

C. Anwendungen der Stammzellbiologie – Was kann man mit Stammzellen machen?

1. In der Forschung (Molekularbiologie und Entwicklungsbiologie)
 - 1.1 In vitro Differenzierung von Stammzellen - Wie macht man somatische Zellen aus Stammzellen?
 - 1.1.1 Was sind Embryoid Bodies?
 - 1.1.2 Was sind Organoiden?
 - 1.1.3 Was sind Gastruloide? - Autonome Morphogenese
 - 1.2. Was sind chimäre und transgene Mäuse?
 - 1.3. Beweis der Stammzeleigenschaften – Welche Experimente erlauben es Stammzeleigenschaften zu definieren?
2. In der Biotechnologie und Medizin
 - 2.1 Stammzellen für die Diagnostik
 - 2.2. Stammzellen-Therapien
 - 2.3. Die damit verbundene ethische Problematik

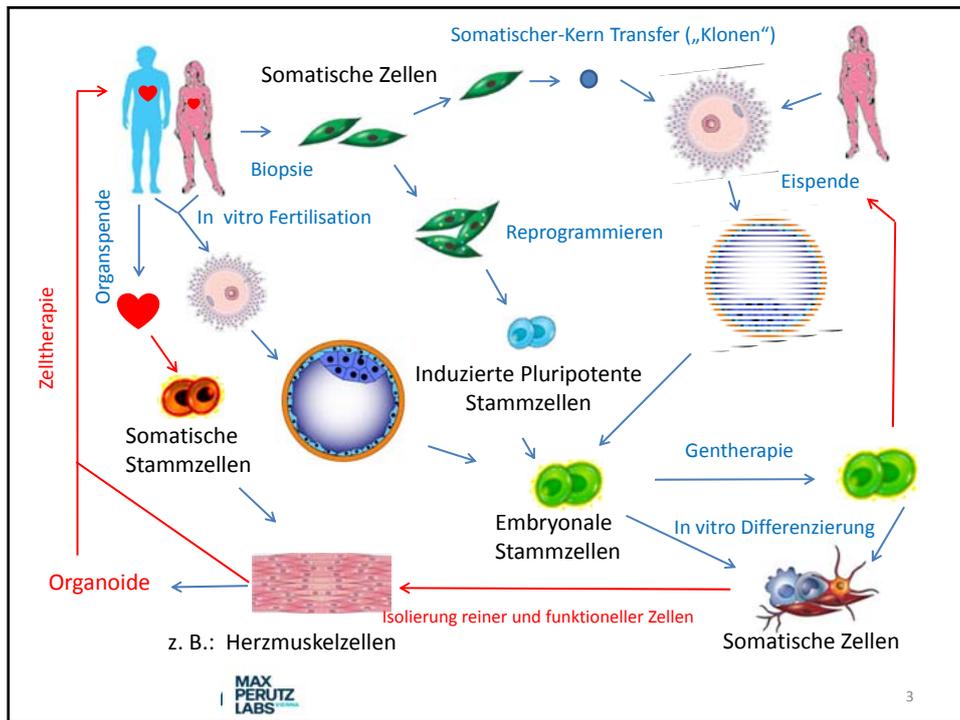
Stammzellen in der Medizin und die damit verbundene ethische Problematik.

2. In der Biotechnologie und Medizin
 - 2.1 Stammzellen für die Diagnostik
 - 2.2. Stammzellen-Therapien
 - 2.3. Die damit verbundene ethische Problematik

Ziel:

Herstellen von transplantierbaren patienten-spezifische somatischen Zellen.

z.B.: Pancreatic β -cells, dopaminerge Neuronen oder Oligodendrozyten

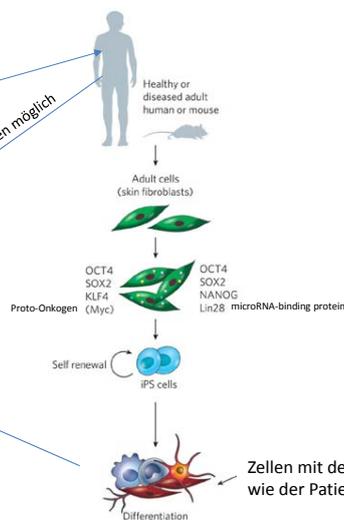


2.1. Stammzellen in der Diagnostik

Herstellen von induzierten pluripotenten Stammzellen (iPSCs) von Patienten um die Ursache ihrer Erkrankung herauszufinden

