieren und sich darüber zu verständigen.

7. Rechtliche Rahmenbedingungen der Forschung mit menschlichen Embryonen und embryonalen Stammzellen

(Professor Dr. Jochen Taupitz, Universität Mannheim)

In Deutschland wird der rechtliche Rahmen für die Forschung an embryonalen Stammzellen durch zwei Gesetze vorgegeben: Das Embryonenschutzgesetz (EschG) und das Stammzellgesetz (StZG). Beide Gesetze beschränken die in der Verfassung niedergelegte Freiheit der Forschung und bedürfen daher einer verfassungsrechtlichen Rechtfertigung; nur kollidierende Grundrechte Dritter und andere mit Verfassungsrang ausgestattete Rechtswerte sind imstande, die Wissenschaftsfreiheit zu begrenzen. Im Folgenden werden einleitend die beiden Gesetze vorgestellt und dahingehend betrachtet, welche Forschungen in Deutschland aufgrund des aktuellen Rechtsrahmens erlaubt und welche verboten sind. Anschließend werden das Embryonenschutz- und das Stammzellgesetz hinsichtlich jener Verfassungsbestimmung analysiert, die ihnen die verfassungsrechtliche Rechtfertigung geben. Hierbei wird deutlich, dass der kategoriale Schutz des Embryos, wie er im EschG und im StZG verankert ist, keineswegs automatisch aus der Verfassung und hier insbesondere aus Art. 1 Abs. 1 GG (Garantie der Menschenwürde) oder Art. 2 Abs. 2 S. 1 GG (Recht auf Leben und körperliche Unversehrtheit) folgt.

7.1 Die einfachgesetzliche Lage

7.1.1 Das Embryonenschutzgesetz

7.1.1.1 Zielsetzung

Die maßgeblichen Regeln zur Gewinnung embryonaler Stammzellen aus menschlichen Embryonen enthält das Embryonenschutzgesetz (EschG), das am 1. Januar 1991 in Kraft getreten ist (BGBl. I S. 2746). Sinn und Zweck dieses Strafgesetzes ist es, mögliche Missbräuche neuer Fortpflanzungstechniken zu verhindern (Keller 1992a). Das Embryonenschutzgesetz verfolgt daher zwei Hauptziele: Zum einen soll die missbräuchliche Anwendung der künstlichen Befruchtung verhindert werden. Zum anderen soll der missbräuchliche Zugriff auf den

extrakorporal erzeugten oder verfügbar gewordenen Embryo ausgeschlossen werden (Günther 1992)¹. In Bezug auf die Forschung mit Embryonen bedeutet dies:

- ▶ Die extrakorporale Erzeugung von Embryonen soll auf Fortpflanzungszwecke beschränkt werden.
- ▶ Die Entstehung überzähliger Embryonen soll bereits im Vorfeld verhindert werden.
- ▶ Die Verwendung des extrakorporal verfügbaren Embryos zu anderen als Fortpflanzungszwecken soll ausgeschlossen werden.

7.1.1.2 Der Embryo im Sinne des Embryonenschutzgesetzes

Als Embryo im Sinne des Gesetzes gilt gemäß § 8 Abs. 1 ESchG bereits die befruchtete, entwicklungsfähige Eizelle vom Zeitpunkt der Kernverschmelzung an. Der Gesetzgeber ging davon aus, dass mit der Kernverschmelzung innerhalb der befruchteten Eizelle, das heißt mit dem Zusammentreten der beiden Chromosomensätze aus Ei- und Samenzelle, menschliches Leben entsteht (Keller 1992b)².

Als Embryo gilt darüber hinaus jede einem Embryo entnommene totipotente Zelle, die sich bei Vorliegen der entsprechenden weiteren Voraussetzungen teilen und zu einem Individuum entwickeln kann (§ 8 Abs. 1 ESchG).

Embryonale Stammzellen werden aus menschlichen Embryonen im 60-120-Zellstadium isoliert. In diesem Stadium besteht nach heutiger Erkenntnis keine Totipotenz mehr. Somit sind **embryonale Stammzellen keine Embryonen** im Sinne des § 8 Abs. 1 ESchG. Dennoch könnten im Zusammenhang mit der *Gewinnung* von embryonalen Stammzellen die Vorschriften des ESchG verletzt werden, die daher im Folgenden näher erläutert werden.

7.1.1.3 Die einzelnen Verbotstatbestände des Embryonenschutzgesetzes

Eines der entscheidenden Ziele des Embryonenschutzgesetzes ist es, die gezielte Erzeugung menschlicher Embryonen zu Forschungszwecken zu verhindern. Darum schließt das Gesetz in

1 Missbräuchliche Zugriffe sind auch zu Lasten von Embryonen denkbar, die zwar auf natürliche Weise gezeugt, jedoch dem mütterlichen Eileiter oder der Gebärmutter entnommen worden sind.

2 Vorausgesetzt wird allerdings, dass die Eizelle entwicklungsfähig ist, was in den ersten 24 Stunden nach der Kernverschmelzung widerlegbar vermutet wird (§ 8 Abs. 2 ESchG). Das Gesetz bezieht also richtigerweise nur den lebenden Embryo in seinen Schutzbereich ein (Keller 1992c).

§ 1 Abs. 1 Nr. 2 ESchG die künstliche Befruchtung zu jedem anderen Zweck als der Herbeiführung einer Schwangerschaft aus. Damit ist die Erzeugung menschlicher Embryonen zu Zwecken der Stammzellgewinnung strafrechtlich untersagt.

Gleichzeitig ist es gemäß § 1 Abs. 1 Nr. 5 ESchG verboten, mehr Eizellen einer Frau zu befruchten, als ihr innerhalb eines Zyklus übertragen werden sollen. § 1 Abs. 1 Nr. 3 ESchG bestimmt, dass einer Frau innerhalb eines Zyklus nicht mehr als drei Embryonen übertragen werden dürfen. Der Gefahr einer Verwendung überzähliger Embryonen zu Forschungszwecken soll damit bereits im Vorfeld begegnet werden.

Jede Verwendung des Embryos, die nicht seiner Erhaltung dient, ist verboten (§ 2 Abs. 1 ESchG). Folglich ist auch die Entnahme von Stammzellen aus der inneren Zellmasse des Embryos untersagt, da sie zur Zerstörung des Embryos führt. Verboten ist selbst die Entnahme einzelner Stammzellen, die den embryonalen Gewebeverband zwar weitgehend intakt lässt, aber nicht der Erhaltung des Embryos dient. Dasselbe Verbot gilt auch bezogen auf sog. überzählige Embryonen.

§ 2 ESchG verbietet neben der Verwendung auch die Abgabe und den Erwerb eines Embryos zu einem nicht seiner Erhaltung dienenden Zweck. Das Gesetz unterscheidet nicht zwischen dem Erwerb von Embryonen aus Deutschland und aus dem Ausland; die Frage, woher der Embryo stammt, ist für die Strafbarkeit nicht relevant (Wolfrum, 2002; Schroth, 2002). Somit ist auch der Import von Embryonen aus dem Ausland zu Forschungszwecken untersagt.

Die Entnahme einer totipotenten Zelle aus einem Embryo wird darüber hinaus von dem Verbot des Klonens gemäß § 6 Abs. 1 ESchG erfasst. Danach wird mit Freiheitsstrafe bis zu fünf Jahren oder mit Geldstrafe bestraft, „wer künstlich bewirkt, dass ein menschlicher Embryo mit der gleichen Erbinformation wie ein anderer Embryo, ein Fötus, ein Mensch oder ein Verstorbener entsteht“, und zwar unabhängig davon, ob es zur Einpflanzung in die Gebärmutter kommen soll. Durch die Entnahme einer totipotenten Zelle aus einem Embryo entstehen rechtlich zwei Embryonen, da auch die totipotente Zelle als Embryo definiert ist.

Es bestehen aber neuere Methoden der Gewinnung embryonaler Stammzellen, die aufgrund einer Lücke im Embryonenschutzgesetz nicht verboten sind, wie zum Beispiel das Verfahren des **somatischen Kerntransfers**, welches beim sog. therapeutischen Klonen Anwendung findet. Beim Kerntransfer-Verfahren wird der Kern einer adulten Körperzelle in eine entkernte Eizelle übertragen und zur Entwicklung gebracht. Dabei entsteht kein „menschlicher Embryo“ im

Sinne des Embryonenschutzgesetzes. Denn gemäß § 8 ESchG gilt als Embryo im Sinne dieses Gesetzes „bereits die befruchtete, entwicklungsfähige menschliche Eizelle vom Zeitpunkt der Kernverschmelzung an, ferner jede einem Embryo entnommene totipotente Zelle, die sich bei Vorliegen der dafür erforderlichen weiteren Voraussetzungen zu teilen und zu einem Individuum zu entwickeln vermag“. Beim Kerntransfer-Verfahren entsteht kein Embryo durch Befruchtung einer Eizelle und anschließende Kernverschmelzung. Auch wird hier keinem Embryo eine totipotente Zelle entnommen.

Eine Gegenauffassung legt § 8 ESchG hingegen über dessen Wortlaut hinaus weiter aus. Sie verweist darauf, dass das Wort „bereits“ in § 8 ESchG nicht rein zeitlich zu verstehen, sondern im Sinne von „auch“ zu interpretieren sei. Damit sei jede entwicklungsfähige Eizelle und somit auch die befruchtete Eizelle vom Zeitpunkt der Kernverschmelzung an gemeint. Ein Stadium der Entwicklung, das dem Stadium nach der Befruchtung entspricht, könne die Eizelle auch im Wege der Kerntransplantation erreichen. Für diese Auslegung wird zudem der Wille des Gesetzgebers angeführt, der auch das Klonen im Wege der Kerntransplantation verbieten wollte.

Diese Auffassung ist jedoch abzulehnen, da es insbesondere mit Blick auf die strengen Anforderungen des strafrechtlichen Bestimmtheitsgebotes (Art. 103 II GG) nicht möglich ist, das Fehlen einer Kernverschmelzung und eines daraus sich entwickelnden Embryos mit teleologischen Erwägungen zu überwinden.

Eine weitere Methode der Gewinnung embryonaler Stammzellen, die nicht von den Verboten des Embryonenschutzgesetzes erfasst wird, ist die Reprogrammierung einer Zelle oder eines Zellkerns bis zum Stadium der Totipotenz. Voraussetzung ist, dass die totipotente Zelle nicht die gleiche Erbinformation wie ein anderer Embryo, Fötus, Mensch oder Verstorbener besitzt. Dies wird erreicht, indem man etwa die Zelle oder den Zellkern vor der Reprogrammierung gezielt genetisch verändert. Eine Strafbarkeit wegen Klonens scheidet dann aus. Im Ergebnis lassen sich somit durch die Reprogrammierung in Verbindung mit einer genetischen Manipulation straflos totipotente Zellen zu Zwecken der Stammzellgewinnung erzeugen (Taupitz et al. 2002).

Ob die **Transplantation eines menschlichen Zellkerns in eine tierische unbefruchtete Eizelle** zum Zwecke des therapeutischen Klonens ebenfalls vom Embryonenschutzgesetz erfasst wird, ist zweifelhaft. Gemäß § 7 Abs. 1 Nr. 3 ESchG ist nur die Erzeugung eines differenzierungsfähigen Embryos durch Befruchtung einer menschlichen Eizelle mit dem Samen eines Tieres oder

durch Befruchtung einer tierischen Eizelle mit dem Samen eines Menschen verboten. Eine Befruchtung findet jedoch beim Zellkerntransfer nicht statt. Die genannte Methode ist somit nicht als strafbare „Chimären-“ oder „Hybridbildung“ im Sinne des ESchG anzusehen. Es könnte zwar ein Verstoß gegen das Verbot des Klonens vorliegen, wenn das Produkt aus tierischer Eizellhülle und menschlichem Zellkern als menschlicher Embryo im Sinne des § 6 Abs. 1 ESchG bezeichnet werden könnte. Dies wird jedoch aufgrund der Verwendung des tierischen Materials bezweifelt. Zudem lässt sich eine Strafbarkeit auch hier umgehen, wenn die Zelle oder der menschliche Zellkern genetisch verändert wird.

Auf die Einfuhr und Verwendung embryonaler Stammzellen findet das Embryonenschutzgesetz keine Anwendung, da, wie unter 7.1.1.2 dargelegt, Stammzellen keine Embryonen sind. Insbesondere gilt das Verbot der Abgabe und des Erwerbs sowie der Verwendung menschlicher Embryonen gemäß § 2 Abs. 1 ESchG nicht für embryonale Stammzellen. Somit ist auch der Import embryonaler Stammzellen aus dem Ausland nicht nach dem Embryonenschutzgesetz untersagt. Der Import ist allerdings dann strafbar, wenn der Importeur einen ausländischen Forscher zur Stammzellgewinnung, das heißt zu einer Zerstörung menschlicher Embryonen, anstiftet oder ihn dabei unterstützt (Anstiftung oder Beihilfe).

7.1.2 Das Stammzellgesetz

7.1.2.1 Zielsetzung und Grundkonzept

Der Deutsche Bundestag hat am 28. Juni 2002 das Gesetz zur Sicherstellung des Embryonenschutzes im Zusammenhang mit der Einfuhr und Verwendung menschlicher embryonaler Stammzellen (Stammzellgesetz) verabschiedet (BGBl. I, S. 2764). Mit dem Stammzellgesetz sollte eine gesetzliche Regelung für die Einfuhr und Verwendung embryonaler Stammzellen getroffen werden, die nicht in rechtlichem und ethischem Wertungswiderspruch zum hohen Schutzniveau des Embryonenschutzgesetzes steht. Gleichzeitig sollte mit dem Stammzellgesetz der Forschungsfreiheit und den Interessen kranker Menschen an der Entwicklung neuer Therapien angemessen Rechnung getragen werden (Deutscher Bundestag 2002b; dazu Catenhusen 2003). Zweck des Stammzellgesetzes ist es,

- ▶ die Einfuhr und Verwendung embryonaler Stammzellen grundsätzlich zu verbieten (§ 1 Nr. 1 StZG).

- ▶ zu vermeiden, dass von Deutschland aus eine Gewinnung embryonaler Stammzellen oder eine Erzeugung von Embryonen zur Gewinnung embryonaler Stammzellen veranlasst wird (§ 1 Nr. 2 StZG). Das in Deutschland geltende Verbot des Embryonenverbrauchs soll auch hinsichtlich der Gewinnung von embryonalen Stammzellen im Ausland seine Wirkung entfalten (Deutscher Bundestag 2002b).
- ▶ die Voraussetzungen zu bestimmen, unter denen die Einfuhr und die Verwendung embryonaler Stammzellen ausnahmsweise zu Forschungszwecken zulässig sind (§ 1 Nr. 3 StZG).

Einfuhr und Verwendung embryonaler Stammzellen sind grundsätzlich verboten (§ 4 Abs. 1 StZG) und nur unter bestimmten Voraussetzungen erlaubt (§§ 4, 6 StZG). Jede Einfuhr und jede Verwendung embryonaler Stammzellen erfordert eine Genehmigung durch die zuständige Behörde. Die Einfuhr oder Verwendung embryonaler Stammzellen ohne Genehmigung ist strafbar (§ 13 StZG).

Das Stammzellgesetz enthält zum Einen Genehmigungsvoraussetzungen, die die Gewinnung der embryonalen Stammzellen im Ausland betreffen. Zum Anderen enthält das Gesetz Genehmigungskriterien, die die anschließende Einfuhr und Verwendung der bereits etablierten embryonalen Stammzellen im Inland betreffen.

7.1.2.2 Voraussetzungen hinsichtlich der Stammzellgewinnung im Ausland

Zentraler Gesichtspunkt des Gesetzes ist die Stichtagsregelung des § 4 Abs. 2 Nr. 1 lit. a StZG: Embryonale Stammzellen dürfen nur importiert werden, wenn zur Überzeugung der Genehmigungsbehörde feststeht, dass die embryonalen Stammzellen in Übereinstimmung mit der Rechtslage im Herkunftsland dort vor dem 1. Januar 2002 gewonnen wurden und in Kultur gehalten werden oder im Anschluss daran kryokonserviert gelagert werden (embryonale Stammzell-Linie). Durch die Stichtagsregelung soll jede von Deutschland ausgehende Gefährdung menschlicher Embryonen im Ausland verhindert werden. Es sollen nur solche Stammzellen importiert und verwendet werden, deren Gewinnung in keinerlei Zusammenhang mit der deutschen Forschung stehen kann.

Zudem dürfen für die Stammzellgewinnung nur überzählige Embryonen verwendet werden, die im Wege der extrakorporalen Befruchtung zum Zwecke der Herbeiführung einer

Schwangerschaft erzeugt worden sind, jedoch nicht für diesen Zweck verwendet wurden; es dürfen darüber hinaus keine Anhaltspunkte vorliegen, dass dies aus Gründen erfolgte, die an den Embryonen selbst liegen (§ 4 Abs. 2 Nr. 1 lit. b StZG). Durch diese Regelung wird gewährleistet, dass keine Embryonen für die Stammzellgewinnung verwendet wurden, die zu Forschungszwecken erzeugt worden sind. Als wichtiges Indiz für die Überzähligkeit der verbrauchten Embryonen soll die zwischenzeitliche Kryokonservierung gelten. Mit der Regelung wird zudem die Einfuhr und Verwendung von solchen Stammzellen ausgeschlossen, die im Wege des therapeutischen Klonens gewonnen wurden, da solche Embryonen nicht durch künstliche Befruchtung erzeugt worden sind.

Für die Überlassung der Embryonen zu Zwecken der Stammzellgewinnung darf kein Entgelt oder sonstiger geldwerter Vorteil gewährt oder versprochen worden sein (§ 4 Abs. 2 Nr. 1 lit. c StZG). Mit dieser Vorschrift soll vor allem sichergestellt werden, dass die Entscheidung der genetischen Eltern, den Embryo der Forschung zu überlassen, freiwillig erfolgt ist (wobei allerdings in Zweifel zu ziehen ist, dass die Gewährung eines finanziellen Vorteils tatsächlich von vornherein die Freiwilligkeit beseitigt).

Schließlich ist die Genehmigung zu versagen, wenn die Gewinnung der embryonalen Stammzellen offensichtlich im Widerspruch zu tragenden Grundsätzen der deutschen Rechtsordnung erfolgt ist (§ 4 Abs. 3 S. 1 ESchG). Die Versagung der Genehmigung kann jedoch nicht damit begründet werden, dass die Stammzellen aus menschlichen Embryonen gewonnen wurden.

Für die Zulässigkeit der Einfuhr und Verwendung embryonaler Stammzellen gem. § 4 Abs. 2 StZG war gemäß dem Stammzellgesetz vorausgehenden – allerdings formalrechtlich nicht bindenden – Beschluss des Bundestages ursprünglich ein Einwilligungserfordernis der Keimzellspender („Eltern“) vorgesehen (Taupitz 2002). Hiervon wurde jedoch abgesehen, da man davon ausging, dass das Erfordernis der Einhaltung des geltenden Rechts im Herkunftsland bei der Stammzellgewinnung ausreichend sei. Zudem sollte nicht der Eindruck entstehen, das Schicksal entwicklungsfähiger Embryonen hänge allein vom Willen der „Eltern“ ab (Eser et al. 2003).

Das Erfordernis einer Einwilligung der „Eltern“ für die Verwendung von embryonalen Stammzellen fällt auch nicht unter „tragende Grundsätze der deutschen Rechtsordnung“ im Sinne von § 4 Abs. 3 StZG; daher ist eine fehlende Einwilligung kein Ausschlussgrund. Allerdings verstößt eine entsprechende Verwendung gegen den ausdrücklichen Willen der Eltern gegen die genannten Grundsätze und ist daher verboten (Eser et al. 2003).

7.1.2.3 Voraussetzungen hinsichtlich der Stammzellforschung im Inland

Das Stammzellgesetz stellt Voraussetzungen für die Einfuhr und für die Verwendung der embryonalen Stammzellen im Inland auf, nachdem sie (den vorstehenden Kriterien entsprechend) im Ausland gewonnen worden sind. Es regelt hingegen nicht die *Gewinnung* embryonaler Stammzellen im Inland. Deren Unzulässigkeit folgt aus dem Embryonenschutzgesetz.

Einfuhr und Verwendung embryonaler Stammzellen sind nur zu Forschungszwecken zulässig (§ 4 Abs. 2 StZG). Das Gesetz schließt den Import embryonaler Stammzellen zu jedem anderen Zweck, wie beispielsweise der rein kommerziellen Nutzung, aus. Somit ist sogar die Verwendung embryonaler Stammzellen für therapeutische Zwecke untersagt, obwohl die Stammzellforschung gerade der Entwicklung neuer Therapien dienen soll. Die Beschränkung des Stammzellimports auf Forschungszwecke wird daher zu recht als kurzfristig und widersprüchlich kritisiert (Taupitz 2002, Schroth 2002).

Bezüglich der Forschung mit embryonalen Stammzellen gilt Folgendes: Gemäß § 5 StZG dürfen Forschungsarbeiten an embryonalen Stammzellen nur durchgeführt werden, wenn wissenschaftlich begründet dargelegt ist, dass

1. sie hochrangigen Forschungszielen für den wissenschaftlichen Erkenntnisgewinn im Rahmen der Grundlagenforschung oder für die Erweiterung medizinischer Kenntnisse bei der Entwicklung diagnostischer, präventiver oder therapeutischer Verfahren zur Anwendung bei Menschen dienen (§ 5 Nr. 1 StZG) und
2. nach dem anerkannten Stand von Wissenschaft und Technik
 - a) die im Forschungsvorhaben vorgesehenen Fragestellungen so weit wie möglich bereits in Invitro-Modellen mit tierischen Zellen oder in Tierversuchen vorgeklärt sind und
 - b) der mit dem Forschungsvorhaben angestrebte wissenschaftliche Erkenntnisgewinn sich voraussichtlich nur mit embryonalen Stammzellen erreichen lässt (§ 5 Nr. 2 StZG).

Das Kriterium der Hocharrangigkeit in § 5 Nr. 1 StZG betrifft die Ziele der geplanten Forschung, während § 5 Nr. 2 StZG auf die dazu eingesetzten Mittel gerichtet ist. Zusammengefasst beruht die Regelung des § 5 StZG auf den Gesichtspunkten der Erforderlichkeit und Subsidiarität der Forschung mit embryonalen Stammzellen, was sich mit dem Begriff der Alternativlosigkeit der Forschung umschreiben lässt (Taupitz 2003a).

Die Voraussetzungen des § 5 StZG müssen vom Antragsteller nicht bewiesen werden. Ausreichend ist, dass sie wissenschaftlich begründet dargelegt sind. Der Genehmigungsbehörde kommt keine materielle (inhaltliche) Prüfungsbefugnis hinsichtlich der Genehmigungsvoraussetzungen des § 5 StZG zu. Sie hat nur zu prüfen, ob die Darlegung des Antragstellers wissenschaftlich nachvollziehbar und plausibel ist. Damit soll gewährleistet werden, dass die Genehmigungsbehörde nicht ihre eigene wissenschaftliche Beurteilung an die Stelle derjenigen des Wissenschaftlers setzt (Deutscher Bundestag 2002a; Böhmer et al. 2002).

Die Genehmigungsbehörde muss zudem die ethische Vertretbarkeit des Forschungsvorhabens überprüfen. Die Genehmigung ist nur zu erteilen, wenn die Voraussetzungen des § 5 erfüllt sind und das Forschungsvorhaben in diesem Sinne ethisch vertretbar ist (§ 6 Abs. 4 Nr. 2 StZG). Die ethische Bewertung ist also an die Kriterien der Hocharrangigkeit und Alternativlosigkeit gekoppelt. Mit dieser Rückbindung soll gewährleistet werden, dass die Behörde nicht eigenständige ethische Urteile abgibt. Die Prüfung und Bewertung sonstiger ethischer Gesichtspunkte ist ausgeschlossen. Das Gesetz stellt klar, dass es im Rahmen der ethischen Bewertung nicht um die Durchsetzung einer bestimmten wissenschaftlichen Richtung oder einer bestimmten ethischen Position geht. Es darf auch nicht geprüft werden, ob das Forschungsvorhaben in anderer Form eher ethisch vertretbar ist.

Neben der Genehmigungsbehörde muss auch die „Zentrale Ethik-Kommission für Stammzellenforschung“ (ZES) prüfen und bewerten, ob die Voraussetzungen des § 5 erfüllt sind und das Forschungsvorhaben in diesem Sinne ethisch vertretbar ist (§ 9 StZG). Die Genehmigung darf nur erteilt werden, wenn eine Stellungnahme der ZES vorliegt. Ein zustimmendes Votum der ZES wird allerdings nicht verlangt. Die Behörde hat die Stellungnahme der Ethik-Kommission bei ihrer Entscheidung zu berücksichtigen (§ 6 Abs. 5 S. 2 StZG). Sie ist jedoch nicht an das (positive oder negative) Votum der Ethik-Kommission im Rahmen ihrer eigenen Beurteilung gebunden. Der ZES kommt lediglich eine beratende Funktion zu.

Berufung, Zusammensetzung und Verfahren der ZES sind in § 8 StZG sowie in der Verordnung über die Zentrale Ethik-Kommission für Stammzellenforschung und über die

zuständige Behörde nach dem Stammzellgesetz (ZES-Verordnung – ZESV) vom 18. Juli 2002 (BGBl. 2002 I:2663 ff) geregelt. Die ZES ist interdisziplinär mit neun Sachverständigen der Fachrichtungen Biologie, Ethik, Medizin und Theologie besetzt. Vier der Sachverständigen werden aus den Fachrichtungen Ethik und Theologie, fünf aus den Fachbereichen Biologie und Medizin berufen (§ 8 Abs. 1 StZG).

7.1.2.4 Stammzelltherapien

Stammzelltherapien werden als solche weder vom Embryonenschutzgesetz noch vom Stammzellgesetz erfasst. Beide Gesetze sind vielmehr nur einschlägig, wenn im Rahmen der Therapie tatsächlich mit Embryonen beziehungsweise mit embryonalen Stammzellen gearbeitet wird. Maßgeblich sind im übrigen die allgemeinen medizinrechtlichen Grundsätze, wie sie für Heilversuche, klinische Prüfungen und die Anwendung von Therapien als Ausdruck des jeweiligen medizinischen Standards gelten.

Die Stammzelltherapie ist eine vielversprechende Behandlungsmethode, für deren sichere Durchführbarkeit jedoch noch intensive Forschung erforderlich ist. Sie hat sich auf Grundlage von hES-Zellen also noch nicht als Standard etabliert. Ausgangspunkt für die Zulässigkeit eines Heilversuchs ist, wie für jeden körperlichen Eingriff, das Selbstbestimmungsrecht des Patienten. Ein Eingriff in dessen Körper darf grundsätzlich nur mit seiner Einwilligung durchgeführt werden. Dies gilt erst recht, soweit der Eingriff – wie bei der Stammzelltherapie – im Rahmen einer neuen, noch weitgehend unerprobten Heilbehandlung durchgeführt werden soll. Dabei gilt: Je neuer die Methode ist, umso umfassender muss der Arzt den Patienten aufklären (Laufs 1999). Die Aufklärung muss unter anderem den Hinweis enthalten, dass es sich um eine neue, noch nicht ausreichend klinisch erprobte Methode handelt.

Das Stammzellgesetz erlaubt die Verwendung *embryonaler* Stammzellen ausschließlich zum Zweck eng begrenzter Forschung. So ist beispielsweise die Forschung an embryonalen Stammzellen „für die Erweiterung medizinischer Kenntnisse bei der Entwicklung ... therapeutischer Verfahren“ gem. § 5, 1. zulässig. Die tatsächliche Anwendung therapeutischer Verfahren mit embryonalen Stammzellen, etwa in Form von Heilversuchen, fällt hingegen nicht unter den Ausnahmetatbestand und ist daher untersagt. Die Durchführung von Therapien mit embryonalen Stammzellen, sollten

diese einmal hinreichend gefahrlos möglich sein, ist somit nach dem Stammzellgesetz verboten. Dieses Ergebnis zeigt – wie bereits erwähnt – eine wenig sachgerechte Inkonsistenz des Stammzellgesetzes.

Die Verwendung *adulter* Stammzellen für Stammzelltherapien fällt hingegen nicht unter das Verbot des Stammzellgesetzes und ist daher zulässig, vorausgesetzt eine wirksame Einwilligung des Patienten liegt vor.

Ebenso erlaubt ist das sog. *tissue engineering* zur Behandlung von Gewebeerlust oder -schädigung, selbst mittels ursprünglich embryonaler Stammzellen. Denn bei dieser Methode werden lediglich aus Stammzellen abgeleitete und kultivierte Zellen dem Patienten übertragen, also unmittelbar für die Therapie verwendet. Die Transplantation des gezüchteten Gewebes in das geschädigte Organ ist daher keine Verwendung von embryonalen Stammzellen im Sinne des StZG. Als „Verwendung“ ist lediglich die vorangegangene Herstellung des zu übertragenen Gewebes aus embryonalen Stammzellen einzustufen. Eine Strafbarkeit kann der deutsche Arzt, der die Transplantation vornimmt, aber vermeiden, indem er bereits hergestelltes Gewebe erwirbt. Möglicherweise kommt eine Strafbarkeit auch dann nicht in Betracht, wenn der behandelnde Arzt solches Gewebe selber im Rahmen einer Genehmigung für Forschungszwecke herstellt und anschließend weiterverwendet.

7.1.3 Fazit: Wirkung der rechtlichen Rahmenbedingungen auf die Forschung

Der Rechtsrahmen nimmt Einfluss auf die Forschungsmöglichkeiten in Deutschland. In Bezug auf die Forschung mit Embryonen verfolgt das Embryonenschutzgesetz drei Ziele: Es soll erstens die extrakorporale Erzeugung von Embryonen auf Fortpflanzungszwecke beschränken, zweitens die Entstehung überzähliger Embryonen bereits im Vorfeld verhindern und drittens ausschließen, dass extrakorporal verfügbare Embryonen zu anderen Zwecken als der Fortpflanzung genutzt werden. Obwohl embryonale Stammzellen keine Embryonen im Sinne des Embryonenschutzgesetzes darstellen, können bei ihrer Gewinnung Vorschriften aus dem Embryonenschutzgesetz verletzt werden: Untersagt ist u.a. die Erzeugung menschlicher Embryonen zur Gewinnung von Stammzellen. Verboten ist außerdem die Entnahme von totipotenten Stammzellen aus der inneren Zellmasse eines Embryos (auch bei so genannten überzähligen Embryonen), die zur Zerstörung des Embryos führt oder die nicht der Erhaltung des Embryos dient. Ebenfalls

gesetzwidrig ist eine Umgehung dieser Bestimmung durch Import von Embryonen zu Forschungszwecken. Neuere Methoden zur Gewinnung embryonaler Stammzellen sind dagegen nicht per se verboten, zum Beispiel das Verfahren des somatischen Kerntransfers, das beim so genannten therapeutischen Klonen zum Einsatz kommt, oder die Reprogrammierung einer Zelle beziehungsweise eines Zellkerns bis zum Stadium der Totipotenz. Zweifelhaft ist außerdem, ob das Embryonenschutzgesetz die Transplantation eines menschlichen Zellkerns in eine tierische unbefruchtete Eizelle zum Zwecke des therapeutischen Klonens ausschließt.

Das zweite für die Forschung wesentliche Gesetz, das Stammzellgesetz, regelt zusätzlich speziell die Einfuhr und Verwendung von menschlichen Stammzellen. Beides ist nur im Ausnahmefall und nur zu Forschungszwecken erlaubt. Erforderlich ist in jedem Fall eine behördliche Genehmigung. Eine Importerlaubnis wird nur bezüglich solcher Stammzell-Linien erteilt, die vor dem Stichtag 1. Januar 2002 in Einklang mit der Rechtslage im Herkunftsland gewonnen wurden. Für die Stammzellgewinnung dürfen ferner nur so genannte überzählige Embryonen verwendet worden sein. Zudem ist die Einfuhr und Nutzung von Stammzellen untersagt, die nicht auf dem Weg der Befruchtung, sondern zum Beispiel auf dem Weg des therapeutischen Klonens gewonnen wurden. Die Beschränkung des Einsatzes embryonaler Stammzellen auf die Forschung schließt therapeutische und kommerzielle Nutzungen aus. Dies widerspricht dem zentralen Ziel der Stammzellforschung, neue Therapieansätze zu entwickeln.

7.2 Die verfassungsrechtlichen Vorgaben

Es stellt sich die Frage, inwieweit die Regelungen des Embryonenschutzgesetzes und des Stammzellgesetzes verfassungsrechtlich zu rechtfertigen oder vielleicht sogar verfassungsrechtlich geboten sind. Eine verfassungsrechtliche Rechtfertigung ist erforderlich, da die genannten Gesetze die Freiheit der Forschung beschränken. Insbesondere bezüglich der Regelungen des Stammzellgesetzes ist eine solche Rechtfertigung fraglich, da dieses Gesetz nicht dem Schutz deutscher Rechtsgüter, sondern dem Schutz ausländischer Embryonen gilt.

7.2.1 Die Wissenschaftsfreiheit nach Art. 5 Abs. 3 GG

Die deutsche Rechtsordnung basiert auf einer allgemeinen Freiheitsvermutung, nach der alles erlaubt ist, was nicht hinreichend deutlich durch einen legitimierten Gesetzgeber verboten ist.

Ausdrücklich ist zudem in Art. 5 Abs. 3 GG die Wissenschaftsfreiheit geschützt. Sie muss der Ausgangspunkt einer verfassungsrechtlichen Bewertung der Regelungen zur Forschung mit Embryonen und embryonalen Stammzellen sein. Nicht die Wissenschaft hat ihr Tun zu rechtfertigen, sondern das Verbot und die Einschränkung von Wissenschaft und Forschung bedürfen der rechtlichen Legitimation.

Die dem Wortlaut des Grundgesetzes nach zunächst vorbehaltlos und uneingeschränkt gewährte Forschungsfreiheit wird durch die übrigen Verfassungsrechtssätze beschränkt. Kollidierende Grundrechte Dritter und andere mit Verfassungsrang ausgestattete Rechtswerte sind imstande, die Wissenschaftsfreiheit zu begrenzen. Diese verfassungsrechtlichen Grundlagen bestimmen auch den Rahmen, in dem sich der Gesetzgeber bei der Regelung der Forschung mit menschlichen Embryonen und embryonalen Stammzellen bewegt.

Die Forschung mit menschlichen Embryonen und embryonalen Stammzellen ist eine wissenschaftliche Tätigkeit im Sinne von Art. 5 Abs. 3 GG, dessen Schutzbereich auch die Einfuhr und Verwendung embryonaler Stammzellen zu Forschungszwecken umfasst.

7.2.2 Verfassungsrechtlicher Schutz menschlicher Embryonen

Der Embryonenschutz ist im Grundgesetz nicht ausdrücklich normiert. Verfassungsbestimmungen, die eine Schutzwirkung für den Embryo entfalten könnten, sind der Schutz des Lebens gemäß Art. 2 Abs. 2 S. 1 GG und die Garantie der Menschenwürde gemäß Art. 1 Abs. 1 GG.

7.2.2.1 Der Schutz menschlichen Lebens

Schutzgut des Art. 2 Abs. 2 S. 1 GG ist das menschliche Leben in seiner biologisch-physischen Existenz. Es besteht Einigkeit, dass mit dem Abschluss der Befruchtung, das heißt mit der Vereinigung der Chromosomensätze aus Ei- und Samenzelle, menschliches Leben im biologischen Sinn entsteht. Der überwiegenden Auffassung des Schrifttums zufolge markiert dieser Zeitpunkt zugleich den Beginn menschlichen Lebens im normativen Sinn des Art. 2 Abs. 2 S. 1 GG (vgl. Schulze-Fielitz 2000a; Murswiek 2003; Starck 1999; Lorenz 2001; Stern 1988; Höfling 1993; Fink 2000; Classen 2002; Böckenförde-Wunderlich 2002; Kluth 2003; Deutscher Bundestag 2001; Dietlein 1992; Steiner 1992). Dies soll unabhängig davon gelten, ob der Embryo innerhalb oder außerhalb des Mutterleibs gezeugt wird (Schulze-Fielitz 2000b). Mit der Verschmelzung von Ei- und Samenzelle seien die genetischen Merkmale des Individuums festgelegt. Auch das

genetische Programm des Individuums mit allen weiteren Entwicklungsschritten sei bereits angelegt. Die befruchtete Eizelle entwickle sich kontinuierlich bis zu einem vollständigen menschlichen Organismus. Jede spätere Zäsur für den Beginn des verfassungsrechtlichen Lebensschutzes wird als willkürlich betrachtet und abgelehnt.

Dem wird allerdings entgegengehalten, dass mit der Kernverschmelzung zwar der Bauplan für das menschliche Leben entstehe. Der Befehl zur konkreten Embryogenese werde aber erst durch epigenetische Faktoren gegeben, die von der Mutter stammen, sodass eine Ausblendung dieser Faktoren einen „genozentrischen Reduktionismus“ darstelle (Taupitz 2004 mit Verweis auf Huber 2001). Die Einnistung des Embryos in die Gebärmutter stelle somit eine notwendige Bedingung für die Entwicklungsfähigkeit des Embryos dar (Taupitz 2001a; Dederer 2002). Eine verbreitete Auffassung betrachtet daher die Nidation als den frühesten Zeitpunkt, ab dem der Embryo als Träger des Grundrechts auf Leben angesehen werden kann. Anderen Auffassungen zufolge soll dem Embryo dieser Status sogar noch später (etwa mit der Individuation, dem Beginn der Hirntätigkeit oder sogar erst mit der Geburt) zukommen, weil sonst die Zulässigkeit der Abtreibung nicht widerspruchsfrei begründet werden könne (Ipsen 2001).

Das Bundesverfassungsgericht hat die Frage nach dem Beginn menschlichen Lebens bislang nicht beantwortet. In seinem ersten Abtreibungsurteil vom 25. Februar 1975 hat das Gericht die verfassungsrechtliche Beurteilung des Embryos während der Pränidationsphase ausdrücklich offengelassen. Das Bundesverfassungsgericht sagt: „Leben im Sinne der geschichtlichen Existenz eines menschlichen Individuums besteht nach gesicherten biologisch-physischen Erkenntnissen jedenfalls vom 14. Tage nach der Empfängnis (Nidation, Individuation) an“ (BVerfGE 39). Auch in seinem zweiten Abtreibungsurteil vom 28. Mai 1993 lässt das Gericht die Frage offen, ob menschliches Leben bereits mit der Verschmelzung von Ei und Samenzelle entsteht, wie es Erkenntnisse der medizinischen Anthropologie nahelegen (BVerfGE 88). Einerseits betont das Gericht in dieser Entscheidung die medizinisch-anthropologischen Erkenntnisse, die die herrschende Literatur ihrer Bestimmung des Lebensbeginns zugrunde legt. Andererseits weist das Gericht zu Recht darauf hin, dass erst ab der Nidation „nicht mehr teilbares Leben“ besteht.

Vor diesem Hintergrund kann die Nidation durchaus als ein wesentlicher Einschnitt in der embryonalen Entwicklung betrachtet werden, an den der Gesetzgeber eine rechtliche Differenzierung knüpfen kann, aber keineswegs knüpfen muss (Taupitz 2001a).

7.2.2.2 Der Schutz der Menschenwürde

Die Verbote des Embryonenschutzgesetzes und des Stammzellgesetzes werden darüber hinaus mit dem Schutz der Menschenwürde begründet, welche eine absolute Grenze für Wissenschaft und Forschung darstellt.

Die Würde des Menschen ist unantastbar (Art. 1 Abs. 1 GG). Sie kann nicht gegen andere Rechte abgewogen werden. Jeder Eingriff von staatlicher oder privater Seite stellt daher einen unmittelbaren Verstoß gegen die Verfassungsnorm dar.

Gemäß dem Bundesverfassungsgericht und der überwiegenden Meinung kommt jedem menschlichen Leben Menschenwürde zu (BVerfGE 39; siehe auch BVerfGE 88. Siehe zu weiteren Nachweisen: Iliadou 1999). Geht man von einem Beginn menschlichen Lebens im biologischen Sinn mit Abschluss der Befruchtung aus (s. oben unter 7.2.2.1.), unterfällt der Embryo vom Zeitpunkt der Kernverschmelzung an dem Schutzbereich der Menschenwürde.

Da der abstrakte Gehalt der Menschenwürde allerdings kaum zu bestimmen ist, hat das Bundesverfassungsgericht die Frage nach einer Verletzung der Menschenwürde stets einzelfallbezogen entschieden. Es verfolgt dabei vor allem den Ansatz, dass der Mensch nicht zum bloßen Objekt herabgewürdigt werden darf (so genannte Objektformel). Darüber hinaus spielen die Ziele der fraglichen Handlung eine entscheidende Rolle. So ist für eine Verletzung erforderlich, dass der Mensch einer verächtlichen Behandlung ausgesetzt wird, die seine Subjektqualität prinzipiell in Frage stellt, oder die eine willkürliche Missachtung der Würde des Menschen beinhaltet (BVerfGE 30).

Dabei ist aber zu beachten, dass die Menschenwürde nicht als reines Abwehrrecht zu verstehen ist, welches prinzipiell die Forschung mit Embryonen verbietet. Sie hat vielmehr auch eine herausfordernde Dimension. So kann zum Beispiel das Unterlassen von Forschung, die menschliches Leid lindern soll, gegen die Menschenwürde verstoßen und dem Schutz des Embryos gegenüber stehen. Somit sind verschiedene verfassungsrechtliche Belange abzuwägen und muss nach einer möglichen Rechtfertigung der fraglichen Maßnahme gesucht werden.

Zudem ist der Begriff der Menschenwürde in Art. 1 Abs. 1 GG nicht statisch konzipiert (BVerfGE 45). Er definiert und entwickelt sich in Wechselwirkung mit den gesellschaftlichen Wertvorstellungen, die ihrerseits dem Wandel der Zeit unterliegen. Auch aus diesem Grund hat das Bundesverfassungsgericht den Begriff der Menschenwürde nie positiv bestimmt, sondern vielmehr jeweils im Einzelfall entschieden. Daher kann das vor über 50 Jahren in Art. 1 des

Grundgesetzes formulierte Gebot des Menschenwürdeschutzes keine vorgefertigten Antworten auf neue Situationen wie die Embryonen- oder Stammzellforschung geben.

7.2.2.3 Konkretisierung: Die Forschung mit Embryonen und embryonalen Stammzellen

Die Gewinnung von Stammzellen aus überzähligen Embryonen

Die verfassungsrechtliche Zulässigkeit der verbrauchenden Forschung mit überzähligen Embryonen wird kontrovers diskutiert. Als überzählig werden Embryonen bezeichnet, die zwar zum Zweck der Herbeiführung einer Schwangerschaft hergestellt worden sind, die der betreffenden Frau aber nicht mehr in den Uterus implantiert werden können. Es stellt sich die Frage, ob sich aus dem Lebensschutzgebot des Grundgesetzes und der Garantie der Menschenwürde zwingend ein Verbot der fremdnützigen Verwendung überzähliger Embryonen ergibt.

Eine generelle Ablehnung der embryonenverbrauchenden Forschung basiert auf der kategorischen Erwägung, dass der Schutz des menschlichen Lebens und die Menschenwürde als höchstrangige Rechtsgüter auch dem „zum Tode geweihten“ Embryo zukämen (Keller 1991). Darüber hinaus besteht die Sorge, dass eine Freigabe der Forschung mit überzähligen Embryonen die Achtung vor dem Wert des menschlichen Lebens generell in Frage stellen könnte. Es wird zudem befürchtet, dass ein zunehmender Bedarf an Embryonen entstünde, der langfristig zu der Forderung führe, auch die Erzeugung von Embryonen zu Forschungszwecken zuzulassen.

Dem steht allerdings die Auffassung gegenüber, dass der Gesetzgeber zwar verfassungsrechtlich berechtigt, nicht aber verpflichtet sei, die Forschung mit überzähligen Embryonen ausnahmslos zu verbieten (Classen 1989). Sofern die Frau die Einpflanzung des Embryos ablehnt oder sie zur Aufnahme nicht in der Lage ist, hat der überzählige Embryo praktisch keine Entwicklungsmöglichkeit und keine reale Lebenschance. Es besteht zwar die Möglichkeit, den Embryo auf eine andere Frau zu übertragen, was in Deutschland nicht verboten ist. Aber selbst die Embryonenadoption stellt keine Schutzmöglichkeit für alle überzähligen Embryonen dar. Denn es ist nicht zu erwarten, dass sich für jeden „verwaisten“ Embryo eine biologische Mutter finden lässt (Taupitz 2002). Zudem steht dem Gesetzgeber bei der Frage, in welchem Ausmaß er die Schutzpflicht für das embryonale Leben umsetzt, ein weiter Beurteilungs- und Ermessensspielraum zu. Darum ist die Auffassung überzeugend, dass die Zulassung der Forschung mit überzähligen Embryonen verfassungsrechtlich vertretbar ist (Taupitz 2002; Heun 2002; siehe auch Sewing 2002). Das Instrumentalisierungsverbot der Menschenwürdegarantie

steht dieser Auffassung nicht entgegen. Denn die fremdnützige Verwendung überzähliger Embryonen stellt nicht per se eine Verletzung der Menschenwürde dar. Vielmehr sind im Rahmen der erforderlichen Gesamtbetrachtung, wie unter 7.2.2.2. ausgeführt, auch die Ziele der fraglichen Maßnahme zu berücksichtigen.

Anerkanntermaßen stellt auch nicht jede Tötung menschlichen Lebens zugleich eine Verletzung der Menschenwürde dar. Denn der Schutz der Menschenwürde ist im Grundgesetz neben dem Schutz des Lebens genannt, sodass beide schon aus diesem Grund nicht in eins gesetzt werden können. Zudem steht das Recht auf Leben unter einem ausdrücklichen Gesetzesvorbehalt, kann also nach dem Willen der Verfassungsgeber durchaus durch ein Gesetz eingeschränkt werden. Schließlich zeigt auch die nicht ernsthaft kritisierte Zulässigkeit der Verwendung von Spiralen und anderen Nidationshemmern, dass in der Tötung menschlichen Lebens nicht per se eine Menschenwürdeverletzung gesehen werden kann; denn derartige Nidationshemmer führen alltäglich und vieltausendfach zur Tötung von befruchteten Eizellen im Mutterleib, also zur Tötung von Embryonen.

Daher erscheint es mit guten Gründen vertretbar, die Forschung mit überzähligen Embryonen, die dem Erhalt oder der Verbesserung von Leben und Gesundheit kranker Menschen dient, aus dem Blickwinkel des in Art. 1 Abs. 1 GG verankerten Menschenwürdegarantie für verantwortlich zu halten. (Herdegen 2003; Herdegen 2001; Ipsen 2001; Taupitz 2001a; Vitzthum 1992; Bülow 2001; Schreiber, 2003; Dierken 2003; Trute 2001).

Ebenso ist vertretbar, die Forschung an überzähligen Embryonen im Hinblick auf Art. 2 Abs. 2 S. 1 GG, dem Recht auf Leben, für zulässig zu halten. Dies gilt auch dann, wenn man Auffassung folgt, der verfassungsrechtliche Schutz des Lebens setze bereits ab der Kernverschmelzung ein, wie es (oben unter 7.2.2.1. ausgeführt) überwiegend vom Schrifttum vertreten und vom Bundesverfassungsgericht jedenfalls nicht abgelehnt wird. Denn aufgrund einer Gesamtabwägung kann sich auch im Verhältnis zum Lebensrecht des Embryos ein Vorrang für die Forschung ergeben, die dem Erhalt oder der Verbesserung von Leben und Gesundheit dient. Dass das verfassungsrechtlich verankerte Lebensrecht nicht absolut ist, sondern ein Eingriff in das Lebensrecht auf gesetzlicher Grundlage gerechtfertigt sein kann, ergibt sich aus dem in Art. 2 Abs. 2 S. 3 GG ausdrücklich statuierten Gesetzesvorbehalt.

Die Erzeugung von Embryonen zu Forschungszwecken

Die Erzeugung von Embryonen zu Forschungszwecken wird überwiegend abgelehnt. Diese Ansicht wird mit dem Instrumentalisierungsverbot begründet, das aus der Menschenwürdegarantie des Art. 1 Abs. 1 GG abgeleitet wird. Die Erzeugung menschlicher Embryonen zu einem anderen Zweck als der Herbeiführung einer Schwangerschaft schließt von vornherein jede Entwicklungsmöglichkeit des Embryos aus. Der Embryo wird ausschließlich erzeugt, um ihn für die Interessen Dritter zu verwenden. Er wird in klassischer Weise als Objekt und bloßes Mittel zum Zweck gebraucht. Der Entstehung menschlichen Lebens wird jeder eigene Wert abgesprochen (Herdegen 2001; Böckenförde 2003.). Diese äußerste Form der Instrumentalisierung stellt nach Auffassung vieler eine Verletzung der Menschenwürde dar. Dies gilt selbst dann, wenn mit der Forschung hochrangige medizinische oder wissenschaftliche Zwecke verfolgt werden. Eine Erzeugung menschlicher Embryonen zu Zwecken der Stammzellgewinnung ist deshalb nach verbreiteter Auffassung verfassungsrechtlich unzulässig.

Zellkerntransfer

Bei der Methode des Klonens durch Zellkerntransfer ist demgegenüber schon die Bestimmung des „Ob“ und des Beginns der Menschenwürde und des Lebensschutzes problematisch, da eine Verschmelzung von Ei- und Samenzelle, die in der ethischen und rechtlichen Diskussion für den Beginn des Schutzes eine entscheidende Rolle spielt, gerade nicht stattfindet. Der Beginn des Lebensschutzes sowie der Menschenwürde kann hier – entsprechend der Befruchtung – allenfalls in dem Vorgang des Zellkerntransfers gesehen werden.

Zunehmend werden bei der ethischen und rechtlichen Beurteilung des Zellkerntransfers folgende Aspekte in die Überlegung einbezogen: Das therapeutische Klonen im Wege des Zellkerntransfers findet in einem völlig anderen Kontext statt als die Erzeugung von Nachkommen. Zudem ist das Verfahren des Zellkerntransfers ein ganz anderes als das Verfahren der (natürlichen oder künstlichen) Befruchtung. Des weiteren unterscheidet sich das Ergebnis von dem der Befruchtung dadurch, dass nicht zwei verschiedene elterliche Chromosomensätze zusammengetreten sind, also ein neues individuelles Genom entstanden ist, sondern dass lediglich der schon vorhandene Chromosomensatz des Zellkernlieferanten kopiert wurde, und zwar in der Absicht, Gewebe zu erzeugen, welches dessen Kerngenom trägt. Darum kann die

gezielte Herstellung von Embryonen im Wege des Zellkerntransfers durchaus anders zu beurteilen sein als die Herstellung von Embryonen durch künstliche Befruchtung. Die Argumente für den Schutz menschlicher Embryonen basieren vorrangig auf der herkömmlichen Vermehrungserfahrung, nämlich der Befruchtung. Entsprechend ist der Embryobegriff und damit auch der Lebensschutz für solche Entitäten zu reservieren, die nach dem Menschenbild unserer Kultur und des Grundgesetzes durch Befruchtung für die menschliche Fortpflanzung entstanden sind. Der überwiegenden Auffassung zufolge markiert ja das Zusammentreten der Chromosomensätze von Eizelle und Samenzelle den Beginn individuellen, schützenswerten Lebens. Beim therapeutischen Klonen im Wege des Zellkerntransfers entsteht demgegenüber jedoch auf experimentellem Weg eine Entität, die ohne künstliche Manipulation nicht denkbar ist und so in der Natur nicht vorkommt (Nationaler Ethikrat 2004).

Neuen Untersuchungen zufolge ist es zudem zweifelhaft, ob die „Dolly-Methode“ beim Menschen überhaupt funktioniert. Es ist zweifelhaft, ob die so erzeugte Zelle das gleiche Entwicklungspotential besitzt wie eine befruchtete Eizelle, ob aus ihr also tatsächlich ein Mensch entstehen kann (Taupitz 2003b). Es ist zudem zu berücksichtigen, dass das Stadium der Totipotenz beim therapeutischen Klonen nur für eine kurze Zeitspanne in Kauf genommen wird. Das eigentliche Ziel des therapeutischen Klonens ist es, bestimmte somatische Gewebestrukturen zu erzeugen. Es ist daher mit guten Gründen vertretbar, das Verfahren des therapeutischen Klonens aus dem Kontext des Embryonenschutzes zu lösen und eigene Zulässigkeitskriterien für dieses Verfahren zu entwickeln.

7.2.3 Verfassungsrechtliche Rechtfertigung einer Beschränkung des Imports embryonaler Stammzellen aus dem Ausland?

Wie dargestellt, dient das Stammzellgesetz dem Schutz menschlicher Embryonen im Ausland. Die Stammzellforschung im Inland wird beschränkt, um eine Tötung menschlicher Embryonen im Ausland zu verhindern. Es ist zu prüfen, ob und inwieweit der deutsche Gesetzgeber zum Schutz ausländischer Rechtsgüter berechtigt oder gar verpflichtet ist.

Das Recht auf Leben und die Menschenwürde gehört zu jenen Rechten im Grundgesetz, die jedem Menschen zustehen. Somit werden grundsätzlich auch menschliche Embryonen im Ausland vom Schutz des Lebens und der Menschenwürde erfasst, sofern man Embryonen überhaupt in diesen Schutz einbezieht (oben 7.2.2.1. und 7.2.2.2.)

Der Entscheidungs- und Gestaltungsspielraum des Gesetzgebers ist bezogen auf den Schutz von Rechtsträgern oder Rechtsgütern im Ausland allerdings größer als beim Schutz inländischer Rechtsträger oder Rechtsgüter. Auf Sachverhalte mit Auslandsberührung müssen nicht die gleichen grundrechtlichen Standards angewendet werden, wie auf inländische Sachverhalte (BVerfGE 92. Siehe dazu auch Taupitz 2002, Müller-Terpitz 2001). Dies gilt insbesondere dann, wenn Unterschiede in der internationalen Rechtslandschaft bestehen, wie es bei der Embryonenforschung der Fall ist. Diese Unterschiede sind bei der Bestimmung der staatlichen Schutzpflichten zu berücksichtigen. Grundlegende Werte der deutschen Verfassung, wie der Schutz des Lebens und der Menschenwürde, stehen jedoch auch bei der Regelung von Auslandssachverhalten nicht zur Disposition. Der deutsche Gesetzgeber ist daher grundsätzlich berechtigt, Regelungen zum Schutz ausländischer Embryonen zu erlassen. Er hat dabei jedoch auch die Freiheit der Forschung zu berücksichtigen.

Die Stichtagsregelung dient dem Zweck, für die Zukunft jeden durch deutsche Nachfrage veranlassten Verbrauch menschlicher Embryonen im Ausland zu vermeiden. Dieses Ziel ist vom Ansatz her nicht zu beanstanden und kann eine Einschränkung der Forschungsfreiheit grundsätzlich rechtfertigen. Allerdings kann durchaus bezweifelt werden, ob der Gesetzgeber mit dem festen Stichtag nicht über das Ziel hinausgeschossen ist. Denn auch durch eine Regelung, wonach die Stammzellen eine bestimmte (hinreichend lange) Zeit vor der Stellung des Antrags auf Importgenehmigung generiert sein müssen und wonach keine Anhaltspunkte dafür bestehen dürfen, dass sie antragsbezogen hergestellt wurden, kann vergleichbar sicher gewährleistet werden, dass der Embryonenverbrauch im Ausland nicht durch die spätere deutsche Forschung veranlasst worden ist. Das gesetzgeberische Ziel kann damit auch durch eine weniger einschneidende Beschränkung der Forschungsfreiheit hinreichend sicher verwirklicht werden. Dabei ist auch zu berücksichtigen, dass aus embryonalen Stammzelllinien beliebig viele Stammzellen „abgezweigt“ werden können, sodass angesichts der weltweiten Nachfrage nach Stammzellen ohnehin kaum davon ausgegangen werden kann, dass im Ausland Stammzelllinien gerade für deutsche Forscher hergestellt werden. Angesichts dessen und angesichts der Tatsache, dass deutsche Forscher durch den festen Stichtag und die daraus resultierende Beschränkung auf „alte“ Stammzelllinien zunehmend von der internationalen Forschung und von internationalen Kooperationen abgekoppelt werden, wird zunehmend Kritik an der Stichtagsregelung laut und kann in der Tat an ihrer (heutigen) Verfassungsmäßigkeit gezweifelt werden.

Des Weiteren ist fraglich, welchen Zielen die übrigen Voraussetzungen des Stammzellgesetzes dienen, die den Import bereits existierender Stammzellen betreffen, wie beispielsweise die Voraussetzungen der Hochrangigkeit und Alternativlosigkeit der Forschung. Diese Regelungen dienen jedenfalls nicht dem Schutz des Lebens menschlicher Embryonen, da die Zerstörung der Embryonen bereits in der Vergangenheit liegt.

Der Gesetzgeber rechtfertigt die weiteren Voraussetzungen des Stammzellgesetzes damit, dass die Gewinnung menschlicher embryonaler Stammzellen die Vernichtung eines Embryos zum Ursprung hatte. Embryonale Stammzellen könnten aufgrund ihrer Herkunft in ethischer Hinsicht nicht wie jedes andere menschliche biologische Material angesehen werden (Deutscher Bundestag 2002b: 7). Das Stammzellgesetz trage der Tatsache Rechnung, dass zur Gewinnung embryonaler Stammzellen Embryonen verbraucht werden müssten, was mit einer – aus Sicht der deutschen Rechtsordnung – unzulässigen Beeinträchtigung des Lebensrechts und der Menschenwürde verbunden sei. Es sei daher geboten, die Einfuhr und Verwendung embryonaler Stammzellen nur in Ausnahmefällen zuzulassen (Deutscher Bundestag 2002b: 8).

Es ist sicher richtig, dass menschliche embryonale Stammzellen wegen ihres Ursprungs besonders zu behandeln sind. Eine Beschränkung der Forschungsfreiheit kann mit dieser Begründung jedoch nur dann gerechtfertigt werden, wenn sie verfassungsrechtlich verankert ist. Denn eine Beschränkung der Forschungsfreiheit kommt nur durch Grundrechte Dritter oder sonstige Verfassungswerte in Betracht. Da es sich um eine Beschränkung der Verwendung von Zellen aus bereits getöteten Embryonen handelt, kommt als verfassungsrechtliche Begründung nur ein „postmortaler Würdeschutz pränatalen Lebens“ in Betracht. Mit der Anerkennung eines solchen Schutzes betritt man allerdings „verfassungsrechtlich gänzlich ungesichertes Terrain“ (Löwer 2002). Ob ein postmortaler Würdeschutz, wie er für den geborenen Menschen selbstverständlich ist und teilweise auch für das fötale Leben angenommen wird, auch dem Embryo *in vitro* zukommt, wurde bislang kaum problematisiert.³ Bezüglich der entsprechenden Regelungen im Stammzellgesetz hätte zumindest näher begründet werden müssen, inwiefern der postmortale Würdeschutz pränatalen Lebens ein verfassungsrechtlich legitimes Anliegen und so hochrangig ist, dass sogar die schrankenlos gewährleistete Forschungsfreiheit unter Hinweis darauf eingeschränkt werden kann (Taupitz 2003a).

3 Löwer (2002) hält einen postmortalen Würdeschutz inhaltlich für nachvollziehbar. Ablehnend demgegenüber Birnbacher (2003).

7.2.4 Fazit: Beurteilung der verfassungsrechtlichen Vorgaben

Das Grundgesetz vom 23. Mai 1949 kann keine fertigen Antworten auf die Fragen moderner biomedizinischer Forschung geben. Dies gilt auch für die Frage, ob und unter welchen Voraussetzungen die Forschung mit menschlichen Embryonen und embryonalen Stammzellen erlaubt ist oder erlaubt werden darf. Insbesondere ist es (entgegen einer verbreiteten Argumentation) nicht zutreffend, dass der kategoriale Schutz des Embryos, den das Embryonenschutzgesetz und auch das Stammzellgesetz vorsehen, von der deutschen Verfassung gefordert ist.

Zunehmend werden verfassungsrechtliche Zweifel laut, ob die Anforderungen, die das Stammzellgesetz bezogen auf den Import und die Verwendung von embryonalen Stammzellen aufstellt, im Hinblick auf die Forschungsfreiheit verfassungskonform sind.

8. Erhobene Indikatoren und Indikatorenkennblätter

Tabelle 14: Übersicht über die ausgewählten Indikatoren und Problemfelder, zu denen Daten recherchiert und Texte erstellt wurden

Forschungsstandort Deutschland		
	1	Anzahl der eingereichten Patentanträge/Jahr (nach Stichwortliste) <ul style="list-style-type: none"> ▶ adulte menschliche Stammzellen ▶ embryonale menschliche Stammzellen ▶ tierische (xenogene) Zellen ▶ Gentherapie ▶ Tissue Engineering ▶ Produkte zur Zelltherapie ▶ Transplantationsmedizin (klinische Studien)
	2	Anzahl der erteilten Patente/Jahr (nach o.g. Stichwortliste)
	3	Öffentliche Ausgaben für Forschung und Entwicklung für den Bereich Zelltherapie in Deutschland im Verhältnis zu Vergleichsländern
	4	Anzahl der zum Import nach Deutschland beantragten humanen ES-Zelllinien
Realisierung wissenschaftlicher Zielsetzungen		
	5	Anzahl von humanen Stammzelllinien, die auf anderem Wege erstellt wurden
	6	Anzahl der beschriebenen hES-Zellen
	7	Anzahl der für die Gewinnung von hES-Linien verbrauchten menschlichen Embryonen
	9	Anzahl der Krankheiten/Krankheitsbilder, die mit Zelltherapie behandelt werden können
Realisierung therapeutischer Zielsetzungen		
	11	Anzahl der zugelassenen Zelltherapien beziehungsweise der entsprechenden Zellprodukte für bestimmte Krankheiten im Vergleich zu anderen Krankheiten (für die allgemeine klinische Anwendung)

Wissenschaftsstrukturen		
	23	Anteil staatlicher Förderung für Stammzellprojekte an Forschungsförderung F&E zum Beispiel Gesamtförderung des BMBF
Menschenwürde vs. Forschungsfreiheit		
	24	siehe Kapitel 6
Rechtsrahmen		
	27	siehe Kapitel 7
Missbrauchsrisiko		
	28	siehe Kapitel 6

Laufende Nr.:	SF-1 (SF = Stammzellforschung)
Name des Indikators:	Anzahl der angemeldeten Patentanträge/Jahr
Problemfeld:	Forschungsstandort Deutschland
Zweck des Indikators:	Die angemeldeten Patentanträge sind ein Indikator für das wirtschaftliche Potenzial einer Technologie. Der Vergleich mit Patentinformationen anderer Länder gibt Aufschluss über die Position die Deutschland international als Forschungsstandort einnimmt. Der Vergleich mit den Patentanmeldungen eines anderen Forschungsfeldes (hier: Nanotechnologie) ermöglicht eine Einordnung der Patentdaten und Forschungsstandorte.
Berechnungsformel:	Patentanträge/Jahr (für die genannten Stichworte)
Datenquelle:	Als Datenquelle dienen die vom Europäischen Patentamt veröffentlichten Datenbanken „Espace® Access“ und „Espace® Bulletin“. Espace® Access: Die Datenbank umfasst alle bibliographischen Informationen über europäische Patentanmeldungen und PCT Anmeldungen (basierend auf der Patent Co-operation Treaty) einschließlich der in Englisch verfassten Zusammenfassungen (ca. 2 Millionen). Espace® Bulletin: Die Datenbank ermöglicht dem Benutzer den Zugriff auf bibliographische Daten und den rechtlichen Status von allen europäischer Patentanmeldungen (ca. 1 226 000) seit Gründung der EPO sowie allen veröffentlichten Patenten (ca. 590 000). Beide Datenbanken umfassen den Zeitraum von Dezember 1978 bis November 2005. Beide Datenbanken sind für die Datenerhebung des Indikators notwendig, da man mit Hilfe der Datenbank Espace® Access zwar nach entsprechenden Stichworten aus dem zu untersuchenden Themengebiet suchen kann, jedoch für eine entsprechende Zuordnung der resultierenden Patente zu den Anmeldeländern die Datenbank Espace® Bulletin notwendig ist. Für die Auswertung der Datenbanken wurde das Softwareprogramm „Mimosa Version 4.3“ verwendet.
Verfügbarkeit der Daten:	Die Datenbanken Espace® Access und Espace® Bulletin können von der Öffentlichkeit gegen Entgelt vom Europäischen Patentamt erworben werden. Beide Datenbanken umfassen den Zeitraum von Dezember 1978 bis in die Gegenwart (Es gibt von beiden Datenbanken ein monatliches Update.).
Abgrenzung der Berechnungsgrößen:	Stichworte zum Themengebiet Stammzellen: <ul style="list-style-type: none"> ▶ adulte menschliche Stammzellen ▶ embryonale menschliche Stammzellen ▶ tierische (xenogene) Zellen ▶ Gentherapie ▶ Tissue Engineering ▶ Produkte zur Zelltherapie ▶ Transplantationsmedizin (klinische Studien)
Zähler	Anzahl der angemeldeten Patente
Nenner	Pro Jahr (für die Jahre 2000 bis 2004)
Gliederung der Kennzahl	Aufgrund technischer Begebenheiten der verwendeten Datenbanken wurden die Stichwörter im folgenden verschiedenen Teiluntersuchungen zugeordnet, die bereits im Indikator SF-1 erläutert wurden. <ol style="list-style-type: none"> 1) Stammzellen 2) embryonale menschliche Stammzellen 3) Gentherapie 4) Tissue Engineering 5) Produkte zur Zelltherapie 6) Transplantationsmedizin (klinische Studien)

II) Stammzellen aufgetrennt in:

- 1) adulte menschliche Stammzellen
- 2) embryonale menschliche Stammzellen
- 3) adulte tierische (xenogene) Zellen
- 4) embryonale tierische (xenogene) Zellen

III) Themengebiet Nanotechnologie

versus gesamtes Themengebiet Stammzellen

(Stammzellen, embryonale menschliche Stammzellen, Gentherapie, Tissue Engineering, Produkte zur Zelltherapie, Transplantationsmedizin (klinische Studien))

Die Patentsuche in den Datenbanken beschränkt sich auf die EU-Länder Deutschland, Frankreich, Großbritannien, Niederlande und Belgien sowie die nicht EU-Länder Japan und die Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

Berechnungshäufigkeit:

Jährlich

Zur Aussagefähigkeit:

Patentdaten stellen den umfassendsten Indikator zur Ermittlung von Inventions- und Innovationsaktivitäten dar. In Patenten werden technologische Entwicklungsprozesse abgebildet, und über Patentanmeldungen spiegelt sich die Inventionstätigkeit von Unternehmen, Forschungseinrichtungen oder auch Privatpersonen mit dem Ziel der wirtschaftlichen Verwertung wider, selbst wenn nicht alle Erfindungen zum Patent angemeldet werden. Gerade am Anfang einer technologischen Entwicklung sind die Unsicherheiten über den technischen und wirtschaftlichen Erfolg einer Idee noch immens. Entsprechend vielfältige Handlungsmöglichkeiten bestehen im Verlauf eines Patentanmeldeverfahrens sowohl vor als auch nach einer eventuellen Patenterteilung (Luther et al. 2004).

Für die Zelltherapie ist einschränkend zu berücksichtigen, dass bestimmte Teilsegmente nicht patentierbar sind, so zum Beispiel Verfahren zur chirurgischen oder therapeutischen Behandlung des menschlichen oder tierischen Körpers und bestimmte ärztliche Diagnoseverfahren. Zudem ist aktuell strittig, inwieweit Erfindungen, die menschliche embryonale Stammzellen betreffen, als „gegen die öffentliche Ordnung oder die guten Sitten verstoßend“ einzustufen sind und deshalb ebenfalls Einschränkungen in der Patentierbarkeit unterliegen. Diese Einschränkungen werden von der „European Group on Ethics in Science and New Technologies“ als nicht so gravierend eingeschätzt, dass sie die Verwendung von Patenten als Indikator in Frage stellen würden (Hüsing, 2004).

Ergänzend zu Patentdaten bieten bibliometrische Analysen von Publikationsdaten die Möglichkeit, die wissenschaftliche Forschung zu erfassen. Da Publikationen neuheitsschädlich für Patente sind, geben sie nicht nur einen Einblick in die nicht-patentierbare technische Forschung und ergänzen somit Patentanalysen, sondern decken auch den Gesamtbereich von nicht-technischen Forschungsarbeiten ab, die von Patenten nicht erfasst werden.

Die internationalen Patentdaten des Europäischen Patentamts bieten den Vorteil, dass hier für alle Länder vergleichbare Zugangsbedingungen gelten. So können Verzerrungen bei länderübergreifenden Erhebungen vermieden werden, die aufträten, wenn nationale Patentdaten verwendet würden, da sie für das Heimatland deutliche Vorteile aufweisen (Schmoch, 1999).

Zur Abgrenzung der Aussagefähigkeit des Indikators sind zusätzlich internationale Patente zu berücksichtigen, die als PCT Anmeldungen (basierend auf der Patent Co-operation Treaty) auftreten, da diesen in den letzten Jahren eine steigende Bedeutung zukommt.

I. Angemeldete Patente für die Bereiche „Stammzellen“, „Embryonale menschliche Stammzellen“, „Gentherapie“, „Tissue Engineering“, „Produkte zur Zelltherapie“, „Transplantationsmedizin“

I.1. Stammzellen

Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „Stammzellen“

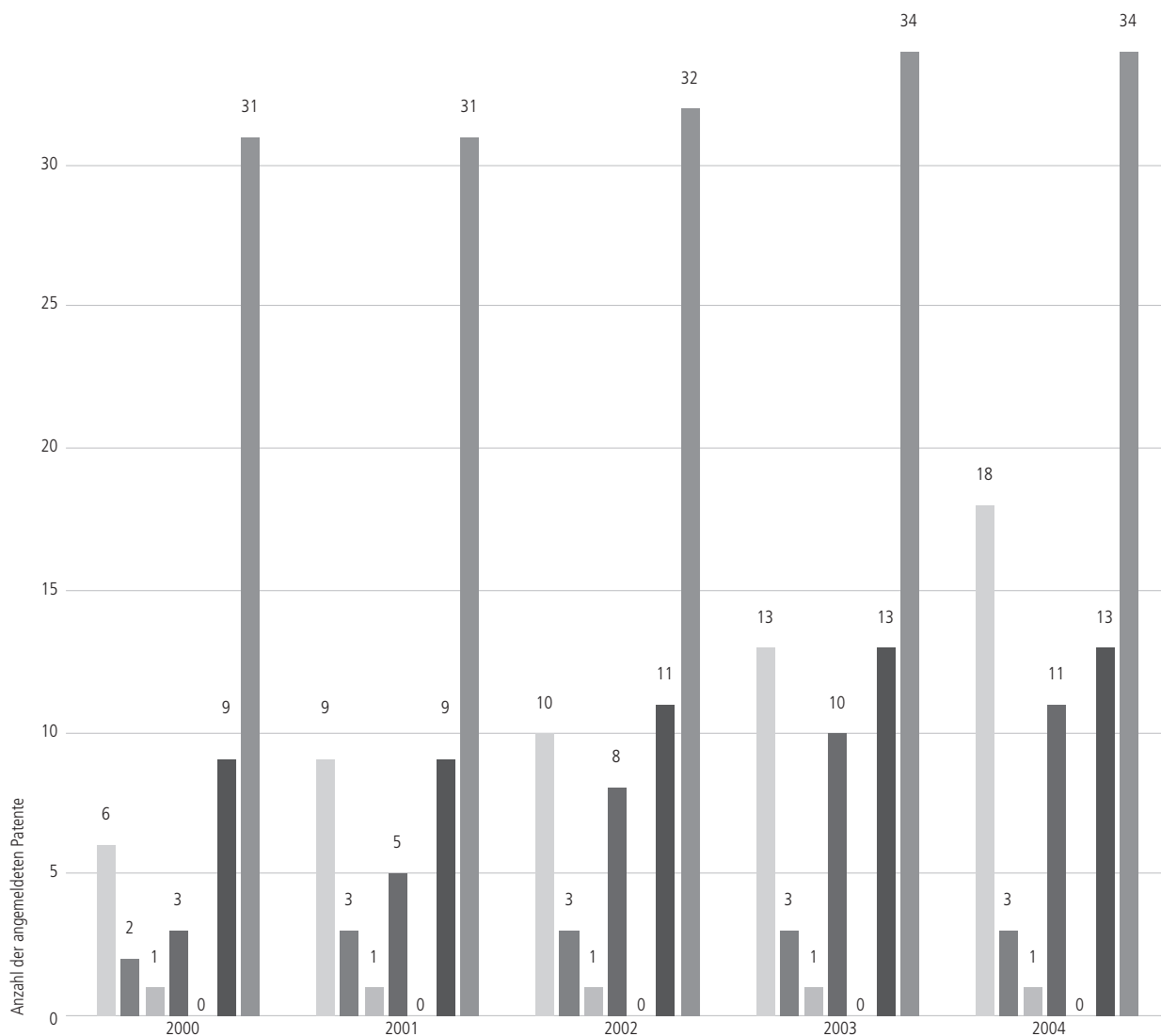


Abbildung 15 (SF-1, 1): Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „Stammzellen“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgliedert für die EU-Länder ■ Deutschland, ■ Frankreich, ■ Großbritannien, ■ Niederlande, ■ Belgien sowie die Nicht-EU-Länder ■ Japan und die ■ Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

I.2. Embryonale menschliche Stammzellen

Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „humane embryonale Stammzellen“

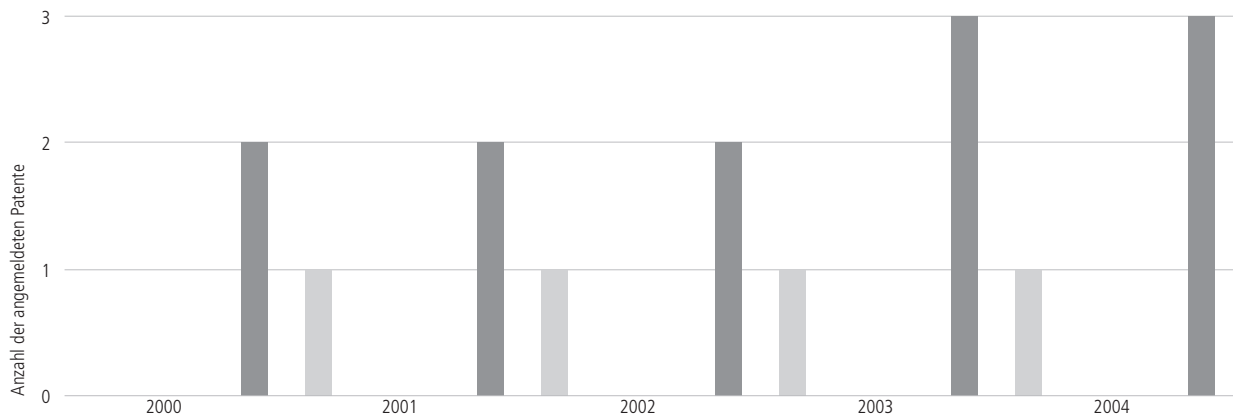


Abbildung 16 (SF-1, 2): Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „humane embryonale Stammzellen“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgliedert nach den EU-Ländern Deutschland, Frankreich, Großbritannien, Niederlande, Belgien sowie die Nicht-EU-Länder Japan und die Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

I.3. Gentherapie

Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „Gentherapie“

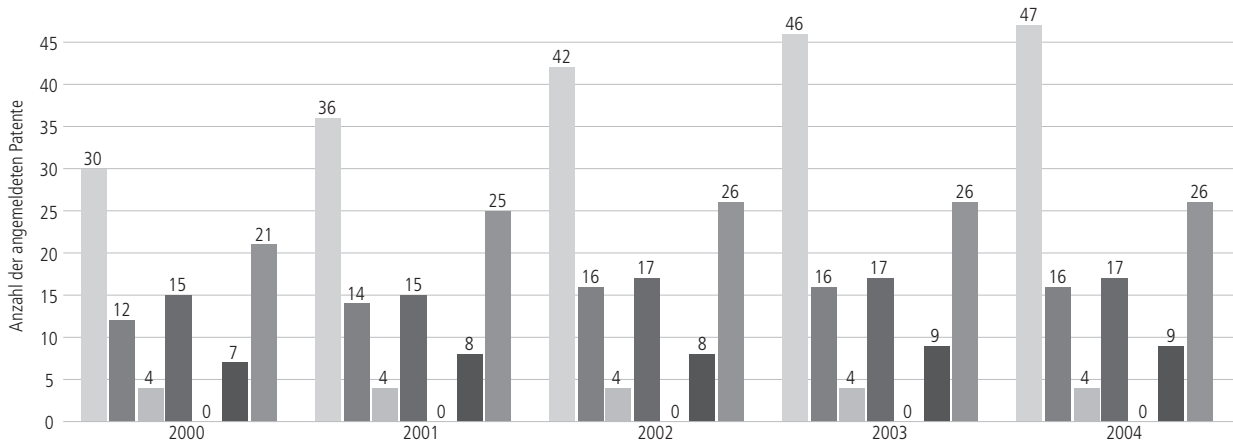


Abbildung 17 (SF-1, 3): Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „Gentherapie“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgliedert nach den EU-Ländern Deutschland, Frankreich, Großbritannien, Niederlande, Belgien sowie die Nicht-EU-Länder Japan und die Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

I.4. Tissue Engineering

Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „Tissue Engineering“

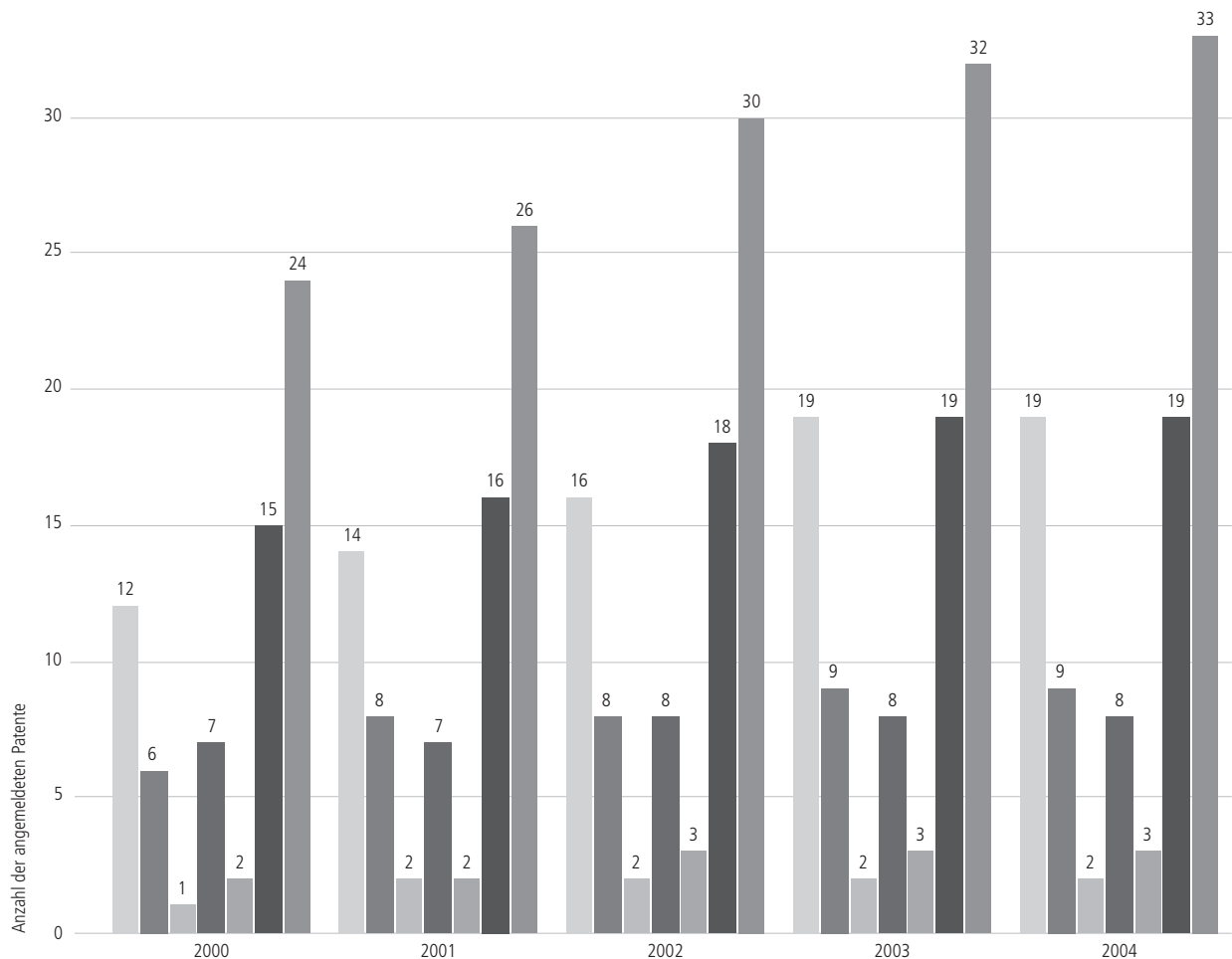


Abbildung 18 (SF-1, 4): Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „Tissue Engineering“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgegliedert für die EU-Länder ■ Deutschland, ■ Frankreich, ■ Großbritannien, ■ Niederlande, ■ Belgien sowie die Nicht-EU-Länder ■ Japan und die ■ Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

I.5. Produkte zur Zelltherapie

Die Datenbankabfrage ergab lediglich ein Patentdokument zu dem Suchwort „Zelltherapie“. Die Anmeldung erfolgte im Jahr 2002 vom Anmeldeland Deutschland. Aufgrund der geringen Datenmenge wurde auf eine Darstellung verzichtet.

I.6. Transplantationsmedizin (klinische Studien)

Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „Transplantationsmedizin“

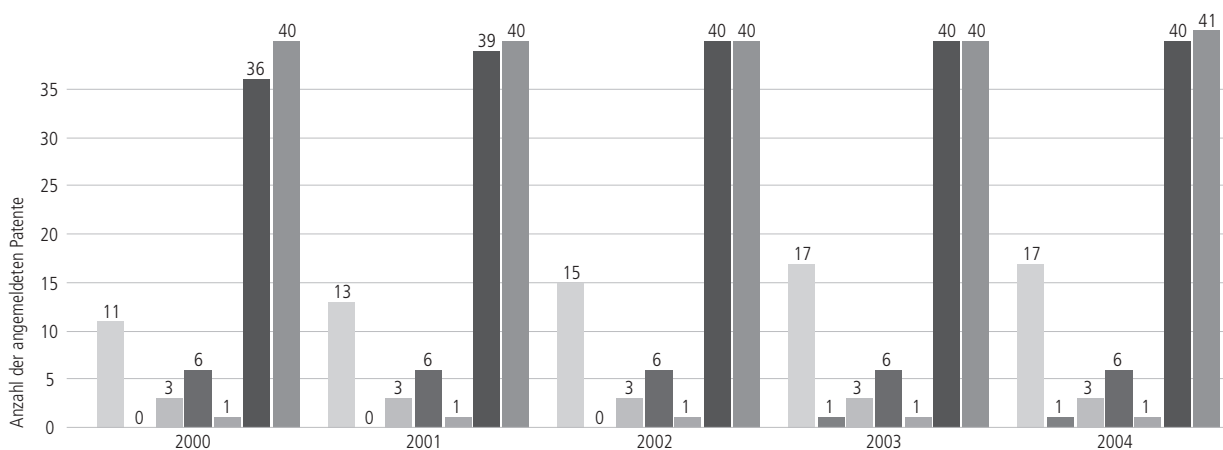


Abbildung 19 (SF-1, 5): Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „Transplantationsmedizin“ für die Jahre 2000 bis 2004 für die EU-Länder Deutschland, Frankreich, Großbritannien, Niederlande, Belgien sowie die Nicht-EU-Länder Japan und die Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

II. Angemeldete Patente für den Bereich „Stammzellen“ gesamt

(nach manueller Aufteilung der Patente anhand der Zusammenfassungen in die Themenbereiche: adulte menschliche Stammzellen, embryonale menschliche Stammzellen, adulte tierische (xenogene) Stammzellen und embryonale tierische (xenogene) Stammzellen).