Bed-side Diagnose und ex vivo Optimierung der Therapie mit Medikamenten und Antikörpern
 e.g. Cystische Fibrose
 Colorektaler Krebs
 (siehe Hans Clever Lab Homepage)
<https://www.hubrecht.eu/research-groups/clevers-group/>

Derzeit nur durch Biopsien möglich



2.1. Aus der Stammzellforschung hervorgehende medizinische Anwendungen

2.2.1. Herstellung von patientenspezifischen iPSCs

- Erforschung von Ursachen und Therapiemöglichkeiten von Krankheiten polygenetischen Ursprungs.
- Verwendung dieser Zellen zum Auffinden neuer Krankheits- oder Patienten-spezifischer Medikamente.
- Grundlage für die Entwicklung von alternative Strategien zur **direkten programmierten Transdifferenzierung** von einem somatischen Zelltyp in einem anderen.

z.B. Herzzellen und Leberzellen aus Fibroblasten

z.B.:

Probing sporadic and familial Alzheimer's disease using induced pluripotent stem cells

2012

doi:10.1038/nature10821

Mason A. Israel^{1,2}, Shauna H. Yuan^{1,2}, Cedric Bardy⁴, Sol M. Reyna^{1,2}, Yangling Mu⁴, Cheryl Herrera¹, Michael P. Hefferan⁵, Sebastiaan Van Gorp⁶, Kristopher L. Naylor⁷, Francesca S. Boscolo⁸, Christian T. Carson⁹, Louise C. Laurent⁹, Martin Marsala^{8,10}, Fred H. Gage⁴, Anne M. Remes¹, Edward H. Koo³ & Lawrence S. B. Goldstein^{1,3}

Our understanding of Alzheimer's disease pathogenesis is currently limited by difficulties in obtaining live neurons from patients and the inability to model the sporadic form of the disease. It may be possible to overcome these challenges by reprogramming primary cells from patients into induced pluripotent stem cells (iPSCs). Here we reprogrammed primary fibroblasts from two patients with familial Alzheimer's disease, both caused by a duplication of the amyloid β precursor protein gene¹ (APP; termed APP^{DP}), two with sporadic Alzheimer's disease (termed sAD1, sAD2) and two non-demented control individuals into iPSC lines. Neurons from differentiated cultures were purified with fluorescence-activated cell sorting and characterized. Purified cultures contained more than 90% neurons, clustered with fetal brain messenger RNA samples by microarray criteria, and could form functional synaptic contacts. Virtually all cells exhibited normal electrophysiological activity. Relative to controls, iPSC-derived, purified neurons from the two APP^{DP} patients and patient sAD2 exhibited significantly higher levels of the pathological markers amyloid β (1–40), phospho-tau (Thr 231) and active glycogen synthase kinase-3 β (aGSK-3 β). Neurons from APP^{DP} and sAD2 patients also accumulated large RAB5-positive early endosomes compared to controls. Treatment of purified neurons with β -secretase inhibitors, but not γ -secretase inhibitors, caused significant reductions in phospho-Tau (Thr 231) and aGSK-3 β levels. These results suggest a direct relationship between APP proteolytic processing, but not amyloid β , in GSK-3 β activation and tau phosphorylation in human neurons. Additionally, we observed that neurons with the genome of one sAD patient exhibited the phenotypes seen in familial Alzheimer's disease samples. More generally, we demonstrate that iPSC technology can be used to observe phenotypes relevant to Alzheimer's disease, even though it can take decades for overt disease to manifest in patients.

Herstellung von iPSCs von Alzheimer Patienten und gesunden Menschen.

Herstellung von Neuronen aus den iPSCs, die die gleichen (genetischen) Defekte haben, wie die Patienten und Vergleich mit denen der gesunden Menschen.