II.1. Adulte menschliche Stammzellen

Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „adulte menschliche Stammzellen“

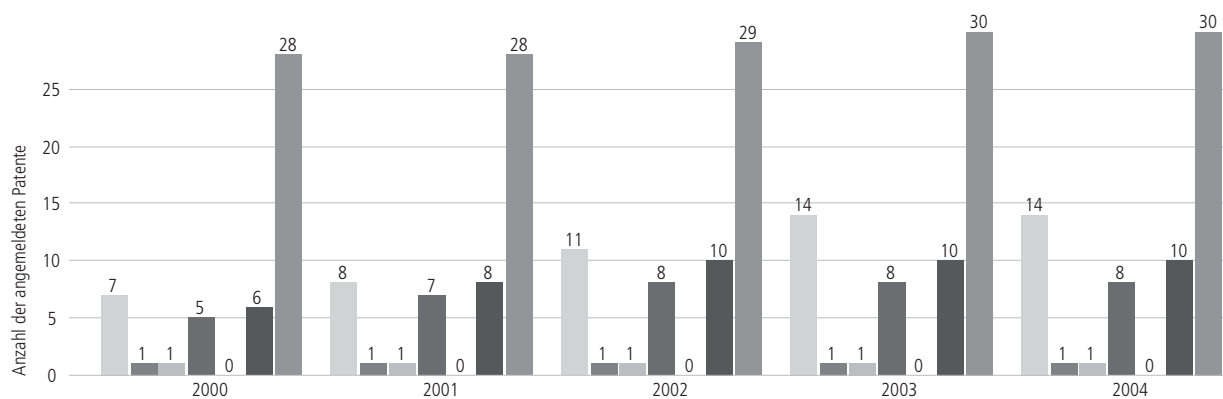


Abbildung 20 (SF-1, 6): Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „adulte menschliche Stammzellen“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgliedert für die EU-Länder Deutschland, Frankreich, Großbritannien, Niederlande, Belgien sowie die Nicht-EU-Länder Japan und die Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

II.2. Embryonale menschliche Stammzellen

Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „embryonale menschliche Stammzellen“

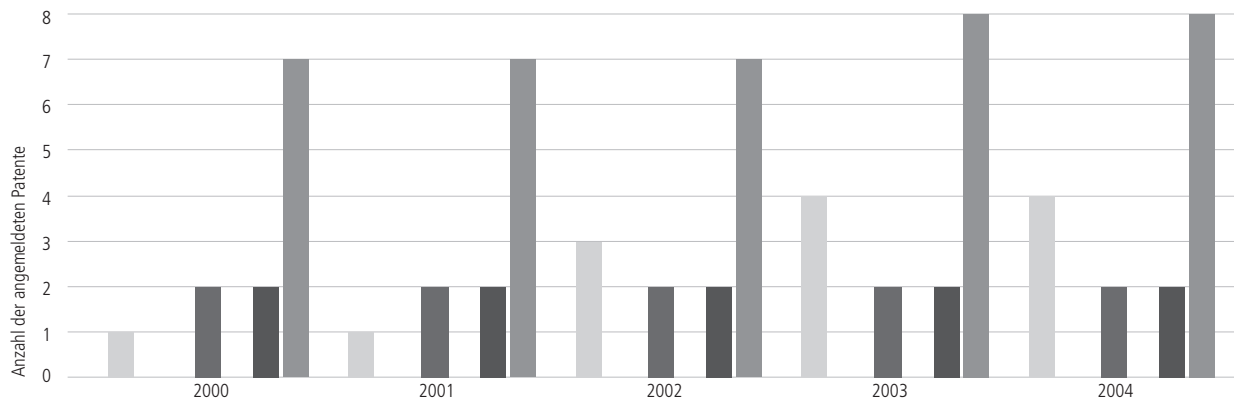


Abbildung 21 (SF-1, 7): Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „embryonale menschliche Stammzellen“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgliedert für die EU-Länder ■ Deutschland, ■ Frankreich, ■ Großbritannien, ■ Niederlande, ■ Belgien sowie die Nicht-EU-Länder ■ Japan und die ■ Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

II.3. Adulte tierische Stammzellen

Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „adulte tierische Stammzellen“

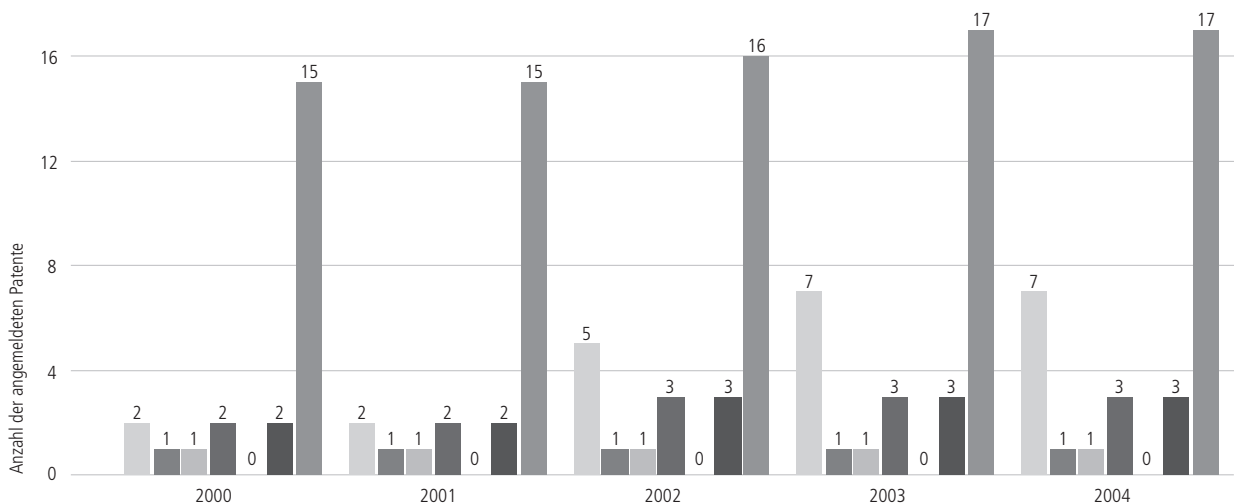


Abbildung 22 (SF-1, 8): Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „adulte tierische Stammzellen“ für die Jahre 2000 bis 2004 für die EU-Länder ■ Deutschland, ■ Frankreich, ■ Großbritannien, ■ Niederlande, ■ Belgien sowie die Nicht-EU-Länder ■ Japan und die ■ Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

II.4. Embryonale tierische Stammzellen

Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „embryonale tierische Stammzellen“

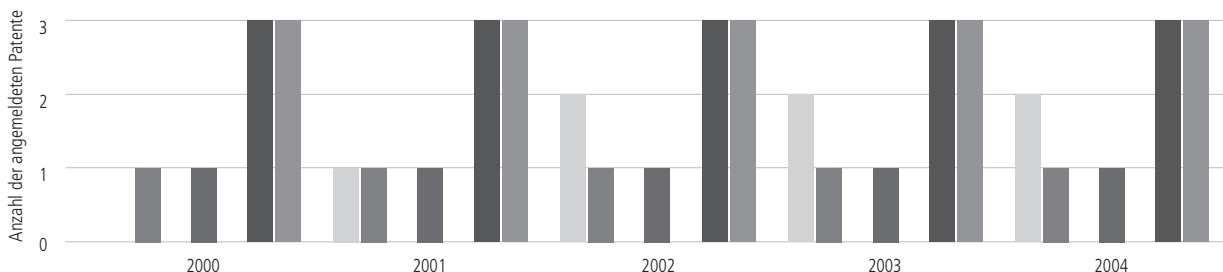


Abbildung 23 (SF-1, 9): Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „embryonale tierische Stammzellen“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgegliedert für die EU-Länder Deutschland, Frankreich, Großbritannien, Niederlande, Belgien sowie die Nicht-EU-Länder Japan und die Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

II.5. Vergleich der Patentanmeldungen für die Anmeldeländer Deutschland und USA für die Themenbereiche: adulte menschliche Stammzellen, embryonale menschliche Stammzellen, adulte tierische (xenogene) Stammzellen und embryonale tierische (xenogene) Stammzellen

Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente, Vergleich verschiedener Bereiche: „adulte menschliche Stammzellen“, „adulte tierische Stammzellen“, „embryonale menschliche Stammzellen“ und „embryonale tierische Stammzellen“

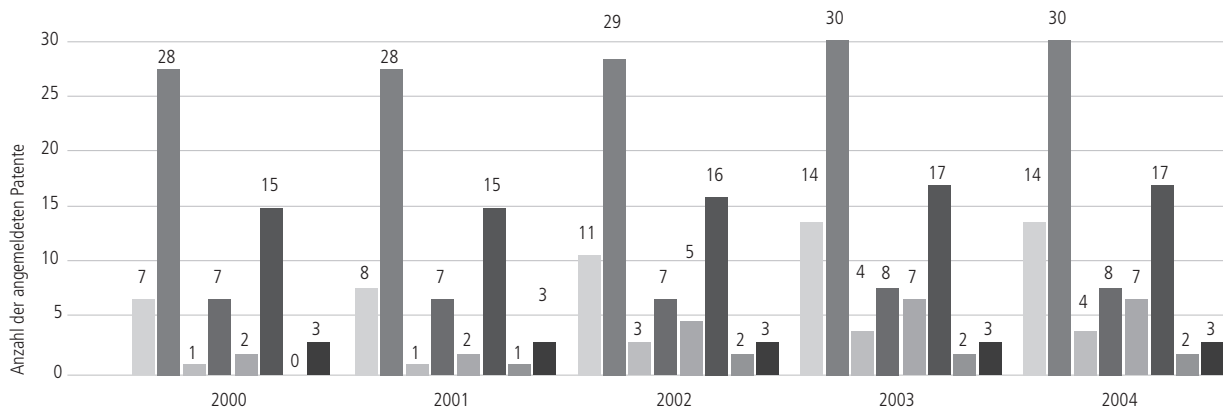


Abbildung 24 (SF-1, 10): Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente, Vergleich verschiedener Bereiche: „adulte menschliche Stammzellen“, „adulte tierische Stammzellen“, „embryonale menschliche Stammzellen“ und „embryonale tierische Stammzellen“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgegliedert nach den Anmeldeländern Deutschland und den Vereinigten Staaten von Amerika (USA). (Deutschland Humane adulte Stammzellen; USA Humane adulte Stammzellen; Deutschland Humane embryonale Stammzellen; USA Humane embryonale Stammzellen; Deutschland Tierische adulte Stammzellen; USA Tierische adulte Stammzellen; Deutschland Tierische embryonale Stammzellen; USA Tierische embryonale Stammzellen)

III. Vergleich des Forschungssektors „Nanotechnologie“ mit dem Forschungssektor „Stammzellen“ anhand der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente

III.1. Zeitliche Entwicklung der Anzahl von Patentanmeldungen weltweit

Anzahl der beim Europäischen Patentamt weltweit angemeldeten Patente im Bereich „Nanotechnologie“ und im Bereich „Stammzellen“

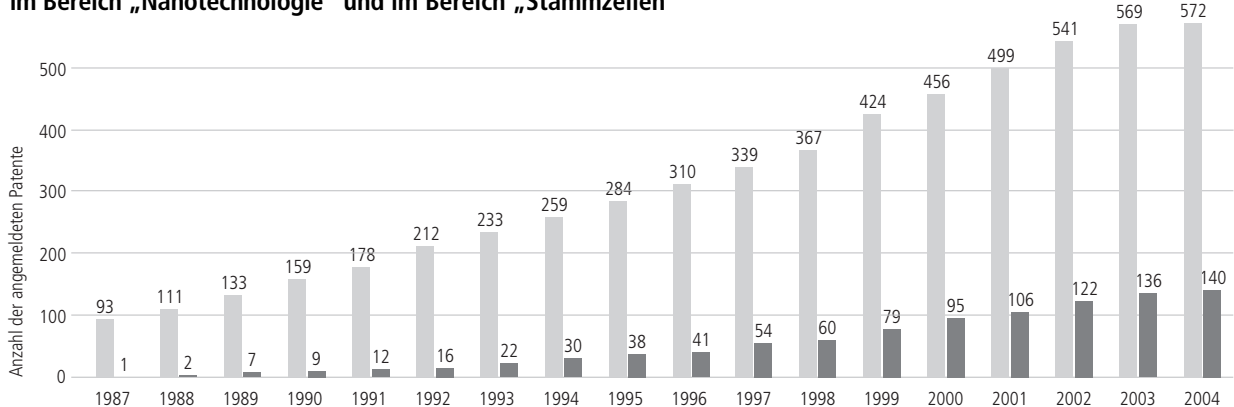


Abbildung 25 (SF-1, 11): Anzahl der beim Europäischen Patentamt weltweit angemeldeten Patente im Bereich „Nanotechnologie“ und im Bereich „Stammzellen“ im Zeitraum von 1987 bis 2004.

III.2. Angemeldete Patente im Bereich „Nanotechnologie“

Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „Nanotechnologie“

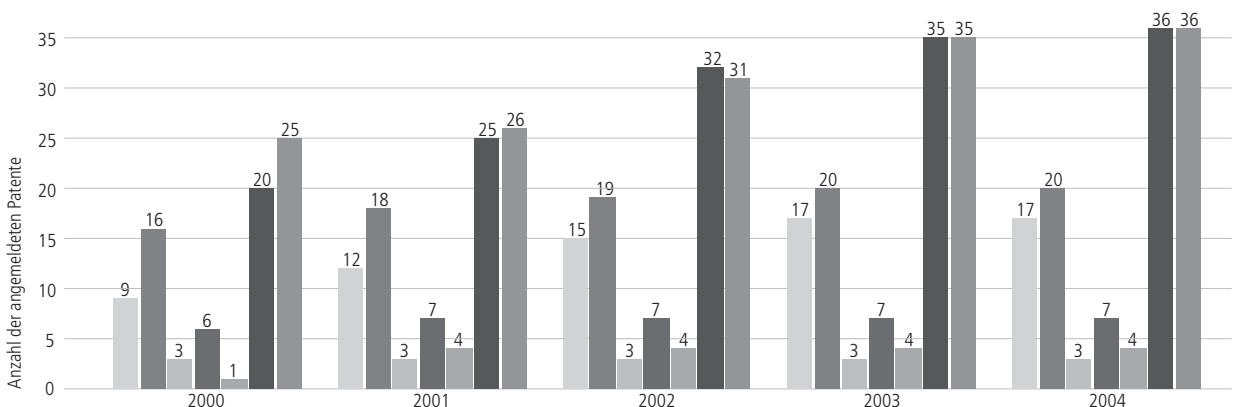


Abbildung 26 (SF-1, 12): Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „Nanotechnologie“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgegliedert für die EU-Länder Deutschland, Frankreich, Großbritannien, Niederlande, Belgien sowie die Nicht-EU-Länder Japan und die Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

III.3. Angemeldete Patente „Stammzellen“ gesamt

Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „Stammzellen“

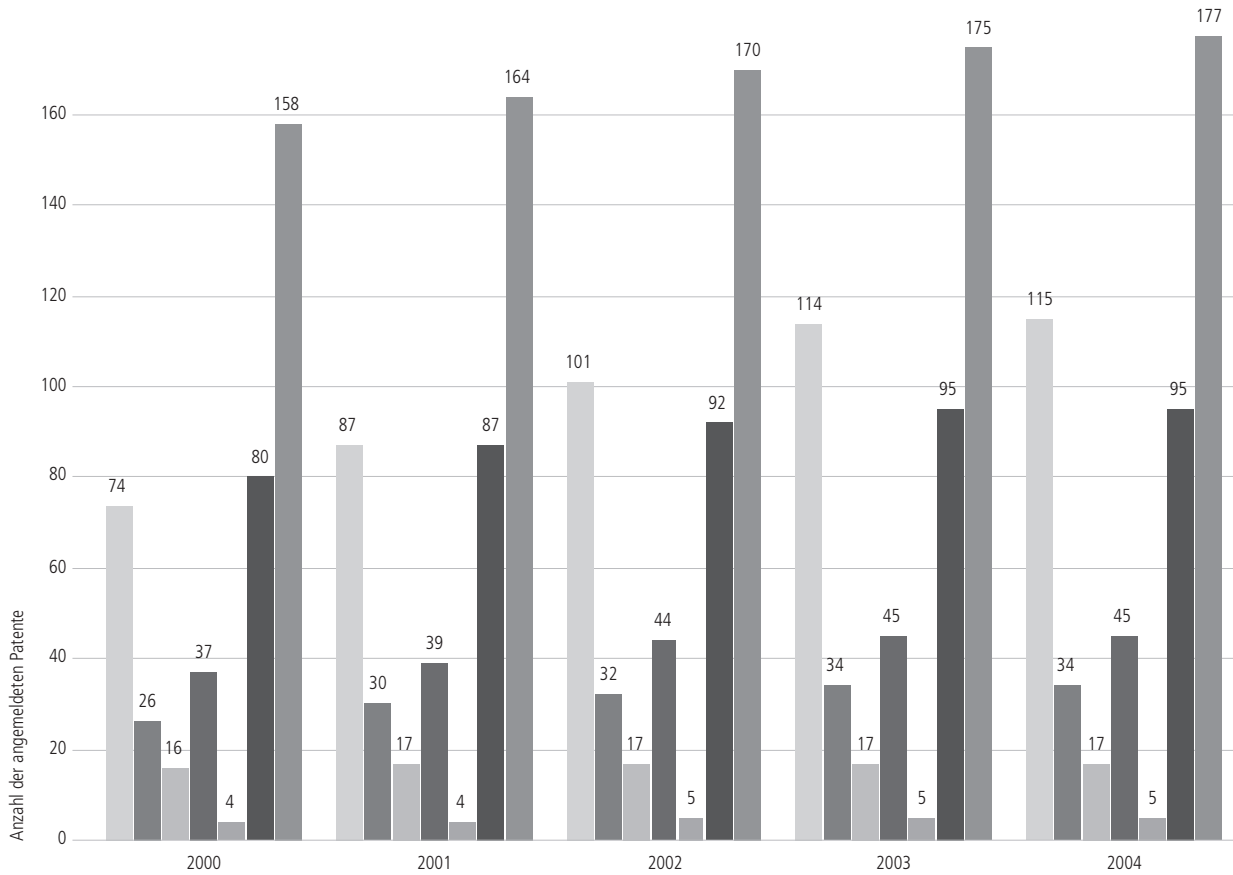


Abbildung 27 (SF-1, 13): Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „Stammzellen“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgliedert für die EU-Länder Deutschland, Frankreich, Großbritannien, Niederlande, Belgien sowie die Nicht-EU-Länder Japan und die Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

Laufende Nr.:	SF-2
Name des Indikators:	Anzahl der veröffentlichten Patentanträge
Problemfeld:	Forschungsstandort Deutschland
Zweck des Indikators:	Der Indikator misst den Stellenwert, den die Stammzellforschung in der Wissenschaft einnimmt durch den Vergleich mit anderen Forschungsfeldern.
Berechnungsformel:	Patentanträge/Jahr (für die genannten Stichworte)
Datenquelle:	Als Datenquelle dienen die vom Europäischen Patentamt veröffentlichten Datenbanken „Espace® Access“ und „Espace® Bulletin“. Espace® Access: Die Datenbank umfasst alle bibliographischen Informationen über europäische Patentanmeldungen und PCT Anmeldungen (basierend auf der Patent Co-operation Treaty) einschließlich der in Englisch verfassten Zusammenfassungen (ca. 2 Millionen). Espace® Bulletin: Die Datenbank ermöglicht dem Benutzer den Zugriff auf bibliographische Daten und den rechtlichen Status von allen europäischer Patentanmeldungen (ca. 1 226 000) seit Gründung der EPO sowie allen veröffentlichten Patenten (ca. 590 000). Beide Datenbanken umfassen den Zeitraum von Dezember 1978 bis November 2005. Beide Datenbanken sind für die Datenerhebung des Indikators notwendig, da man mit Hilfe der Datenbank Espace® Access zwar nach entsprechenden Stichworten aus dem zu untersuchenden Themengebiet suchen kann, jedoch für eine entsprechende Zuordnung der resultierenden Patente zu den Anmeldeländern die Datenbank Espace® Bulletin notwendig ist. Für die Auswertung der Datenbanken wurde das Softwareprogramm „Mimosa Version 4.3“ verwendet.
Verfügbarkeit der Daten:	Die Datenbanken Espace® Access und Espace® Bulletin können von der Öffentlichkeit gegen Entgelt vom Europäischen Patentamt erworben werden. Beide Datenbanken umfassen den Zeitraum von Dezember 1978 bis in die Gegenwart (Es gibt von beiden Datenbanken ein monatliches Update.).
Abgrenzung der Berechnungsgrößen:	Stichworte zum Themengebiet Stammzellen: <ul style="list-style-type: none"> ▶ adulte menschliche Stammzellen ▶ embryonale menschliche Stammzellen ▶ tierische (xenogene) Zellen ▶ Gentherapie ▶ Tissue Engineering ▶ Produkte zur Zelltherapie ▶ Transplantationsmedizin (klinische Studien)
Zähler	Anzahl der veröffentlichten Patente
Nenner	Pro Jahr (für die Jahre 2000 bis 2004)
Gliederung der Kennzahl	Aufgrund technischer Begebenheiten der verwendeten Datenbanken wurden die Stichwörter im folgenden verschiedenen Teiluntersuchungen zugeordnet, die bereits im Indikator SF-1 erläutert wurden. <ol style="list-style-type: none"> I) 1) Stammzellen 2) embryonale menschliche Stammzellen 3) Gentherapie 4) Tissue Engineering 5) Produkte zur Zelltherapie 6) Transplantationsmedizin (klinische Studien) II) Stammzellen aufgetrennt in: <ol style="list-style-type: none"> 1) adulte menschliche Stammzellen 2) embryonale menschliche Stammzellen 3) adulte tierische (xenogene) Zellen 4) embryonale tierische (xenogene) Zellen

III) Themengebiet Nanotechnologie

versus gesamtes Themengebiet Stammzellen

(Stammzellen, embryonale menschliche Stammzellen, Gentherapie, Tissue Engineering, Produkte zur Zelltherapie, Transplantationsmedizin (klinische Studien))

Die Patentsuche in den Datenbanken beschränkt sich auf die EU-Länder Deutschland, Frankreich, Großbritannien, Niederlande und Belgien sowie die nicht EU-Länder Japan und die Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

Berechnungshäufigkeit:

Jährlich

Zur Aussagefähigkeit:

Patente sind gewerbliche Schutzrechte, die ein zeitlich begrenztes ausschließliches Recht zur gewerblichen Nutzung eines technischen Verfahrens oder eines technischen Produkts gewähren. Der Patenhalter kann gegen Entgelt Wettbewerbern die Nutzung in Form von Lizenzen überlassen. Die Anzahl der erteilten Patente gibt einen ersten Hinweis auf den Erfolg getätigter F&E-Ausgaben. Gleichzeitig muss bedacht werden, dass die Anzahl der erteilten Patente stark von den Patentschutzrichtlinien abhängt, die in den jeweiligen Ländern gelten: In der EU wurde die Biopatentrichtlinie zwischenzeitlich vereinheitlicht, jedoch unterscheidet sie sich von den amerikanischen Richtlinien. Dies muss bei internationalen Vergleichen berücksichtigt werden. Der Vergleich der Anzahl eingereicherter mit der Anzahl angenommener Patent-anträge ermöglicht eine erste Einschätzung des tatsächlichen wirtschaftlichen Potenzials. Da die Patentanmeldung mit Kosten verbunden ist, ist davon auszugehen, dass Patente nur bei entsprechender Gewinnerwartung angemeldet werden.

I. Veröffentlichte Patente für die Bereiche „Stammzellen“, „embryonale menschliche Stammzellen“, „Gentherapie“, „Tissue Engineering“, „Produkte zur Zelltherapie“, „Transplantationsmedizin“

I.1. Stammzellen

Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „Stammzellen“

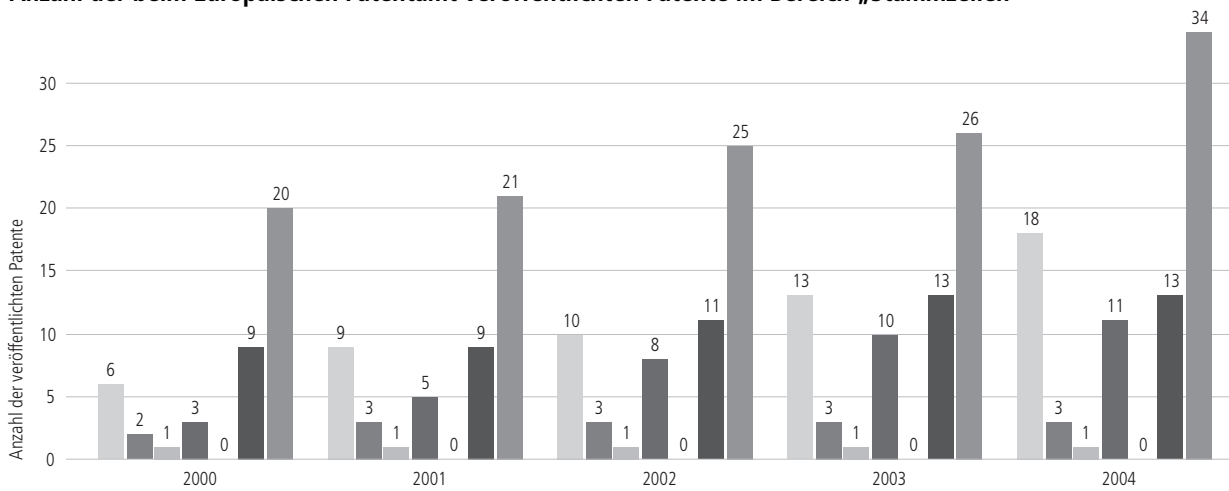


Abbildung 28 (SF-2, 1): Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „Stammzellen“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgliedert für die EU-Länder ■ Deutschland, ■ Frankreich, ■ Großbritannien, ■ Niederlande, ■ Belgien sowie die Nicht-EU-Länder ■ Japan und die ■ Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

Auffällig ist, dass bei einem Vergleich der Anzahl der angemeldeten Patente (siehe Indikator 1, Abbildung LSF-1.1.) mit der Anzahl der veröffentlichten Patente für die USA bedeutend weniger (ca. 28 Prozent) Patente im Zeitraum 2000–2003 veröffentlicht als angemeldet wurden, während sich das Verhältnis bei den sechs anderen aufgeführten Ländern die Waage hält.

I.2. Embryonale menschliche Stammzellen

Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „humane embryonale Stammzellen“

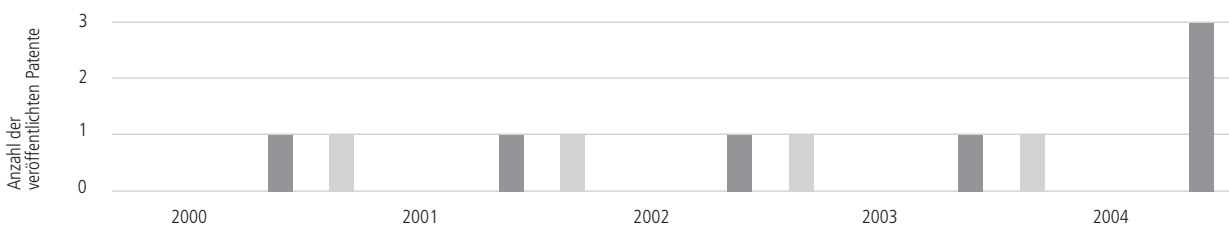


Abbildung 29 (SF-2, 2): Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „humane embryonale Stammzellen“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgliedert für die EU-Länder ■ Deutschland, ■ Frankreich, ■ Großbritannien, ■ Niederlande, ■ Belgien sowie die Nicht-EU-Länder ■ Japan und die ■ Vereinigten Staaten von Amerika (USA). Die Anzahl der angemeldeten Patente (siehe Indikator 1, Abbildung SF 1.2.) korreliert mit der Anzahl der veröffentlichten.

I.3. Gentherapie

Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „Gentherapie“

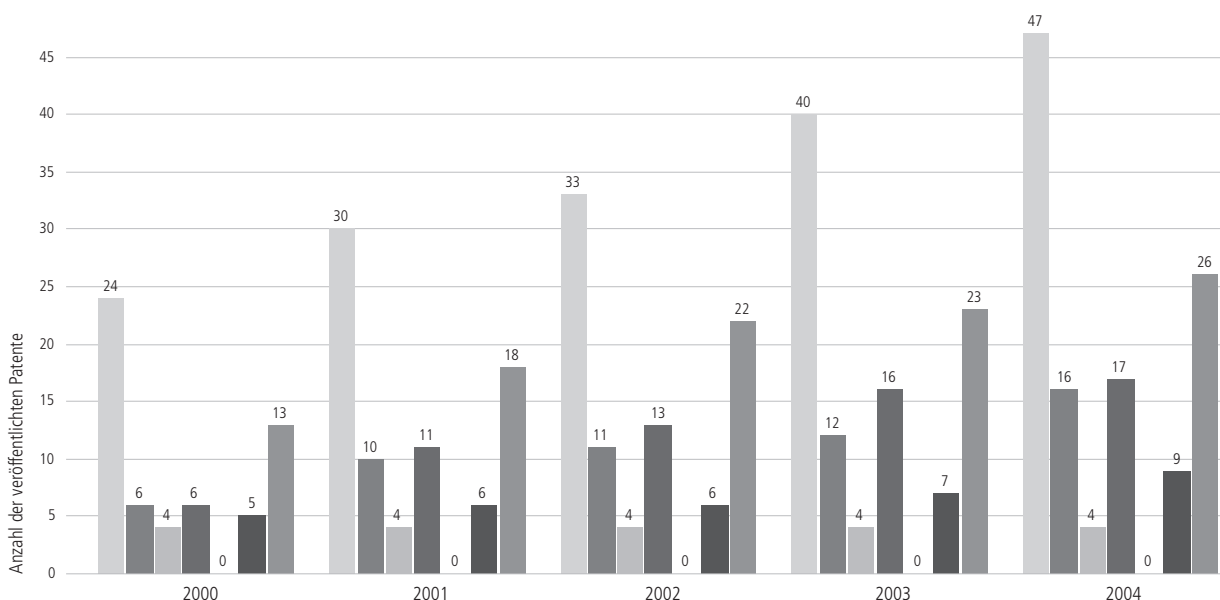


Abbildung 30 (SF-2, 3): Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „Gentherapie“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgliedert für die EU-Länder ■ Deutschland, ■ Frankreich, ■ Großbritannien, ■ Niederlande, ■ Belgien sowie die Nicht-EU-Länder ■ Japan und die ■ Vereinigten Staaten von Amerika (USA). Insgesamt gesehen wurden von Deutschland, USA, Niederlande und Frankreich im Zeitraum 2000-2003 mehr Patente angemeldet (Indikator 1, Abbildung SF 1.3.) als veröffentlicht.

I.4. Tissue Engineering

Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „Tissue Engineering“

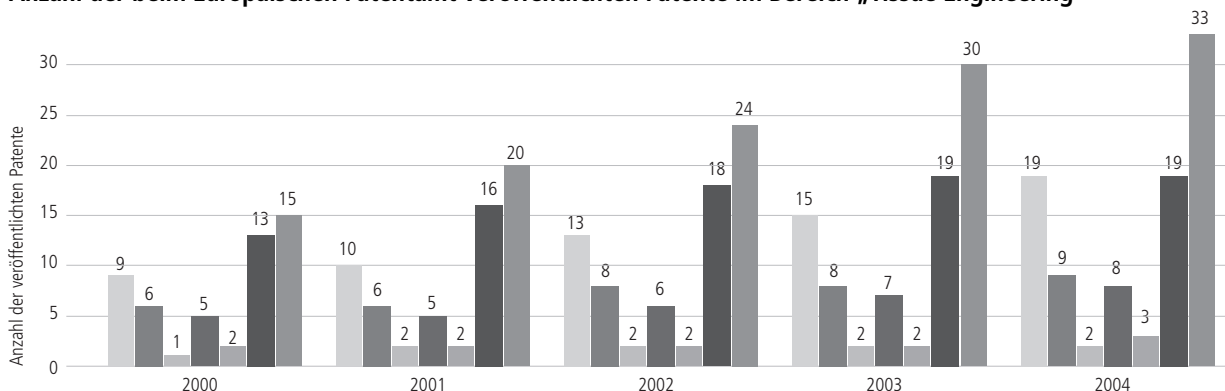


Abbildung 31 (SF-2, 4): Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „Tissue Engineering“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgliedert für die EU-Länder ■ Deutschland, ■ Frankreich, ■ Großbritannien, ■ Niederlande, ■ Belgien sowie die Nicht-EU-Länder ■ Japan und die ■ Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

I.5. Produkte zur Zelltherapie

Die Datenbankabfrage ergab lediglich ein Patentdokument zu dem Suchwort „Zelltherapie“. Die Veröffentlichung des Patentes erfolgte im Jahr 2004 von Deutschland.

I.6. Transplantationsmedizin (klinische Studien)

Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „Transplantationsmedizin“

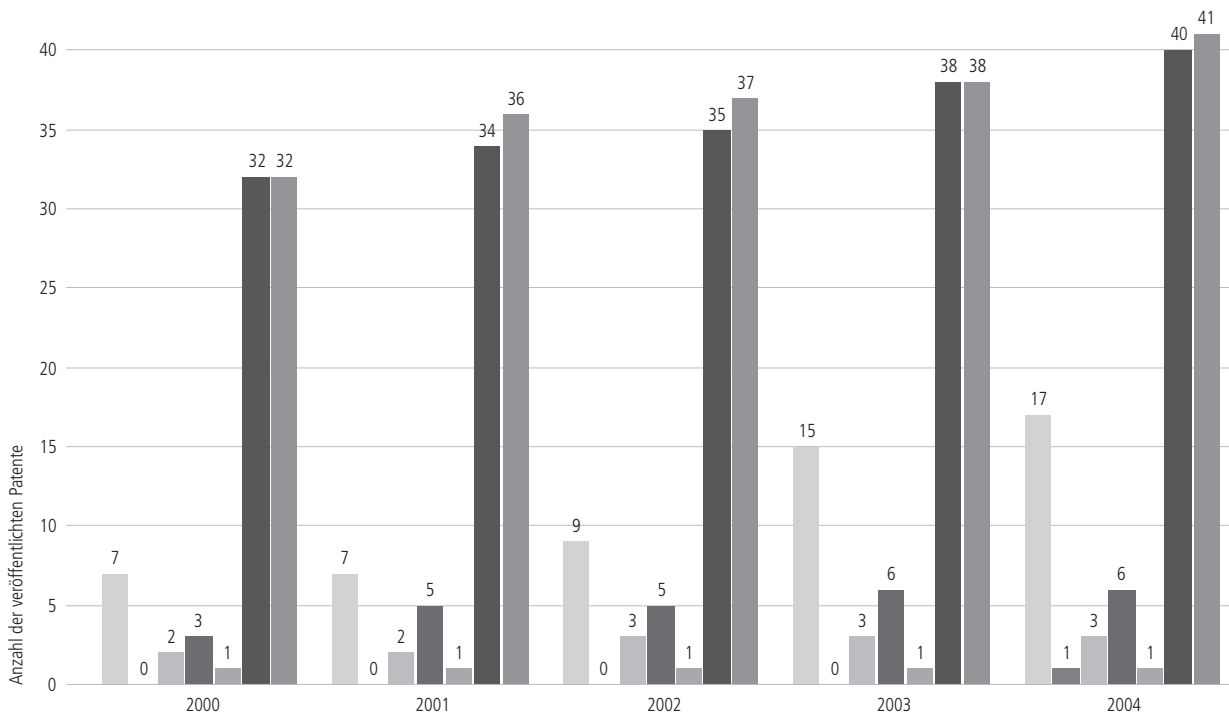


Abbildung 32 (SF-2, 5): Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „Transplantationsmedizin“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgegliedert für die EU-Länder Deutschland, Frankreich, Großbritannien, Niederlande, Belgien sowie die Nicht-EU-Länder Japan und die Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

Zusammenfassung der Ergebnisse Teil I

Zusammenfassend kann man feststellen, dass Deutschland innerhalb der aufgeführten EU-Länder (Niederlande, Frankreich, Großbritannien und Belgien) und für alle Teilbereiche aus dem Sektor „Stammzellen“ führend bei den Patentveröffentlichungen ist. Deutschland überflügelt Japan oder steht mit diesem Land in Bezug auf die Anzahl an Patentveröffentlichungen an gleicher Position. Eine Ausnahme bildet der Bereich „Transplantationsmedizin“ (Abbildung SF 1.6.), in dem Japan sowie die USA einen bedeutenden Vorsprung vor Deutschland besitzen. Im Bereich „Gentherapie“ (Abbildung SF 1.3.) übersteigt dagegen die Anzahl der von Deutschland veröffentlichten Patente die von den USA veröffentlichten Patente um das Doppelte.

Insgesamt zeigen die USA im Sektor „Stammzellen“ eine führende Rolle bei den Patentveröffentlichungen. Jedoch fällt der Vorsprung vor Japan und Deutschland in Hinsicht auf die Anzahl von Patentveröffentlichungen nicht so groß aus wie bei der Anzahl von Patentanmeldungen.

II. Veröffentlichte Patente für den Bereich „Stammzellen“ nach manueller Aufteilung der Patente anhand der Zusammenfassungen in die Themenbereiche: adulte menschliche Stammzellen, embryonale menschliche Stammzellen, adulte tierische (xenogene) Stammzellen und embryonale tierische (xenogene) Stammzellen

II.1. Adulte menschliche Stammzellen

Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „adulte menschliche Stammzellen“

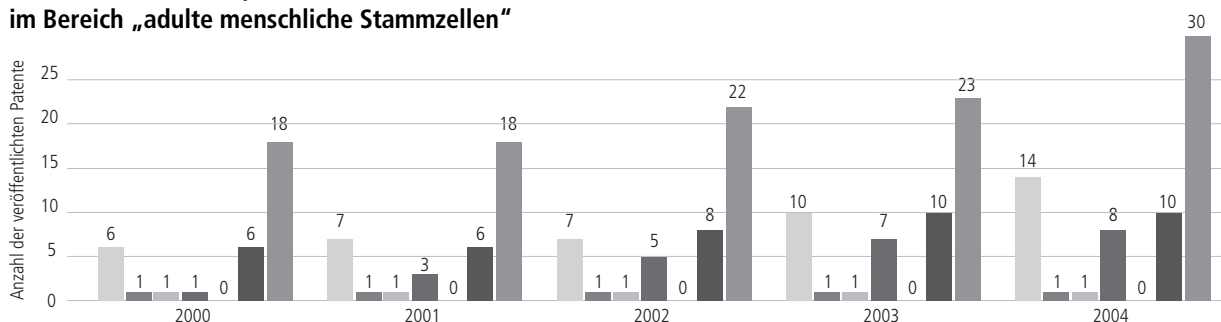


Abbildung 33 (SF-2, 6): Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „adulte menschliche Stammzellen“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgegliedert für die EU-Länder ■ Deutschland, ■ Frankreich, ■ Großbritannien, ■ Niederlande, ■ Belgien sowie die Nicht-EU-Länder ■ Japan und die ■ Vereinigten Staaten von Amerika (USA). Ein Vergleich der Anzahl an angemeldeten Patenten für diesen Themenbereich (Indikator 1, Abbildung SF 2.1.) mit der Anzahl an veröffentlichten Patenten zeigt, dass insgesamt gesehen im Zeitraum 2000–2003 von den USA weniger Patente veröffentlicht als angemeldet wurden.

II.2. Embryonale menschliche Stammzellen

Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „embryonale menschliche Stammzellen“

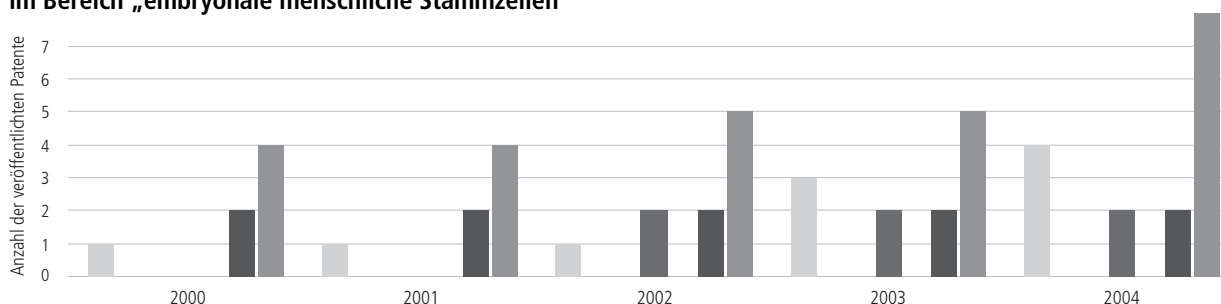


Abbildung 34 (SF-2, 7): Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „embryonale menschliche Stammzellen“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgegliedert für die EU-Länder ■ Deutschland, ■ Frankreich, ■ Großbritannien, ■ Niederlande, ■ Belgien sowie die Nicht-EU-Länder ■ Japan und die ■ Vereinigten Staaten von Amerika (USA). Auch für diesen Themenbereich zeigt sich die Diskrepanz zwischen der Anzahl an angemeldeten und der Anzahl an veröffentlichten Patenten.

II.3. Adulte tierische Stammzellen

Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „adulte tierische Stammzellen“

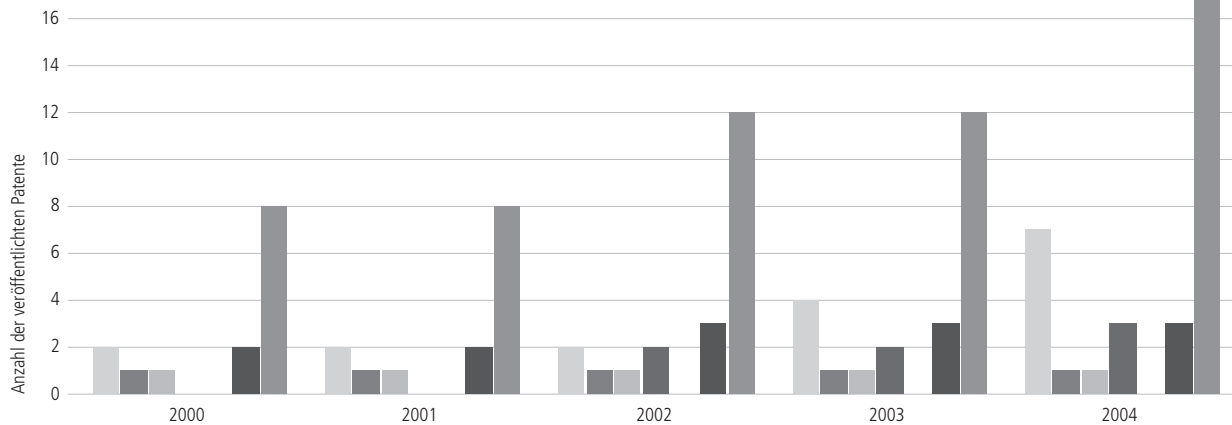


Abbildung 35 (SF-2, 8): Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „adulte tierische Stammzellen“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgliedert für die EU-Länder ■ Deutschland, ■ Frankreich, ■ Großbritannien, ■ Niederlande, ■ Belgien sowie die Nicht-EU-Länder ■ Japan und die ■ Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

II.4. Embryonale tierische Stammzellen

Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „embryonale tierische Stammzellen“

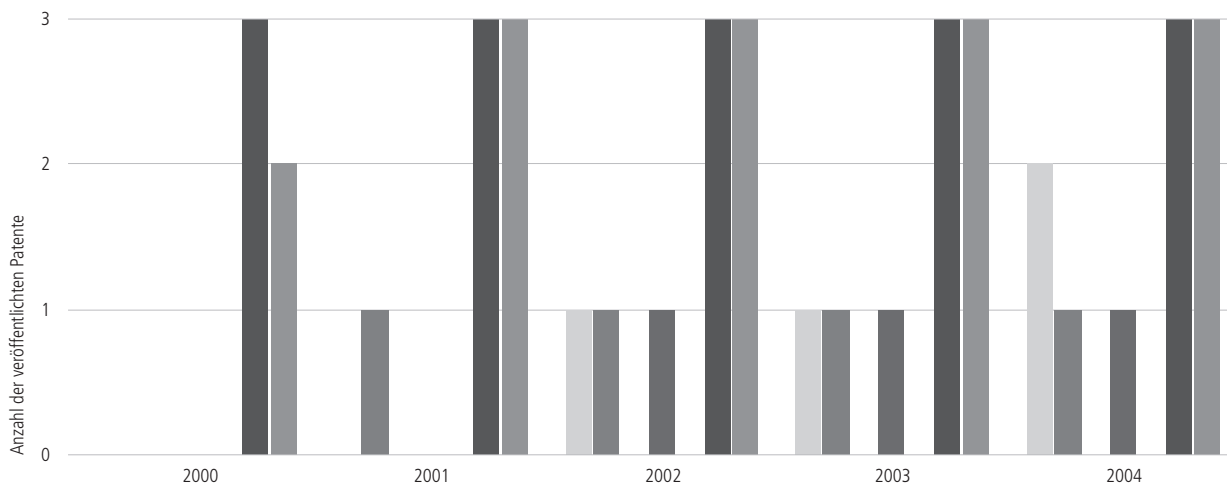


Abbildung 36 (SF-2, 9): Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „embryonale tierische Stammzellen“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgliedert für die EU-Länder ■ Deutschland, ■ Frankreich, ■ Großbritannien, ■ Niederlande, ■ Belgien sowie die Nicht-EU-Länder ■ Japan und die ■ Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

II.5 Vergleich der Patentveröffentlichungen für die Anmeldeländer Deutschland und USA für die Themenbereiche: adulte menschliche Stammzellen, embryonale menschliche Stammzellen, adulte tierische (xenogene) Stammzellen und embryonale tierische (xenogene) Stammzellen

Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente, Vergleich verschiedener Bereiche

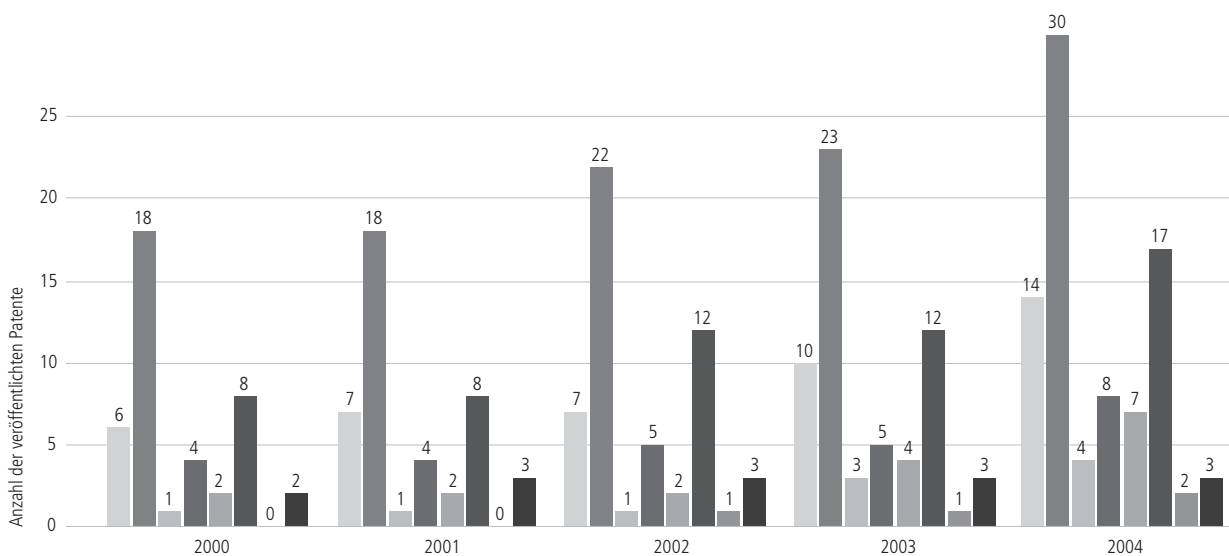


Abbildung 37 (SF-2, 10): Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente, Vergleich verschiedener Bereiche: „adulte menschliche Stammzellen“, „adulte tierische Stammzellen“, „embryonale menschliche Stammzellen“ und „embryonale tierische Stammzellen“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgliedert nach den Anmeldeländern Deutschland und den Vereinigten Staaten von Amerika (USA). (■ Deutschland Humane adulte Stammzellen; ■ USA Humane adulte Stammzellen; ■ Deutschland Humane embryonale Stammzellen; ■ USA Humane embryonale Stammzellen; ■ Deutschland Tierische adulte Stammzellen; ■ USA Tierische adulte Stammzellen; ■ Deutschland Tierische embryonale Stammzellen; ■ USA Tierische embryonale Stammzellen)

III. Vergleich des Forschungssektors „Nanotechnologie“ mit dem Forschungssektor „Stammzellen“ anhand der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente

III.1. Zeitliche Entwicklung der Anzahl von Patentveröffentlichungen international

Abbildung 38 (SF-2, 11): Anzahl der beim Europäischen Patentamt international veröffentlichten Patente im Bereich „Nanotechnologie“ und im Bereich „Stammzellen“

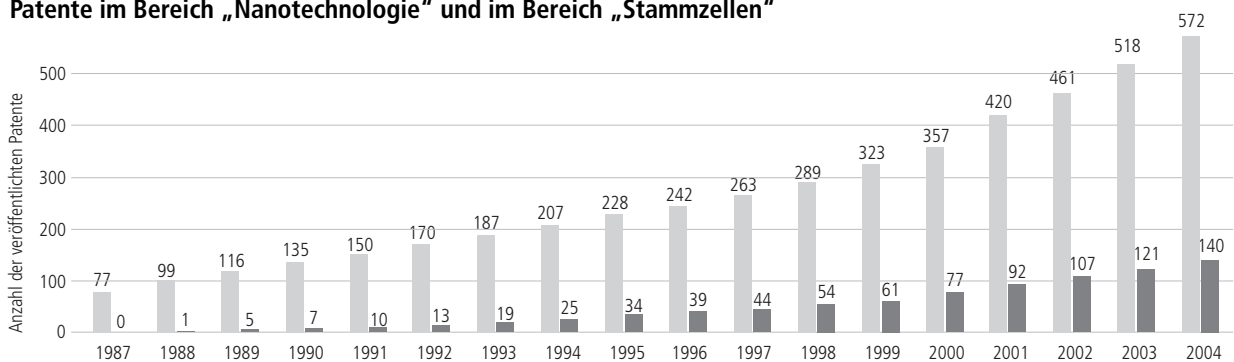


Abbildung 38 (SF-2, 11): Anzahl der beim Europäischen Patentamt international veröffentlichten Patente im Bereich „Nanotechnologie“ und im Bereich „Stammzellen“ im Zeitraum von 1987 bis 2004.

Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „Nanotechnologie“

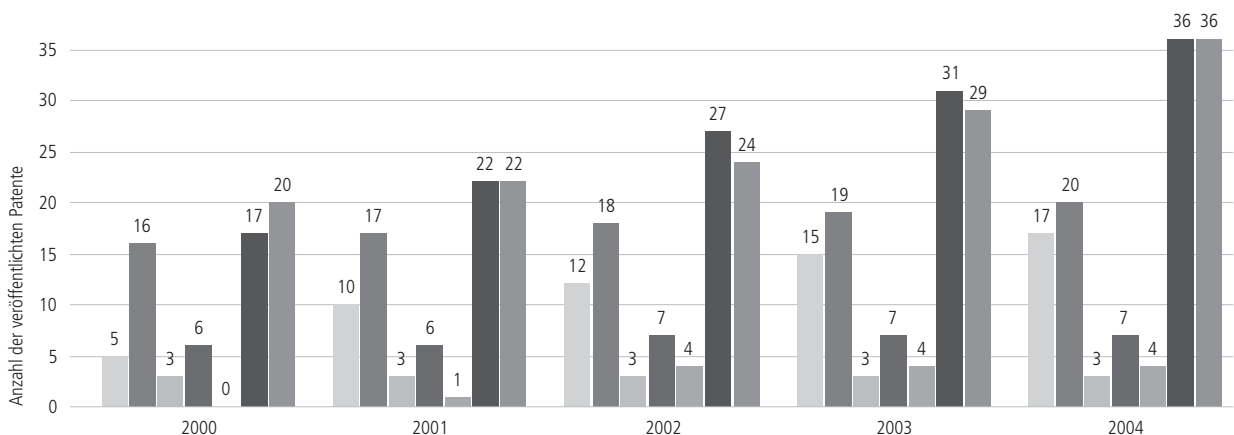


Abbildung 39 (SF-2, 12): Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „Nanotechnologie“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgegliedert für die EU-Länder Deutschland, Frankreich, Großbritannien, Niederlande, Belgien sowie die Nicht-EU-Länder Japan und die Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

Ein Vergleich der Anzahl der veröffentlichten Patente mit der Anzahl der angemeldeten Patente (Indikator 1, Abbildung 3.2) zeigt, dass der Abstand der beiden führenden Länder USA und Japan zu dem an dritter Position liegenden Land Frankreich in Bezug auf die Anzahl der veröffentlichten Patente geringer wird.

III.2. Veröffentlichte Patente im Gesamtbereich „Stammzellen“

Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „Stammzellen“

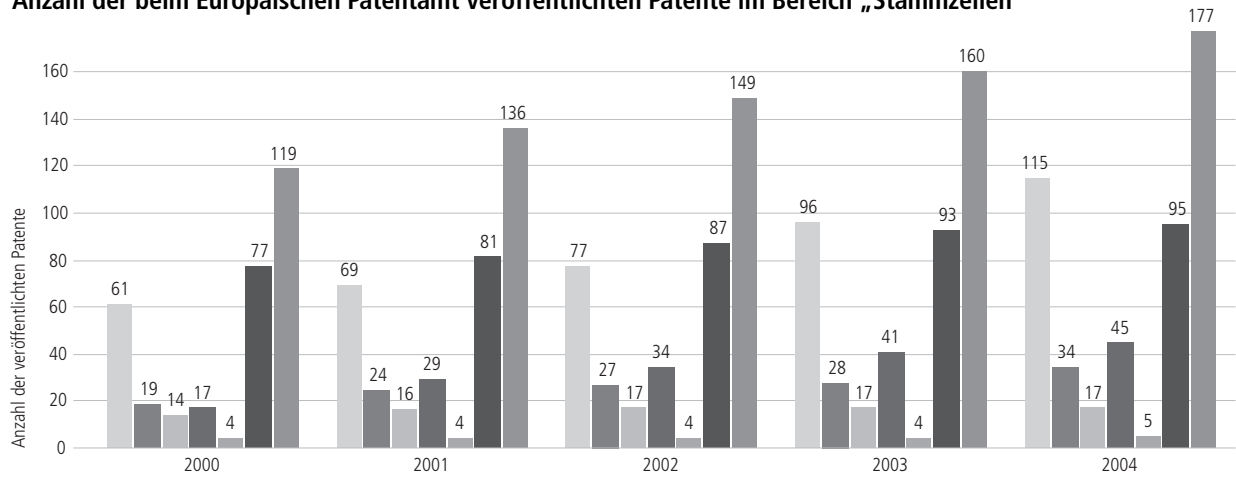


Abbildung 40 (SF-2, 13): Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „Stammzellen“ für die Jahre 2000 bis 2004 aufgegliedert für die EU-Länder ■ Deutschland, ■ Frankreich, ■ Großbritannien, ■ Niederlande, ■ Belgien sowie die Nicht-EU-Länder ■ Japan und die ■ Vereinigten Staaten von Amerika (USA).

Erkennbar wird, dass Deutschland insgesamt gesehen im Sektor „Stammzellen“ im Gegensatz zum Sektor „Nanotechnologie“ innerhalb der dargestellten EU-Länder eine herausragende Stellung einnimmt.

Laufende Nr.:	SF-3
Name des Indikators:	Öffentliche Ausgaben für Forschung und Entwicklung für Stammzellprojekte in Deutschland im Verhältnis zu Vergleichsländern
Problemfeld:	Forschungsstandort Deutschland
Zweck des Indikators:	Bestimmung des wissenschaftlichen und wirtschaftlichen Potenzials.
Berechnungsformel:	
Datenquelle:	Für Deutschland: Bundesberichtforschung 2004, http://www.bmbf.de/de/2303.php , Tabelle 7, S. 612. Antwort der Bundesregierung zur Lage der Forschung in Deutschland (BT-Drs. 15/2528-). http://www.bmbf.de/pub/GA_lage_forschungsfoerderung.pdf (ohne Datum) S. 100. Die Daten wurden für die Jahre 1999-2003 erhoben. Die Daten sind auf Deutschland bezogen. BMBF-Förderprogramm „Zellbasierte, regenerative Medizin“ http://www.gesundheitsforschung-bmbf.de/de/1195.php Die Daten beziehen sich auf den Förderzeitraum 2005–2008.
Verfügbarkeit der Daten:	Öffentlich
Abgrenzung der Berechnungsgrößen:	Die Angaben beziehen sich allein auf die Forschungs- und Entwicklungsaufwendungen des BMBF inklusive DFG im Einzelverfahren sowie im Rahmen koordinierter Verfahren wie Sonderforschungsbereiche, Schwerpunktprogramme und Forschergruppen, nicht berücksichtigt ist eine mögliche Ressortforschung beim BMG, der Max-Planck-Gesellschaft, der Helmholtz-Gemeinschaft, der Leibniz-Gemeinschaft und Fraunhofer-Gesellschaft sowie zusätzlichen Aufwendungen der Bundesländer und der EU. Eine Aufschlüsselung des BMBF-Förderprogramms „Zellbasierte, regenerative Medizin“ für den Förderzeitraum 2005 bis 2008 nach Jahren ist derzeit nicht möglich, eine Aufschlüsselung nach Vorhaben findet sich in der oben genannten Quelle.
Zähler	Ausgaben für Forschung und Entwicklung für Zelltherapie, die Deutschland über das Bundesministerium für Forschung und Bildung tätigt.
Nenner	
Gliederung der Kennzahl	
Berechnungshäufigkeit:	Jährlich
Zur Aussagefähigkeit:	Der Indikator stellt eine wichtige Größe zur Beurteilung der F&E-Förderaktivitäten des Forschungsstandorts Deutschland dar. Aus ihm lassen sich Rückschlüsse auf die Forschungs- und Entwicklungsintensität – sowie im Zusammenhang mit Erfolgsindikatoren wie angemeldete Patente und Publikationen – eine Korrelation zwischen Input und Output erstellen. Durch die Betrachtung des Indikators im Zeitablauf können Aussagen über die Entwicklung der Stammzellforschung in Deutschland getroffen werden, insbesondere im internationalen Vergleich. Die absolute Höhe der öffentlich finanzierten Forschungsförderung erlaubt Rückschlüsse auf den Stellenwert bestimmter Forschungsbereiche, sofern für diese abgegrenzte Zahlen zur Verfügung stehen. Generell wird vom Indikator nicht erfasst, in welcher Höhe die Bundesländer die Forschung und Entwicklung fördern. Die Länderförderung betrifft zum einen den Bereich der Universitäten, die Landesforschungseinrichtungen und die Akademien. Nicht berücksichtigt werden die Förderprogramme der Europäischen Union. In den Tabellen SF-3-3 bis 3-7 und Abbildungen SF-3.3-3.4 können durch die Aufgliederung in die Detailbereiche Mehrfachnennungen von Projekten enthalten sein.

Tabelle 15 (SF-3, 1): BMBF Förderung für Stammzellprojekte

	1999	2000	2001	2002	2003	2004
Stammzellprojekte*	1,2	1,3	2,1	2,7	2,9	k. A.
BMBF**	5 308,4	5 465,7	5 990,2	6 092,2	6 009,3	6 123,3
Anteil Stammzellprojekte BMBF F&E	0,000226%	0,0002378	0,0003505	0,0004431	0,0004736	k. A.

Förderungssumme für Stammzellprojekte des BMBF (Einzelplan 30) im Verhältnis zu Gesamt BMBF-Ausgaben zur Forschung und Entwicklung in Deutschland. Angaben in Mio. Euro.

Quellen: * BMBF, Antwort der Bundesregierung zur Lage der Forschung (BT-Drs. 15/252) S. 100), **Bundesbericht Forschung 2004 (Tabelle 7, S. 612).

Tabelle 16 (SF-3, 2): Finanzmittel aller Stammzellprojekte im Gesundheitsforschungsprogramm

Jahr	1999	2000	2001	2002	2003
Finanzmittel in Euro	1 158 601	1 269 394	2 124 800	2 770 261	2 948 586
% Gesundheitsforschung	0,93	1,00	1,20	1,53	1,70
% BMBF Einzelplan 30	0,01	0,02	0,03	0,03	0,03

Anzahl der Projekte: 51.

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-3.

Aufwendungen für Stammzellprojekte im Gesundheitsforschungsprogramm insgesamt

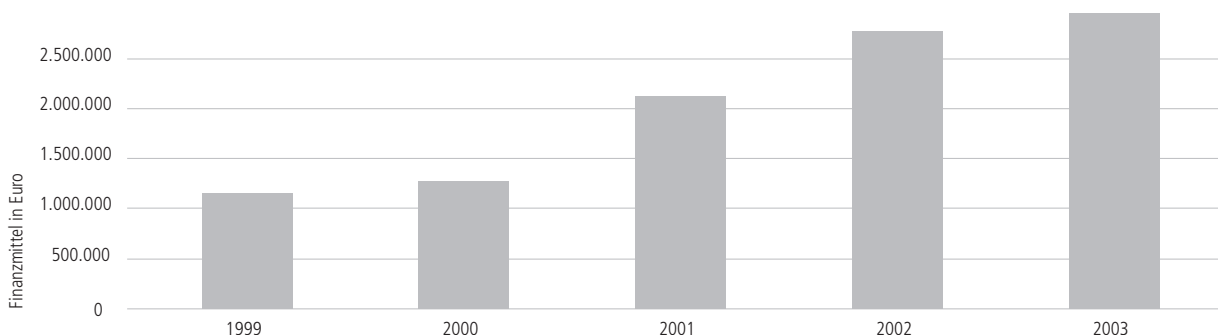


Abbildung 41 (SF-3, 1): Aufwendungen für Stammzellprojekte im Gesundheitsforschungsprogramm insgesamt.

Finanzmittel (in Euro) für Projekte im Rahmen des Gesundheitsforschungsprogramms aus den Jahren 1999–2003, in denen Stammzellen verwendet wurden (Anzahl der Projekte: 51).

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-3.

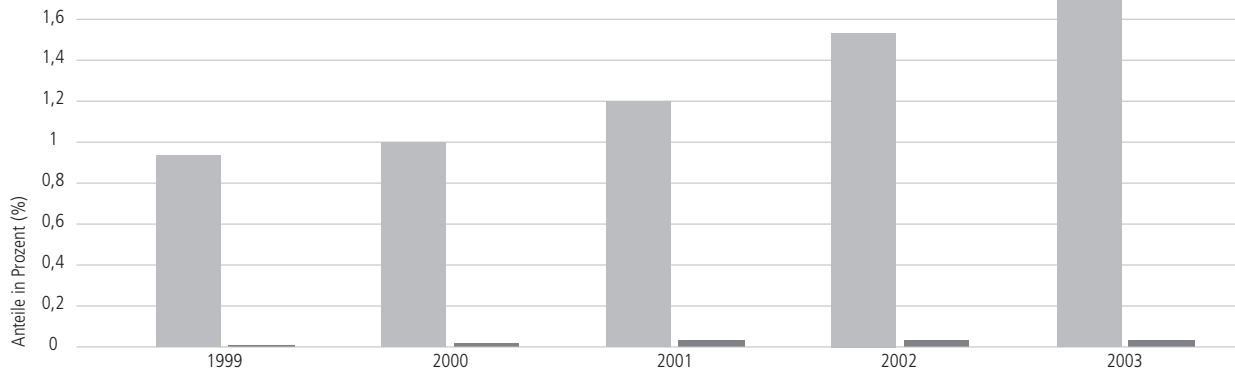
Prozentualer Anteil von Stammzellprojekten an F&E-Ausgaben

Abbildung 42 (SF-3, 2): Prozentualer Anteil von Stammzellprojekten an F&E-Ausgaben. Anteil der Finanzmittel für Stammzellprojekte im Rahmen des Gesundheitsforschungsprogramms ■ an den Gesamtausgaben für die deutsche Gesundheitsforschung sowie ■ am BMBF-Einzelplan 30.

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-3.

Tabelle 17 (SF-3, 3): Finanzmittel für Projekte des Gesundheitsforschungsprogramms mit adulten Stammzellen

Jahr	1999	2000	2001	2002	2003
Finanzmittel in Euro	639 714	732 791	1 218 841	1 502 761	1 556 346
% BMBF Einzelplan 30	0,008	0,01	0,015	0,018	0,019

Anzahl der Projekte: 32.

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-3.

Tabelle 18 (SF-3, 4): Finanzmittel für Stammzellprojekte des Gesundheitsforschungsprogramms mit zellbiologischen Fragestellungen in Modellorganismen

Jahr	1999	2000	2001	2002	2003
Finanzmittel in Euro	199.943	388 764	963 640	1 367 466	1 422 547
% BMBF Einzelplan 30	0,003	0,005	0,01	0,016	0,017

Anzahl der Projekte: 22.

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-3.

Tabelle 19 (SF-3, 5): Finanzmittel für Stammzellprojekte des Gesundheitsforschungsprogramms mit klinisch-therapeutischen Ansätzen

Jahr	1999	2000	2001	2002	2003
Finanzmittel in Euro	403 994	499 392	1 134 472	1 689 812	1 697 287
% BMBF Einzelplan 30	0,00538	0,00674	0,01389	0,02010	0,02029

Anzahl der Projekte: 33.

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-3.

Tabelle 20 (SF-3, 6): Finanzmittel für Projekte des Gesundheitsforschungsprogramms mit tierischen Stammzellen oder Tiermodellen

Jahr	1999	2000	2001	2002	2003
Finanzmittel in Euro	782 859	930 702	1 676 429	2 355 624	2 720 959
% BMBF Einzelplan 30	0,010	0,012	0,020	0,028	0,032

Anzahl der Projekte: 39.

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-3.

Tabelle 21 (SF-3, 7): Finanzmittel für Stammzellprojekte des Gesundheitsforschungsprogramms zum Thema Kernreprogrammierung

Jahr	1999	2000	2001	2002	2003
Finanzmittel in Euro	151 420	189 254	509 983	1 074 380	1 110 558
% BMBF Einzelplan 30	0,002	0,002	0,006	0,013	0,013

Anzahl der Projekte: 16.

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-3.

Aufwendungen für Stammzellprojekte im Gesundheitsforschungsprogramm nach Bereichen

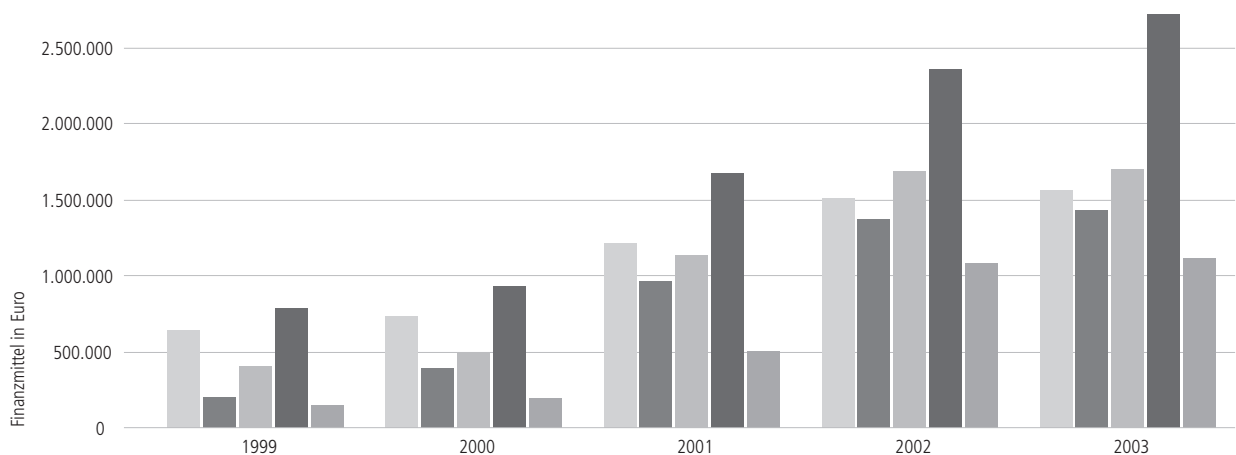


Abbildung 43 (SF-3, 3): Aufwendungen für Stammzellprojekte im Gesundheitsforschungsprogramm nach Bereichen. Finanzmittel (in Euro) für Projekte im Rahmen des Gesundheitsforschungsprogramms aus den Jahren 1999–2003, in denen Stammzellen verwendet wurden. (■ adulten Stammzellen; ■ zellbiologischen Fragestellungen in Modellorganismen; ■ klinisch-therapeutischen Ansätze; ■ tierische Stammzellen oder Tiermodelle; ■ Kernreprogrammierung)
Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-3.

Anteil der Stammzellprojekte nach Bereichen

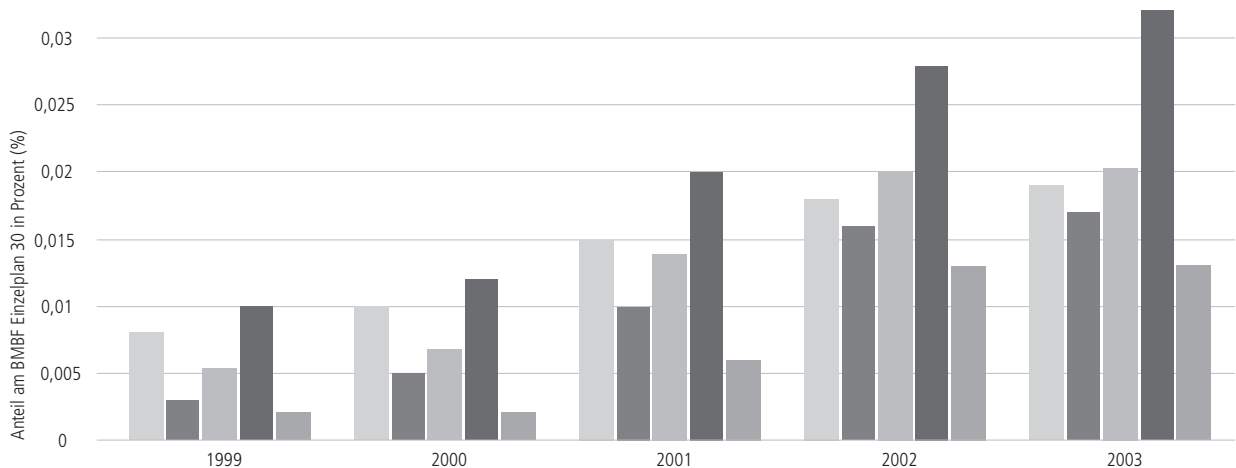


Abbildung 44 (SF-3, 4): Anteil der Stammzellprojekte nach Bereichen. Anteil der Finanzmittel für Stammzellprojekte im Rahmen des Gesundheitsforschungsprogramms am BMBF-Einzelplan 30. (■ adulten Stammzellen; ■ zellbiologischen Fragestellungen in Modellorganismen; ■ klinisch-therapeutischen Ansätze; ■ tierische Stammzellen oder Tiermodelle; ■ Kernreprogrammierung)
Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-3.

Das Gesamtvolumen des Förderschwerpunkts „Zellbasierte, regenerative Medizin“ für den Förderzeitraum 2005 – 2008 beträgt 11,6 Millionen Euro. Alle Vorhaben haben im September bzw. Oktober 2005 begonnen.

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-3.

Laufende Nr.:	SF-4
Name des Indikators:	Anzahl der zum Import nach in Deutschland beantragten ES-Zelllinien
Problemfeld:	Forschungsstandort Deutschland
Zweck des Indikators:	Der Indikator misst die Beteiligung Deutschlands am internationalen Erkenntnisgewinn zu menschlichen embryonalen Stammzellen.
Berechnungsformel:	
Datenquelle:	Für die Ermittlung dieser Daten dienen die Einträge im Register nach § 11 Stammzellgesetz, das beim Robert-Koch-Institut (Berlin) geführt wird (http://www.rki.de/clin_011/nn_228968/DE/Content/Gesund/Stammzellen/Register/register__node.html__nnn=true ; Stand 30. November 2005). Daten über die einzelnen Stammzelllinien wurden aus dem NIH-Stammzellregister entnommen (http://stemcells.nih.gov/registry ; Stand 12. Oktober 2005).
Verfügbarkeit der Daten:	Seit dem Zeitpunkt der Gründung des Register nach § 11 Stammzellgesetz im Jahre Dezember 2002 bis zum aktuellen Datum (Stand 12. Oktober 2005) sind die Daten öffentlich verfügbar.
Abgrenzung der Berechnungsgrößen:	
Zähler	Anzahl der zum Import nach Deutschland beantragten hES-Zelllinien
Nenner	
Gliederung der Kennzahl	Der Indikator gliedert sich in Anzahl genehmigter deutscher Forschungsprojekte mit hES-Zelllinien, sowie Anzahl der zum Import beantragten hES-Zelllinien in Bezug auf Exportländer. Darüber hinaus dargestellt ist die Anzahl deutscher Forschungsprojekte, die hES-Zelllinien aus den spezifischen Exportländern zum Import beantragt haben.
Berechnungshäufigkeit:	
Zur Aussagefähigkeit:	Durch das Stammzellgesetz werden deutsche Forscher auf FuE-Arbeiten mit menschlichen ES-Zelllinien beschränkt, die vor dem Stichtag 1. Januar 2002 aus „überzähligen“ Embryonen aus In vitro Fertilisation (IVF) gewonnen wurden. In der öffentlichen Diskussion wurde die Befürchtung geäußert, dass deutsche Forscher dadurch vom wissenschaftlich-technischen Fortschritt abgekoppelt würden, wenn nach diesem Stichtag neue hES-Zelllinien gewonnen würden, die sich auf Grund ihrer Eigenschaften als überlegen gegenüber den „alten“ Zelllinien erweisen. Der Indikator erlaubt nähere Einsicht in den Arbeitsstand zur Stammzellforschung für den Forschungsstandort Deutschland. Für die Interpretation sind Vergleichszahlen aus anderen Ländern heranzuziehen.

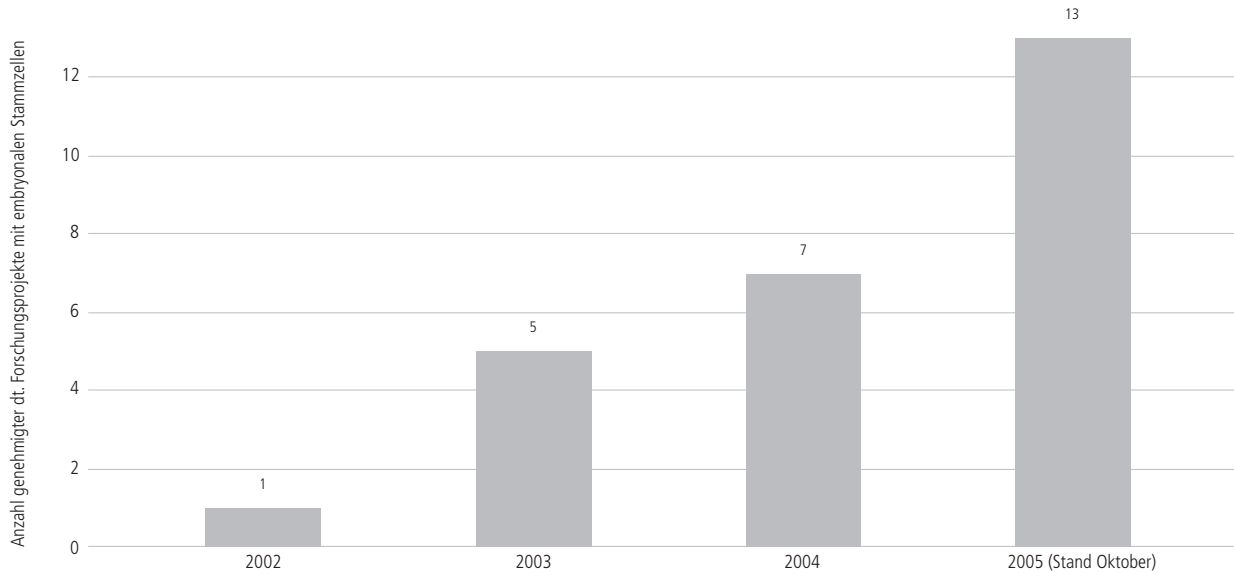
Anzahl der in Deutschland genehmigten Forschungsprojekte mit humanen embryonalen Stammzellen

Abbildung 45 (SF-4, 1): Anzahl der in Deutschland genehmigten Forschungsprojekte mit humanen embryonalen Stammzellen bezogen auf die Jahre 2002–2005 (Oktober).

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-4.

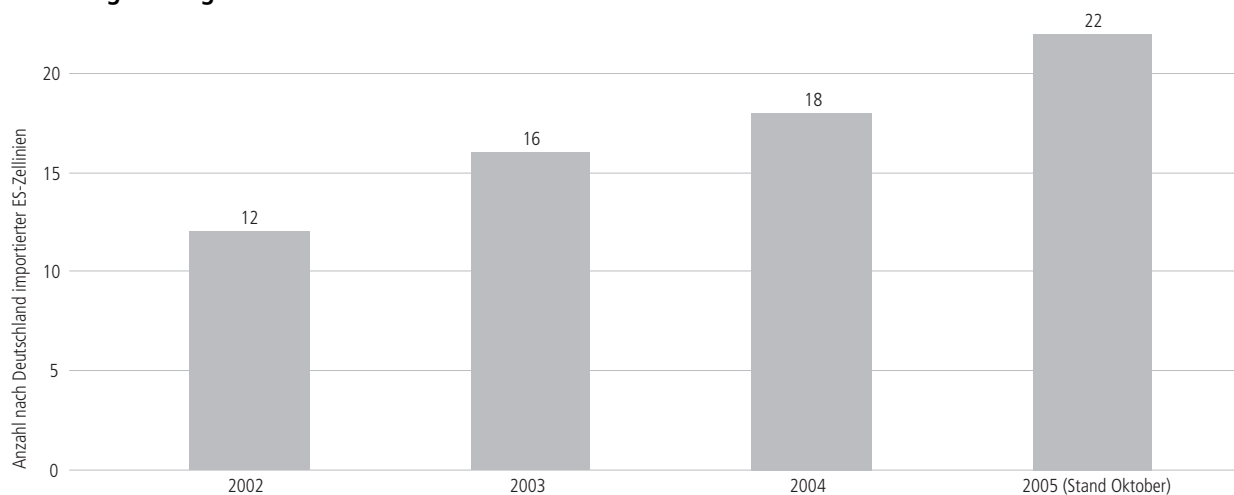
Anzahl der von verschiedenen Antragstellern zum Import nach Deutschland vom RKI genehmigten humanen ES-Zelllinien

Abbildung 46 (SF-4, 2): Anzahl der von verschiedenen Antragstellern zum Import nach Deutschland vom RKI genehmigten humanen ES-Zelllinien für die Jahre 2002–2005 (Oktober).

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-4.

Anzahl der humanen ES-Zelllinien, deren Import nach Deutschland in verschiedenen Projekten durch das RKI erteilt wurde

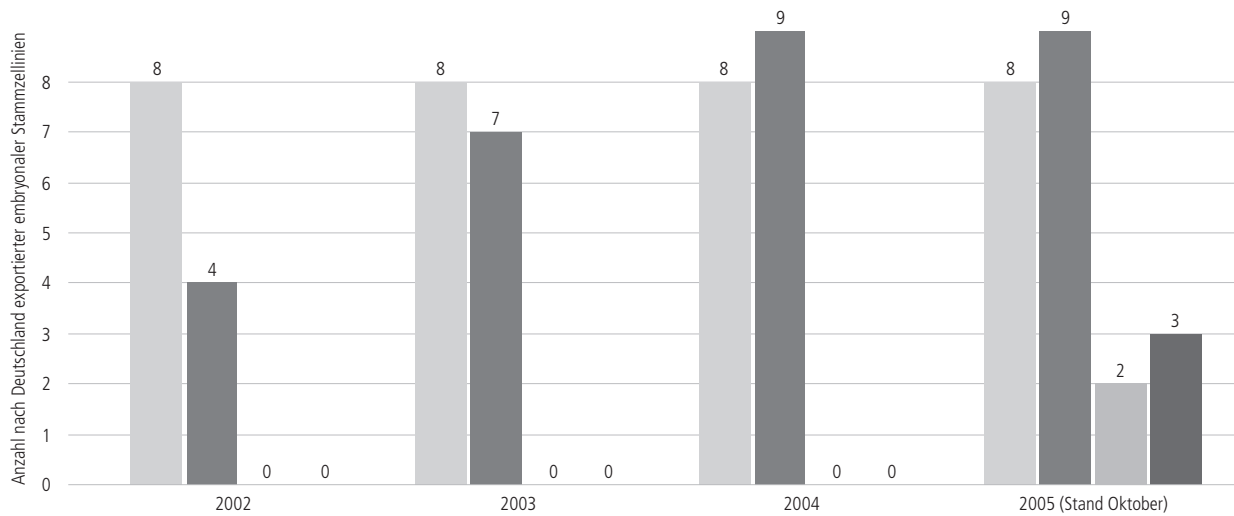


Abbildung 47 (SF-4, 3): Anzahl der humanen ES-Zelllinien, deren Import nach Deutschland in verschiedenen Projekten durch das RKI erteilt wurde (Bezeichnung der Linien nach dem Register der „National Institutes of Health“) nach Exportländern: Israel, USA, Schweden und Singapur für die Jahre 2002–2005 (Oktober)

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-4.

Herkunft humaner embryonaler Stammzelllinien in deutschen Forschungsprojekten (nach Herkunftsländern) für die eine Importgenehmigung nach StZG in den Jahren 2002- 2005 vom RKI erteilt wurde

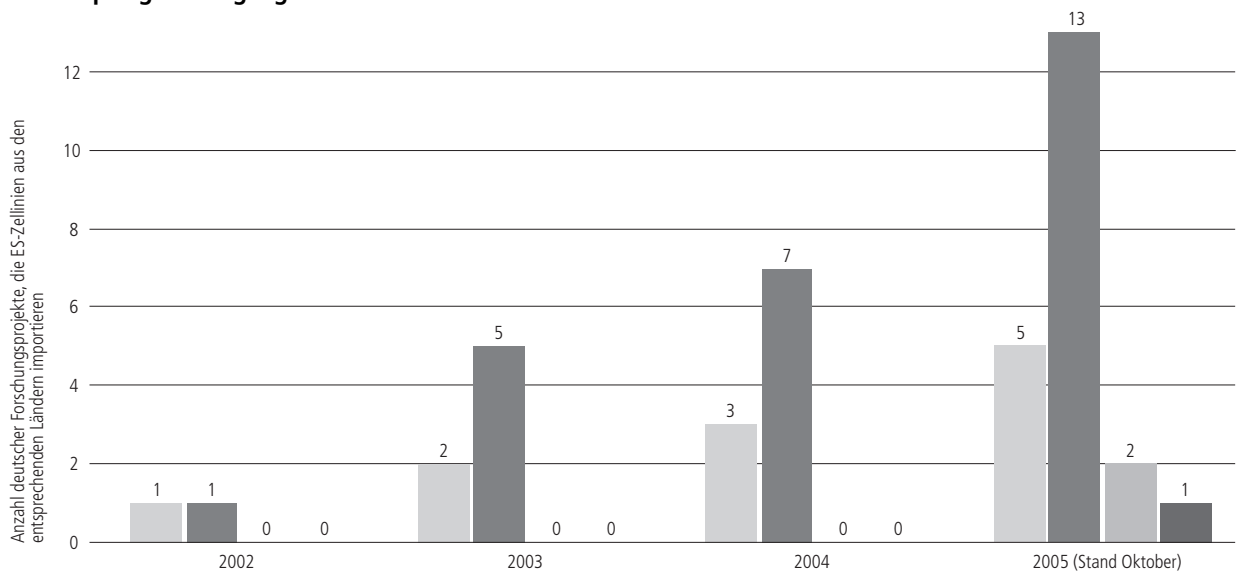


Abbildung 48 (SF-4, 4): Herkunft humaner embryonaler Stammzelllinien in deutschen Forschungsprojekten (nach Herkunftsländern) für die eine Importgenehmigung nach StZG in den Jahren 2002–2005 vom RKI erteilt wurde.

(Israel, USA, Schweden und Singapur)

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-4.

Tabelle 22 (SF-4, 1): Genehmigte deutsche Forschungsprojekte mit humanen embryonalen Stammzellen

Nr. und Datum der Genehmigung		Antragsteller	Projekttitel	Humane ES-Zelllinien, für die eine Importgenehmigung nach StZG durch das RKI erteilt wurde *
1	20.12.2002	Prof. Dr. Oliver Brüstle, Institut für Rekonstruktive Neurobiologie, Universitätsklinikum Bonn	Gewinnung und Transplantation neuraler Vorläuferzellen aus humanen embryonalen Stammzellen	TE 03, TE 32, TE 33, TE 04, TE 06, TE 62, TE 07, TE 72, WA 07, WA 09, WA 13, WA 14
2	27.01.2003	Prof. Dr. Jürgen Hescheler, Institut für Neurophysiologie der Universität zu Köln	Vergleich humaner und muriner embryonaler Stammzellen bezüglich struktureller und funktioneller Eigenschaften während der Kardiomyogenese	WA 01
3	12.03.2003	PD Dr. Wolfgang-Michael Franz, Medizinische Klinik und Poliklinik I-Großhadern-Klinikum der Universität München	Gewinnung in vitro differenzierter Herzmuskelzellen aus humanen embryonalen Stammzellen zur Transplantation in das infizierte Myokard	GE 91, GE 92, TE 03, TE 04, TE 06, TE 07, TE 32, TE 33, TE 62, TE 72, WA 07, WA 09, WA 13, WA 14
4	09.09.2003	ProteoSys AG, Mainz	Entwicklung eines In-vitro-Systems zur Analyse neurotoxischer Effekte mit humanen embryonalen Stammzellen (hES)	WA 01, WA 07, WA 09
5	27.10.2003	Max-Planck-Gesellschaft (Max-Planck-Institut für Biophysikalische Chemie, Göttingen)	Differenzierung humaner embryonaler Stammzellen (hES-Zellen) zu dopaminergen Neuronen und funktionelle Untersuchungen im Ratten- und Primatenmodell	WA 01, WA 09
6	08.10.2004	Max-Delbrück-Centrum für molekulare Medizin (MDC), Berlin	Mechanismen der Signalübertragung zur Etablierung des undifferenzierten Zustandes in humanen embryonalen Stammzellen	WA 01, WA 09, BG 01, BG 02

7	21.10.2004	Max-Delbrück-Centrum für molekulare Medizin (MDC), Berlin	Vergleichende Untersuchung des organotypischen Integrationspotentials von Hepatozyten aus humanen embryonalen und adulten Stammzellen im mausmodell	WA 01, TE 03
8	28.01.2005	Prof. Dr. med. Jörg Gerlach, AG Experimentelle Chirurgie, Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie, Charité Campus Virchow-Klinikum, Berlin	Entwicklung eines 3D-Kultursystems für die Expansion humaner embryonaler Stammzellen und deren Differenzierung in Leberzellen	WA 01, WA 09, SA 01, SA 02
9	14.02.2005	Max-Planck-Institut für Molekulare Genetik Berlin	Funktionelle Charakterisierung von Pluripotenz-Kontrollgenen und ihre Rolle bei der Ausprägung grundlegender Transkriptionsnetzwerke sowie von Mechanismen der Signalübertragung in Stammzellen	WA 01, WA 09
10	10.06.2005	Professor Dr. Oliver Brüstle Institut für Rekonstruktive Neurobiologie, Universitätsklinikum Bonn	Gewinnung und Transplantation neuraler Vorläuferzellen aus humanen embryonalen Stammzellen	TE 03, TE 32, TE 33 , TE 04, TE 06 , TE 62 , TE 07 , TE 72, WA 07, WA 09, WA 13, WA 14
11	27.06.2005	Professor Dr. Heinrich Sauer Physiologisches Institut der Universität Gießen	Redox-vermittelte Signalwege der vaskulären Differenzierung humaner embryonaler Stammzellen für ein kardiovaskuläres Tissue Engineering	WA 01, WA 07, WA 09, WA 13, WA 14
12	13.09.2005	Professor Dr. Wolfram-H. Zimmermann Institut für Experimentelle und Klinische Pharmakologie der Universität Hamburg-Eppendorf	Konstruktion von künstlichem Herzgewebe aus humanen embryonalen Stammzellen	WA 01, WA 09, ES 02, ES 03, ES 04
13	12.10.2005	Professor Dr. Oliver Brüstle LIFE & BRAIN GmbH	Gewinnung und Transplantation neuraler Vorläuferzellen aus humanen embryonalen Stammzellen	TE 03, TE 32, TE 33 , TE 04, TE 06 , TE 62 , TE 07 , TE 72, WA 07, WA 09, WA 13, WA 14

(* Bezeichnung der Linien nach dem Register der „National Institutes of Health“); Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-4.

Tabelle 23 (SF-4, 2): In deutschen Forschungsprojekten beantragte humane ES-Zelllinien, für die eine Importgenehmigung nach StZG durch das RKI erteilt wurde

Nr.	Embryonale Stammzelllinie [Bezeichnung nach NIH (National Institutes of Health)]	Name der Firma/Einrichtung, die die Stammzelllinie zur Verfügung stellt	Art der Gewinnung (IVF: In Vitro Fertilisation)	Anzahl der deutschen Forschungsprojekte, in denen die Stammzelllinie verwendet wird
1	BG 01	BresaGen, Inc., Athens, Georgia	Klinische IVF; überzählig, da unbrauchbar für andere Zwecke	1
2	BG 02	BresaGen, Inc., Athens, Georgia	Klinische IVF; überzählig, da unbrauchbar für andere Zwecke	1
3	ES 02	ES Cell International, The Gemini Singapore Science Park II, Singapur	Klinische IVF; überzählig	1
4	ES 03	ES Cell International, The Gemini Singapore Science Park II, Singapur	Klinische IVF; überzählig	1
5	ES 04	ES Cell International, The Gemini Singapore Science Park II, Singapur	Klinische IVF; überzählig	1
6	GE 91	Geron Corporation, Menlo Park, California	Aus anderen Quellen:University of Wisconsin-Madison oder University of California, San Francisco	1
7	GE 92	Geron Corporation, Menlo Park, California	Aus anderen Quellen:University of Wisconsin-Madison oder University of California, San Francisco	1
8	SA 01	Cellartis AB, Göteborg, Schweden	Klinische IVF; überzählig	1
9	SA 02	Cellartis AB, Göteborg, Schweden	Klinische IVF; überzählig	1
10	TE 03	Technion-Israel Institut of Technology, Haifa, Israel	Klinische IVF; überzählig	5

Erhobene Indikatoren und Indikatorenkennblätter

11	TE 04	Technion-Israel Institut of Technology, Haifa, Israel	Klinische IVF; überzählig	4
12	TE 06	Technion-Israel Institut of Technology, Haifa, Israel	Klinische IVF; überzählig	4
13	TE 07	Technion-Israel Institut of Technology, Haifa, Israel	Klinische IVF; überzählig	4
14	TE 32	Technion-Israel Institut of Technology, Haifa, Israel	Klinische IVF; überzählig	4
15	TE 33	Technion-Israel Institut of Technology, Haifa, Israel	Klinische IVF; überzählig	4
16	TE 62	Technion-Israel Institut of Technology, Haifa, Israel	Klinische IVF; überzählig	4
17	TE 72	Technion-Israel Institut of Technology, Haifa, Israel	Klinische IVF; überzählig	4
18	WA 01	Wisconsin Alumni Research Foundation (WiCell Research Institute), Madison, Wisconsin	Klinische IVF; überzählig	9
19	WA 07	Wisconsin Alumni Research Foundation (WiCell Research Institute), Madison, Wisconsin	Klinische IVF; überzählig	6
20	WA 09	Wisconsin Alumni Research Foundation (WiCell Research Institute), Madison, Wisconsin	Klinische IVF; überzählig	11
21	WA 13	Wisconsin Alumni Research Foundation (WiCell Research Institute), Madison, Wisconsin	Klinische IVF; überzählig	5
22	WA 14	Wisconsin Alumni Research Foundation (WiCell Research Institute), Madison, Wisconsin	Klinische IVF; überzählig	5

Bezeichnung der Linien nach dem Register der „National Institutes of Health“, NIH
 Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-4.