Analyse der molekularen Ursachen der Erkrankung ist nun möglich.

Anwendung der iPSCs

2.2. Herstellung von somatischen Zellen, Geweben und Organen für die Therapie.

2.2.1. Blutbildende Stammzellen zur Heilung von Leukämien

2.2.2. β -Zellen zur Heilung von Diabetes Typ 1

2.2.3. Oligodendrozyten zur Heilung der akuten Querschnittslähmung

2.2.4. Retinazellen zur Heilung der Macula Degeneration

2.2.4. Dopaminerge Neuronen zur Heilung der Parkinson Erkrankung

2.2. Therapie

Macula Degeneration Therapie mit aus iPSC hergestellten Retina Zellen

Cutting-edge stem cell therapy proves safe, but will it ever be effective?

Adult cells turned into stem cells still face uncertain clinical future

•15 Mar 2017

So far not!

Personal communication by Shin'ya Yamanaka at the 2021 ISSCR online conference:

Each iPSC line, even from the same patient is different and needs meticulous testing which costs up to \$400.000,00.

Risk of mutation causing cancer not be excluded so far!

No reported successful transplantation leading to improved eye-sight

Herstellung von Keimzellen und Mäusen aus (genetisch veränderten) iPSCs → Reproduktionsmedizin: Herstellung von Oocyten und Spermien



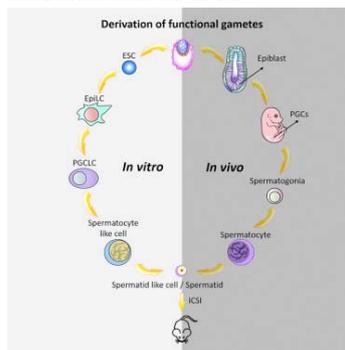
Reconstitution *in vitro* of the entire cycle of the mouse female germ line

Orie Hikabe, Nobuhiko Hamazaki1, Go Nagamatsu Yaiji Obata Yuji Hirao3, Norio Hamada So Shimamoto, Takuya Imamura1, Kinichi Nakashima1, Mitsunori Saitou& Katsuhiko Hayashi 2016

The female germ line undergoes a unique sequence of differentiation processes that confers totipotency to the egg. The reconstitution of these events *in vitro* using pluripotent stem cells is a key achievement in reproductive biology and regenerative medicine. Here we report successful reconstitution *in vitro* of the entire process of oogenesis from mouse pluripotent stem cells. Fully potent mature oocytes were generated in culture from embryonic stem cells and from induced pluripotent stem cells derived from both embryonic fibroblasts and adult tail tip fibroblasts. Moreover, pluripotent stem cell lines were re-derived from the eggs that were generated *in vitro*, thereby reconstituting the full female germline cycle in a dish. This culture system will provide a platform for elucidating the molecular mechanisms underlying totipotency and the production of oocytes of other mammalian species in culture.

<https://www.nature.com/articles/nature20104>

Complete Meiosis from Embryonic Stem Cell-Derived Germ Cells In Vitro



Zhou et al. *AI Cell Stem Cell* Volume 18, Issue 3, 2016, 330–340
<http://dx.doi.org/10.1016/j.stem.2016.01.017>

Georg Weitzer



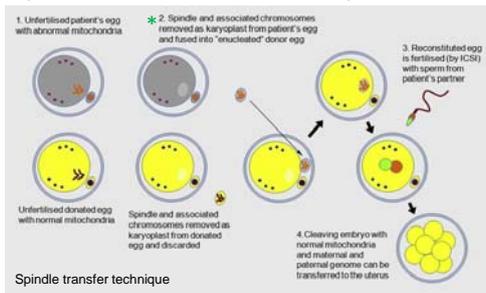
9

SCNT = Somatic Cell Nuclear Transfer → Weiterentwicklung:

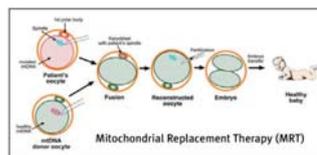
* Beim SCNT wird statt dem Ei eine somatische Zelle genommen.

Spindeltransfer = Transfer of a karyoplast from an foreign egg

Problem: Heteroplasmie!



Three-parent in vitro fertilization: gene replacement for the prevention of inherited mitochondrial diseases
Paula Amato, Masahito Tachibana, Michelle Sparman, Shoukhrat Mitalipov
Fertility and Sterility, Volume 101, Issue 1, 2014, 31 – 35. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.11.030>

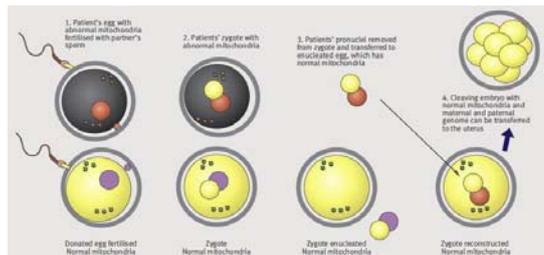


Eine Irreführung

Umbenannt in :

Mitochondrial replacement therapy (MRT)
= Reproduktives Klonen von Menschen

Pronucleustransfer



Georg Weitzer



Leigh-Syndrom (engl.: Leigh's disease)

- auch als *Morbus Leigh* oder als [subakute nekrotisierende Enzephalomyelopathie](#) bezeichnet, ist eine Erbkrankheit, die zur Gruppe der so genannten [Mitochondriopathien](#) gehört. Beim Leigh-Syndrom liegt eine Störung des [mitochondrialen](#) Energiestoffwechsels vor. Viele [Kaskaden](#) sind betroffen, besonders die [Pyruvat-Dehydrogenase](#) und die [Cytochrom c Oxidase](#) in der mitochondrialen [Atmungskette](#). Der Erbgang kann [autosomal-rezessiv](#), [X-chromosomal](#)-rezessiv oder **maternal** sein. (Wikipedia)
- In Vorbereitung:
Herstellung von chimären Kindern mit Mitochondrien von Leihmüttern durch SCNT.

Gefahrenquellen bei der Zeugung von Kindern mit Hilfe von SCNT

- Ist das Genom der Oozyte identisch mit dem der 1. und 2. Polkörperchen ?
- Welche, vielleicht einzigartigen Faktoren im Zytoplasma der gespendeten Oozyte beeinflussen die Embryogenese des Kindes und somit dessen Individualität? → Epigenetische Einflüsse unbekannt!
- Ist die Programmierung des Genoms in einer künstlich aktivierten Zygote wirklich vollständig?
- Bewirkt SCNT das gehäufte Auftreten von Mutationen?

Heilungsversuche der peripheren Aterienerkrankung bei Diabetes Typ2 („diabetisches Bein“)

- Mittels MSCs von verschiedenen Quellen (Fötus und Adulte Organe)
- > 941 (2019) klinische Studien, siehe „ClinicalTrials.gov“
- Wirkungsweise der autologen MSC Injektionen in das Bein unbekannt
- Bis heute keine eindeutige Verbesserung des Krankheitsbildes publiziert.
- Quelle: Soria-Juan et al., 2019 in Frontiers in Immunology

News

[Monash University study uncovers a new understanding of how mesenchymal stromal cells benefit patients in cell therapy](#)

The therapeutic benefit to patients receiving mesenchymal stromal cell (MSC) therapy is not because the injected cells remain viable, but because of **cell death**, researchers at the Monash Biomedicine Discovery Institute (BDI) have found. Credit: (C) Professor Tracy Heng The therapeutic benefit to patients receiving mesenchymal stromal cell (MSC) therapy is not because the injected [...] Nov. 2021



Georg Weitzer ESF-I WS2019

13

Beispiel von offensichtlichen Missbrauch

Stammzell-Therapien

The screenshot shows a website for 'swiss medica' with the following content:

Stem cell treatment at Swiss Medica clinic

Discover treatments that have been helping patients facing conditions such as arthritis, diabetes, multiple sclerosis, autism, Parkinson's and many more hard to treat diseases.

Swiss Medica clinic has been helping patients reclaim their quality of life for 9 years. Headquartered in Switzerland with clinics in Austria, Serbia, Slovenia, and Russia.