Laufende Nr.:	SF-5
Name des Indikators:	Anzahl von Stammzelllinien (humane und xenogene), die auf anderem wissenschaftlichen Wege erstellt wurden
Problemfeld:	Realisierung wissenschaftlicher Zielsetzungen
Zweck des Indikators:	Der Indikator misst das Ausmaß, in dem alternative Herstellungsmethoden für Stammzelllinien erfolgreich sind.
Berechnungsformel:	
Datenquelle:	Literaturdatenbank im Internet (PUBMED)
Verfügbarkeit der Daten:	Derzeit noch keine Angaben
Abgrenzung der Berechnungsgrößen:	
Zähler	Anzahl von Stammzelllinien (humane und xenogene), die auf anderem wissenschaftlichen Wege erstellt wurden
Nenner	
Gliederung der Kennzahl	
Berechnungshäufigkeit:	Jährlich
Zur Aussagefähigkeit:	Der Indikator bildet den wissenschaftlich-technischen Entwicklungsstand ab, der ermöglicht, Stammzelllinien durch alternative Methoden herzustellen ohne Embryonen dafür zu zerstören, das heißt die technischen Voraussetzungen sind geschaffen, dass neue Technologien die moralische Kritik an der Embryonennutzung als Verletzung der Menschenwürde entkräften. Stammzelllinien von xenogenen Zellen werden deswegen gezählt, weil zu erwarten ist, dass wissenschaftliche Forschungsergebnisse mit xenogenen Zellen in zeitlichem Abstand auf menschliche Zellen übertragen werden können.

Tabelle 24: (SF-5, 2): Xenogene embryonale Stammzelllinien, die mit Hilfe der SCNT-Methode (SCNT: Somatic Cell Nuclear Transfer) entstanden sind

Spezies	Anzahl der hergestellten xenogenen embryonalen Zelllinien	Referenz
Maus	0 [479 Klone mit Pseudo-Pronuclei]	Meissner, A., Jaenisch, R. (2005) Generation of nuclear transfer-derived pluripotent ES cells from cloned Cdx2-deficient blastocysts. Nature October 16, 2005, early online edition.
Maus	68	Wakayama, S., Mizutani, E., Kishigami, S., Thuan, N.Y., Ohta, H., Hikichi, T., Thuy, H.B., Miyake, M., Wakayama, T. (2005) Mice cloned by nuclear transfer from somatic and ntES cells derived from the same individuals, J. Reprod. Dev., 14.
Maus	35	Wakayama, T., Tabar, V., Rodriguez, I., Perry, A.C., Studer, L., Mombaerts, P. (2001) Differentiation of embryonic stem cell lines generated from adult somatic cells by nuclear transfer, Science, 292(5517):740-743.
Kaninchen	4	Chen Y, He ZX, Liu A, Wang K, Mao WW, Chu JX, Lu Y, Fang ZF, Shi YT, Yang QZ, Chen da Y, Wang MK, Li JS, Huang SL, Kong XY, Shi YZ, Wang ZQ, Xia JH, Long ZG, Xue ZG, Ding WX, Sheng HZ. (2003) Embryonic stem cells generated by nuclear transfer of human somatic nuclei into rabbit oocytes. Cell Res. 2003 Aug;13(4):251-63.

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-5.

Tabelle 25 (SF-5, 3): Tierspezies, die mit Hilfe der Kerntransfermethode kloniert wurden

Spezies	Referenz
Maus	Wakayama, T., Tabar, V., Rodriguez, I., Perry, A.C., Studer, L., Mombaerts, P. (2001) Differentiation of embryonic stem cell lines generated from adult somatic cells by nuclear transfer, <i>Science</i> , 292(5517):740-743.
Ratte	Iannaccone, P., Taborn, G., Garton, R. (2001) Preimplantation and postimplantation development of rat embryos cloned with cumulus cells and fibroblasts, <i>Zygote</i> , 9(2): 135-143.
Kaninchen	Chesne, P., Adenot, P.G., Viglietta, C., Baratte, M., Boulanger, L., Renard, J.P. (2002) Cloned rabbits produced by nuclear transfer from adult somatic cells, <i>Nat. Biotechnol.</i> , 20(4): 366-369.
Katze	Yin, X.J., Lee, H.S., Lee, Y.H., Seo, Y.I., Jeon, S.J., Choi, E.G., Cho, S.G., Min, W., Kang, S.K., Hwang, W.S., Kong, I.K. (2005) Cats cloned from fetal and adult somatic cells by nuclear transfer, <i>Reproduction</i> , 129(2): 245-249.
Hund	Lee, B.C., Kim, M.K., Jang, G., Oh, H.J., Yuda, F., Kim, H.J., Shamim, M.H., Kim, J.J., Kang, S.K., Schatten, G., Hwang, W.S. (2005) Dogs cloned from adult somatic cells, <i>Nature</i> , 436(7051):641.
Schwein	Tao, T., Boquest, A.C., Machaty, Z., Petersen, A.L., Day, B.N., Prather, R.S. (1999) Development of pig embryos by nuclear transfer of cultured fibroblast cells, <i>Cloning</i> , 1(1): 55-62. Li, G.P., Tan, J.H., Sun, Q.Y., Meng, Q.G., Yue, K.Z., Sun, X.S., Li, Z.Y., Wang, H.B., Xu, L.B. (2000) Cloned piglets born after nuclear transplantation of embryonic blastomeres into porcine oocytes matured in vivo, <i>Cloning</i> , 2(1): 45-52.
Schaf	Wilmot, I., Schnieke, A.E., McWhir, J., Kind, A.J. and Campbell, K.H. (1997) Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. <i>Nature</i> 385: 810-813. Schnieke, A.E., Kind, A.J., Ritchie, W.A., Mycock, K., Scott, A.R., Ritchie, M., Wilmot, I., Colman, A., Campbell, K.H. (1997) Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from transfected fetal fibroblasts, <i>Science</i> , 278(5346): 2130-2133.
Ziege	Behboodi, E., Memili, E., Melican, D.T., Destrempe, M.M., Overton, S.A., Williams, J.L., Flanagan, P.A., Butler, R.E., Liem, H., Chen, L.H., Meade, H.M., Gavin, W.G., Echelard, Y. (2004) Viable transgenic goats derived from skin cells, <i>Transgenic Res.</i> , 13(3): 215-224.
Muli	Woods, G.L., White, K.L., Vanderwall, D.K., Li, G.P., Aston, K.I., Bunch, T.D., Meerdo, L.N., Pate, B.J. (2003) A mule cloned from fetal cells by nuclear transfer, <i>Science</i> , 301(5636): 1063.
Pferd	Galli, C., Lagutina, I., Crotti, G., Colleoni, S., Turini, P., Ponderato, N., Duchi, R., Lazzari, G. (2003) Pregnancy: a cloned horse born to its dam twin, <i>Nature</i> , 424(6949): 635.
Kuh	Gong, G., Dai, Y., Fan, B., Zhu, H., Zhu, S., Wang, H., Wang, L., Tang, B., Li, R., Wan, R., Liu, Y., Huang, Y., Zhang, L., Sun, X., Li, N. (2004) Birth of calves expressing the enhanced green fluorescent protein after transfer of fresh or vitrified/thawed blastocysts produced by somatic cell nuclear transfer, <i>Mol. Reprod. Dev.</i> , 69(3): 278-288
Rhesusaffe	Meng, L., Ely, J.J., Stouffler, R.L., Wolf, D.P. (1997) Rhesus monkeys produced by nuclear transfer, <i>Biol. Reprod.</i> , 57(2): 454-459.
Gaur Bos gaurus	Lanza, R.P., Cibelli, J.B., Diaz, F., Moraes, C.T., Farin, C.E., Hammer, C.J., West, M.D., Damiani, P. (2002) Cloning of an endangered species (<i>Bos gaurus</i>) using interspecies nuclear transfer, <i>Cloning</i> , 2(2): 79-90.

Mindestens eine Literaturreferenz als Beispiel.

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-5.

Laufende Nr.:	SF-6
Name des Indikators:	Anzahl der beschriebenen hES-Zelllinien
Problemfeld:	Realisierung wissenschaftlicher Zielsetzungen
Zweck des Indikators:	Der Indikator stellt den aktuellen Forschungsstand sowie die Entwicklung der Forschung an humanen embryonalen Stammzellen (hES-Zellen) weltweit dar.
Berechnungsformel:	
Datenquelle:	Internationale Fachliteratur Die Aufstellung der beim National Institutes of Health (NIH) gemeldeten internationalen Stammzelllinien erfolgt für die Jahre 2001, 2003 und 2005. Die Daten für 2001 und 2003 wurden der Internetseite http://cloning.ch/cloning/staatlich/usa.html entnommen. Guhr et al. (eingereicht)
Verfügbarkeit der Daten:	Öffentlich
Abgrenzung der Berechnungsgrößen:	
Zähler	Anzahl der beschriebenen hES-Zelllinien
Nenner	
Gliederung der Kennzahl	Zeittafel zu international bedeutsamen Fortschritten in der beim National Institutes of Health (NIH) gemeldeten internationalen Stammzelllinien (in den Jahren 2001, 2003, 2005); Auftrennung nach Nationalitäten
Berechnungshäufigkeit:	
Zur Aussagefähigkeit:	Der Indikator misst nicht die Problemausprägung, sondern den Stand der Wissenschaft („state of the art“). Die Anzahl der beschriebenen menschlichen embryonalen Stammzelllinien verdeutlicht exemplarisch den Erkenntnisstand des Forschungszweigs Stammzellforschung.

Tabelle 26 (SF-6, 1): Beim National Institutes of Health (NIH) gemeldete Stammzelllinien weltweit

Name der Firma/ Institut	Anzahl an NIH gemeldete Stammzelllinien (August 2001)	Anzahl an NIH gemeldete Stammzelllinien (November 2001)	Anzahl an NIH gemeldete Stammzelllinien (Dezember 2003)	Anzahl an NIH gemeldete Stammzelllinien (Januar 2005)	Anzahl an NIH gemeldete Stammzelllinien, <i>lieferbar</i> (Januar 2005)
BresaGen, Inc., Athens, Georgia	4	4	4	4	3
Cell & Gene Therapy Research Institute (Pochon CHA University), Seoul, Korea	–	–	2	2	–
Cell Therapeutics Scandinavia (Göteborg University, Schweden)	–	–	5	–	–
Cellartis AB, Göteborg, Schweden	–	–	–	3	2
CyThera, Inc., San Diego, Kalifornien	9	9	9	9	0
ES Cell International, Melbourne, Australien		6	6	6	6
Geron Corporation, Menlo Park, Kalifornien		7	7	7	–
Göteborg University, Göteborg, Schweden	19	19	?	16	

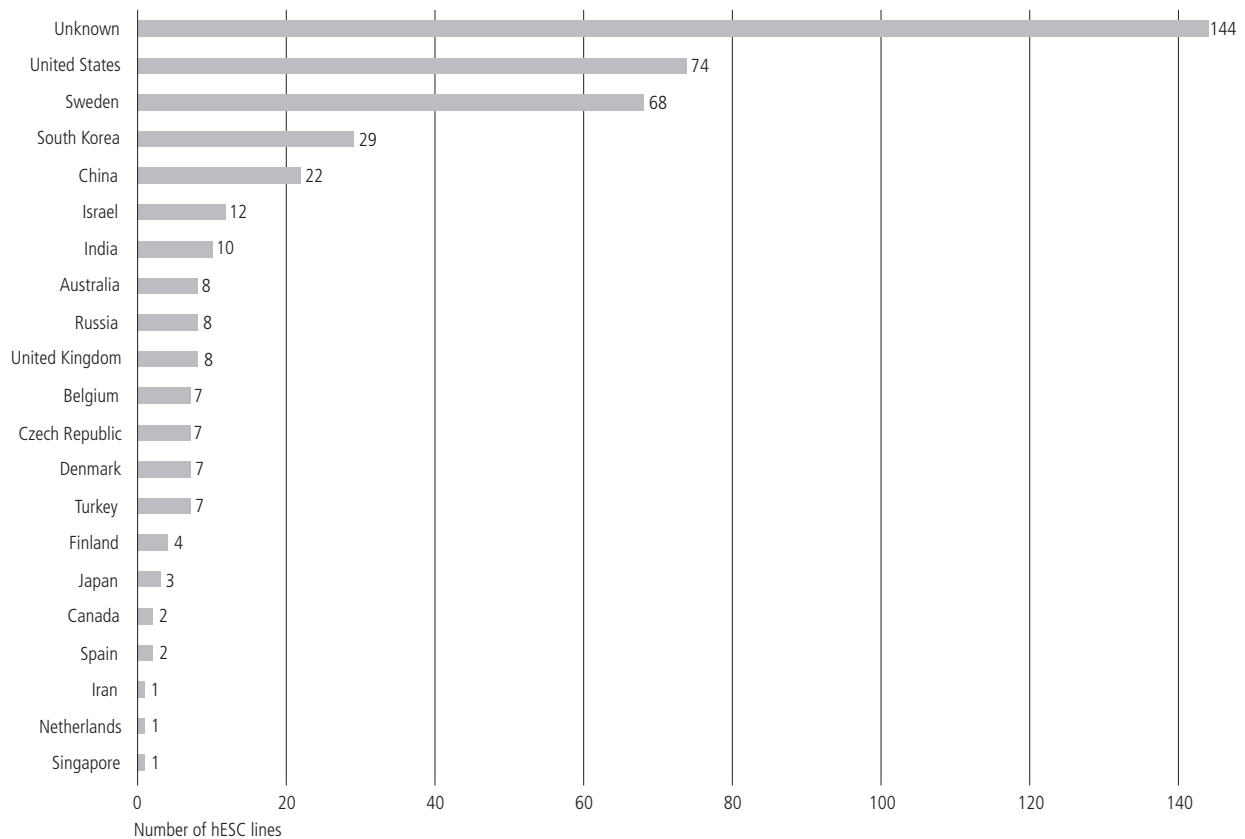
Karolinska Institute, Stockholm, Schweden	5	6	6	6	0
Maria Biotech Co. Ltd.-Maria Infertility Hospital Medical Institute, Seoul, Korea	–	–	3	3	–
MizMedi Hospital-Seoul National University, Seoul, Korea	–	–	1	1	1
Monash University, Melbourne, Australien	6				
National Centre for Biological Sciences/Tata Institute of Fundamental Research, Bangalore, Indien	3	3	3	3	–
Reliance Life Sciences, Mumbai, Indien	7	7	7	7	–
Technion-Israel Institute of Technology, Haifa, Israel	4	4	8	4	3
University of California, San Francisco, Kalifornien	2	2	2	2	2
Wisconsin Alumni Research Foundation, Madison, Wisconsin	5	5	5	5	5

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-6.

Tabelle 27 (SF-6, 2): Anzahl der bei NIH gemeldeten Stammzelllinien geordnet nach Herkunftsländern und weltweit

Länder	Anzahl an NIH gemeldeten Stammzelllinien August 2001	Anzahl an NIH gemeldeten Stammzelllinien November 2001	Anzahl an NIH gemeldeten Stammzelllinien Dezember 2003	Anzahl an NIH gemeldeten Stammzelllinien Januar 2005	Anzahl an NIH gemeldeten Stammzelllinien, <i>lieferbar</i> Januar 2005
USA	20	27	27	27	10
Schweden	24	25	11	25	2
Indien	10	10	10	10	–
Australien	6	6	6	6	6
Israel	4	4	8	4	3
Korea	–	–	6	6	1
Deutschland	–	–	–	–	–
Summe weltweit	64	72	68	78	22

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-6.

Anzahl der bis 2005 etablierten humanen embryonalen Stammzelllinien nach Ländern**Abbildung 49 (SF-6, 1): Anzahl der bis 2005 etablierten humanen embryonalen Stammzelllinien nach Ländern**

Derived hESC lines (status January 2006). Data were extracted from the NIH registry, from work published in scientific journals listed in the PubMed database, and from information either available online, presented at conferences or provided in press releases. Please note, to date only a portion of these cell lines have been published in scientific journals. No detailed information on the geographic origin of the 144 cell lines derived at the Reproductive Genetics Institute and distributed by STEMRIDE International Ltd. is publicly available from sources used in this study (marked as unknown). ESC lines derived at ES International were assigned to Australia. Note, cell lines described by Hwang in 2004 and 2005 Science papers have been omitted.

Quelle: Guhr et al. (eingereicht)

Laufende Nr.:	SF-7
Name des Indikators:	Anzahl eingesetzter Embryonen pro etablierter beschriebener Stammzelllinie
Problemfeld:	Realisierung wissenschaftlicher Zielsetzungen
Zweck des Indikators:	Der Indikator stellt den aktuellen Forschungsstand sowie die Entwicklung der Forschung an humanen embryonalen Stammzellen (hES-Zellen) dar.
Berechnungsformel:	
Datenquelle:	Internationale Fachliteratur National Institutes of Health (NIH)
Verfügbarkeit der Daten:	Öffentlich
Abgrenzung der Berechnungsgrößen:	
Zähler	
Nenner	
Gliederung der Kennzahl	Anzahl der für die Gewinnung von hES-Zellen verbrauchten menschlichen Embryonen
Berechnungshäufigkeit:	
Zur Aussagefähigkeit:	Der Indikator misst nicht die Problemausprägung, sondern den Stand der Wissenschaft („state of the art“). Der Indikator „Anzahl eingesetzter Embryonen pro etablierter beschriebener Stammzelllinie“ verdeutlicht exemplarisch den Erkenntnisstand der Forschung mit humanen embryonalen Stammzellen.

Tabelle 28 (SF-7, 1): Anzahl eingesetzter menschlicher Embryonen für die Gewinnung von humanen embryonaler Stammzelllinien (soweit Angaben verfügbar)

Anzahl eingesetzter humaner Embryonen	Anzahl der resultierenden Stammzell-linien	Anzahl der eingesetzten Embryonen pro Stammzelllinie	Literatur
101	3	33,67	Lanzendorf, S.E., Boyd, C.A., Wright, D.L., Muasher, S.J., Oehninger, S.C., Hodgen, G.D., The Use of Gametes Obtained from Anonymous Donors for the Production of Human Embryonic Stem Cell (ESC) Lines.(2001). Fertil Steril 74 Suppl1. O-045, 16–17.
36	5	7,20	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.

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-7.

Laufende Nr.:	SF-9
Name des Indikators:	Anzahl der Krankheiten/Krankheitsbilder die mit Zelltherapie behandelt werden können, beziehungsweise zukünftig behandelt werden könnten
Problemfeld:	Realisierung wissenschaftlicher Zielsetzungen
Zweck des Indikators:	Der Indikator misst den Grad der tatsächlichen Anwendung von Zelltherapien in Deutschland und im internationalen Vergleich.
Berechnungsformel:	
Datenquelle:	<p>Kommission der Europäischen Gemeinschaften: Arbeitspapier der Kommissionsdienststellen „Bericht über die Forschung an humanen Embryonalen Stammzellen“ (Deutsche Übersetzung von SEC (2003)441)</p> <p>Statistiken aus dem Jahresbericht 2002/2003 des Zentralen Knochenmarkspender-Register Deutschland (ZKRD)</p> <p>Öffentliche Literaturdatenbank im Internet Der Bericht über die Forschung an humanen Embryonalen Stammzellen von der Kommission der Europäischen Gemeinschaft bezieht sich auf den Stand der Forschung bis zum Jahr 2003.</p> <p>Die Statistiken aus dem Jahresbericht 2002/2003 des Zentralen Knochenmarkspender-Register Deutschland umfassen zum Teil eine zeitliche Dokumentation vom Jahr 1995-2003.</p> <p>Daten (PUBMED)</p>
Verfügbarkeit der Daten:	Öffentlich
Abgrenzung der Berechnungsgrößen:	<p>Der Bericht über die Forschung an humanen Embryonalen Stammzellen von der Kommission der Europäischen Gemeinschaft beschreibt den Forschungszustand im Bereich Zelltherapie mit Stammzellen anhand publizierter Fachliteratur. Zusammen mit einem Abgleich der publizierten Daten aus der Literaturdatenbank PUBMED kann eine Aussage über die Anzahl der Krankheiten/Krankheitsbilder, die mit Zelltherapie behandelt werden können und der Anzahl der in Deutschland zugelassenen Therapien getroffen werden.</p> <p>Die Statistiken aus dem Jahresbericht 2002/2003 des Zentralen Knochenmarkspender-Register Deutschland dienen zur Dokumentation der Häufigkeit der Gewinnung von Stammzellen aus dem Knochenmark im Kontext zur Häufigkeit der Gewinnung von Zellmaterialien zu Therapiezwecken.</p>
Zähler	
Nenner	
Gliederung der Kennzahl	
Berechnungshäufigkeit:	Jährlich
Zur Aussagefähigkeit:	Anhand des Indikators kann ein Überblick über die tatsächliche Anwendung von Zelltherapien mit Stammzellen zur Heilung von Krankheiten erlangt werden. Der Indikator grenzt die Forschungsziele im Bereich Zelltherapie von den bereits erreichten Zielen, der Heilung von bestimmten Krankheiten, ab. Zudem zeigt dieser Indikator die Bedeutung einzelner Zelltherapien für die Gesellschaft, indem er die Häufigkeit der Gewinnung von Zellmaterialien für diese Therapie darstellt.

Tabelle 29 (SF- 9, 1 und SF-11, 1): Krankheitsbilder, die mit Zelltherapien behandelt werden können und mög-

	Mit Hilfe von Zelltherapie zu behandelnde Krankheiten (SF-9)	Zelltherapie	Internationaler Stand der Forschung
1	Diabetes (Typ I)	In vitro Kultivierung und Ausdifferenzierung von humanen adulten Zellen der Bauchspeicheldrüse, Transplantation	Experimentelles Stadium
		In vitro Kultivierung und Ausdifferenzierung von β -Vorläuferzellen der Bauchspeicheldrüse von Föten, Transplantation	Experimentelles Stadium, Beispiele aus der klinischen Praxis mit Xenotransplantationen fetaler β -Zellen vom Schwein
		Entwicklung von Insulinproduzierenden Zellen durch Ausdifferenzierung von humanen embryonalen Stammzellen	Experimentelles Stadium
2	Herzinfarkt bzw. bei chronischer Herzinsuffizienz	Intrakardiale Injektion von Stammzellen in den Herzmuskel (Indikation: chronische Herzinsuffizienz)	Klinische Studien
		Intrakoronare Injektion (u. a. in Zusammenhang mit Ballon-Kathederisierung)	Klinische Studien

licherweise in Zukunft behandelt werden können (Tabelle enthält eine Auswahl von Studien und Daten, soweit verfügbar)

Zulassung in Deutschland/ (SF-11)	Auswahl Literatur / Klinische Studien
	Review: Bonner-Weir and Weir, Nat Biotechnol 23: 857–861, 2005; Ramiya et al., 3:278-282, 2000.
	Groth et al., Diabetes. 29: 80–83. 1980; Groth et al., Lancet. 344:1402–1404, 1994.
	Assady et al., Diabetes 50. 1691–1697, 2001.
	<p>Einige klinische Studien sowie erste klinische randomisierte Doppelblindstudien:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Prof. Steinhoff, Rostock: 17 Patienten in Phase-1-Studie (Stamm et al. Lancet. 361:45-46, 2003), 100 Patienten (davon 50 Kontrollgruppe) in Phase-2-Studie (Start Sommer 2004). 2. Prof. Klein, Düsseldorf: 11 Patienten mit sehr gutem Erfolg behandelt (ausgeprägte Neoangiogenese und Vaskularisierung, deutliche Zunahme der Kontraktilität (ca. 100 % und mehr)), Planung einer randomisierten Phase-2-Studie (siehe unten). 3. Prof. Mehlhorn, Uni-Klinikum Köln: 18 Patienten in feasibility-Studie (gegenwärtig Follow up, begrenzter Erfolg, keine Kontrollgruppe) 4. Intrakardiale Injektion von CD133+-Zellen bei Herzinsuffizienz koordiniert von Professor Klein, Düsseldorf, randomisierte Phase1/2-Studie mit 4 Kliniken (Düsseldorf, Wien, Lübeck, Hannover)
	<ol style="list-style-type: none"> 1. Prof Drexler, Hannover: BOOST-Studie mit 60 Patienten (davon 30 Kontrollgruppe, Wollert et al., Lancet 364: 141–148, 2004), 18-Monate-follow abgeschlossen, Zustand der Patienten unverändert gegenüber Daten in Publikation, keine Nebenwirkungen, Multi-Zentren-Studie in Vorbereitung (siehe unten). 2. Prof. Katus, Heidelberg, randomisierte Doppel-blindstudie, 60 Patienten, seit Oktober 2004. 3. Prof. Strauer, Düsseldorf: 20 Patienten (Strauer et al., Circulation 106 1913–1918, 2002). 4. Prof. Janssens, Löwen, Belgien, randomisierte, placebo-kontrollierte Doppelblindstudie mit 67 Patienten (davon 34 Placebo) (Janssens et al., Lancet, 367: 113-121, 2006).

		Mobilisierung von Stammzellen nach Myokard-Infarkt	Klinische Studien
		Injektion von autologen Myoblasten	Klinische Studien
		Entwicklung von Kardiomyblasten aus humanen ES-Zellen	Experimentelles Stadium
Gefäßkrankheiten			
3	Periphere arterielle Verschlusskrankheit	Vektor für die Gentherapie zum Beispiel Einschleusung von neuen Genen in Blutbildende Stammzellen	Klinische Studien

	<p>5. REPAIR-AMI-Studie- randomisierte und placebokontrollierte Doppelblindstudie in Deutschland und der Schweiz mit insgesamt 204 Patienten (davon 103 mit Placebo), Intrakoronare Injektion von Knochenmarkstammzellen, koordiniert von Prof. Zeiher, Uni-Klinik Frankfurt am Main, 204 Patienten), Multi-Zentren-Studie mit Beteiligung von 13 Kliniken (darunter Bochum, Leipzig, Bad Nauheim, Homburg (Saarland-Uni) u.a.), Start: 16. April 2004 wurde im November 2005 vorgestellt (Schächinger et al., Abstract PS.01 from the Scientific Sessions 2005 of the American Heart Association, November 13-16, 2005, Dallas, TX 2005).</p> <p>6. Intracoronare Injektion von Knochenmarkzellen, Dosiseffekte, Effekt der Bestrahlung der Zellen u.a. koordiniert von Prof. Drexler, MH Hannover, 200 Patienten (40 Kontrollen), Multi-Zentren-Studie mit Beteiligung von 6 Kliniken (darunter Heidelberg, Berlin, Göttingen Hildesheim u. a.), Start: Sommer 2005.</p> <p>7. ASTAMI-Studie, Norwegen, Infusion von Knochenmarkzellen in das Infarktgefäß ohne Heilwirkung (mündlich kommuniziert Scientific Sessions 2005 of the American Heart Association, November 13–16, 2005, Dallas, TX 2005).</p>
	<p>1. Prof. Nienaber, Rostock: insgesamt 30 Patienten mit akutem Myocard-Infarkt (5 in Kontrollgruppe), (G-CSF-Behandlung für 6 Tage nach OP, (Ince et al., Circulation. 112(20):3097-106, 2005).</p> <p>2. Prof. Figulla, Jena: 5 Patienten mit G-CSF (Pethig und Figulla, Dtsch Med Wochenschr. 129(15):811-813, 2004).</p>
	<p>1. MAGIC-Studie (Myoblast Autologous Graft in Ischemic Cardiomyopathy) Phase-2-Studie zur Transplantation von Myoblasten in das infarzierte Myocard (nicht bei akutem Infarkt), europaweite Studie mit insgesamt 300 Patienten unter Beteiligung von 3 deutschen Kliniken (Bad Oeynhausen, Hamburg, Hannover (Haverich)), in Deutschland bisher 3 Patienten transplantiert, Doppel-Blind-Studie von Genzyme Corporation gesponsert.</p>
	<p>Kehat et al., J. Clin. Invest. 108: 407-414, 2001, Kehat et al., Nature Biotech. 22: 1282-1289, 2004.</p>
	<p>1. AGENT-Studien (Angiogenic GENE Therapy trials) 2 randomisierte, doppelblinde Placebo-kontrollierte Multi-Zentren-Studie an insgesamt 131 Patienten mit pektanginösen Beschwerden. (Grines et al., Am J Cardiol;92:24-31, 2003).</p> <p>2. RAVE-Studie („Regional Angiogenesis with Vascular Endothelial“ growth factor in peripheral arterial disease) randomisierte, doppelblinde, Placebo-kontrollierte Multizenter-Studie an insgesamt 105 Patienten mit peripher arterieller Verschlusskrankheit (Dor et al. EMBO J; 21:1939-1947, 2002).</p> <p>3. TALISMAN-Studien in den USA und Europa: Phase-II-Studien mit nicht viraler pDNA für den Fibroblastenwachstumsfaktor-1 (Comerota et al. J Vasc Surg; 35:930-936, 2002).</p>

Hämatologische Krankheiten			
4	Leukämie	Transplantation hämatopoetischer Stammzellen aus Knochenmark, peripherem Blut oder dem Nabelschnur-blut eines gesunden Spenders	
Erstbehandlung von Krebsarten			
5	Brustkrebs	Autologe Transplantation von Stammzellen aus dem Knochenmark oder dem peripheren Blut des Patienten	
6	Neuroblastomen	Autologe Transplantation von Stammzellen aus dem Knochenmark oder dem peripheren Blut des Patienten	
Krankheiten des Nervensystems			
7	Morbus Parkinson	Transplantation von aus menschlichen Föten gewonnenen Nervenzellen	Experimentelles Stadium, Klinische Studien in einigen Ländern
		Stimulierung der körpereigenen Stammzellen	Experimentelles Stadium
		Transplantation von aus menschlichen embryonalen Stammzellen differenzierten Nervenzellen	Experimentelles Stadium
8	Multiple Sklerose	Transplantation von adulten Knochenmarkstammzellen oder anderen autologen Stammzellen (Satellitenzellen), oder aus menschlichen embryonalen Stammzellen differenzierten Muskelzellen	Experimentelles Stadium

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-9.

In Deutschland zugelassen und in klinischer Praxis.	
In Deutschland zugelassen.	Schneeweiss et al., Stem Cells. 192: 151-160, 2001
In Deutschland zugelassen.	
In Deutschland nicht zugelassen	<p>Bjorklund und Lindvall, Nat Neurosci 3: 537-544, 2000; und Angaben bei Paul, G. (2006): Cell transplantation for patients with Parkinson's disease, in: Wobus, A.M. and Boheler, K.R., (Eds.) Stem Cells, vol. 174, Handbook of Experimental Pharmacology, Springer Berlin Heidelberg New York: 361–388.</p> <p>Weltweit sind über 400 Patienten in offenen klinischen Studien behandelt worden.</p> <p>Klinische Versuche in Schweden und USA mit 200 Patienten (im Jahr 2000) („Surgical Trial“ Freed et al., N Engl J Med 344: 710–719, 2001, Tampa/Mount Sinai „Surgical Trial“ Olanow et al., Ann Neurol 54: 403–414, 2003). Bei einigen Patienten anhaltende motorische Fehlfunktion nach ein bis drei Jahren.</p>
	<p>Brüstle et al., Proc Natl Acad Sci U S A 94: 14809–14814.1997; Takagi et al., J Clin Invest 115: 102–109, 2005 (Proof of Principle im Tierversuch).</p>

Abbildung 50 (SF-9, 1): Anzahl der Knochenmarkspender weltweit

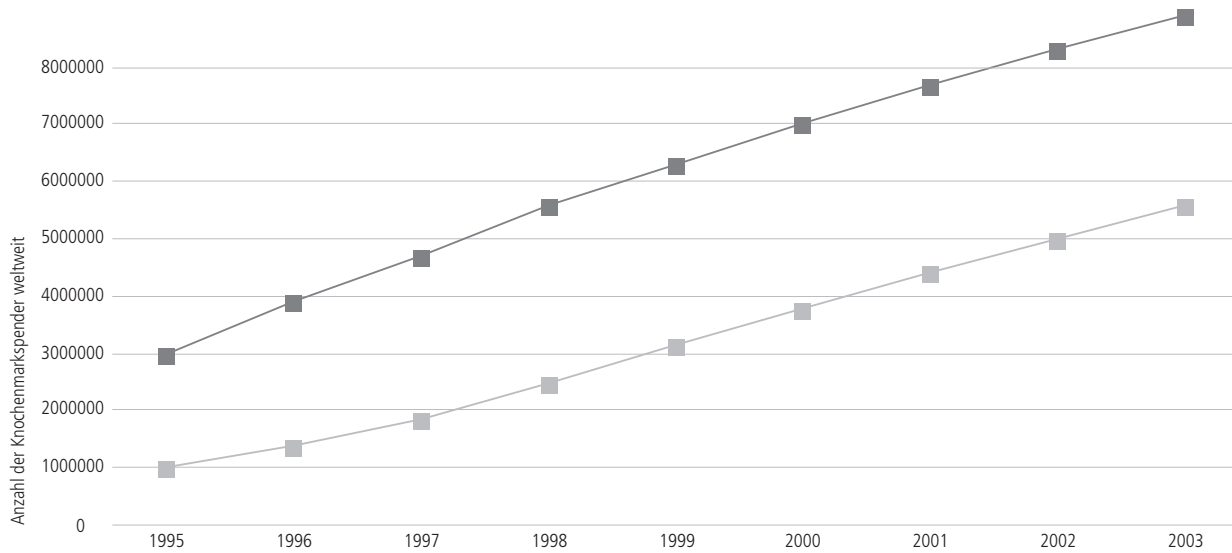


Abbildung 50 (SF-9, 1): Anzahl der Knochenmarkspender weltweit: ■ gesamt; ■ HLA-A.B.DRB1-typisiert
Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-9.

Abbildung 51 (SF-9, 2): Verteilung der Knochenmarkspender weltweit

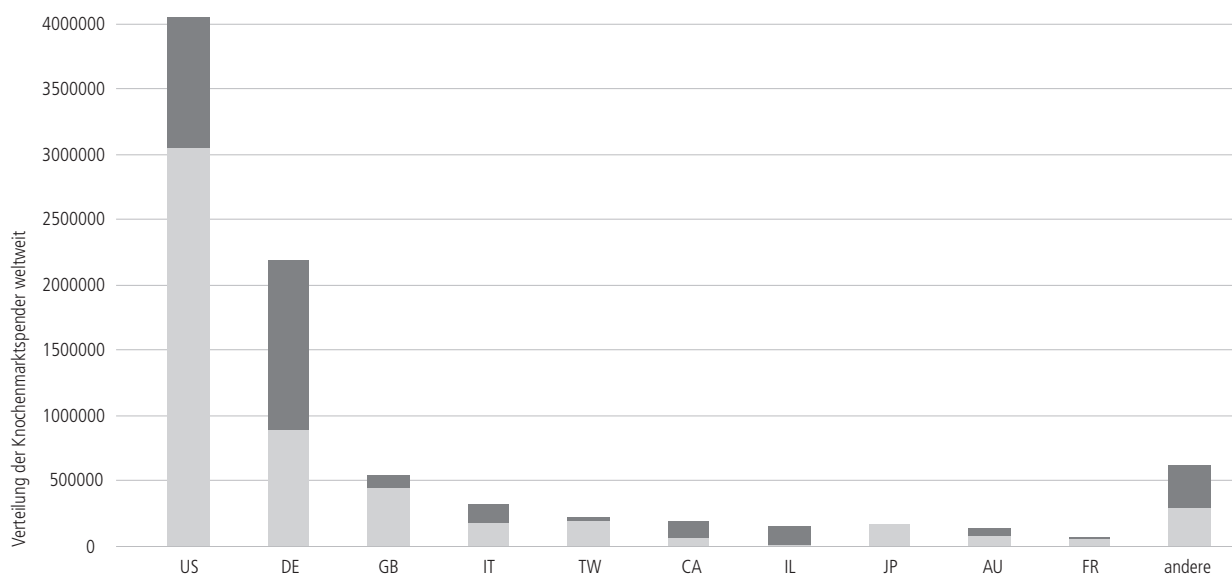


Abbildung 51 (SF-9, 2): Verteilung der Knochenmarkspender weltweit: ■ HLA-A.B-typisiert; ■ HLA-A.B.DRB1-typisiert
Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-9.

Abbildung 52 (SF-9, 3): Blutstammzellentnahmen von deutschen Spendern

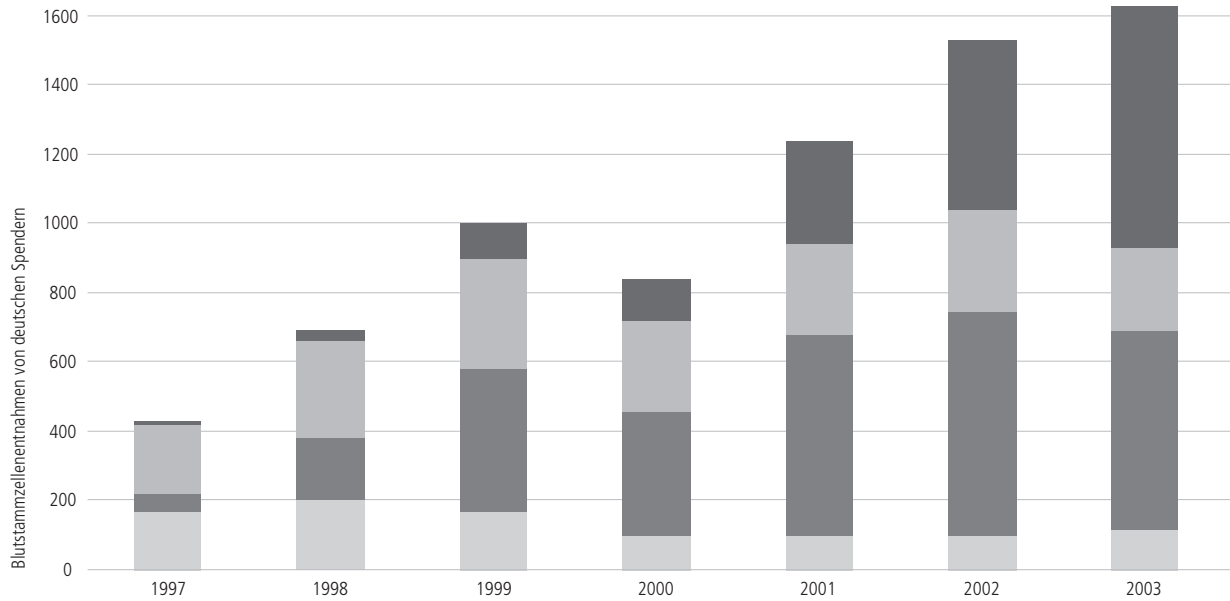


Abbildung 52 (SF-9, 3): Blutstammzellentnahmen von deutschen Spendern: ■ Inland-KM; ■ Inland-PBSZ; ■ Ausland-KM; ■ Ausland-PBSZ

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-9.

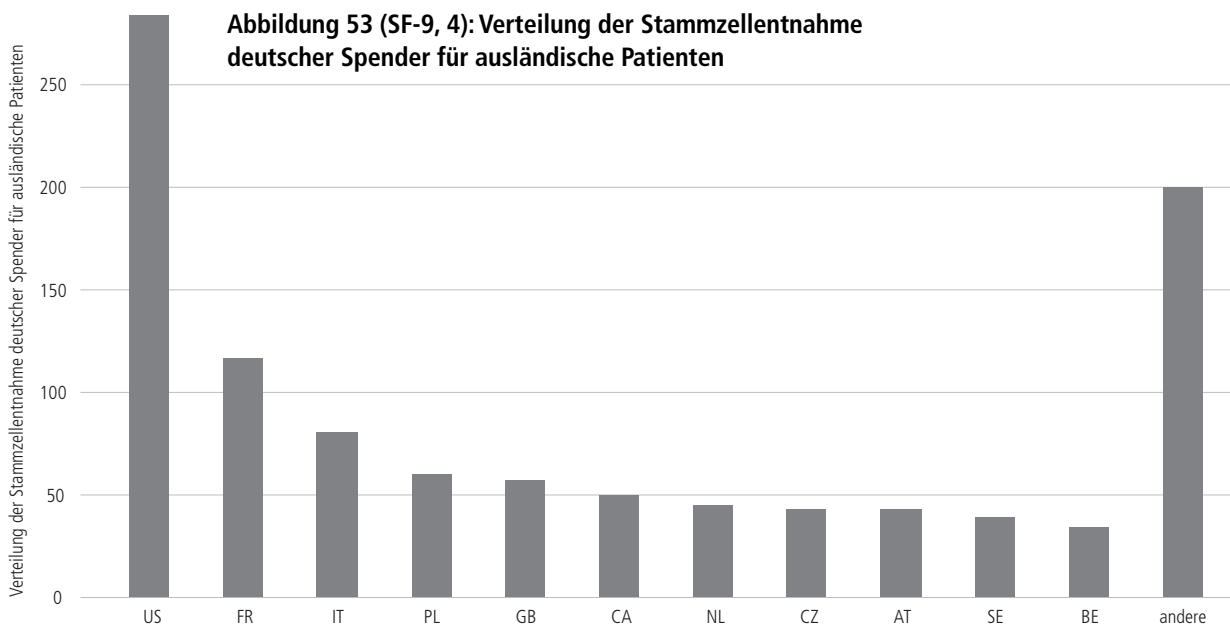


Abbildung 53 (SF-9, 4): Verteilung der Stammzellentnahme deutscher Spender für ausländische Patienten

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-9.