What results can you expect from stem cell treatment?
Find out if this therapy is beneficial for a certain disease, how and why it works, and what the treatment involves.

[Discover Expected Results](#)

At the top right, there is a 'Talk to an Expert' button with the phone number '+41 43 508 55 55'.

https://swissmedica.startstemcells.com/lp4/?utm_source=GoogleAdsEN&utm_medium=Search_Stemcells_Artilleria&utm_campaign=cell-stem&utm_content=350388057286&utm_term=%2Bcell%20%2Bstem

Stem cell treatment at Swiss Medica clinic

Discover treatments that have been helping patients facing conditions such as arthritis, diabetes, multiple sclerosis, autism, Parkinson's and many more hard to treat diseases.

Swiss Medica clinic has been helping patients reclaim their quality of life for 8 years. Headquartered in Switzerland with clinics in Austria, Serbia, Slovenia, and Russia.

**What results can you expect from stem cell treatment?
Talk to an Expert**

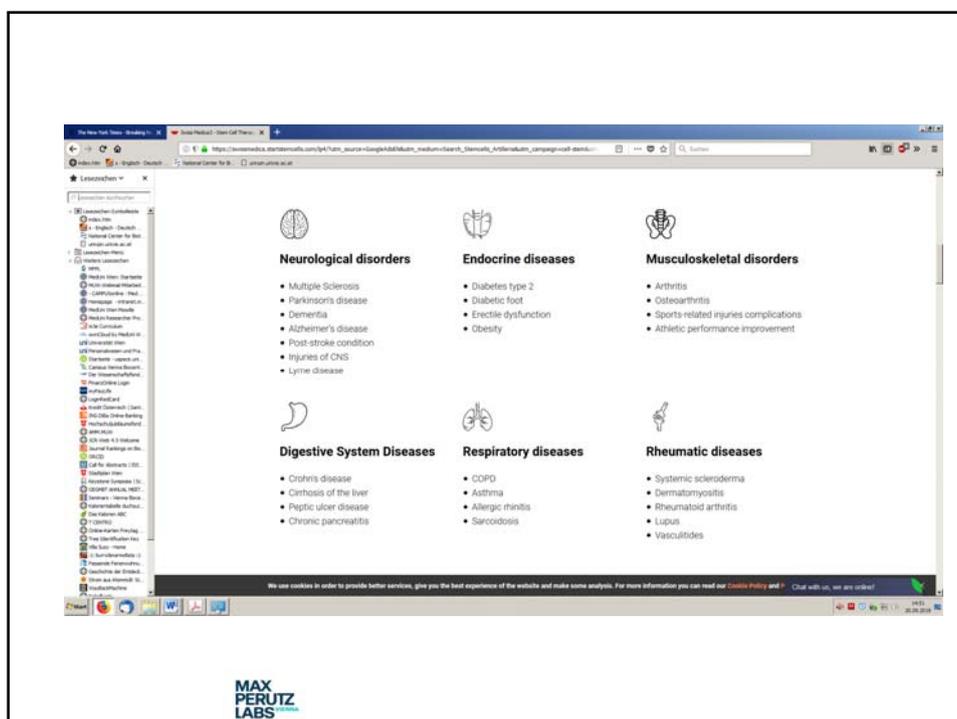
Find out if this therapy is beneficial for a certain disease, how and why it works, and what the treatment involves.

What diseases can we treat with stem cells?

Stem cells help to eliminate the cause of disorders leading to a reduction in symptoms or a full recovery, depending on the initial condition, for (mostly) autoimmune disorders and/or diseases associated with tissue damage.

There is a large percentage of cases with a variety of diseases that have experienced health improvements. Applying only stem cells for some cases may be not enough. Cell therapy works more effectively when combined with other therapeutic methods that help decrease inflammation, restore mobility, activate the tissue repair process.

We've seen various levels of recovery after treating the following diseases (not a full list):



Aus den aufgezeigten Therapiemöglichkeiten ergibt sich folgende Frage:

Darf man - oder - soll man sogar mit Stammzellen und damit auch mit Lebewesen Forschungen betreiben?