<p>Laufende Nr.:</p> <p>Name des Indikators:</p>	<p>SF-11</p> <p>Anzahl der zugelassenen Zelltherapien bzw. der entsprechenden Zellprodukte für bestimmte Krankheiten im Vergleich zu anderen Krankheiten für die allgemeine klinische Anwendung</p>
<p>Problemfeld:</p> <p>Zweck des Indikators:</p> <p>Berechnungsformel:</p> <p>Datenquelle:</p>	<p>Realisierung therapeutischer Zielsetzungen</p> <p>Der Indikator misst den Grad der tatsächlichen Anwendung von Zelltherapien in Deutschland und im internationalen Verhältnis.</p> <p>Jährlich</p> <p>Kommission der Europäischen Gemeinschaften: Arbeitspapier der Kommissionsdienststellen „Bericht über die Forschung an humanen Embryonalen Stammzellen“ (Übersetzung von SEC (2003)441) Statistiken aus dem Jahresbericht 2002/2003 des Zentralen Knochenmarkspender-Register Deutschland (ZKRD) für die Jahre 1995–2003. Öffentliche Literaturlatenbank im Internet (PUBMED)</p>
<p>Verfügbarkeit der Daten:</p> <p>Abgrenzung der Berechnungsgrößen:</p>	<p>Öffentlich</p> <p>Der Bericht über die Forschung an humanen embryonalen Stammzellen von der Kommission der Europäischen Gemeinschaft beschreibt den Forschungsstand im Bereich Zelltherapie mit Stammzellen anhand publizierter Fachliteratur. Zusammen mit einem Abgleich der publizierten Daten aus der Literaturlatenbank PUBMED kann eine Aussage über die Anzahl der Krankheiten/Krankheitsbilder, die mit Zelltherapie behandelt werden können und der Anzahl der in Deutschland zugelassenen Therapien getroffen werden. Die Statistiken aus dem Jahresbericht 2002/2003 des Zentralen Knochenmarkspender-Register Deutschland dienen zur Dokumentation der Häufigkeit der Gewinnung von Stammzellen aus dem Knochenmark im Kontext zur Häufigkeit der Gewinnung von Zellmaterialien zu Therapiezielen.</p>
<p>Zähler</p> <p>Nenner</p> <p>Gliederung der Kennzahl</p> <p>Berechnungshäufigkeit:</p> <p>Zur Aussagefähigkeit:</p>	<p>Jährlich</p> <p>Der Indikator wurde gewählt, um zu charakterisieren, inwieweit Zelltherapieverfahren den Mindestanforderungen an Wirksamkeit, Sicherheit und Qualität genügen. Zurzeit gibt es in Europa keine umfassenden bzw. international harmonisierten Regelungen, inwieweit Zelltherapien ein Zulassungsverfahren durchlaufen müssen, ehe sie allgemein klinisch angewendet werden dürfen. Zurzeit sind in Deutschland Knochenmarkstransplantation als einzige Zelltherapie zugelassen und werden seit mehreren Jahren zur Behandlung verschiedener Krankheiten eingesetzt. Der Indikator gibt einen Überblick über die tatsächliche Anwendung von Zelltherapien mit Stammzellen zur Heilung von Krankheiten. Der Indikator grenzt die Forschungsziele im Bereich Zelltherapie von den bereits erreichten Zielen, der Heilung von bestimmten Krankheiten, ab. Zudem zeigt dieser Indikator die Bedeutung einzelner Zelltherapien für die Gesellschaft, indem er darstellt, wie häufig Zellmaterialien für diese Therapie gewonnen werden.</p>

Angaben zu zugelassenen Zelltherapien siehe Tabelle 29 (SF-11).

Angaben zur Häufigkeit der Gewinnung von Zellmaterial zu Therapiezielen in Deutschland und international: Für den Bereich „Gewinnung von Stammzellen aus dem Knochenmark“ siehe Abbildungen 50 bis 53 (SF-9, 1 bis 4).

Laufende Nr.:	SF-23
Name des Indikators:	Anteil der öffentlichen Forschungsaufwendungen für die Stammzellforschung und Zelltherapie an den Ausgaben des BMBF für Forschung und Entwicklung
Problemfeld:	Wissenschaftsstrukturen
Zweck des Indikators:	Der Indikator misst die Ausgaben für Forschung und Entwicklung für Stammzellforschung und Zelltherapie, die Deutschland über das Bundesministerium für Forschung und Bildung tätigt.
Berechnungsformel:	Jährlich
Datenquelle:	Bundesberichtforschung 2004 http://www.bmbf.de/de/2303.php Antwort der Bundesregierung zur Lage der Forschung in Deutschland (-BT-Drs. 15/2528). http://www.bmbf.de/pub/GA_lage_forschungsfoerderung.pdf (ohne Datum) Die Daten wurden erhoben für die Jahre 1999-2003. Für das Jahr 2004 sind lediglich unvollständige Statistiken aus Pressemitteilungen erhältlich. Die Daten sind auf Deutschland bezogen (Pressemitteilung 170/2004 (28.07.2004) zur BMBF Förderung („Bundesregierung legt ersten Stammzellbericht vor“)).
Verfügbarkeit der Daten:	Öffentlich
Abgrenzung der Berechnungsgrößen:	Die Angaben beziehen sich allein auf die Forschungs- und Entwicklungsaufwendungen des BMBF.
Zähler	Öffentliche Forschungsaufwendungen für die Stammzellforschung und Zelltherapie
Nenner	Ausgaben des BMBF für Forschung und Entwicklung
Gliederung der Kennzahl	
Berechnungshäufigkeit:	Jährlich
Zur Aussagefähigkeit:	Die relative Höhe der öffentlich finanzierten Stammzellprojekte erlaubt als Vergleichsmaßstab – mehr noch als absolute Zahlen – Rückschlüsse auf den Stellenwert bestimmter Forschungsbereiche. Über den Stellenwert, den die Stammzellforschung in der Wissenschaft einnimmt, kann nur im Vergleich zum Gesamt F&E Etat und im Vergleich mit anderen Forschungsfeldern eine Aussage gemacht werden.

Tabelle 30 (SF-23, 1): Förderungssumme des BMBF für Stammzellprojekte im Verhältnis zu Gesamt BMBF-Ausgaben für Forschung und Entwicklung

	1999	2000	2001	2002	2003	2004
Stammzellprojekte	1,2	1,3	2,1	2,7	2,9	k. A.
BMBF	5 308,4	5 465,7	5 990,2	6 092,2	6 123,3	6 009,3
Anteil Stammzellprojekte BMBF F&E	0,000226%	0,0002378%	0,0003505%	0,0004431%	0,0004736%	k. A.

Angaben in Mio. Euro

Quelle: siehe Indikatorenkennblatt SF-23.

Tabelle 31 (SF-23, 2): BMBF Förderung von Stammzellprojekten im Jahr 2004

Verwendete Stammzellen	Anzahl der Projekte	Finanzmittel in Euro
tierische und humane ES-Zellen	3	900 000
humane AS-Zellen	10	3 100 000
„Tissue Engineering“ mit xenogenen Stammzellen	5	1 700 000

Zum Thema „biologischer Ersatz von Organfunktionen“ werden 32 Projekte mit 9,9 Millionen Euro gefördert (2001-2006). In 18 von 32 Projekten werden Stammzellen eingesetzt. Inzwischen wurde ein weiterer Förderschwerpunkt eröffnet zum Thema: „Zellbasierte regenerative Medizin“ in Höhe von ca. 4 Millionen Euro jährlich.

ES-Zellen: embryonale Stammzellen; AS-Zellen: adulte Stammzellen.

Quelle: „Bundesregierung legt ersten Stammzellbericht vor“, Pressemitteilung 170/2004 (28.07.2004) zur BMBF Förderung

9. Handlungsbedarf

1. Die Erforschung embryonaler und adulter Stammzellen wird neue Erkenntnisse für die Entwicklung von Zelltherapiestrategien beim Menschen liefern. Daraus ergibt sich die Forderung, Grundlagenforschung an beiden Zelltypen gleichrangig zu fördern.
2. Während für grundlagenorientierte Forschung in Deutschland die nach dem Stammzellgesetz (StZG, 2002) verfügbaren humanen ES-Zelllinien (NIH-Register) ausreichen, werden für therapieorientierte Forschungsansätze neue, nach standardisierten Richtlinien gewonnene und kultivierte humane ES-Zelllinien benötigt.
3. Um Rechtssicherheit für deutsche Wissenschaftler in europäischen und internationalen Verbundprojekten zu erhalten, wird eine Novellierung der Stichtagsregelung im Stammzellgesetz (StZG) als so genannter „nachlaufender Stichtag“ vorgeschlagen.
4. Ein wesentliches Ziel der Stammzellforschung liegt in der Entwicklung neuer Therapieansätze. Daher ist zu fordern, im StZG den Einsatz von hES-Zellen hinsichtlich der Entwicklung therapeutischer (Zelltransplantate) sowie kommerziell nutzbarer Produkte (Wirkstoffe, Pharmaka) zu erweitern.
5. Eine Novellierung des StZG muss es deutschen Wissenschaftlern auf dem Gebiet der embryonalen Stammzellforschung ermöglichen, in internationalen Kommissionen, Forschungsprojekten und in Stammzellbanken gleichberechtigt und nicht auf unklarer Rechtsgrundlage mitzuarbeiten.
6. Für alle Stammzellen und Stammzellderivate werden internationale Regelungen und Qualitätsstandards für die Gewinnung, Lagerung und therapeutische Nutzung benötigt.
7. Der Konflikt zwischen dem Interesse der öffentlichen Gesundheitsfürsorge und der Ethik des ärztlichen Handelns muss in Hinblick auf die Stammzellforschung in einer Begleitforschung reflektiert werden.

10. Verzeichnisse

10.1 Literatur

Al Hajj M., Becker M.W., Wicha M., Weissman I., and Clarke M.F., (2004): Therapeutic implications of cancer stem cells. *Curr Opin Genet Dev* 14: 43–47.

Alison M.R., Brittan M., Lovell M., and Wright N.A., (2005): Markers of adult tissue-based stem cells, in: Wobus, A. M. and K. R. Boheler (Eds.) *Handbook of Experimental Pharmacology*, Springer Heidelberg.

Alvarez-Dolado M., Pardal R., Garcia-Vardugo J.M., Fike J.R., Lee H.O., Pfeffer K., Lois C., Morrison S.J., and Alvarez-Buylla A., (2003): Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. *Nature* 425: 968–973.

Amit M., Winkler M.E., Menke S., Bruning E., Buscher K., Denner J., Haverich A., Itskovitz-Eldor J., and Martin U., (2005): No evidence for infection of human embryonic stem cells by feeder cell-derived murine leukemia viruses. *Stem Cells* 23: 761–771.

Amit M., Margulets V., Segev H., Shariki K., Laevsky I., Coleman R., and Itskovitz-Eldor J., (2003): Human feeder layers for human embryonic stem cells. *Biol Reprod* 68: 2150–2156.

Anisimov S.V., Tarasov K.V., Riordon D., Wobus A.M., and Boheler K.R., (2002a): SAGE identification of differentiation responsive genes in P19 embryonic cells induced to form cardiomyocytes in vitro. *Mech Dev* 117: 25–74.

Anisimov S.V., Tarasov K.V., Tweedie D., Stern M.D., Wobus A.M., and Boheler K.R., (2002b): SAGE identification of gene transcripts with profiles unique to pluripotent mouse R1 embryonic stem cells. *Genomics* 79: 169–176.

Anversa P., and Nadal-Ginard B., (2002): Myocyte renewal and ventricular remodelling. *Nature* 415: 240–243.

Asahara T., Murohara T., Sullivan A., Silver M., van der Z.R., Li T., Witzenbichler B., Schatteman G., and Isner J.M., (1997): Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. *Science* 275: 964–967.

Assady S.; Maor G., Ami, M. et al., (2001): Insulin production by human embryonic stem cells. In: *Diabetes* 50, S. 1691–1697.

Bahramian M.B. and Zarbl H., (1999): Transcriptional and posttranscriptional silencing of rodent alpha

1(I) collagen by a homologous transcriptionally self-silenced transgene. *Mol Cell Biol* 19: 274–283.

Baksh D., Song L., and Tuan R.S., (2004): Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy. *J Cell Mol Med* 8: 301–316.

Barberi T., Klivenyi P., Calingasan N.Y., Lee H., Kawamata H., Loonam K., Perrier A.L., Bruses J., Rubio M.E., Topf N., Tabar V., Harrison N.L., Beal M.F., Moore M.A.S., and Studer L., (2003): Neural subtype specification of fertilization and nuclear transfer embryonic stem cells and application in parkinsonian mice. *Nat Biotechnol* 21: 1200–1207.

Behboodi, E., Memili, E., Melican, D.T., Destrempe, M.M., Overton, S.A., Williams, J.L., Flanagan, P.A., Butler, R.E., Liem, H., Chen, L.H., Meade, H.M., Gavin, W.G., Echelard, Y., (2004): Viable transgenic goats derived from skin cells, *Transgenic Res* 13(3): 215–224.

Beier H.M., (2002): Totipotenz und Pluripotenz. Von der klassischen Embryologie zu neuen Therapiestrategien, in: Oduncu F.S., Schroth U., and Vossenkuhl W., (Eds.): *Stammzellenforschung und therapeutisches Klonen*. Vandenhoeck & Ruprecht Göttingen: 36–54.

Beltrami A.P., Barlucchi L., Torella D., Baker M., Limana F., Chimenti S., Kasahara H., Rota M., Musso E., Urbanek K., Leri A., Kajstura J., Nadal-Ginard B., and Anversa P., (2003): Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell* 114: 763–776.

Bender W., Hauskeller C. und Manzei A., (Eds., 2005): *Grenzüberschreitungen. Crossing Borders. Kulturelle, religiöse und politische Differenzen im Kontext der Stammzellforschung weltweit*. Agenda Verlag Münster.

BerliNews, (2000): Fortpflanzungsmedizin in Deutschland. Ergebnisse eines Symposiums des Bundesministeriums für Gesundheit in Berlin: <http://www.berlinews.de/archiv/1054.shtml> (Stand 10. Januar 2006).

Birnbacher D., (2003): „Hochrangigkeit“ im Stammzellgesetz – Ein Kommentar aus ethischer Sicht, in: *Jahrbuch für Wissenschaft und Ethik*. De Gruyter Berlin, New York: 353, 358.

Bjorklund A. and Lindvall O., (2000): Cell replacement therapies for central nervous system disorders. *Nat Neurosci* 3: 537–544.

Blobel G.A., Simon M.C., and Orkin S.H., (1995): Rescue of GATA-1-deficient embryonic stem cells by heterologous GATA-binding proteins. *Mol Cell Biol* 15: 626–633.

Blyszczuk P., Asbrand C., Rozzo A., Kania G., St Onge L., Rupnik M., and Wobus A.M., (2004): Embryonic stem cells differentiate into insulin-producing cells without selection of nestin-expressing cells. *Int J Dev Biol* 48: 1095–1104.

Blyszczuk P., Czyz J., Kania G., Wagner M., Roll U., St Onge L., and Wobus A.M., (2003): Expression of

Pax4 in embryonic stem cells promotes differentiation of nestin-positive progenitor and insulin-producing cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 998–1003.

Böckenförde E.-W., (2003): Menschenwürde als normatives Prinzip. *Juristenzeitung (JR)* 58, 17: 809, 813.

Böckenförde-Wunderlich B., (2002): Präimplantationsdiagnostik als Rechtsproblem. Mohr Siebeck GmbH & Co. Tübingen: 177 ff., 183 ff.

Boheler K.R. and Stern M.D., (2003): The new role of SAGE in gene discovery. *Trends Biotechnol* 21: 55–57.

Böhmer, M., von Renesse, M., Fischer, A. et al. (2002) : Änderungsantrag, Ausschuss-Drucks. 14–597 b: 3.

Boiani M., Eckardt S., Leu N.A., Scholer H.R., and McLaughlin K.J., (2003): Pluripotency deficit in clones overcome by clone-clone aggregation: epigenetic complementation? *EMBO J* 22: 5304–5312.

Bonaldo P., Chowdhury K., Stoykova A., Torres M., and Gruss P., (1998): Efficient gene trap screening for novel developmental genes using IRES beta geo vector and in vitro preselection. *Exp Cell Res* 244: 125–136.

Bonner-Weir S. and Weir G.C., (2005): New sources of pancreatic beta-cells. *Nat Biotechnol* 23: 857–861.

Brüstle O., Jones K.N., Learish R.D., Karram K., Choudhary K., Wiestler O.D., Duncan I.D., and McKay R.D., (1999): Embryonic stem cell-derived glial precursors: a source of myelinating transplants. *Science* 285: 754–756.

Brüstle O., Spiro A.C., Karram K., Choudhary K., Okabe S., and McKay R.D., (1997): In vitro-generated neural precursors participate in mammalian brain development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94: 14809–14814.

Bülow D. von, (2001) Verantwortete Wissenschaft : rechtliche und ethische Grenzen der Stammzellenforschung, in: BMBF (Ed.), *Humane Stammzellen : Perspektiven und Grenzen in der regenerativen Medizin*. Schattauer Stuttgart: 34, 40 f.

BVerfGE 92: 26, 41 f.

BVerfGE 88: 203, 251.

BVerfGE 45: 187, 228 f.; 96, 375, 399 f.

BVerfGE 39: 1, 37.

BVerfGE 30: 1, 26.

BVerfGE 6: 290, 295; 57, 9, 23; 100, 313, 362 ff.

Burns J.S., Abdallah B.M., Guldberg P., Rygaard J., Schroder H.D., and Kassem M., (2005): Tumorigenic heterogeneity in cancer stem cells evolved from long-term cultures of telomerase-immortalized human mesenchymal stem cells. *Cancer Res* 65: 3126–3135.

Byrne J.A., Simonsson S., Western P.S., and Gurdon J.B., (2003): Nuclei of adult mammalian somatic cells are directly reprogrammed to oct-4 stem cell gene expression by amphibian oocytes. *Curr Biol* 13: 1206–1213.

Caplen N.J., (2003): RNAi as a gene therapy approach. *Exp Op Biol Therapy* 3: 575–586.

Carpenter M.K., Rosler E.S., Fisk G.J., Brandenberger R., Ares X., Miura T., Lucero M., and Rao M.S., (2004): Properties of four human embryonic stem cell lines maintained in a feeder-free culture system. *Dev Dyn* 229: 243–258.

Catenhusen W.-M. (2003): Ist das Tor auf?, in: Maio G./Just H. (Eds.), *Die Forschung an embryonalen Stammzellen in ethischer und rechtlicher Perspektive*. Nomos Verlagsgesellschaft Baden-Baden: 239, 240.

Cerny J. and Quesenberry P.J., (2004): Chromatin remodeling and stem cell theory of relativity. *J Cell Physiol* 201: 1–16.

Chesne, P., Adenot, P.G., Viglietta, C., Baratte, M., Boulanger, L., Renard, J.P., (2002): Cloned rabbits produced by nuclear transfer from adult somatic cells, *Nat Biotechnol* 20(4): 366–369.

Chen S.L., Fang W.W., Ye F., Liu Y.H., Qian J., Shan S.J., Zhang J.J., Chunhua R.Z., Liao L.M., Lin S., and Sun J.P., (2004): Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 94: 92–95.

Chen Y., He Z.X., Liu A., Wang K., Mao W.W., Chu J.X., Lu Y., Fang Z.F., Shi Y.T., Yang Q.Z. et al., (2003): Embryonic stem cells generated by nuclear transfer of human somatic nuclei into rabbit oocytes. *Cell Res* 13: 251–263.

Choudhary M., Haimes E., Herbert M., Stojkovic M. and Murdoch A.P., (2004): Demographic, medical and treatment characteristics associated with couples' decisions to donate fresh spare embryos for research. *Human Reproduction* 9.

Chung Y., Klimanskaya I., Becker S., Marh J., Lu S.J., Johnson J., Meisner L., and Lanza R., (2005): Embryonic and extraembryonic stem cell lines derived from single mouse blastomeres. *Nature*, 439:216-219.

Classen C.-D., (2002): Die Forschung mit embryonalen Stammzellen im Spiegel der Grundrechte. Deutsches Verwaltungsblatt (DVBl): 141, 144.

Classen C.-D., (1989): Verfassungsrechtliche Rahmenbedingungen der Forschung mit Embryonen. Wissenschaftsrecht (WissR): 235, 237.

Comerota A.J., Throm RC, Miller K. et al. (2002): Naked plasmid DNA encoding fibroblast growth factor type 1 for the treatment of end-stage unreconstructible lower extremity ischemia: preliminary results of a phase I trial. *J Vasc Surg* 35: 930-936

Conti L., Pollard S.M., Gorba T., Reitano E., Toselli M., Biella G., Sun Y., Sanzone S., Ying Q.L., Cattaneo E., and Smith A., (2005): Niche-Independent Symmetrical Self-Renewal of a Mammalian Tissue Stem Cell. *PLoS Biol* 3: e283.

Cowan C.A., Atienza J., Melton D.A., and Eggan K., (2005): Nuclear reprogramming of somatic cells after fusion with human embryonic stem cells. *Science* 309: 1369–1373.

Cowan C.A., Klimanskaya I., McMahon J., Atienza J., Witmyer J., Zucker J.P., Wang S., Morton C.C., McMahon A.P., Powers D., and Melton D.A., (2004): Derivation of embryonic stem-cell lines from human blastocysts. *N Engl J Med* 350: 1353–1356.

Cyranoski D., and Check E., (2005): Stem-cell brothers divide. *Nature* 438: 262–263.

D'Ippolito G., Diabira S., Howard G.A., Menei P., Roos B.A., and Schiller P.C., (2004): Marrow-isolated adult multilineage inducible (MIAMI) cells, a unique population of postnatal young and old human cells with extensive expansion and differentiation potential. *J Cell Sci* 117: 2971–2981.

Davila J.C., Cezar G.G., Thiede M., Strom S., Miki T., and Trosko J., (2004): Use and application of stem cells in toxicology. *Toxicol Sci* 79: 214–223.

Dederer H.-G., (2002): Menschenwürde des Embryo in vitro?. *Archiv des Öffentlichen Rechts (AöR)* 1: 14 f.

Denker H. W., (2002): Forschung an embryonalen Stammzellen. Eine Diskussion der Begriffe Totipotenz und Pluripotenz, in: Oduncu F.S., Schroth U., and Vossenkuhl W., (Eds.): *Stammzellenforschung und therapeutisches Klonen*. Vandenhoeck & Ruprecht Göttingen: 19–35.

Department of Health: http://www.advisorybodies.doh.gov.uk/hgac/papers/papers_c.htm (Stand: 12. Januar 2006).

Deutscher Bundestag, (2002a): Begründung zum Entwurf des Stammzellgesetzes vom 23. April 2002, Bundestags-Drucks. 14/8846.

Deutscher Bundestag, (2002b): Begründung zum Entwurf des Stammzellgesetzes vom 27. Februar 2002, Bundestags-Drucks. 14/8394: 7f.

Deutscher Bundestag, (2001): Zweiter Zwischenbericht der Enquetekommission Recht und Ethik der modernen Medizin, Teilbericht Stammzellforschung, Drucksache 14/7546: 83 f.

DFG, (1999): Stellungnahme zum Problemkreis humane Stammzellen. http://www.dfg.de/aktuelles_presse/reden_stellungnahmen/archiv/download/eszell_d_99.pdf (Stand: 12. Januar 2006).

Dierken J., (2003): Die Würde des Menschen in bioethischen Konflikten, in: Albrecht St., Dierken J., Freese H., Höhle C. (Eds.): Stammzellforschung. University Press Hamburg: 25, 35 f.

Dietlein J., (1992): Die Lehre von den grundrechtlichen Schutzpflichten. Duncker & Humblot Berlin: 124 ff.

Dimmeler S., Zeiher A.M., and Schneider M.D., (2005): Unchain my heart: the scientific foundations of cardiac repair. *J Clin Invest* 115: 572-583.

Do J.T. and Schöler H.R., (2004): Nuclei of Embryonic Stem Cells Reprogram Somatic Cells. *Stem Cells* 22: 941–949.

Dor Y., Brown J., Martinez O.I., and Melton D.A., (2004): Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. *Nature* 429: 41–46.

Dor Y., Djonov V., Abramovitch R. et al. (2002): Conditional switching of VEGF provides new insights into adult neovascularization and pro-angiogenic therapy. *EMBO J* 21: 1939-1947.

Draper J.S., Smith K., Gokhale P., Moore H.D., Maltby E., Johnson J., Meisner L., Zwaka T.P., Thomson J.A., and Andrews P.W., (2004): Recurrent gain of chromosomes 17q and 12 in cultured human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 22: 53–54.

Dreier H., (Ed.) (2004): Grundgesetz-Kommentar, Bd. 1 (Art. 1-19), 2. Aufl.

Dvash T., Mayshar Y., Darr H., McElhaney M., Barker D., Yanuka O., Kotkow K.J., Rubin L.L., Benvenisty N., and Eiges R., (2004): Temporal gene expression during differentiation of human embryonic stem cells and embryoid bodies. *Hum Reprod* 19(12):2875–83

Edlund, H., (2002): Pancreatic Organogenesis – Developmental Mechanisms and Implications for Therapy. In: *Nature Reviews Genetics* 3: 524–532.

Edwards R.G., and Steptoe P.C., (1980): A matter of life. Hutchinson London.

Edwards R.G., and Steptoe P.C., (1978): Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet* 2: 366.

- Elliott S.T., Crider D.G., Garham C.P., Boheler K.R., and Van Eyk J.E., (2004): Two-dimensional gel electrophoresis database of murine R1 embryonic stem cells. *Proteomics*
- Eser A., Koch H.-G., (2003): Forschung mit humanen embryonalen Stammzellen im In- und Ausland, in: Deutsche Forschungsgemeinschaft (Ed.), *Forschung mit humanen embryonalen Stammzellen*. Wiley-VCH Weinheim: 37, 84.
- Europarat, (1996): Übereinkommen zum Schutz der Rechte und der Würde der Menschen bei der Anwendung von Biologie und Medizin.
- Europäisches Parlament 1997.: Entschließung zum Klonen:C 115, 14/04/1997:0092.
- Faendrich F., Lin X., Chai G.X., Schulze M., Ganten D., Bader M., Holle J., Huang D.S., Parwaresch R., Zavazava N., and Binas B., (2002): Preimplantation-stage stem cells induce long-term allogeneic graft acceptance without supplementary host conditioning. *Nat Med* 8: 171–178.
- Ferrari G., Cusella-De Angelis G., Coletta M., Paolucci E., Stornaiuolo A., Cossu G., and Mavilio F., (1998): Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science* 279: 1528–1530.
- Fink U., (2000): Zum Schutz des menschlichen Lebens im Grundgesetz – zugleich ein Beitrag zum Verhältnis des Lebensrechts zur Menschenwürdegarantie. *Jura* 4: 210, 212 f.
- Fire A., Xu S.Q., Montgomery M.K., Kostas S.A., Driver S.E., and Mello C.C., (1998): Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 391: 806–811.
- Fodor W., (2003): Tissue engineering and cell based therapies, from the bench to the clinic: The potential to replace, repair and regenerate. *Reproduc Biol Endocrinol* 1: 102.
- Fortunel N.O., Otu H.H., Ng H.H., Chen J.H., Mu X.Q., Chevassut T., Li X.Y., Joseph M., Bailey C., Hatzfeld J.A., Hatzfeld A., Usta F., Vega V.B., Long P.M., Libermann T.A., and Lim B., (2003): Comment on „Stemness’: Transcriptional profiling of embryonic and adult stem cells“ and „A stem cell molecular signature“ (I). *Science* 302: 393.
- Freed C.R., Greene P.E., Breeze R.E., Tsai W.Y., DuMouchel W., Kao R., Dillon S., Winfield H., Culver S., Trojanowski J.Q., Eidelberg D., and Fahn S., (2001): Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson’s disease. *N Engl J Med* 344: 710–719.
- Fridenshtein A.I., (1982): Stromal bone marrow cells and the hematopoietic microenvironment. *Arkh Patol* 44: 3-11.
- Gage F.H., (1998): Cell therapy. *Nature* 392: 18–24.
- Gage F.H., (2000): Mammalian neural stem cells. *Science* 287: 1433–1438.

- Galli, C., Lagutina, I., Crotti, G., Colleoni, S., Turini, P., Ponderato, N., Duchi, R., Lazzari, G. (2003): Pregnancy: a cloned horse born to its dam twin, *Nature* 424(6949): 635.
- Gassmann M., Donoho G., and Berg P., (1995): Maintenance of an extrachromosomal plasmid vector in mouse embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92: 1292–1296.
- Gearhart J. et al., (1998): New Potential for Human Embryonic Stem Cells. *Science* 282: 1061–1062.
- Geddert-Steinacher T., (1990): Menschenwürde als Verfassungsbegriff: Aspekte der Rechtsprechung des Bundesverfassungsgerichts zu Art 1. Abs. 1 Grundgesetz. Duncker u. Humblot Berlin.
- Genbacev O., Krtolica A., Zdravkovic T., Brunette E., Powell S., Nath A., Caceres E., McMaster M., McDonagh S., Li Y., Mandalam R., Lebkowski J., and Fisher S.J., (2005): Serum-free derivation of human embryonic stem cell lines on human placental fibroblast feeders. *Fertil Steril* 83: 1517–1529.
- Gesetz zum Schutz von Embryonen (Embryonenschutzgesetz – ESchG) vom 13. Dezember 1990, BGBl. I S. 2746.
- Geyer C., (Hg, 2001): Biopolitik. Die Positionen. Suhrkamp Frankfurt am Main.
- Goldstein R.S., Drukker M., Reubinoff B.E., and Benvenisty N., (2002): Integration and differentiation of human embryonic stem cells transplanted to the chick embryo. *Dev Dyn* 225: 80–86.
- Gonda K., Fowler J., Katoku-Kikyo N., Haroldson J., Wudel J., and Kikyo N., (2003): Reversible disassembly of somatic nucleoli by the germ cell proteins FRGY2a and FRGY2b. *Nat Cell Biol* 5: 205–210.
- Gong, G., Dai, Y., Fan, B., Zhu, H., Zhu, S., Wang, H., Wang, L., Tang, B., Li, R., Wan, R., Liu, Y., Huang, Y., Zhang, L., Sun, X., Li, N. (2004): Birth of calves expressing the enhanced green fluorescent protein after transfer of fresh or vitrified/thawed blastocysts produced by somatic cell nuclear transfer, *Mol Reprod Dev* 69(3): 278-288.
- Goodell M.A., Brose K., Paradis G., Conner A.S., and Mulligan R.C., (1996): Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vivo. *J Exp Med* 183: 1797-1806.
- Gottweis, H. and R. Triendl (2006): Koreanische Träume. *DIE ZEIT*. 5. Januar 2006.
- Greene M., Schill K., Takahashi S., Bateman-House A., Beauchamp T., Bok H., Cheney D., Coyle J., Deacon T., Dennett D. et al., (2005): ETHICS: Moral Issues of Human-Non-Human Primate Neural Grafting. *Science* 309: 385–386.
- Grines C., Rubanyi G.M., Kleiman N.S., Marrott P., Watkins MW. (2003) Angiogenic gene therapy with adenovirus 5 fibroblast growth factor-4 (Ad5FGF-4): a new option for the treatment of coronary artery disease. *Am J Cardiol* 92: 24-31.

- Groth C.G., Korsgren O., Tibell A., Tollema J., Moller E., Bolinder J., Ostman J., Reinhold F.P., Hellerstrom C., Andersson A. (1994): Transplantation of porcine fetal pancreas to diabetic patients. *Lancet*. 344: 1402–1404.
- Groth C.G., Andersson A., Bjorken C., Gunnarsson R., Hellerstrom C., Lundgren G., Petersson B., Swenne I., Ostman J. (1980): Transplantation of fetal pancreatic microfragments via the portal vein to a diabetic patient. *Diabetes*. 29 Suppl 1: 80–3.
- Guhr A., Kurtz A., Friedgen, K. and Löser P. (2005): Current state of human embryonic stem cell research: An overview of cell lines and their usage in experimental work. submitted.
- Haines, E., Murdoch, A.P. (2006), Embryo Donation, A Comparative Study, PEALS and Newcastle NHS Fertility Centre. Projektbeschreibung: <http://www.ncl.ac.uk/peals/research/currentprojects/project/847> (Stand 10. Januar 2006).
- Haker H., (2005): Ethische Aspekte der embryonalen Stammzellforschung, in: Bender W., Hauskeller C., and Manzei A. (Eds.), *Grenzüberschreitungen. Crossing Borders. Kulturelle, religiöse und politische Differenzen im Kontext der Stammzellforschung weltweit*. Agenda Verlag Münster: 127–154.
- Harada M., Qin Y., Takano H., Minamino T., Zou Y., Toko H., Ohtsuka M., Matsuura K., Sano M., Nishi J. et al., (2005): G-CSF prevents cardiac remodeling after myocardial infarction by activating the Jak-Stat pathway in cardiomyocytes. *Nat Med* 11: 305–311.
- Hauskeller C., (2005a): Science in Touch. Functions of Biomedical Language. *Biology and Philosophy* 20, 4: 315–335.
- Hauskeller C. (2005b): Introduction, in: Bender W., Hauskeller C., and Manzei A. (Eds.), *Grenzüberschreitungen. Crossing Borders. Kulturelle, religiöse und politische Differenzen im Kontext der Stammzellforschung weltweit*. Agenda Verlag Münster: 9–24.
- Hauskeller C., (2004a): How Traditions of Ethical Reasoning and Institutional Processes Shape Stem Cell Research in Britain. *The Journal of Medicine and Philosophy* 29, 5: 509–532.
- Hauskeller C., (2004b): Stammzellforschung und Menschenwürde. Plädoyer für einen Blickwechsel, in: Kettner M., (Ed.): *Biomedizin und Menschenwürde*. Suhrkamp Frankfurt am Main: 145–171.
- Hauskeller C., (2004c): Genes, genomes and identity. Projections on matter. *New Genetics and Society* 23, 4: 285–299.
- Hauskeller C., (2001): Die Stammzellforschung. Sachstand und ethische Problemstellungen, in: *Aus Politik und Zeitgeschichte* 27: 7–15.
- Hauskeller C., (2000): Die Stammzellforschung und das ärztliche Selbstverständnis zwischen wissenschaftlicher und ethischer Perspektive. *Ethica* 8, 4: 367–383.

Hayflick L. and Moorhead P.S., (1961): The serial cultivation of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 25: 585–621.

Herdegen M., (2003): Art. 1 Abs. 1, in: Maunz/Düring/Herzog: Grundgesetz. Kommentar. Beck München: Rdnr. 107.

Herdegen M., (2001): Die Menschenwürde im Fluss des bioethischen Diskurses, in *Juristenzeitung* (JR) 15/16: 773, 776.

Hermann A., Gastl R., Liebau S., Popa M.O., Fiedler J., Boehm B.O., Maisel M., Lerche H., Schwarz J., Brenner R., and Storch A., (2004): Efficient generation of neural stem cell-like cells from adult human bone marrow stromal cells. *J Cell Sci* 117: 4411–4422.

Herzog E.L., Chai L., and Krause D.S., (2003): Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood* 102: 3483–3493.

Hess D., Li L., Martin M., Sakano S., Hill D., Strutt B., Thyssen S., Gray D.A., and Bhatia M., (2003): Bone marrow-derived stem cells initiate pancreatic regeneration. *Nat Biotechnol* 21: 763–770.

Heun W., (2002): Embryonenforschung und Verfassung – Lebensrecht und Menschenwürde des Embryos. *Juristenzeitung* (JR) 11: 517, 523 f.

HFEA, Stem Cell Research: [Http://www.hfea.gov.uk/PressOffice/Backgroundpapers/Stemcellresearch](http://www.hfea.gov.uk/PressOffice/Backgroundpapers/Stemcellresearch) (Stand: 12. Januar 2006).

Hipp J. and Atala A., (2004): Tissue engineering, stem cells, cloning, and parthenogenesis: new paradigms for therapy. *J Exp Clin Assist Reprod* 1: 3.

Höfling W., (1993): Die Abtreibungsproblematik und das Grundrecht auf Leben, in: Thomas H., Kluth W. (Eds.): *Das zumutbare Kind*. Busse Seewald Herford, Stuttgart, Hamburg: 119, 124.

Hoffman L.M. and Carpenter M.K., (2005): Characterization and culture of human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 23: 699–708.

Holmes T.C., (2002): Novel peptide-based biomaterial scaffolds for tissue engineering. *Trends in Biotechnology* 20: 16–21.

Hori Y., Rulifson I.C., Tsai B.C., Heit J.J., Cahoy J.D., and Kim S.K., (2002): Growth inhibitors promote differentiation of insulin-producing tissue from embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 16105–16110.

Houghton J., Stoicov C., Nomura S., Rogers A.B., Carlson J., Li H., Cai X., Fox J.G., Goldenring J.R., and Wang T.C., (2004): Gastric cancer originating from bone marrow-derived cells. *Science* 306: 1568–1571.

Hovatta O. and Skottman H., (2005): Feeder-free derivation of human embryonic stem-cell lines. *Lancet* 365: 1601–1603.

Huber J., (2001): Möglichkeiten und Grenzen der Embryonenforschung aus Sicht der Medizin, *Alpbacher Gesundheitsgespräche* 26. August 2001, Abstract.

Hübner K., Fuhrmann G., Christenson L.K., Kehler J., Reinbold R., De La F.R., Wood J., Strauss III J.F., Boiani M., and Schöler H.R., (2003): Derivation of Oocytes from Mouse Embryonic Stem Cells. *Science* 300: 1251–1256.

Hucho F., Brockhoff K., van den Daele W., Köchy K., Reich J., Rheinberger H.J., Müller-Röber B., Sperling K., Wobus A.M., Boysen M., and Kölsch M., (2005): *Gentechnologiebericht – Analyse einer Hochtechnologie in Deutschland*. Spektrum Akademischer Verlag, Elsevier GmbH München.

Hurlbut W.B., (2005): Altered nuclear transfer as a morally acceptable means for the procurement of human embryonic stem cells. *Perspect Biol Med* 48: 211–228.

Hwang W.S., Roh S.I., Lee B.C., Kang S.K., Kwon D.K., Kim S., Kim S.J., Park S.W., Kwon H.S., Lee C.K. et al., (2005): Patient-Specific Embryonic Stem Cells Derived from Human SCNT Blastocysts. *Science* 308: 1777-1783.

Hwang W.S., Ryu Y.J., Park J.H., Park E.S., Lee E.G., Koo J.M., Jeon H.Y., Lee B.C., Kang S.K., Kim S.J., Ahn C., Hwang J.H., Park K.Y., Cibelli J.B., and Moon S.Y., (2004): Evidence of a pluripotent human embryonic stem cell line derived from a cloned blastocyst. *Science* 303: 1669–1674.

Iannaccone, P., Taborn, G., Garton, R., (2001): Preimplantation and postimplantation development of rat embryos cloned with cumulus cells and fibroblasts, *Zygote* 9(2): 135–143.

Ianus A., Holz G.G., Theise N.D., and Hussain M.A., (2003): In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion. *J Clin Invest* 111: 843–850.

Iliadou E., (1999): *Forschungsfreiheit und Embryonenschutz*. Duncker und Humblot Berlin:125.

Ince H., Petzsch M., Kleine H.D., Schmidt H., Rehders T., Korber T., Schumichen C., Freund M., Nienaber C.A. (2005): Preservation from left ventricular remodeling by front-integrated revascularization and stem cell liberation in evolving acute myocardial infarction by use of granulocyte-colony-stimulating factor (FIRSTLINE-AMI) *Circulation*. 112(20): 3097–3106.

Int. Herald Tribune Asia-Pacific (2006): Report on Dr. Hwang Woo Suk. 10. Januar 2006.

Ipsen J., (2001): Der „verfassungsrechtliche“ Status des Embryos in vitro. *Juristenzeitung (JZ)* 20: 989 ff.

Ivanova N.B., Dimos J.T., Schaniel C., Hackney J.A., Moore K.A., and Lemischka I.R., (2002): A stem cell molecular signature. *Science* 298: 601–604.

Janssens S., Dubois C., Bogaert J., Theunissen K., Deroose C., Desmet W., Kalantzi M., Herbots L., Sinnaeve P., Dens J., Maertens J., Rademakers F., Dymarkowski S., Gheysens O., Van Cleemput J., Bormans G., Nuyts J., Belmans A., Mortelmans L., Boogaerts M., Van de Werf F. (2006): Autologous bone marrow-derived stem-cell transfer in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: double-blind, randomised controlled trial. *Lancet* 367: 113–21.

Jiang Y., Henderson D., Blackstad M., Chen A., Miller R.F., and Verfaillie C.M., (2003): Neuroectodermal differentiation from mouse multipotent adult progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100 Suppl 1: 11854–11860.

Jiang Y., Jahagirdar B.N., Reinhardt R.L., Schwartz R.E., Keene C.D., Ortiz-Gonzalez X.R., Reyes M., Lenvik T., Lund T., Blackstad M., Du J., Aldrich S., Lisberg A., Low W.C., Largaespada D.A., and Verfaillie C.M., (2002a): Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 418: 41–49.

Jiang Y., Vaessen B., Lenvik T., Blackstad M., Reyes M., and Verfaillie C.M., (2002b): Multipotent progenitor cells can be isolated from postnatal murine bone marrow, muscle, and brain. *Exp Hematol* 30: 896–904.

Kajstura J., Rota M., Whang B., Cascapera S., Hosoda T., Bearzi C., Nurzynska D., Kasahara H., Zias E., Bonafe M., Nadal-Ginard B., Torella D., Nascimbene A., Quaini F., Urbanek K., Leri A., and Anversa P., (2005): Bone marrow cells differentiate in cardiac cell lineages after infarction independently of cell fusion. *Circ Res* 96: 127–137.

Karberg, S., (2005): Der verlorene Klon. *Financial Times*. 19. Dezember 2005.

Karisch, K.-H. (2006): Der Scharlatan. *Frankfurter Rundschau*. 3. Januar 2006.

Kania G., Corbeil D., Fuchs J., Tarasov K.V., Blyszczuk P., Huttner W.B., Boheler K.R., and Wobus A.M., (2005): Somatic stem cell marker prominin-1/CD133 is expressed in embryonic stem cell-derived progenitors. *Stem Cells* 23: 791–804.

Karpowicz P., Cohen C.B., and van der K.D., (2004): It is ethical to transplant human stem cells into nonhuman embryos. *Nat Med* 10: 331–335.

- Kaufman D.S., Lewis R.L., Hanson E.T., Auerbach R., Plendl J., and Thomson J.A., (2003): Functional endothelial cells derived from rhesus monkey embryonic stem cells. *Blood*:
- Kehat I., Khimovich L., Caspi O., Gepstein A., Shofti R., Arbel G., Huber I., Satin J., Itskovitz-Eldor J., and Gepstein L., (2004): Electromechanical integration of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 22: 1282–1289.
- Kehat I., Kenyagin-Karsenti D., Snir M., Segev H., Amit M., Gepstein A., Livne E., Binah O., Itskovitz-Eldor J., Gepstein L. (2001): Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. *J Clin Invest* 3: 407–14.
- Keller R., (1991): Rechtliche Schranken der Humangenetik. Ein Beitrag zum Embryonenschutzgesetz und zum Abschlussbericht der Bund-Länder-Arbeitsgruppe „Genomanalyse“. *Juristische Rundschau (JR)*: 441, 445.
- Kettner M., (Ed., 2004): *Biomedizin und Menschenwürde*. Suhrkamp Frankfurt am Main.
- Klug M.G., Soonpaa M.H., Koh G.Y., and Field L.J., (1996): Genetically selected cardiomyocytes from differentiating embryonic stem cells form stable intracardiac grafts. *J Clin Invest* 98: 216–224.
- Kluth W., (2003): Der Embryo und das Recht auf Leben, in: Beckmann R., Löhr M., (Eds.): *Der Status des Embryos* Naumann Würzburg: 208, 223.
- Kocher A.A., Schuster M.D., Szabolcs M.J., Takuma S., Burkhoff D., Wang J., Homma S., Edwards N.M., and Itescu S., (2001): Neovascularization of ischemic myocardium by human bone-marrow-derived angioblasts prevents cardiomyocyte apoptosis, reduces remodeling and improves cardiac function. *Nat Med* 7: 430–436.
- Kogler G., Sensken S., Airey J.A., Trapp T., Muschen M., Feldhahn N., Liedtke S., Sorg R.V., Fischer J., Rosenbaum C. et al., (2004): A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential. *J Exp Med* 200: 123–135.
- Kollek R., (2000): Technicalization of Human Procreation and Social Living Conditions, in: Haker H., Beyleveld D., (Eds.): *Ethics in Genetics in Human Procreation*. Ashgate Aldershot: 131–152.
- Kollek R., (1999): *Präimplantationsdiagnostik: Embryonenselektion, weibliche Autonomie und Recht*. Francke Tübingen, Basel.
- Ku H.T., Zhang N., Kubo A., O'Connor R., Mao M., Keller G., and Bromberg J.S., (2004): Committing embryonic stem cells to early endocrine pancreas in vitro. *Stem Cells* 22: 1205–1217.
- Kunkel T.A. and Bebenek K., (2000): DNA replication fidelity. *Ann Rev Biochem* 69: 497–529.
- Laflamme M.A. and Murry C.E., (2005): Regenerating the heart. *Nat Biotechnol* 23: 845–856.