2.3. Warum ist die ESC Technologie beim Menschen einer ethischen Güterabwägung zu unterziehen?

1. Weil es zur Instrumentalisierung des Menschen in der Forschung und Therapie kommt.
2. Weil bei der Isolierung von embryonalen Stammzellen, primären Keimzellen oder fötalen Stammzellen immer ein potenziell zum Leben fähiger Embryo vernichtet wird.
3. Weil die Isolierung somatische Stammzellen setzen immer den Tod einer organspendenden Person voraus. (- solange nicht durch Biopsie isolierbar und kontinuierlich kultivierbar.)

1. **Eizellspende**
2. **Samenspende**
3. **Blastozystenverbrauch**
4. **Zygotenverbrauch**
5. **Leihmütter**
6. **Gewebespenden**

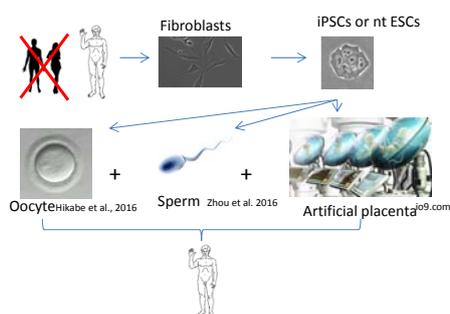
→ Ethische und sozio-ökonomische Güterabwägung zur ESC und iPSC Herstellung und zum SCNT, sowie zum therapeutischen und reproduktiven Klonens von Menschen ist notwendig um ein konfliktfreies Zusammenleben im Staat zu ermöglichen.

→ Klärung des moralischer Status des Embryos bzw. des toten Menschen.

2.3. Warum ist Klonen beim Menschen einer ethischen Güterabwägung zu unterziehen?

- Weil die künstliche Herstellung von Zygoten potenziell schützenswertes Leben erzeugt.
 - Weil Klonen Genome teilweise vermischt.
 - Weil Klonen die natürliche Selektion von Genomen aufhebt.
 - Weil bei der Isolierung von humanen embryonalen Stammzellen immer ein potenziell zum Leben fähiger menschlicher Embryo vernichtet wird.
 - Weil Menschen Instrumentalisiert werden. In vitro Fertilisation: Eispende / Samenspende / Leihmutter / Präimplantationsdiagnostik etc.
 - Weil es Selbstorganisation von Stammzellen in Aggregaten gibt – wann wird *ex utero* Leben schützenswert?
 - Weil Keimzellen aus hESCs hergestellt werden können – homozygote Kinder ohne Eltern.
 - Weil das Potenzial von iPSCs die Erzeugung von Menschen ermöglichen wird.
- Klärung des moralischer Status der Zygote, des Embryos, des Embryoid bodies, des Organoids und des Genoms von Menschen – sowohl das des Kernspenders, als auch das der Oozyten Spenderin ist notwendig.

Es besteht die Notwendigkeit einer Güterabwägung !



Kinder ohne Eltern sind theoretisch möglich? Aber: Sind Kinder ohne Eltern zulässig?

Welche Rechte (nach der Menschenrechtskommission) werden diesen Kindern vorenthalten? - Wer ist verantwortlich für diese Menschen?

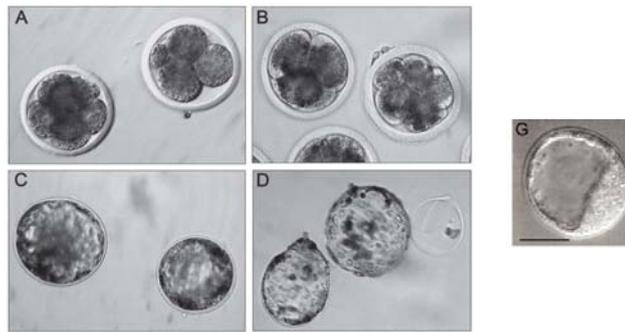
Kann Gewährleistung in Anspruch genommen werden? - Wenn ja, gegen wem?

....

Chimäre Lebewesen: Rind-Mensch SCNT Blastozysten

Ab wann wird der chimäre Embryo menschlich und damit schützenswert?

Interspecies-SCNT preimplantation embryos derived from **human granulosa cells** fused with enucleated **bovine oocytes**. Cleavage embryos (A) and blastocysts (C) derived from SCNT. Parthenogenetically developed cleavage embryos (B) and hatching blastocysts (D) as controls. (aus Illmensee K., *J. Reproduktionsmed. Endokrinol* 2007; 4 (1), 6-16)



Wozu?
Verständnis der Speziesbarrieren.

Georg Weitzer ESF-I WS2019

21

Ethische Probleme eröffnen sich in vielen Bereichen des Zusammenlebens

1. Moral / Ethik Wie handle ich richtig? Welche Wertesysteme lasse ich zu?
2. Soziologie Gleichbehandlung und Wertschätzung
3. Ökonomie Ressourcenverteilung
4. Jurisdiktion Formulierung positiver allgemein gültiger Regeln
5. Politik Steuerung der sozio-ökonomischen Bedürfnisse

Ein unverzichtbarer Aspekt dieser Güterabwägung sind die hier in dieser Vorlesung geschilderten biologischen Grundlagen.

Aber es bedarf offensichtlich mehr, um folgende Frage zu beantworten.

Haben iPSCs und ntESCs das gleiche Potenzial? – Wenn ja, Sind sie in ethischen Überlegungen gleich zu betrachten?

Darf man oder soll man sogar mit geklonten humanen Stammzellen - und damit auch mit Menschen – Forschungen betreiben?

Die Probleme, die bei der Diskussion der Embryonenforschung auftreten liegen auf verschiedenen Ebenen.

Naturwissenschaftliche
Fakten

↔ Wissenshorizont - veränderlich

ontologischer Ebene

Wir haben keine einheitlichen Begriffe für Embryo, Leben, Mensch,...
und wir stehen vor dem Phänomen der Kontingenz des Lebens.

ethischer Ebene*

Was ist die Würde des Menschen? -a priori oder zu erwerbend?

moralischer Ebene

Kann / Muss ich alles menschliche Leben gleich behandeln?
Konflikt: Sterben lassen oder zu Heilen versuchen (Triage)

rechtlicher Ebene

Wie lässt sich der moralische Anspruch rechtlich für alle festlegen?

* Unzählige Spielarten zwischen Deontologie (Pflichtenethik) und Utilitarismus (Möglichst größtes Wohl für möglichst viele).

Rechtliche Lage in Österreich

Es ist untersagt mit Zellen, aus denen Menschen entstehen könnten zu experimentieren, außer wenn das Ziel die Fortpflanzung ist. (→ in vitro Fertilisation).

Es ist nicht untersagt mit bereits existierenden embryonalen Stammzellen Experimente zu machen.

Positionen der Bioethik Kommission des Bundeskanzleramtes der Republik Österreich (März 2009; seither keine Stellungnahme und kein Gesetz)

- Position A
 - Forschung an „überzähligen“ Embryonen und existierenden hESCs soll erlaubt werden.
 - Der Embryo hat keinen spezifischen verfassungsrechtlichen Schutz.
 - Grundlagenforschung ist nie aussichtslos und Wissensgewinn auch nicht ethisch bewertbar.
 - Herstellung von Embryonen für die Forschung soll verboten bleiben.
- Position B
 - Verbot der verbrauchenden und manipulierenden Embryonenforschung.
 - Vernunft muss sich mit Nichtwissen begnügen.
 - Fokus der Forschung auf adulte SSCs und iPSCs.
 - Eventuell Stichtagsregelung, die die Verwendung „alter“ bereits existierenden hESCs zulässt.

Religiöse und ethische Positionen im Bezug auf die Embryonenforschung

•Muslimische Interpretation

- Im Koran gibt es keine explizite Angaben über einen normativen Zusammenhang zwischen Beseelung und Schutzwürdigkeit des Blastozysten.
- Was nicht verboten ist, ist erlaubt.