Landry D.W. and Zucker H.A., (2004): Embryonic death and the creation of human embryonic stem cells. *J Clin Invest* 114: 1184–1186.

Langer R., (2000): Tissue engineering. *Molecular Therapy* 1: 12–15.

Lanzendorf S.E., Boyd C.A., Wright D.L., Muasher S.J., Oehninger S.C., Hodgen G.D., (2001): The Use of Gametes Obtained from Anonymous Donors for the Production of Human Embryonic Stem Cell (ESC) Lines. *Fertil Steril* 74 Suppl1 O-045: 16–17.

Lanza, R.P., Cibelli, J.B., Diaz, F., Moraes, C.T., Farin, C.E., Hammer, C.J., West, M.D., Damiani, P. (2002): Cloning of an endangered species (*Bos gaurus*) using interspecies nuclear transfer, *Cloning* 2(2): 79–90.

Laufs A., (1999), in: Laufs A., Uhlenbruck W. (Eds.): *Handbuch des Arztrechts*. Beck München: 1022.

Laugwitz K.L., Moretti A., Lam J., Gruber P., Chen Y., Woodard S., Lin L.Z., Cai C.L., Lu M.M., Reth M., Platoshyn O., Yuan J.X., Evans S., and Chien K.R., (2005): Postnatal *isl1*+ cardioblasts enter fully differentiated cardiomyocyte lineages. *Nature* 433: 647–653.

Lee, B.C., Kim, M.K., Jang, G., Oh, H.J., Yuda, F., Kim, H.J., Shamim, M.H., Kim, J.J., Kang, S.K., Schatten, G., Hwang, W.S. (2005): Dogs cloned from adult somatic cells, *Nature*, 436:641.

Lemoli R.M., Bertolini F., Cancedda R., De Luca M., Del Santo A., Ferrari G., Ferrari S., Martino G., Mavilio F., and Tura S., (2005): Stem cell plasticity: time for a reappraisal? *Haematologica* 90: 360–381.

Leon-Quinto T., Jones J., Skoudy A., Burcin M., and Soria B., (2004): In vitro directed differentiation of mouse embryonic stem cells into insulin-producing cells. *Diabetologia* 47: 1442–1451.

Levenberg S., Golub J.S., Amit M., Itskovitz-Eldor J., and Langer R., (2002): Endothelial cells derived from human embryonic stem cells. *PNAS* 99: 4391–4396.

Li, G.P., Tan, J.H., Sun, Q.Y., Meng, Q.G., Yue, K.Z., Sun, X.S., Li, Z.Y., Wang, H.B., Xu, L.B. (2000): Cloned piglets born after nuclear transplantation of embryonic blastomeres into porcine oocytes matured in vivo, *Cloning*, 2(1): 45–52.

Li M., Pevny L., Lovell-Badge R., and Smith A., (1998): Generation of purified neural precursors from embryonic stem cells by lineage selection. *Curr Biol* 8: 971–974.

Löwer (2002): Stellungnahme zum Entwurf des Stammzellgesetzes vom 27. Februar 2002, in: Deutscher Bundestag, Ausschuss für Bildung, Forschung und Technikfolgenabschätzung: Anhörung 11. März 2002, A-Drucksache 14-574 I: 10.

Lorenz D., (2001): § 128, in: Isensee J., Kirchhof P. (Eds.): *Handbuch des Staatsrechts*. Müller Heidelberg, Band VI: Rdnr. 10.

- Losch, (1992): Lebensschutz am Lebensbeginn: verfassungsrechtliche Probleme des Embryonenschutzes. *Neue Juristische Wochenschrift (NJW)* 46: 2926.
- Luther, W , Malanowski, N. et. al., (2004): Nanotechnologie als wirtschaftlicher Wachstumsmarkt. Innovations- und Technikanalyse. Zukünftige Technologien Consulting der VDI Technologiezentrum GmbH, Düsseldorf.
- Maitra A., Arking D.E., Shivapurkar N., Ikeda M., Stastny V., Kassaei K., Sui G., Cutler D.J., Liu Y., Brimble S.N. et al., (2005): Genomic alterations in cultured human embryonic stem cells. *Nat Genet*
- Majo G., (2001): Das Klonen im öffentlichen Diskurs. Über den Beitrag der Massenmedien zur Bioethik Diskussion. *Zeitschrift für medizinische Ethik* 47, 1 SD: 33–52.
- Manzei A., (2005): Stammzellen aus Nabelschnurblut : Ethische und gesellschaftliche Aspekte. Inst. Mensch, Ethik und Wiss. Berlin.
- Marris, C., Wynne, B., Simmons, P., Weldon, S. (Hrsg.) (2001): Public Perceptions of Agricultural Biotechnologies in Europe: <http://www.checkbiotech.org/pdf/pubperc.pdf> .
- Martin M.J., Muotri A., Gage F., and Varki A., (2005): Human embryonic stem cells express an immunogenic nonhuman sialic acid. *Nat Med* 11: 228–232.
- Maunz T., and Dürig G., (1999): Grundgesetz, Loseblattkommentar. Beck München: 6.
- Meissner A. and Jaenisch R., (2005): Generation of nuclear transfer-derived pluripotent ES cells from cloned Cdx2-deficient blastocysts. *Nature*. October 16, 2005, early online edition.
- Menasche P., Hagege A.A., Scorsin M., Pouzet B., Desnos M., Duboc D., Schwartz K., Vilquin J.T., and Marolleau J.P., (2001): Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 357: 279–280.
- Meng, L., Ely, J.J., Stouffler, R.L., Wolf, D.P., (1997): Rhesus monkeys produced by nuclear transfer, *Biol Reprod* 57(2): 454–459.
- Min J.Y., Yang Y., Converso K.L., Liu L., Huang Q., Morgan J.P., and Xiao Y.F., (2002): Transplantation of embryonic stem cells improves cardiac function in postinfarcted rats. *J Appl Physiol* 92: 288–296.
- Mitsui K., Tokuzawa Y., Itoh H., Segawa K., Murakami M., Takahashi K., Maruyama M., Maeda M., and Yamanaka S., (2003): The homeoprotein nanog is required for maintenance of pluripotency in mouse epiblast and ES cells. *Cell* 113: 631–642.
- Nationaler Ethikrat, (2004): Klonen zu Fortpflanzungszwecken und Klonen zu biomedizinischen Forschungszwecken, 2004: 66.
- Nickels C., (2000): Siehe: [Http://www.berlinews.de/archiv/1054.shtml](http://www.berlinews.de/archiv/1054.shtml) (Stand : 12. Januar 2006).

Normile, D., Vogel, G. and Couzin, J. (2006): South Korean Team's remaining human stem cell claim demolished, ScienceNow, 10. Januar 2006.

Olanow C.W., Goetz C.G., Kordower J.H., Stoessl A.J., Sossi V., Brin M.F., Shannon K.M., Nauert G.M., Perl D.P., Godbold J., and Freeman T.B., (2003): A double-blind controlled trial of bilateral fetal nigral transplantation in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 54: 403–414.

Pasumarthi K.B., Nakajima H., Nakajima H.O., Soonpaa M.H., and Field L.J., (2005): Targeted expression of cyclin D2 results in cardiomyocyte DNA synthesis and infarct regression in transgenic mice. *Circ Res* 96: 110–118.

Paul G., (2006): Cell transplantation for patients with Parkinson's disease, in: Wobus, A.M. and K.R. Boheler (Eds.) *Stem Cells* vol. 174 *Handbook of Experimental Pharmacology*, Springer Heidelberg, pp. 361–388.

Pethig K., Figulla H.R. (2004) Acute aortic dissection--what treatment strategies are evidence based? *Dtsch Med Wochenschr.* 129(15): 811–813.

Pichlhofer G., (1999): *Grenzverschiebungen*. Mabuse-Verlag Frankfurt am Main.

Quesenberry P.J., Colvin G.A., and Dooner M.S., (2005): The stem cell continuum: a new model of stem cell regulation, in: Wobus, A.M. and K.R. Boheler (Eds.) *Handbook of Experimental Pharmacology*, in press.

Ramalho-Santos M., Yoon S., Matsuzaki Y., Mulligan R.C., and Melton D.A., (2002): „Stemness“: transcriptional profiling of embryonic and adult stem cells. *Science* 298: 597–600.

Ramiya V.K., Maraist M., Arfors K.E., Schatz D.A., Peck A.B., Cornelius J.G. (2000): Reversal of insulin-dependent diabetes using islets generated in vitro from pancreatic stem cells. *Nat Med* 3: 278–82.

Reuters Nachrichtenagentur, (2006): Science will Beitrag Hwangs zu Stammzellen zurückziehen. 5. Januar 2006.

Reyes M., Lund T., Lenvik T., Aguiar D., Koodie L., and Verfaillie C.M., (2001): Purification and ex vivo expansion of postnatal human marrow mesodermal progenitor cells. *Blood* 98: 2615–2625.

Richards M., Tan S.P., Tan J.H., Chan W.K., and Bongso A., (2004): The transcriptome profile of human embryonic stem cells as defined by SAGE. *Stem Cells* 22: 51–64.

Rideout W.M., Hochedlinger K., Kyba M., Daley G.Q., and Jaenisch R., (2002): Correction of a genetic defect by nuclear transplantation and combined cell and gene therapy. *Cell* 109: 17–27.

Rothmüller N., (2005): Verdeckte Spielräume biomedizinischer Forschung. *Gen-Ethischer Informationsdienst* 71: 35–38.

- Rubio D., Garcia-Castro J., Martin M.C., De La F.R., Cigudosa J.C., Lloyd A.C., and Bernad A., (2005): Spontaneous human adult stem cell transformation. *Cancer Res* 65: 3035–3039.
- Sachs M., (Ed.) (2002): Grundgesetz-Kommentar, 3. Auflage. Beck München.
- Sato N., Meijer L., Skaltsounis L., Greengard P., and Brivanlou A.H., (2004): Maintenance of pluripotency in human and mouse embryonic stem cells through activation of Wnt signaling by a pharmacological GSK-3-specific inhibitor. *Nat Med* 10: 55–63.
- Sato N., Sanjuan I.M., Heke M., Uchida M., Naef F., and Brivanlou A.H., (2003): Molecular signature of human embryonic stem cells and its comparison with the mouse. *Dev Biol* 260: 404–413.
- Satzinger H., (1988): Zur Ethikdebatte um die Embryonenforschung. *Wechselwirkung* 37: 15–25;
- Sauer H., Gunther J., Hescheler J., and Wartenberg M., (2000): Thalidomide inhibits angiogenesis in embryoid bodies by the generation of hydroxyl radicals. *Am J Pathol* 156: 151–158.
- Satzinger H., (1999): In-vitro-Befruchtung, Embryonenforschung und Keimbahneingriffe, in: Pichlhofer G., (1999): Grenzverschiebungen. Mabuse-Verlag Frankfurt am Main: 13–26.
- Schächinger V., Erbs S., Elsässer A., Haberbosch W., Hambrecht R., Hölschermann H., Yu J., Corti R., Mathey D., Hamm C., Süselbeck T., Assmus B., Tonn T., Dimmeler S., and Zeiher A.M. (2005) Intracoronary Infusion of Bone Marrow-Derived Progenitor Cells in Acute Myocardial Infarction: a Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Multicenter Trial (REPAIR – AMI). Abstract PS.01 from the Scientific Sessions 2005 of the American Heart Association, November 13–16, 2005, Dallas, TX.
- Schmoch, U. (1999): Eignen sich Patente als Innovationsindikatoren? In: Boch, R. (Hrsg.): Patentschutz und Innovation in Geschichte und Gegenwart. Lang Frankfurt am Main, Berlin, Bern, New York, Paris, Wien.
- Schneeweiss A., Hensel M., Goerner R., Khbeis T., Hohaus S., Egerer G., Solomayer E., Haas R., Grischke E.M., Bastert G., Ho A.D. (2001): Comparison of double and triple high-dose chemotherapy with autologous blood stem cell transplantation in patients with metastatic breast cancer. *Stem Cells* 19(2):151–60.
- Schneider I., (2001): Präimplantationsdiagnostik und Stammzellforschung, in: Horner V., and Platzer K.: Optionen für eine Medizin der Zukunft? Speyrer Texte aus der Evangelischen Akademie der Pfalz 6: 4–33.
- Schnieke, A.E., Kind, A.J., Ritchie, W.A., Mycock, K., Scott, A.R., Ritchie, M., Wilmut, I., Colman, A., Campbell, K.H. (1997): Human factor IX transgenic sheep produced by transfer of nuclei from transfected fetal fibroblasts, *Science* 278(5346): 2130–2133.

Schreiber H.-L., (2003): Die Würde des Menschen – eine rechtliche Fiktion?: Bemerkungen zur Reichweite des Menschenwürdeprinzips in der Diskussion über Embryonenforschung, Klonen und Präimplantationsdiagnostik. *Medizinrecht* 21, 7: 367, 370 ff.

Schröder M., (1981): Zur Wirkkraft der Grundrechte bei Sachverhalten mit grenzüberschreitenden Elementen, in: von Münch (Ed.): *Festschrift für J. Schlochauer*. De Gruyter Berlin: 137, 138.

Schroth U., (2002): Forschung mit embryonalen Stammzellen, in: Oduncu F., Schroth U., Vossenkuhl W., (Eds.), *Stammzellenforschung und therapeutisches Klonen*. Vandenhoeck & Ruprecht Göttingen: 249–252.

Seaberg R.M., Smukler S.R., Kieffer T.J., Enikolopov G., Asghar Z., Wheeler M.B., Korbitt G., and van der K.D., (2004): Clonal identification of multipotent precursors from adult mouse pancreas that generate neural and pancreatic lineages. *Nat Biotechnol*.

Sewing, K.-F., (2002): Forschung an und mit embryonalen Stammzellen. *Chefarzt aktuell* 2: 26 f.

Shamblott M.J., Axelman J., Wang S., Bugg E.M., Littlefield J.W., Donovan P.J., Blumenthal P.D., Huggins G.R., and Gearhart G.D., (1998): Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proc Nat Acad Sci*: 13726–13731.

Shapiro A.M., Lakey J.R., Ryan E.A., Korbitt G.S., Toth E., Warnock G.L., Kneteman N.M., and Rajotte R.V., (2000): Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med* 343: 230–238.

Sharov A.A., Piao Y., Matoba R., Dudekula D.B., Qian Y., VanBuren V., Falco G., Martin P.R., Stagg C.A., Bassey U.C. (2003). Defining developmental potential by the transcriptome of mouse stem cells and early embryos. *Defining developmental potential by the transcriptome of mouse stem cells and early embryos*. *PloS*.

Shelley M., (1819): *Frankenstein oder der moderne Prometheus*.

Simonsson S. and Gurdon J., (2004): DNA demethylation is necessary for the epigenetic reprogramming of somatic cell nuclei. *Nat Cell Biol* 6: 984–990.

Singh S.K., Hawkins C., Clarke I.D., Squire J.A., Bayani J., Hide T., Henkelman R.M., Cusimano M.D., and Dirks P.B., (2004): Identification of human brain tumour initiating cells. *Nature* 432: 396–401.

Sloterdijk P., (1999): *Regeln für den Menschenpark*. Ein Antwortschreiben zu Heideggers Brief über den Humanismus. Suhrkamp Frankfurt am Main.

Solter D., (1999): Cloning and embryonic stem cells: a new era in human biology and medicine. *Croat Med J* 40: 309–318.

- Soria B., Roche E., Berna G., Leon-Quinto T., Reig J.A., and Martin F., (2000): Insulin-secreting cells derived from embryonic stem cells normalize glycemia in streptozotocin-induced diabetic mice. *Diabetes* 49: 157–162.
- Spaemann R., (1996): *Personen. Versuch über den Unterschied zwischen „etwas“ und „jemand“*. Klett-Cotta Stuttgart.
- Sperger J.M., Chen X., Draper J.S., Antosiewicz J.E., Chon C.H., Jones S.B., Brooks J.D., Andrews P.W., Brown P.O., and Thomson J.A., (2003): Gene expression patterns in human embryonic stem cells and human pluripotent germ cell tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 13350–13355.
- Starck C., (1999): Art. 2 Abs. 2, in: von Mangoldt H., Klein F., Starck C.: *GG I. Vahlen München: Rdnr.* 176.
- Stamm C., Westphal B., Kleine H.D., Petzsch M., Kittner C., Klinge H., Schumichen C., Nienaber C.A., Freund M., Steinhoff G. (2003): Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 361: 45–46.
- Steiner U., (1992): *Schutz des Lebens nach dem Grundgesetz: 11.*
- Stern K., (1988): *Das Staatsrecht der Bundesrepublik Deutschland, Band III/1.* Beck München: 1057 f.
- Stern M.D., Anisimov S.V., and Boheler K.R., (2003): Can transcriptome size be estimated from SAGE catalogs? *Bioinformatics* 19: 443–448.
- Strauer B. E., Brehm M., Zeus T., Kostering M., Hernandez A., Sorg R.V., Kögler G. and Wernet P. (2002): Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in humans. *Circulation* 106: 1913-1918.
- Strelchenko N. and Verlinski Y., *Method of making stem cells from differentiated cells, US Patent US20040259249A1* (2004).
- Takagi Y., Takahashi J., Saiki H., Morizane A., Hayashi T., Kishi Y., Fukuda H., Okamoto Y., Koyanagi M., Ideguchi M. et al., (2005): Dopaminergic neurons generated from monkey embryonic stem cells function in a Parkinson primate model. *J Clin Invest* 115: 102–109.
- Tanaka T.S., Kunath T., Kimber W.L., Jaradat S.A., Stagg C.A., Usuda M., Yokota T., Niwa H., Rossant J., and Ko M.S.H., (2002): Gene expression profiling of embryo-derived stem cells reveals candidate genes associated with pluripotency and lineage specificity. *Genome Res* 12: 1921–1928.
- Tao, T., Boquest, A.C., Machaty, Z., Petersen, A.L., Day, B.N., Prather, R.S. (1999): Development of pig embryos by nuclear transfer of cultured fibroblast cells, *Cloning* 1: 55–62.

- Tang D.Q., Cao L.Z., Burkhardt B.R., Xia C.Q., Litherland S.A., Atkinson M. A., and Yang L.J., (2004): In vivo and in vitro characterization of insulin-producing cells obtained from murine bone marrow. *Diabetes* 53: 1721–1732.
- Taupitz J., (2004): Der Status des Embryos, in: Schreiber H.-L., Rosenau H., Ischizuka S., Kim S. (Eds.), *Recht und Ethik im Zeitalter der Gentechnik*. Vandenhoeck & Ruprecht Göttingen: 96, 100.
- Taupitz J., (2003a): Der Schutz embryonaler Stammzellen durch das Stammzellgesetz. *GenTechnik & Recht* 1: 11 f.
- Taupitz J., (2003b): Ethikkommissionen in der Politik: Bleibt die Ethik auf der Strecke?. *Juristenzeitung (JR)* 58, 17: , 815, 820.
- Taupitz J., (2002): Der „ethische“ Export als Rechtsproblem biomedizinischer Forschung: dargestellt aus dem Blickwinkel des deutschen Rechts, in: Geiser T., (Ed.), *Privatrecht im Spannungsfeld zwischen gesellschaftlichem Wandel und ethischer Verantwortung: Beiträge zum Familienrecht, Erbecht, Persönlichkeitsrecht, Haftpflichtrecht, Medizinalrecht und allgemeinen Privatrecht; Festschrift für Heinz Hausheer zum 65. Geburtstag*. Stämpfli Bern: 271, 280.
- Taupitz J., Brewe M., Schelling H., (2002): Landesbericht Deutschland, in: Taupitz J., (Ed.), *Das Menschenrechtsübereinkommen zur Biomedizin des Europarates*: 409, 479 f. m. w. Nachw.
- Taupitz J., (2002): Import embryonaler Stammzellen. *Zeitschrift für Rechtspolitik* 3: 111, 112.
- Taupitz J., (2001a). *Neue Juristische Wochenschrift (NJW)*: 3433, 3438.
- Taupitz J., (2001b): Die neue Deklaration von Helsinki. *Deutsches Ärzteblatt* 98, 38: 2413–2420.
- Testa G., Zhang Y.M., Vintersten K., Benes V., Pijnappel W.W.M.P., Chambers I., Smith A.J.H., Smith A.G., and Stewart A.F., (2003): Engineering the mouse genome with bacterial artificial chromosomes to create multipurpose alleles. *Nature Biotechnol* 21: 443–447.
- 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.
- Till J.E. and McCulloch E.A., (1961): A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat Res* 14: 213–222.
- Trounson A., (2004): Stem cells, plasticity and cancer – uncomfortable bed fellows. *Development* 131: 2763–2768.
- Trute H.-H., (2001): Die Forschung an humanen Stammzellen als Ordnungsproblem des Wissenschaftsrechts, in: *Gedächtnisschrift für Hartmut Krüger*. Duncker und Humblot Berlin: 385, 399.
- Vacanti J.P. and Langer R., (1999): Tissue engineering: the design and fabrication of living replacement devices for surgical reconstruction and transplantation. *Lancet* 354: S132–S134.

- Velculescu V.E., Zhang L., Vogelstein B., and Kinzler K.W., (1995): Serial analysis of gene expression. *Science* 270: 484–487.
- Vereinte Nationen, (2005): United Nations Declaration on Human Cloning, verabschiedet am 8. März 2005, Resolution 59/280.
- Verlinsky Y., Strelchenko N., Kukhareno V., Rechitsky S., Verlinsky O., Galat V., and Kuliev A., (2005): Human embryonic stem cell lines with genetic disorders. *Reprod Biomed Online* 10: 105–110.
- Vitzthum W. Graf von, (1992) Rechtspolitik als Verfassungsvollzug? Zum Verhältnis von Verfassungsauslegung und Gesetzgebung am Beispiel der Humangenetik-Diskussion, in: Günther H.-L., Keller R., (Eds.): Fortpflanzungsmedizin und Humangenetik – strafrechtliche Schranken? Mohr Tübingen: 61, 75.
- Vogel G., (2001): Stem Cells Lose Market Luster. *Science* 299: 1380–1381.
- Vogel G., (1999): Breakthrough of the year: Capturing the Promise of Youth. *Science* 286: 2238–2239.
- Vrana K.E., Hipp J.D., Goss A.M., McCool B.A., Riddle D.R., Walker S.J., Wettstein P.J., Studer L.P., Tabar V., Cunniff K., Chapman K., Vilner L., West M.D., Grant K.A., and Cibelli J.B., (2003): Nonhuman primate parthenogenetic stem cells. *PNAS* 100: 11911–11916.
- Wagers A.J. and Weissman I.L., (2004): Plasticity of adult stem cells. *Cell* 116: 639-648.
- Wakayama, S., Mizutani, E., Kishigami, S., Thuan, N.Y., Ohta, H., Hikichi, T., Thuy, H.B., Miyake, M., Wakayama, T. (2005): Mice cloned by nuclear transfer from somatic and ntES cells derived from the same individuals, *J Reprod* 14
- Wakayama, T., Tabar, V., Rodriguez, I., Perry, A.C., Studer, L., Mombaerts, P. (2001): Differentiation of embryonic stem cell lines generated from adult somatic cells by nuclear transfer, *Science* 292(5517): 740–743.
- Wei J., Blum S., Unger M., Jarmy G., Lamparter M., Geishauser A., Vlastos G.A., Chan G., Fischer K.D., Rattat D., Debatin K.M., Hatzopoulos A.K., and Beltinger C., (2004): Embryonic endothelial progenitor cells armed with a suicide gene target hypoxic lung metastases after intravenous delivery. *Cancer Cell* 5: 477–488.
- Weissman I.L., Anderson D.J., and Gage F., (2001): Stem and progenitor cells: Origins, phenotypes, lineage commitments, and transdifferentiations. *Ann Rev Cell Dev Biol* 17: 387–403.
- Werner H., (2004): Menschenwürde in der bioethischen Debatte. Eine Diskurstopologie. In Kettner M., (Ed.): *Biomedizin und Menschenwürde*. Suhrkamp Frankfurt am Main: 191–220.

Wetz F.J., (2004): Menschenwürde als Opium fürs Volk. Der Wertstatus von Embryonen. In: Kettner M., (Ed.): Biomedizin und Menschenwürde. Suhrkamp Frankfurt am Main: 221–248.

Wetz F.J., (1998): Die Würde des Menschen ist antastbar. Eine Provokation. Klett-Cotta Stuttgart.

Wils, J.P, (2005): Differenzen ethischer Argumentation in Europa. Das Beispiel Embryonenschutz. Ein Blick aus den Niederlanden, in: Bender W., Hauskeller C. and Manzei A., (Eds.): Grenzüberschreitungen. Crossing Borders. Kulturelle, religiöse und politische Differenzen im Kontext der Stammzellforschung weltweit . Agenda Verlag Münster: 547–564.

Wilson J.M., (1996): Animal models of human disease for gene therapy. *J Clin Invest* 97: 1138–1141.

Wobus A.M. and Boheler K.R., (2005): Embryonic stem cells: prospects for developmental biology and cell therapy. *Physiol Rev* 85: 635–678.

Wobus A.M., Wallukat G., and Hescheler J., (1991): Pluripotent mouse embryonic stem cells are able to differentiate into cardiomyocytes expressing chronotropic responses to adrenergic and cholinergic agents and Ca²⁺ channel blockers. *Differentiation* 48: 173–182.

Wolfrum R., (2002): Stammzellen importieren?, in: Bockenheimer-Lucius G., (Ed.), *Forschung an embryonalen Stammzellen*. Dt. Ärzteverlag Köln: 62–63.

Wollert K.C., Meyer G.P., Lotz J., Ringes-Lichtenberg S., Lippolt P., Breidenbach C., Fichtner S., Korte T., Hornig B., Messinger D., Arseniev L., Hertenstein B., Ganser A., and Drexler H., (2004): Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet* 364: 141–148.

Woods, G.L., White, K.L., Vanderwall, D.K., Li, G.P., Aston, K.I., Bunch, T.D., Meerdo, L.N., Pate, B.J. (2003): A mule cloned from fetal cells by nuclear transfer, *Science* 301(5636): 1063.

Wormer E.J., (2003): Mehr Wissen über Stammzellen. Lingen Köln.

Wulff H.J., (2002): Zwischen Phantasie und Diskurs: Motive als Topoi in den Spielfilmen und journalistischen Texten zur Gentechnik, in: Hauskeller C., (Ed.): *Humane Stammzellen. Therapeutische Optionen-ökonomische Perspektiven-mediale Vermittlung*. Pabst Science Publ. Lengerich: 213–229.

Xue T., Cho H.C., Akar F.G., Tsang S.Y., Jones S.P., Marban E., Tomaselli G.F., and Li R.A., (2005): Functional integration of electrically active cardiac derivatives from genetically engineered human embryonic stem cells with quiescent recipient ventricular cardiomyocytes: insights into the development of cell-based pacemakers. *Circulation* 111: 11–20.

Yang H.T., Tweedie D., Wang S., Guia A., Vinogradova T., Bogdanov K., Allen P.D., Stern M.D., Lakatta E.G., and Boheler K.R., (2002): The ryanodine receptor modulates the spontaneous beating rate of cardiomyocytes during development. *Proc Nat Acad Sci USA* 99: 9225–9230.

Yoon Y.S., Wecker A., Heyd L., Park J.S., Tkebuchava T., Kusano K., Hanley A., Scadova H., Qin G., Cha D.H., Johnson K.L., Aikawa R., Asahara T., and Losordo D.W., (2005): Clonally expanded novel multipotent stem cells from human bone marrow regenerate myocardium after myocardial infarction. *J Clin Invest* 115: 326–338.

Yin, X.J., Lee, H.S., Lee, Y.H., Seo, Y.I., Jeon, S.J., Choi, E.G., Cho, S.G., Min, W., Kang, S.K., Hwang, W.S., Kong, I.K. (2005): Cats cloned from fetal and adult somatic cells by nuclear transfer, *Reproduction*, 129(2): 245–249.

Zalzman M., Gupta S., Giri R.K., Berkovich I., Sappal B.S., Karnieli O., Zern M.A., Fleischer N., and Efrat S., (2003): Reversal of hyperglycemia in mice by using human expandable insulin-producing cells differentiated from fetal liver progenitor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 7253–7258.

Zambrowicz B.P., Abuin A., Ramirez-Solis R., Richter L.J., Piggott J., BeltrandelRio H., Buxton E.C., Edwards J., Finch R.A., Friddle C.J. et al., (2003): Wnk1 kinase deficiency lowers blood pressure in mice: A gene-trap screen to identify potential targets for therapeutic intervention. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 14109–14114.

Zhang S.C., Wernig M., Duncan I.D., Brüstle O., and Thomson J.A., (2001): In vitro differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 19: 1129–1133.

Zou G.M., Wu W., Chen J.J., and Rowley J.D., (2003): Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in differentiated mouse ES cells. *Biol Cell* 95: 365–371.

Zwaka T.P. and Thomson J.A., (2003): Homologous recombination in human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 3: 319–321.

10.2 Abbildungen

- | | |
|-------------|--|
| Abbildung 1 | Problemfelder im Spannungsfeld der Leitdimensionen |
| Abbildung 2 | Stammzell-Hierarchie |
| Abbildung 3 | Herkunft und Gewinnung pluripotenter embryonaler Stammzellen der Maus |
| Abbildung 4 | Regulation der Selbsterneuerung in Maus-ES-Zellen durch spezifische Transkriptionsfaktoren |
| Abbildung 5 | Etablierung humaner embryonaler Stammzellen (hESC) und embryonaler Keimzellen (hEGC) |
| Abbildung 6 | Gen-Targeting, Konditionelle Expression und ES-Zell-Modelle <i>in vivo</i> und <i>in vitro</i> |

- Abbildung 7 *In vitro* Differenzierung von ES-Zellen
- Abbildung 8 Strategie des „therapeutischen Klonens“ zur Herstellung autologer Zelltransplantate beim Menschen
- Abbildung 9 Modelle zur Erklärung des Phänomens der „Plastizität“ adulter Stammzellen
- Abbildung 10 „Hierarchisches“ und „Continuum“-Modell
- Abbildung 11 Prinzipielle Schritte der SAGE („serial analysis of gene expression“) Technik
- Abbildung 12 Methode des Gen-Trapping
- Abbildung 13 Beziehungen zwischen adulten Stammzellen und der Entstehung von Tumorzellen
- Abbildung 14 Zelltherapie-Strategien mit humanen ES-Zellen
- Abbildung 15 Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „Stammzellen“
- Abbildung 16 Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „humane embryonale Stammzellen“
- Abbildung 17 Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „Gentherapie“
- Abbildung 18 Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „Tissue Engineering“
- Abbildung 19 Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „Transplantationsmedizin“
- Abbildung 20 Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „adulte menschliche Stammzellen“
- Abbildung 21 Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „embryonale menschliche Stammzellen“
- Abbildung 22 Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „adulte tierische Stammzellen“
- Abbildung 23 Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „embryonale tierische Stammzellen“
- Abbildung 24 Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente, Vergleich verschiedener Bereiche
- Abbildung 25 Anzahl der beim Europäischen Patentamt weltweit angemeldeten Patente im Bereich „Nanotechnologie“ und im Bereich „Stammzellen“
- Abbildung 26 Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „Nanotechnologie“
- Abbildung 27 Anzahl der beim Europäischen Patentamt angemeldeten Patente im Bereich „Stammzellen“

- Abbildung 28 Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „Stammzellen“
- Abbildung 29 Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „humane embryonale Stammzellen“
- Abbildung 30 Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „Gentherapie“
- Abbildung 31 Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „Tissue Engineering“
- Abbildung 32 Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „Transplantationsmedizin“
- Abbildung 33 Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „adulte menschliche Stammzellen“
- Abbildung 34 Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „embryonale menschliche Stammzellen“
- Abbildung 35 Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „adulte tierische Stammzellen“
- Abbildung 36 Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „embryonale tierische Stammzellen“
- Abbildung 37 Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente, Vergleich verschiedener Bereiche
- Abbildung 38 Anzahl der beim Europäischen Patentamt international veröffentlichten Patente im Bereich „Nanotechnologie“ und im Bereich „Stammzellen“
- Abbildung 39 Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „Nanotechnologie“
- Abbildung 40 Anzahl der beim Europäischen Patentamt veröffentlichten Patente im Bereich „Stammzellen“
- Abbildung 41 Aufwendungen für Stammzellprojekte im Gesundheitsforschungsprogramm insgesamt
- Abbildung 42 Prozentualer Anteil von Stammzellprojekten an F&E-Ausgaben
- Abbildung 43 Aufwendungen für Stammzellprojekte im Gesundheitsforschungsprogramm nach Bereichen
- Abbildung 44 Anteil der Stammzellprojekte nach Bereichen
- Abbildung 45 Anzahl der in Deutschland genehmigten Forschungsprojekte mit humanen embryonalen Stammzellen

- Abbildung 46 Anzahl der von verschiedenen Antragstellern zum Import nach Deutschland vom RKI genehmigten humanen ES-Zelllinien
- Abbildung 47 Anzahl der humanen ES-Zelllinien, deren Import nach Deutschland in verschiedenen Projekten durch das RKI erteilt wurde
- Abbildung 48 Herkunft humaner embryonaler Stammzelllinien in deutschen Forschungsprojekten (nach Herkunftsländern)
- Abbildung 49 Anzahl der bis 2005 etablierten humanen embryonalen Stammzelllinien nach Ländern
- Abbildung 50 Anzahl der Knochenmarkspender weltweit
- Abbildung 51 Verteilung der Knochenmarkspender weltweit
- Abbildung 52 Blutstammzellenentnahmen von deutschen Spendern
- Abbildung 53 Verteilung der Stammzellentnahme deutscher Spender für ausländische Patienten

10.3 Tabellen

- Tabelle 1 Übersicht über die Problemfelder (PF) und Kurzbeschreibung
- Tabelle 2 Übersicht über die Indikatoren und Problemfelder
- Tabelle 3 Vergleich von Eigenschaften muriner und humaner embryonaler Stamm(ES)-Zellen
- Tabelle 4 Herkunft und Kulturbedingungen von hES-Zelllinien
- Tabelle 5 Genexpressionsmuster humaner ES-Zellen und Vergleich mit murinen ES-Zellen
- Tabelle 6 Beispiele für das Entwicklungspotenzial vom mES-Zellen *in vitro*
- Tabelle 7 Beispiele für das Differenzierungspotential von hES-Zelllinien
- Tabelle 8 Potenzielle alternative Verfahren zur Reprogrammierung von adulten somatischen Zellen
- Tabelle 9 Vergleich der Eigenschaften von ES-Zellen und adulten Stammzellen
- Tabelle 10 Marker von adulten Stammzellen
- Tabelle 11 Stammzellen des Knochenmarks und ihre Entwicklungsfähigkeit
- Tabelle 12 Epigenetische Faktoren, die die Stammzellaktivität von hämatopoetischen Stammzellen beeinflussen
- Tabelle 13 Humane ES-Zelllinien, die von Embryonen etabliert wurden, die von Trägern human-genetischer Krankheiten stammen

Tabelle 14	Übersicht über die ausgewählten Indikatoren und Problemfelder, zu denen Daten recherchiert und Texte erstellt wurden
Tabelle 15	BMBF Förderung für Stammzellprojekte
Tabelle 16	Finanzmittel aller Stammzellprojekte im Gesundheitsforschungsprogramm
Tabelle 17	Finanzmittel für Projekte des Gesundheitsforschungsprogramms mit adulten Stammzellen
Tabelle 18	Finanzmittel für Stammzellprojekte des Gesundheitsforschungsprogramms mit zellbiologischen Fragestellungen in Modellorganismen
Tabelle 19	Finanzmittel für Stammzellprojekte des Gesundheitsforschungsprogramms mit klinisch-therapeutischen Ansätzen
Tabelle 20	Finanzmittel für Projekte des Gesundheitsforschungsprogramms mit tierischen Stammzellen oder Tiermodellen
Tabelle 21	Finanzmittel für Stammzellprojekte des Gesundheitsforschungsprogramms zum Thema Kernreprogrammierung
Tabelle 22	Genehmigte deutsche Forschungsprojekte mit human embryonalen Stammzellen
Tabelle 23	In deutschen Forschungsprojekten beantragte human ES-Zelllinien, für die eine Importgenehmigung nach StZG durch das RKI erteilt wurde.
Tabelle 24	Xenogene embryonale Stammzelllinien, die mit Hilfe der SCNT-Methode (SCNT: Somatic Cell Nuclear Transfer) entstanden sind
Tabelle 25	Tierspezies, die mit Hilfe der Kerntransfermethode kloniert wurden
Tabelle 26	Beim National Institutes of Health (NIH) gemeldete Stammzelllinien weltweit
Tabelle 27	Anzahl der beim NIH gemeldeten Stammzelllinien geordnet nach Herkunftsländern und weltweit
Tabelle 28	Anzahl eingesetzter menschlicher Embryonen für die Gewinnung von humanen embryonalen Stammzelllinien
Tabelle 29	Krankheitsbilder, die mit Zelltherapien behandelt werden können und möglicherweise in Zukunft behandelt werden können
Tabelle 30	Förderungssumme des BMBF für Stammzellprojekte im Verhältnis zu Gesamt BMBF-Ausgaben für Forschung und Entwicklung
Tabelle 31	BMBF Förderung von Stammzellprojekten im Jahr 2004

10.4 Abkürzungen

Spezielles Abkürzungsverzeichnis

ABC	„ATP-binding cassette“
ALP	alkalische Phosphatase
AS-Zellen	adulte Stammzellen
BCRP1	„breast cancer resistance protein 1“ ABCG2
BDNF	Differenzierungsfaktor, „brain-derived neurotrophic factor“
bFGF	basischer Fibroblastenwachstumsfaktor
BMP	„bone morphogenetic protein“
BMSSCs	„bone marrow stromal (stem) cells“
CFTR	Regulatorgen der Transmembran-Leitfähigkeit
CFU-F	„colony-forming unit-fibroblasts“
CNTF	„ciliary neurotrophic factor“
Cripto	Signalmolekül
CT-1	Cardiotrophin-1
Cyno-1	pluripotente Stammzelllinie von Primaten
DA	dopaminerg, Dopamin produzierend
DMSO	Dimethylsulfoxid
ds	doppelsträngig
EBs	„embryoid bodies“
ECM	extrazelluläre Matrix
EC-Zellen	embryonale Karzinomzellen
EGFP	„enhanced green fluorescent protein“
EG-Zellen	embryonale Keimzellen
EPCs	„endothelial progenitors“, endotheliale Vorläuferzellen
EPO	Erythropoetin
EschG	Embryonenschutzgesetz
EST	embryonaler Stammzell-Test
ES-Zellen	embryonale Stammzellen
FACS	Durchflusszytometrie
FCS	fetales Kälberserum
FGF8	Differenzierungsfaktor, „fibroblast growth factor 8“
GATA4	Transkriptionsfaktor
G-CSF	Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor

GCTM-2	Proteoglycan
GECKO	„genome-wide cell-based knockout“
GM-CSF	Granulozyten/Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor
GMP	„good manufacturing practice“
gp130	membrangebundene Rezeptoren
hEG-Zellen	humane primordiale Keimzellen
hES-Zellen	humane embryonale Stammzellen
HFEA	Human Fertilisation and Embryology Authority
HSC	hämatopoetische Stammzellen
ICM	„inner cell mass“
ICSI	intrazytoplasmatische Spermieninjektion
IGF-II	Signalmolekül, „insulin-Like growth factor-II“
IL-6	Interleukin-6
Isl-1	Transkriptionsfaktor islet-1
IVF	In-Vitro-Fertilisation
JAK-STAT	„janus kinase – signal transducer and activator of transcription“
LacZ	β -Galaktosidase
LIF	„leukemia inhibitory factor“, Leukämie-Hemmfaktor
MACS	„magnetic activated cell sorting“, magnetisch aktivierte Zelltrennung
MAPCs	„multipotent adult progenitor cells“
MEF	embryonale Maus-Fibroblasten
mES-Zellen	murine embryonale Stammzellen
MHC	Histokompatibilitätskomplex
MIAME	„marrow-isolated adult multilineage inducible cells“
Mlc-2v	„myosin light chain-2 ventricular isoform“
MRP1	„multidrug resistance protein 1“ ABCG
MSC	mesenchymale Stammzellen
Neu5Gc	N-glycolylneuraminsäure
NIH	National Institutes of Health
NPCs	neurale Vorläuferzellen
nt	„nuclear transfer“
Oct-4	Marker undifferenzierter ES-, EG- und EC-Zellen
OSM	Oncostatin M
PF	Problemfeld(er)
PID	Präimplantationsdiagnostik
pMGD20neo	selbstreplizierendes Vektorsystem für ES-Zellen

RAG-2	„recombination activating gene“
RAGE	„random activation of gene expression“
RNAi	RNA-Interferenz
RS-1, RS-2	„recycling stem cells“
RyR-2	Ryanodinrezeptor-2
SAGE	„serial analysis of gene expression“, serielle Analyse der Genexpression
SCNT	„somatic cell nuclear transfer“, „Therapeutisches Klonen“
SF	Stammzellforschung
SFRP2	„secreted frizzled related protein 2“
SHH	Differenzierungsfaktor, „sonic hedgehog“
siRNA	kurze interferierende RNAs
SKP (-Zellen)	„skin-derived precursor“
Sox1	nervenspezifischer Marker des Neuroektoderms
SP	„side population“
SPCs	„stromal precursor cells“
SSEA3+4	Antigen an der Zelloberfläche, „stage-specific embryonic antigen“ Marker von ES- und EC-Zellen
STAT3	Signalmolekül des gp130-Komplexes
StZG	Stammzellgesetz
TA-Zelle	„transit amplifying cell“
TRA-1–60	Proteoglycan, Marker humaner ES- und EC-Zellen
TRA-1–81	Proteoglycan, Marker humaner ES- und EC-Zellen
Twist	Transkriptionsfaktor
USSCs	„unrestricted somatic stem cells“
Vasa	Marker für postmigratorische Keimzellen
ZES	Zentrale Ethik-Kommission für Stammzellenforschung
ZESV	ZES-Verordnung
ZKRD	Zentrales Knochenmarkspenderregister Deutschland

Allgemeines Abkürzungsverzeichnis

ABl.	Amtsblatt der EG
Abb.	Abbildung
Abs.	Absatz
Art.	Artikel
BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
bzw.	beziehungsweise

d. h.	das heißt
dass.	dasselbe
ders.	derselbe
dies.	dieselbe
Ed./Eds.	Herausgeber
et al.	et altres (und andere)
EU	Europäische Union
ff.	folgende, fortfolgende
F&E	Forschung und Entwicklung
m. E.	meines Erachtens
Mio.	Millionen
o. g.	oben genannte
Rdnr.	Randnummer
resp.	respektive
Rz.	Randziffer
s.	siehe
S.	Seite
sog.	so genannte
Tab.	Tabelle
u. a.	unter anderem / und andere
u. U.	unter Umständen
USA	Vereinigte Staaten von Amerika
usw.	und so weiter
vgl.	vergleiche
z. B.	zum Beispiel
z. T.	zum Teil
Ziff.	Ziffer