•Jüdische Interpretation

- Der Fötus ist erst ab den 40 Tag beseelt.
- Was nicht verboten ist, ist erlaubt.
- Die Welt ist nicht perfekt, der Mensch muss sie verbessern (Tikkun Olam).

•Evangelische Interpretation

- Frühformen des Lebens sind gegenüber der Forschungsfreiheit bzw. dem Gesundheitsschutz auf die Waagschale zu legen.

•Katholische Interpretation

- Aus der a-priori gesetzten Würde des Menschen ergibt sich eine negative Unterlassungspflicht.
- Es besteht ein Vorrang der negativen Rechtspflichten vor den positiven Tugendpflichten.
- Der Mensch darf in keinen seiner Entwicklungsstadien instrumentalisiert werden.

•Hinduismus – Buddhismus – Daoismus- Konfuzianismus – Shintoismus

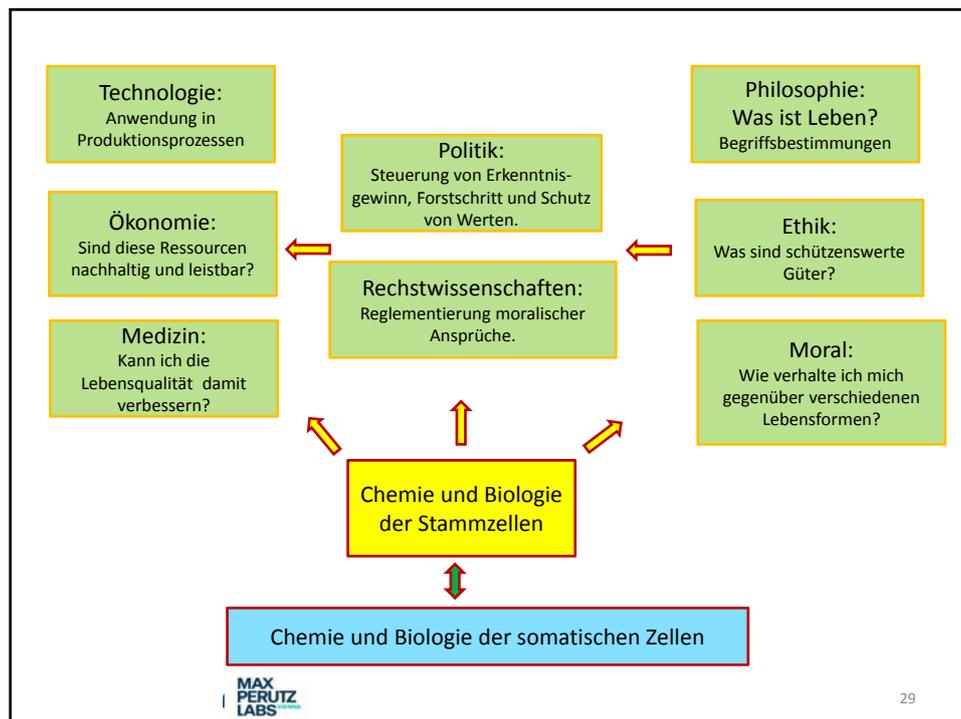
- Instrumentalisierung früher Entwicklungsstadien teilweise erlaubt.

Diese Positionen müssen im öffentliche Diskurs berücksichtigt und einbezogen werden, um ein gedeihliches Zusammenleben in einem liberalen Staat zu ermöglichen.

Und / aber

Sakralisierung des Lebens muss für Forschung und Lehre ausgeschlossen werden.

Wissenschaft darf nicht durch Moralisierung und Ideologisierung politisch vereinnahmt werden.



D. Neue Herausforderungen in der Stammzellbiologie und deren Anwendung – Welche ungelösten Probleme gibt es?

1. Plastizität von Zellen und Kontingenz in der Biologie.
2. Selbstorganisation von Stammzellen
3. Das Konzept der Stammzelle als eine Momentaufnahme in der Ontogenese

Wissenschaft ist zum methodischen Prinzip der Rationalität verpflichtet.

Konrad Paul Liessmann, Kleine Zeitung 19.11.2021



Forschung ist gefährlich: man könnte etwas Neues entdecken.

Gerhard Kocher