Glossar

Abort	Fehlgeburt, Ausstoßung der Frucht innerhalb der ersten 28 Wochen der Entwicklung.
Adulte Stammzelle	Auch: gewebespezifische Stammzelle, somatische Stammzelle. Multipotente Zelle mit Stammzeleigenschaften, die aus spezifischen Geweben des Fetus (fetale Stammzelle), des Nabelschnurbluts (neonatale Stammzelle) oder des Menschen nach seiner Geburt isoliert werden kann.
Allele	Als Allele werden die verschiedenen Ausprägungen eines Gens bezeichnet. Für jedes Gen liegen im → Zellkern zwei Allele vor (je eines auf dem mütterlich vererbten und je eines auf dem väterlich vererbten Chromosomensatz), die entweder identisch (→ homozygot) oder verschieden (→ heterozygot) sein können.
Allogene Transplantation	Übertragung von Zellen, Geweben und Organen zwischen genetisch nicht identischen Mitgliedern der selben Spezies, zum Beispiel Mensch-zu-Mensch-Transplantationen; erfordern in der Regel eine nachfolgende → Immunsuppression, um die Abstoßung des Transplantats zu vermeiden (→ autologe T.).
Aminosäure	Einzelne Bausteine der → Proteine (Eiweiße), die gemäß den Informationen im Erbgut zusammengebaut werden.
Autologe Transplantation	Übertragung körpereigener Zellen oder Gewebe (z. B. Blut, Haut); da das Transplantat vom Patienten selber stammt, ist in der Regel keine Immunsuppression zur Vermeidung der Transplantatabstoßung erforderlich (→ allogene T.).
Autolytische Prozesse	Prozesse, die beim Absterben von Gewebe einsetzen und durch zelleigene Enzyme zu einer Zerstörung der Zellen führen.
Basen	Bausteine des Erbguts (→ DNA). Die genetische Information wird durch die Basen Adenin (A), Cytosin (C), Thymin (T) und Guanin (G) festgelegt. Dabei bilden Adenin und Thymin sowie Cytosin und Guanin jeweils Paare aus. Jeweils drei Basenpaare kodieren für den Einbau einer bestimmten → Aminosäure in ein Protein.
Befruchtung	Der über eine Reihe von Zwischenstufen verlaufende Prozess der Vereinigung einer Eizelle mit einer Samenzelle zu einer befruchteten Eizelle (→ Zygote), vom ersten Kontakt des Spermiums mit der Hülle

	(zona pellucida) der Eizelle bis zur abgeschlossenen Vereinigung der → Chromosomen der Eizelle und der Samenzelle zu einem neuen, individuellen Genom. Die Chromosomen des neuen → Genoms liegen in doppelter Ausführung vor (Chromosomenpaare). Produkt der → Befruchtung ist ein → Embryo.
Blastocoel	Flüssigkeitsgefüllte Höhle im Innern einer → Blastocyste.
Blastocyste	Frühes embryonales Entwicklungsstadium, beim Menschen etwa am vierten bis sechsten Tag nach der → Befruchtung erreicht, bestehend aus circa 100 bis 200 Zellen. Die äußere Zellschicht (→ Trophoblast) ist später an der Bildung der → Plazenta beteiligt, die innere Zellmasse (→ Embryoblast) besteht aus → Vorläuferzellen für den späteren → Embryo. Im Blastocystenstadium könnten embryonale Stammzellen aus der inneren Zellmasse gewonnen werden.
Blastomeren	Die ersten, noch undifferenzierten Zellen eines Embryos nach Teilung der → Zygote bis zum → Morulastadium.
Chimärenbildung	Nicht einheitlich gebrauchter Begriff. Hier: Die Vereinigung → totipotenter Zellen aus zwei oder mehreren genetisch unterschiedlichen → Embryonen zu einem Zellverband.
Chromosom	Chromosomen sind die im Zellkern enthaltenen Träger der genetischen Information, die bei jeder Zellteilung an die Tochterzellen weitergegeben werden. Sie bestehen zu fast gleichen Anteilen aus einem langen Faden Erbsubstanz → DNA und assoziierten → Proteinen. Die Anzahl und Morphologie der Chromosomen ist artspezifisch.
Cytoplasma	Auch: Zytoplasma. Inhalt einer Zelle mit Ausnahme des Zellkerns. Cytoplasma besteht aus einem gallertartigen bis flüssigen Medium und aus zahlreichen Zellorganellen sowie einem filamentösen Netzwerk, dem Cytoskelett. Die meisten essenziellen Zellfunktionen und Stoffwechsellvorgänge finden im Cytoplasma statt. Dieses ist zum Zellkern durch die Kernmembran, zur Außenwelt durch die Zellmembran abgegrenzt.
Differenzierung	Differenzierung ist der Prozess der Entwicklung der Zellen des Embryonalstadiums zu hochspezialisierten, auf ihre jeweilige spezielle Funktion ausgerichteten Zellen im vollständig ausgebildeten Organismus. In sich differenzierenden Zellen werden unterschiedliche Gene aktiviert beziehungsweise inaktiviert. Dabei hat zwar – von Ausnahmen abgesehen – weiterhin jede Zelle die gesamte genetische Information, genauso wie die

	ursprüngliche befruchtete Eizelle, sie kann aber nur einen Teil dieser Information „abrufen“. Eine ausdifferenzierte Zelle steht am Ende einer Reihe von Differenzierungsschritten. Differenzierte Zellen unterscheiden sich in ihrer Morphologie und Funktion erheblich voneinander und von ihren Ausgangszellen. Die Differenzierung von Stammzellen kann durch die Zugabe oder den Entzug bestimmter Wachstumsdifferenzierungsfaktoren eingeleitet werden (→ Transdifferenzierung).
Diploid	Bezeichnung für einen Chromosomensatz, in dem jedes → Chromosom zweifach vorhanden ist. → Somatische Zellen weisen im Unterschied zu Keimzellen des Menschen einen diploiden Chromosomensatz auf (→ haploid).
DNS, DNA	Abkürzung für die chemische Bezeichnung der Erbsubstanz aller Organismen, Desoxyribonucleinsäure (engl: Desoxyribo Nucleic Acid).
Dopamin	Botenstoff zwischen Nervenzellen (→ Neuronen).
Dopaminerg	Auf → Dopamin ansprechend.
EG-Zelle	Auch: gonadale embryonale Stammzelle, embryonale Keimzelle, englisch Embryonic Germ Cell. Pluripotente Zelle, die aus Vorläuferzellen von Ei- und Samenzellen, den so genannten → primordialen Keimzellen, gewonnen wird. Primordiale Keimzellen lassen sich aus einer spezifischen Region des Embryos beziehungsweise Fetus isolieren, die sich in der vierten Schwangerschaftswoche entwickelt und als → Genitalleiste bezeichnet wird.
Eizelle	Auch: Oocyte, Ovum. Weibliche Keimzelle.
Ektoderm	Äußeres der drei embryonalen Keimblätter, aus dem sich unter anderen das Zentralnervensystem sowie die Haut entwickeln.
Embryo	Nicht einheitlich gebrauchter Begriff für ein frühes Entwicklungsstadium. In diesem Bericht die Leibesfrucht von der befruchteten → Eizelle von Auflösung der Kernmembranen an bis zum Abschluss der Organogenese etwa acht Wochen danach.
Embryoblast	Innere Zellmasse der → Blastocyste, aus der sich der → Embryo entwickelt. Für die Gewinnung → embryonaler Stammzellen wird diese innere Zellmasse entnommen und → in vitro kultiviert.
Embryogenese	Die Entwicklung des → Embryos aus der befruchteten → Eizelle.
Embryoidkörperchen	Engl.: Embryoid Bodies (EBs). Zellkolonien aus noch nicht endgültig differenzierten Zellen, die sich in Kultur aus → embryonalen Stammzellen bilden können und Zelltypen aller drei → Keimblätter enthalten; EBs sind jedoch keine Embryonen.

Embryonale Keimzelle	→ EG-Zelle
Embryonale Stammzellen	Oberbegriff für verschiedene Typen der embryonalen Stammzellen, die auf unterschiedliche Art und Weise gewonnen werden und auch unterschiedliche Eigenschaften aufweisen: a) embryonale Stammzellen im engeren Sinn (ES-Zellen), die aus der inneren Zellmasse, dem Embryoblasten von → Blastocysten gewonnen werden. b) embryonale Keimzellen, auch: gonadale embryonale Stammzellen (→ EG-Zellen), die aus den Urkeimzellen (primordialen Keimzellen) der Gonaden-Anlagen (Genitaleisten) von Embryonen oder von Feten gewonnen werden. c) embryonale Stammzellen aus Blastocysten nach Kerntransfer (ntES-Zellen).
Embryonenadoption	Übertragung eines → Embryos in die Gebärmutter einer Frau, bei der es sich nicht um die genetische Mutter handelt. Dies könnte eine Möglichkeit sein, „überzähligen“ Embryonen die Chance auf Entwicklung zu einem vollständigen Individuum zu geben.
Embryonensplitting	Verfahren der künstlichen Mehrlingsbildung, bei dem der Embryo im Zweizell- bis → Blastocystenstadium durch mechanische Trennung des Zellverbandes in mehrere Teile aufgeteilt wird.
Entoderm	Inneres der drei Keimblätter, aus dem sich unter anderem Leber, Schilddrüse und Bauchspeicheldrüse sowie Auskleidungen des Magen-Darm-Traktes und der Lunge bilden.
Enukleation	Entfernung des → Kerngenoms, zum Beispiel aus einer → Eizelle, zur Vorbereitung für die Aufnahme einer Spenderzelle beziehungsweise eines Spenderzellkerns.
Enukleierte Eizelle	→ Eizelle nach Entfernung des Zellkerns (Kerngenoms).
Epigenetisch	Sammelbezeichnung für diejenigen Einflüsse auf die Entwicklung eines Organismus, die nicht direkt in der → Basenabfolge des Erbguts kodiert sind und auf Interaktionen zwischen genetischen Faktoren oder zwischen genetischen Faktoren und Umweltfaktoren beruhen können.
Epithelzellen	Zellen, die äußere oder innere Körperoberflächen bedecken und aus dem äußeren der drei →Keimblätter entstehen, zum Beispiel Hautzellen.
ES-Zellen	Engl.: Embryonic Stem Cells. Pluripotente Stammzellen der inneren Zellmasse der → Blastocyste.
Extrakorporal	Außerhalb des Körpers verlaufend beziehungsweise stattfindend.

Fertilisation	Befruchtung (→ In-vitro-Fertilisation).
Fetus	Auch: Foetus, Fötus. In der Medizin die Bezeichnung für die Leibesfrucht nach Abschluss der Organentwicklung, das heißt ab der neunten Schwangerschaftswoche bis zur Geburt.
Follikel	Auch: Eibläschen; Hülle der heranreifenden → Eizelle im Eierstock:
Follikelpunktion	Entnahme einer sich in einem → Follikel befindenden → Oozyte mittels einer Nadel:
Gameten	Männliche oder weibliche Geschlechtszellen (→ Keimzellen):
Gametentransfer	Übertragung von Keimzellen (→ Gameten):
Gastrulation	Bestimmte Phase in der Embryonalentwicklung, in der es zur Bildung des → Mesoderms und → Entoderms kommt. Die Gastrulation beginnt mit der Bildung des Primitivstreifens.
Gen	Ein → DNA-Abschnitt, der für eine Funktion, zum Beispiel ein Protein kodiert. Neben den kodierenden Bereichen (Exons) umfassen Gene weitere Regionen wie Introns (nicht kodierende Abschnitte) und Promotoren (Regulationselemente). Das menschliche Genom umfasst circa 40 000 Gene.
Genexpression	Umsetzung der genetischen Information in ein Genprodukt, meist ein → Protein.
Genitalleiste	In der vierten Woche entstehende embryonale Struktur, aus der sich die Eierstöcke beziehungsweise die Hoden entwickeln. Aus diesen Strukturen werden primordiale Keimzellen entnommen, aus denen → EG-Zellen gewonnen werden können.
Genom	Die Gesamtheit der genetischen Information. Der größte Teil des Genoms liegt auf den → Chromosomen, ein geringer Teil außerhalb des Zellkerns in den so genannten → Mitochondrien.
Genotyp	Sammelbegriff für alle in den Genen eines Organismus festgelegten Erbinformationen, die sich im → Phänotyp manifestieren können.
Gentechnisch veränderte Organismen (GVO)	Organismen, deren genetisches Material mit Hilfe gentechnischer Methoden verändert wurde. In der Regel werden Veränderungen vorgenommen, die unter natürlichen Bedingungen durch Kreuzung, Mutation oder natürliche Rekombination nicht vorkommen würden.
Gentherapie, somatische, am Menschen	Die Anwendung des somatischen Gentransfers, das heißt der gezielten Einbringung isolierter exprimierbarer Nukleinsäuren in somatische Zellen im Menschen, oder die Anwendung derart außerhalb des menschlichen Organismus veränderter Zellen am Menschen.

Gewebe	Strukturierte Zellverbände, zusammengesetzt aus gleichen oder verschiedenen Zellen, die im Körper eine gemeinsame Funktion besitzen.
Gewebetypisierung	Bei einer Gewebetypisierung werden verschiedene Merkmale bestimmt, die zusammen eine Einschätzung der Verträglichkeit der Spenderzellen mit möglichen Empfängerinnen oder Empfängern erlauben. Von besonderer Bedeutung sind dabei die sog. HLA-Merkmale (→ Histokompatibilität).
Gonaden	Geschlechtsdrüsen (Eierstöcke und Hoden) sowie die Zellen der Keimdrüsen vor der Geschlechtsdifferenzierung.
Hämatopoetisch	Blutbildend
Haploid	Bezeichnung für einen → Chromosomensatz in dem jedes Chromosom nur einmal vorhanden ist. Die → Keimzellen des Menschen weisen im Unterschied zu somatischen Zellen einen haploiden Chromosomensatz auf (→ diploid).
Heterozygot	Mischerbig für ein bestimmtes Gen, das heißt die beiden → Allele eines Gens sind nicht identisch.
Histokompatibilität	Gewebeverträglichkeit (→ Gewebetypisierung).
Homozygot	Reinerbig für ein bestimmtes Gen, das heißt die beiden → Allele eines Gens sind identisch.
Hybrid	Nicht einheitlich verwendeter Begriff. Hier: Das Bewirken des Eindringens einer nicht menschlichen Samenzelle in eine menschliche → Eizelle oder einer menschlichen Samenzelle in eine nicht menschliche Eizelle.
Immunsuppression	Unterdrückung oder Abschwächung der Immunreaktionen eines Organismus, zum Beispiel durch Verabreichung immunsuppressiver Medikamente zur Verhinderung der Abstoßung von Geweben oder Organen in der Transplantationsmedizin.
Implantation	(1) Einbringen oder Einpflanzung von körperfremden Materialien in den Organismus (2) die Einnistung des Embryos in die Gebärmutter (Synonym: → Nidation).
Imprägnation	Eindringen des Spermiums in die reife → Eizelle.
Imprägnierte Eizelle	→ Eizelle, in die eine Samenzelle im Rahmen der → Befruchtung eingedrungen ist, beide Zellkerne aber noch getrennt voneinander vorliegen. In diesem Stadium der Befruchtung gilt die befruchtete Eizelle rechtlich noch nicht als → Embryo.

Imprinting	Unterschiedliche Expression eines Gens (→ Genexpression) oder einer Genregion auf Grund der elterlichen Herkunft eines → Allels.
In vitro	„Im Glas“ (Reagenzglas etc.); gemeint ist ein Vorgang außerhalb des Organismus, im Unterschied zu → in vivo.
In vivo	Im lebenden Organismus, innerhalb des Körpers (→ in vitro).
Informed consent	Freiwillige Zustimmung nach Aufklärung; selbstbestimmte Autorisierung einer Behandlung oder Beteiligung an einem Forschungsvorhaben durch einzelne Patientinnen und Patienten oder Versuchspersonen.
Intrauterin	Innerhalb der Gebärmutter liegend beziehungsweise erfolgend.
In-vitro-Fertilisation (IVF)	Vereinigung von Ei- und Spermienzellen außerhalb des Körpers (→ in vitro); die In-vitro-Fertilisation gehört zu den etablierten Verfahren der Fortpflanzungsmedizin.
Juveniler Diabetes	Im Jugendalter aufgrund fortschreitender Zerstörung der Insulin produzierender Zellen in der Bauchspeicheldrüse auftretende genetisch prädisponierte Form des Diabetes mellitus (Diabetes Typ I, Zuckerkrankheit).
Keimbahn	Alle Zellen, die in einer Zell-Linie von der befruchteten → Eizelle bis zu den Ei- und Spermienzellen des aus ihr hervorgegangenen Lebewesen führen, sowie die Eizelle vom Einbringen oder Eindringen der Spermienzelle an bis zu der mit der Kernverschmelzung abgeschlossenen → Befruchtung.
Keimbahntherapie	Therapeutischer Eingriff in das Genom von Keimbahnzellen (u. a. Spermien, Eizellen, frühe Embryonen). Ein derartiger Eingriff hat zur Folge, dass sich diese genetische Veränderung auf alle nachfolgenden Generationen vererbt.
Keimblätter	Allg. Bezeichnung für die in der frühen Embryonalentwicklung entstehenden Zellschichten Ektoderm, Entoderm und Mesoderm, aus denen sich sämtliche in der weiteren Entwicklung des → Embryos entstehenden Strukturen ableiten.
Keimscheibe	Aus zwei (zweiblättrige Keimscheibe; achter Entwicklungstag) beziehungsweise aus drei (dreiblättrige Keimscheibe; dritte Entwicklungswoche) → Keimblättern bestehender → Embryoblast.
Keimzellen	Auch: Gameten. → Eizellen und Spermienzellen. Reife Keimzellen enthalten die → Chromosomen in einfacher Kopie (→ haploider Chromosomensatz). Nach Verschmelzung zweier Keimzellen (Eizelle und Spermienzelle) durch den Vorgang der → Befruchtung ist wieder der doppelte (→ diploide) Chromosomensatz erreicht.

Kerngenom	Als Kerngenom wird die → DNA des → Zellkerns bezeichnet.
Kerntransfer	Überführung eines → diploiden → Zellkerns in das → Cytoplasma einer entkernten (→ enukleierten) → Eizelle; ist ein Verfahren zum → Klonen von Individuen, mit dem unter anderem das Schaf „Dolly“ erzeugt wurde („somatic cell nuclear transfer“, SCNT).
Klon	Gruppe von genetisch identischen Zellen oder Organismen, die durch Teilung aus einer einzigen Zelle oder einem einzelnen Organismus hervorgegangen sind.
Klonierung/ Klonen Körperzelle	Die Erzeugung genetisch identischer Organismen oder Zellen. Jede Zelle eines → Embryos, → Fetus oder geborenen Menschen, die nicht dazu bestimmt ist, sich zu einer Keimzelle zu entwickeln. Alle Körperzellen enthalten die → Chromosomen eines Menschen in doppelter Ausfertigung und verfügen in der Regel über die gleiche genetische Information.
Kryokonservierung	Bei -196°C erfolgende Kälte- oder Tiefgefrierkonservierung regenerationsfähiger Zellen oder Gewebe.
Maligne Mesenchym	Bösartig Zellgewebe (embryonales Bindegewebe), das vom mittleren der drei → Keimblätter abstammt und aus dem sich das Stütz- und Bindegewebe, Muskelzellen, Gefäßendothelien und anderen entwickeln.
Mesenchymal Mesoderm	Zum → Mesenchym gehörend beziehungsweise dieses betreffend. Mittleres der drei → Keimblätter, aus dem sich unter anderem Knochen und Knorpel, Nieren, Muskeln sowie Blut- und Lymphgefäße bilden.
Mitochondriale DNA	Innerhalb der → Mitochondrien befindliche ringförmige, eigenständige → DNA, die einem maternalen Erbgang unterliegt.
Mitochondrien	Zellorganellen, die sich im Zytoplasma einer Zelle befinden und ein eigenes kleines → Genom besitzen (beim Menschen ca. 37 Gene). Mitochondrien sind wesentlich für Energiebereitstellung einer Zelle zuständig („Kraftwerke“ der Zelle).
Morula	Embryonales Entwicklungsstadium, in dem die einzelnen → Blastomeren nicht mehr erkennbar sind, sondern als geschlossener Zellverband erscheinen, beim Menschen etwa drei Tage nach der → Befruchtung erreicht.
Multipotenz	„Vielzellige“ Entwicklungsfähigkeit, die Entwicklung der Stammzellen ist bereits gewebespezifisch (z. B. Blutstammzellen bilden verschiedene Blutzellen,

Mutationen	Vererbare Veränderungen im Erbgut. Sie entstehen spontan durch Fehler während der Zellteilung oder durch äußere Einflüsse. Es können dabei einzelne Gene oder ganze → Chromosomenabschnitte verändert werden.
Myelin	Isolationshülle, die bestimmte Nervenfasern spiralförmig umwickelt. Sie ist für die störungsfreie Weiterleitung der elektrischen Impulse am Nerv entlang verantwortlich. Werden die Myelinscheiden zerstört, kommt es zum Verlust der Leitungsfähigkeit.
Myeloablativ	Das funktionsfähige Knochenmark beseitigend.
Myelosuppressiv	Die Funktion des Knochenmarks unterdrückend.
Nabelschnurblut	Bei der Abnabelung in der Nabelschnur verbleibendes Restblut („cord blood“), das → neonatale Stammzellen enthält.
Nabelschnurblutstammzellen	Stammzellen, die im Blut von Nabelschnur und Plazenta (Mutterkuchen) vorkommen, auch als neonatale Stammzellen bezeichnet. Nabelschnurblutstammzellen gehören zu den → adulten Stammzellen.
Neonatal	Das Neugeborene betreffend.
Neuronen	Nervenzellen
Nidation	Einnistung (→ Implantation) der → Blastocyste in die Schleimhaut der Gebärmutter, beim Menschen etwa ab dem siebten Tag nach der → Befruchtung.
Nukleotid	Einzelner → DNA-Baustein, bestehend aus einer der vier → Basen (Adenin, Cytosin, Guanin, Thymin), einem Phosphorsäurerest und einem Zuckermolekül.
Organe	Alle Teile des Körpers, deren Zellen und Gewebe zusammen eine Einheit mit bestimmter Funktion bilden.
Organogenese	Vorgang der Entstehung der Organe aus den Organanlagen während der Embryonalentwicklung, beim Menschen etwa während der vierten bis achten Schwangerschaftswoche.
Ovar	Eierstock; paarig angelegtes weibliches Geschlechtsorgan, Bildungs-ort der weiblichen Keimzellen sowie der weiblichen Geschlechts-hormone.
Ovariell Hyperstimulationssyndrom	Potenziell lebensbedrohende Erkrankung, die bei Frauen durch die Verabreichung von Hormonen zur Follikelstimulation und Ovu-lationsinduktion im Rahmen reproduktionsmedizinischer Behandlungen beziehungsweise zur Gewinnung von reifen → Eizellen hervorgerufen werden kann.

Ovulation	Eisprung; die bei der geschlechtsreifen Frau mit einem 28-tägigen Menstruationszyklus normalerweise am 14. Tag nach Einsetzen der Menstruation erfolgende Ausstoßung einer reifen → Eizelle aus dem Ovar.
Parthenogenese	Auch: Jungfernzeugung; eingeschlechtliche Fortpflanzung aus unbefruchteten → Eizellen.
Parthenot	Durch → Parthenogenese entstandener, nicht entwicklungsfähiger menschlicher → Embryo.
Phänotyp	Äußere Ausprägung eines Merkmals, das durch die Wechselwirkung zwischen der genetischen Information (→ Genotyp) und Umwelteinflüssen entsteht.
Plazenta	Zum überwiegenden Teil aus fetalen und zum kleineren Teil aus mütterlichen Zellen bestehender „Mutterkuchen“, der die Ernährung des Feten (Austausch von Stoffwechselprodukten und Gasen) und die Produktion von verschiedenen Hormonen übernimmt; wird nach der Geburt ausgestoßen (Nachgeburt).
Pluripotente Zelle	Nicht einheitlich verwendeter Begriff. Zelle, die sich unter bestimmten Voraussetzungen in alle verschiedenen Zelltypen eines Organismus → differenzieren kann. Eine pluripotente Zelle kann sich jedoch im Unterschied zu einer → totipotenten Zelle nicht zu einem ganzen Individuum entwickeln.
Pluripotenz	„Vielseitige Entwicklungsfähigkeit“. Pluripotente Zellen können sich in sehr viele unterschiedliche Gewebe und Zelltypen eines Organismus entwickeln, jedoch nicht ein ganzes Individuum bilden.
Postmortal	Einen Zeitpunkt nach dem Tod betreffend.
Präimplantationsdiagnostik (PID)	Abspaltung und genetische Untersuchung einer Zelle eines durch In vitro-Fertilisation entstandenen Embryos vor der Übertragung in die Gebärmutter.
Pränatal	Vorgeburtlich
Prävalenz	Häufigkeitsrate einer bestimmten Krankheit oder eines bestimmten Merkmals zu einem gegebenen Zeitpunkt beziehungsweise einer bestimmten Zeitperiode.
Primitivstreifen	Erste Symmetrieachse des → Embryos; Voraussetzung für die Bildung des Nervensystems.
Primordiale Keimzelle	Anlagen der Keimzellen. Zellen, aus denen über eine Reihe von Entwicklungsstadien die Keimzellen entstehen. Primordiale Keimzellen haben im Gegensatz zu reifen Keimzellen die Chromosomenzahl einer

	<p>Körperzelle, den → diploiden Chromosomensatz. Sie unterscheiden sich von adulten und embryonalen Stammzellen durch Art und Ausmaß des DNA-Methylierungsmusters (→ Imprinting), das für die Regulation der Genaktivität von Bedeutung ist. Aus ihnen können embryonale Keimzellen (→ EG-Zellen) gewonnen werden.</p>
Proliferation	Vermehrung
Pronukleus	Kern der → Eizelle beziehungsweise des in die Eizelle eingedrungenen Spermiums kurz vor deren Verschmelzung.
Proteine	Eiweiße
Reproduktives Klonen	Verfahren der künstlichen Mehrlingsbildung, bei dem – im Unterschied zum → therapeutischen Klonen – die Geburt eines genidentischen Individuums intendiert ist.
Reprogrammierung	Umkehrung der Differenzierung; Rückwandlung einer Zelle in ein früheres Entwicklungsstadium. Eine Reprogrammierung des Zellkerns einer ausdifferenzierten Körperzelle auf das Niveau einer befruchteten → Eizelle kann durch Vereinigung einer Körperzelle mit einer entkernten Eizelle erreicht werden (SCNT-Technik).
Somatisch	Den Körper betreffend.
Somatische Gentherapie	Therapeutischer Eingriff in das Erbgut von Körperzellen. Im Unterschied zur → Keimbahntherapie wird eine durch einen solchen Eingriff verursachte Veränderung nicht an die Nachkommen weitervererbt.
Stammzellen	Undifferenzierte Zellen eines Embryos, Fötus oder geborenen Individuums, die sich durch die Fähigkeit zur Selbsterneuerung sowie zur → Differenzierung in spezialisierte Zelltypen auszeichnen.
Stammzell-Linie	Stammzellen, die in spezifischen Nährmedien über längere Zeiträume kultiviert werden können und sich durch bestimmte Merkmale und Zellfunktionen auszeichnen.
Therapeutisches Klonen	Herstellung eines → Klons durch → Zellkerntransfer mit dem Ziel, aus diesem sich entwickelnden Embryo Stammzellen für den therapeutischen Einsatz zu gewinnen, diesen Embryo jedoch – im Gegensatz zum reproduktiven Klonen – nicht in eine Gebärmutter zu übertragen, sodass er keine Chance auf Entwicklung zu einem vollständigen Individuum erhält. Auf diesem Wege gewonnene Stammzellen sollten mit dem Spender des in die Prozedur eingesetzten Zellkerns genetisch weitestgehend identisch sein und sich daher als autologe Transplantate eignen.

Totipotenz	Die Fähigkeit von Zellen oder Geweben, sich unter geeigneten Bedingungen zu einem vollständigen Lebewesen zu entwickeln. Wahrscheinlich weisen in der menschlichen Embryonalentwicklung alle Zellen des Embryos bis zum 4-Zell-Stadium (natürliche) Totipotenz auf, während im 8-Zell-Stadium nur noch einige Zellen dieses Potenzial besitzen.
Toxizitätsprüfung	Überprüfung der Giftigkeit einer Substanz, zum Beispiel an Zellkulturen, im Tierversuch oder im Humanversuch:
Transdifferenzierung	Entwicklung einer Zelle zu einem Zelltyp, der nicht zum bisherigen Entwicklungsspektrum dieser Zelle gehört, ohne durch → Reprogrammierung frühere Entwicklungsstadien zu durchlaufen:
Trophoblast	Äußere Zellschicht der → Blastocyste, aus der im weiteren Verlauf der Embryonalentwicklung die embryonalen Anteile der → Plazenta hervorgehen.
Überzähliger Embryo	Durch → In-vitro-Fertilisation im Rahmen einer reproduktionsmedizinischen Behandlung erzeugter Embryo, der nicht für die Herbeiführung einer Schwangerschaft verwendet werden könnte:
Vorkernstadium	Zustand von → Eizellen, bei denen nach Eindringen des Spermiums die → Befruchtung begonnen hat, aber noch keine Verschmelzung der Kerne von Ei- und Samenzelle erfolgt ist:
Vorläuferzelle	Zelle, aus der über eine Reihe von Differenzierungsschritten ein bestimmter Zelltyp entsteht:
Zellkern	Bestandteil der Zelle, der die → Chromosomen enthält:
Zellkerntransfer	Überführung eines Zellkerns einer Körperzelle in das → Zytoplasma einer entkernten → Eizelle (→ Kerntransfer):
Zell-Linie	Eine aus Zellen verschiedenen Ursprungs etablierte Zellkultur, die in spezifischen Nährmedien kultiviert werden kann und sich durch bestimmte Merkmale und Zellfunktionen auszeichnet. Eine embryonale Stammzell-Linie wird aus Zellen des Embryoblasten gebildet. Zellen einer Zell-Linie vermehren sich durch Zellteilung und können unter Umständen durch Zugabe geeigneter Wachstumsfaktoren zu bestimmten Zelltypen differenziert werden.
Zell-Reihe	Engl.: Lineage oder Cell Lineage. Generationsfolge von Zellen einer Entwicklungslinie (z. B. mesodermale, entodermale, ektodermale Linie, oder hämatopoetische, neurale Linie usw.).

Zygote	Befruchtete → Eizelle als Produkt der Verschmelzung der Zellkerne von Ei- und Samenzelle, Ausgangszelle der embryonalen Entwicklung (→ Embryo).
Zytoplasma	→ Cytoplasma

Nachdruck (modifiziert) mit freundlicher Genehmigung der TA-Swiss (www.ta-swiss.ch).

Register

Adulte Stammzelle	10, 13ff. 19ff., 29, 34, 51, 72ff., 77ff., 81, 84ff., 89f., 93, 104, 107f., 110ff., 115ff., 119ff., 130, 132ff., 139, 141f., 146, 148, 159ff., 175, 187, 189f., 194ff., 199, 204ff., 211, 213, 218, 230, 234, 240f., 275
Akzeptanz	30, 32, 118, 143
Allogene Transplantation	107, 127, 275
ANT-Technik („altered nuclear transfer“)	71
Atherosklerose	121
Basischer Fibroblastenwachstumsfaktor (bFGF)	39, 41, 45f., 56f., 86, 134, 233
Beta-Zelle	133ff.
Bioethikkonvention	144
Blastozyste	15f., 21ff., 34ff., 38ff., 43ff., 54, 63, 67, 70f., 79, 85, 90, 95, 99, 109, 116, 119, 153, 156
Bluthochdruck	121
Bundesverfassungsgericht	178f., 181
Chimäre	35, 52, 116f., 156, 169, 276
„Chromatinomics“	93, 104, 139
„Continuum Modell“	80, 87
Diabetes	9, 20, 29, 60, 108, 121, 133, 138, 145, 230, 281
Differenzierungsfaktor	50, 56f., 59f., 74, 277
Diskriminierung	154
Ektodermale Linie	56, 60, 286
Ektoderm	33f., 37f., 53, 55f., 61f., 71, 90f., 109, 272, 277, 281
Embryo	19, 22, 28f., 31, 33, 35f., 38ff., 45f., 49, 52f., 63, 65ff., 70f., 88f., 96ff., 103, 115f., 130, 138, 142f., 145, 147ff., 157ff., 162, 165ff., 174ff. 221, 228, 276ff., 280f., 284ff.
Embryoblast	71, 276ff., 281, 286
Embryogenese	52f., 106, 178, 277
Embryonale Karzinomzelle	33, 36

Embryonaler Stammzell-Test	106
Embryonenforschung	143f., 146, 150f., 160ff., 184
Embryonenschutzgesetz	22, 27, 46, 142, 165ff., 172, 174ff., 179, 186
Embryosplitting	66, 278
Embryonale Stammzelle (ES-Zelle)	10, 15ff. 19ff. 29, 33ff., 46f., 49ff., 66ff., 74f., 79, 86, 88ff., 95, 97ff., 108ff., 114ff., 122f., 128ff., 134f., 138f., 141, 143, 145f., 150, 156ff., 161f., 165ff., 180, 183ff., 189ff., 194ff., 199ff., 204ff., 214f., 217f., 223, 228f., 230, 232, 234, 238, 240f., 277f., 285
Embryonale Stammzelllinie (ES-Zelllinie)	15, 21, 28f., 35, 39f., 42ff., 50, 52, 63, 66ff., 70, 89ff., 98, 100f., 104f., 109, 118f., 145, 150, 184, 187, 214ff., 219, 221, 223, 226ff., 241
Endoderm	33f., 37f., 53, 55, 59ff., 134f., 137
Epigenetische Modifikation/ Veränderung	17, 63, 72, 80, 86, 108ff., 120, 139
Epigenetik	→ Epigenetische Modifikation
Erythrozyt	57, 59
Expressionsprofiling	97, 104
Expressionsvektor	114, 137
Extrazelluläre Nische	73, 76, 79f., 84, 87
Feederlayer	35, 37, 40f., 53, 62
Fetales Kälberserum (FCS)	40, 42, 46, 55, 57
Fibroblast	35, 39f., 46, 71, 74, 82
Forschungsfreiheit	25f., 28, 31, 146, 149, 157, 159, 160, 169, 177, 184ff.
Fortpflanzung	145, 147, 153, 155, 157f., 165f., 175, 183, 281, 284
Fötus	15, 43f., 75, 130, 149, 151, 156, 167f., 230, 234, 275, 277ff., 282, 284f.
Gastrula	53
Gliazelle	55ff., 62, 132
Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor (GCS-F)	126
Gefäßendothelzelle	60, 128
Gene Trapping	95ff., 135
Gen-Targeting	42, 50, 52, 54, 56, 95, 97ff., 118

Gentherapie	29, 68, 103, 187, 189ff., 199ff., 232, 279, 285
Gewebeabstoßung	118, 120
Granulozyt	57, 126
Hämatopoetische Linie	59
Hämatopoetische Stammzelle	59, 73f., 76f., 79, 82ff., 87ff., 93, 107f., 111, 114, 118, 123f., 127, 234
Herzinfarkt	18f., 29, 116, 121f., 126, 128, 160, 230
Kardiomyozyt	→ Herzzele
Herzzele	18, 51, 55, 58f., 62, 64, 70, 84, 98, 114, 121ff.
Hierarchisches Modell	80, 87
„Homing“	79, 81, 84, 89, 112, 120, 125
Homologe Rekombination	10, 42, 52, 54, 68, 99, 102, 118
Humane embryonale Stammzele	9, 15ff., 19, 21f., 29, 33, 39, 40ff., 47, 49ff., 53, 55, 57, 59ff., 63ff., 69, 71f., 74f., 90f., 93, 95, 99f., 103ff., 109f., 115ff., 128f., 134f. 138f., 141, 143, 145f., 150, 153, 156ff., 161f., 174, 187, 192, 196, 201, 206, 215, 217f., 223, 227ff., 232, 238, 240f.
Humane ES-Zelllinie (hES-Zelllinie)	28f., 39f., 42ff., 55, 63ff., 68, 89ff., 100f., 105, 109, 118f., 145, 150, 184, 187, 214ff., 219, 223, 227f., 241
Immunsuppression	118, 130f., 275, 180
Imprinting	35, 281, 285
Indikator	3f., 23ff., 29, 148, 187, 189f., 199, 201f., 204, 207, 209, 214, 221, 223, 228f., 238f.
Innere Zellmasse	16, 33ff., 43, 67, 70f., 90, 167, 175, 276,ff.
Inselzele	61, 133ff
Insulin-produzierende Zele	17, 60f., 65, 115, 133ff., 137
Interleukin-6	37
Intestinales System	60
In-vitro Fertilisation	141, 143, 150ff., 162, 214, 219f., 279, 281, 284, 286
Keimbahnstammzele	15
Keimbahnübertragung	52
Keimblatt	33f., 39, 44, 53, 55, 57, 62, 71, 82, 85, 277f., 281f.

Keimzelle	10, 15, 34ff., 43f., 61, 63, 66, 90, 156
Keimzelllinie	15
„Somatic Cell Nuclear Transfer“ (SCNT)	→ Therapeutisches Klonen
Therapeutisches Klonen	16, 18, 21, 28, 45, 63, 66ff., 74, 81, 119, 145, 153, 156f., 167f., 171, 176, 182f., 221, 281f., 285
Kerntransplantation	168
Kernverschmelzung	166, 168, 178f., 181, 281
Knochenmark	13f., 19f., 20, 72ff., 82, 84f., 111, 114f., 124, 126f., 133, 136f., 162, 229, 234, 238, 283
Knochenmarkstammzelle	14, 17ff., 73, 77, 111, 115, 123ff., 127f., 136f., 139, 234
Knochenmarkstransplantation	121
„Knock-in“	52, 102
„Knock-out“	52
Knorpelzelle	55, 60
Leberzelle	10, 55, 60, 137, 218
Lentiviraler Vektor	51
Lentiviren	51, 53
Leukämie	37, 73, 115, 117, 121, 234
„Leukemia Inhibitory Factor“ (LIF)	37ff., 41, 45f., 52f., 90f., 104
Lineage-Selektion	56, 114
Makrophage	57, 84, 126
Menschenrecht	147, 155
Menschenwürde	25f., 28, 31, 141f., 144, 146ff., 151ff., 159f., 165, 177, 179ff., 221
Mesenchymale Stammzelle (MSC)	13f., 17f., 73, 75, 79, 81f., 84f., 93, 108, 110f., 123, 127, 282
Mesoderm	33f., 37f., 53, 55, 57, 61f., 279, 281f.
Mesodermale Linie	59f., 286
Missbrauchsgefahr	141, 147, 153, 160
Monozyt	83f., 126
Morbus Parkinson	9, 75, 108, 121, 130ff., 145, 234
Morula	34, 38, 43, 46, 65, 116, 276, 282
Multiple Sklerose	9, 20, 234

Multipotential Adult Progenitor Cell (MAPC)	79, 82, 84f., 133
Multipotenz	79, 142, 282
Murine embryonale Stammzelle (mES-Zelllinie)	15, 33, 35, 37ff., 41, 47, 49, 53, 56, 58ff., 63, 69, 88, 90f., 93, 99f., 103, 105f., 108, 110f., 114, 118, 121, 128f., 134, 217
Murine ES-Zelllinie	33, 35, 39
Myokard	18, 51, 98, 123ff., 128f., 217, 232
Myeloide Linie	59
Nabelschnurblut	15, 74f., 85, 114, 152, 159, 162, 275, 283
Nanog	37f., 41, 85, 90, 92f., 98, 104
Neuroektodermale Linie	60
Neuroepitheliale Struktur	57
Neuron	51, 55ff., 62, 65, 68, 70, 86, 97, 102, 105, 115, 122, 130ff., 217, 177, 283
nt-ES-Zelle („nuclear transfer“ ES-Zelle)	15, 67f., 71, 138
Oct-3/4	37ff., 61, 90f., 104, 109
Oligodendrozyt	56ff., 65, 102, 132
Oozyte	63, 69, 88, 101, 103, 277, 279
Oozyteninjektion	52
Organspende	162
Osteoblast	58, 60, 76, 79, 82, 89
Ovalzelle	60, 137
Pankreas	60, 82f., 134, 138, 146
Parkinsonsche Krankheit	→ Morbus Parkinson
Pelizaeus-Merzbacher-Krankheit	132
Pharmakologie	104f., 218
Plastizität	17, 77ff., 84, 87
Pluripotenz	35, 37, 39, 43, 79, 88f., 93, 98, 100, 102, 104, 142, 157, 218, 284
Polyoma-Viren	100
Präimplantationsdiagnostik (PID)	65, 162, 284
Promotor	50ff., 59, 95, 99, 106, 114, 128, 135, 279
Pronukleus-Stadium	40, 46
Proteoglycan	39
Proteom	9, 43, 86, 93, 104

Recombineering	102f.
Rekombinase-Expression	53
Reporterger	50f., 59, 61, 78, 95ff., 106, 129
Reproduktionsmedizin	145, 158, 283, 286
Reproduktives Klonen	66f., 145, 154, 285
Reprogrammierung	10, 16, 21, 63, 67ff., 74, 81, 156, 168, 176, 212f., 285f.
Resistenzgen	50, 60, 114
Retroviraler Vektor	50f.
Retroviren	40, 42, 130
RNA Interferenz (RNAi)	71, 103
Selbst-Regeneration („self renewal“)	19, 38, 41, 72, 75f., 79, 81, 87, 91
Seneszenz	85
Serielle Analyse der Genexpression (SAGE)	90ff., 272
Side Population (SP)	77, 83f., 272
Signalmolekül	14, 19, 37, 39, 50, 59, 73, 80, 82, 90, 139
„Silencing“	51f., 100, 102f., 111, 113
Skelettmuskelzelle	14, 58, 60, 62, 70, 82f., 123f.
Stammzellgesetz (StZG)	16, 21ff., 27, 40, 150, 157, 165, 169ff., 179, 183, 185f., 214, 216f., 219, 241
Stammzelllinie	21, 29, 31, 35, 42, 44, 89, 184, 187, 214, 216, 219, 221, 223f., 226ff.
„Stemness“	37, 42, 81, 86, 91, 93, 110
Stichtagsregelung	16, 21, 170, 184, 241
Stromazellen	13, 56f., 126, 132
Stromazelllinie	57
Subsidiarität	173
Targeting-Vektor	102
Teratokarzinom	33, 35f., 110
Teratom	33, 36, 39, 41, 65, 110
Therapeutische Anwendung	19, 23f., 27, 40, 42, 57, 68, 71, 75, 107f., 114f., 121, 138, 172, 174, 190, 241, 285
Tissue Engineering	9f., 14, 29f., 82, 120f., 145, 157, 175, 187, 189ff., 193, 199ff., 218, 240
Totipotenz	142, 166, 168, 176, 183, 286

Toxikologie	104f.
Toxizität	104ff., 286
Transdifferenzierung	16f., 77ff., 80, 84, 108, 127, 137, 139, 277, 286
Transfektion	42, 50, 54, 103
Transiente Expression	55
Transkriptionsfaktor	37f., 50, 57, 61, 82, 102, 123, 135, 137,
Transkriptom	43, 82, 88ff., 93, 104
Transplantation	9f., 14f., 18ff., 36, 39, 42, 44, 60, 63ff., 67f., 73ff., 77, 81, 84f., 107f., 110, 112, 114ff., 121ff., 131ff., 137, 143, 162, 168, 175f., 217f., 230, 233f., 238, 275
Transplantationsmedizin	9, 29, 107f., 117, 143, 145, 155, 158, 162, 187, 189ff., 194, 199ff., 203, 280
Tumor	17ff., 33, 35f., 72f., 77, 90, 108, 110ff., 120, 128, 135
Ungerichtete Transgenese	50, 102
Vermehrungsfähigkeit	75, 81
Wachstumsfaktor	39, 44, 46, 55, 86, 109, 125, 128, 132, 134, 137, 233, 286
Wissenschaftsfreiheit	165, 176f.
Xenotransplantation	107, 230
Zellkerntransfer	63, 66f., 71, 119, 144, 169, 182f., 285f.
Zelloberflächenantigen	37, 39
Zelltherapie	9f., 19f., 23, 25ff., 29f., 32f, 51, 56, 59, 72, 75, 82, 99, 107ff., 119, 121f., 131, 138f., 143, 174f., 187, 189ff., 193, 199ff., 203, 209, 229f., 238f., 241
Zellzyklus-Status	81
Zentrale Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES)	173f., 272
Zytokin	37, 57, 81, 87, 125f., 128, 136

