

Embryonen und Stammzellforschung I: Stammzellbiologie

1. Entstehung der Stammzellforschung - Historischer Überblick

2. Wie macht man embryonale Stammzellen?
3. Wie macht man induzierte pluripotente Stammzellen?
4. Wie isoliert man somatische adulte Stammzellen?
5. Welche Eigenschaften haben Stammzellen?
6. Wie macht man somatische Zellen aus Stammzellen?
7. Stammzellen in der Medizin und die damit verbundene ethische Problematik.
8. Neue Herausforderungen in der Grundlagenforschung zur Stammzellbiologie.

WS 2019/20

1. Entstehung der Stammzellforschung: Ein historischer Überblick

Die Geschichte der Stammzellenforschung ist eng verbunden mit der Geschichte der Embryonenforschung.

Der Einblick in die verschiedenen Ursprünge der Stammzellforschung erlaubt es nicht nur zurückliegende sondern auch gegenwärtig gültige Rahmenbedingungen und Eigenschaften der Stammzellen besser zu verstehen.

Der Überblick über Zeiträume und die Dauer von Entwicklungsprozessen eröffnet die Möglichkeit kommende Entwicklungen einzuschätzen und Heilsversprechen auf ihre Wahrheitsgehalt und Plausibilität zu überprüfen.

1.1. Anatomie und Gynäkologie

Ende 19 Jhdt. ca. 1890 Beschreibung von Stammzelltumoren in den Gonaden als embryonen-ähnliche Körperchen „Embryoid bodies“ durch

[Heinrich W.G. von Waldeyer-Hartz](#) 1836–1921, Anatom und
[Hans H.J. Pfannenstiel](#) 1862-1909, Gynäkologe.

ca. 1930 Terato-Carcinoma Cells (TCCs) als von embryonalen Keimbahnstammzellen ausgehend, erkannt.

1972 Embryonal Carcinoma Cells (ECCs) erste Zelllinien. [Gail Martin](#) und [Martin Evans](#);
F9 Zellen benötigen STO Fibroblasten (fbs) als „feeder cells“.

1997 [Dominique Bonnet](#) und [John Dick](#) Cancer stem cells (CSCs) als Hypothese bei allen Krebsarten; bis heute nicht beweisbar, weil nicht isolierbar.

2019 Prostatakarzinomstammzellen, [Tarik Regad](#); Nottingham (2017) → nix Neues
Lungenkarzinomzelllinie, [Yasunori Okada](#); Tokyo, → 2018 nur Methode publiziert
Eierstockkarzinom (?) [Virginia Tirino](#); Neapel(2017) → nix Neues

Georg Weitzer



3

1.2. Hämatologie - Blutstammzellen und Knochenmarkstransplantationen

1956 1. Blut Transplantation zur Heilung von speziellen Formen der Leukämie;
[Edward Donnall Thomas](#), USA; 1990 Nobelpreis

~1960 Erste allogene T. bei Zwillinge und Geschwister erfolgreich
(allogen = von Fremden; \leftrightarrow autolog = von sich selbst)

1968 Erste allogene Knochenmarkstranplantration von fremden Spendern; heute 38% erfolgreich.

~1990 Entdeckung der Nabelschnurblut-Stammzellen → Entstehung der Stammzellbanken; damit können nur nicht-genetisch-bedingte Erkrankungen therapiert werden.

~2001 Hämatopoetische- und mesenchymale Stammzellen des Knochenmarks (autolog gewonnen durch Stammzellapherese) für die Therapie des Herzinfarktes, bis heute nicht erfolgreich.

2007 Erste Behandlung von Leukämie des Kindes mit Nabelschnurblutzellen.

Georg Weitzer



4

1.3. Embryonenforschung in der Biologie *Reine Grundlagenforschung!*

1939 1. Explantation von Hasen Blastozysten und erste in vitro Kultur

1958 Induzierte Teratocarcinomas durch ektopische Blastozysten; [Roy Stevens](#) und [Barry Pierce](#)

1951 - 1960

Klonen des Frosches (*Xenopus laevis*); [John Gurdon](#); Beweis das die gesamte Erbinformation während der Entwicklung eines Organismus erhalten bleibt.
Nobelpreis 2012

1965 Erste Experimente mit der Inneren Zellmasse (ICM) der Maus, Implantationsversuche

1967 Erste PID am Hasen; [Robert Edwards](#) and [David Gardner](#)
(PID = Präimplantationsdiagnostik an einzelnen isolierte Blastomeren)

Georg Weitzer



5

1.4. Reproduktionsmedizin

(1960 – 1978) Vergebliche Versuche der In vitro Fertilisation und Einnistung beim Menschen

1978 1. Baby: Louise Brown, in England nach IVF geboren; [Robert Edwards](#) und [Patrick Steptoe](#)
2010 Nobelpreis dafür; Siehe auch <http://www.human-life.ch/news/fmf/argument.htm>

1982 1. erfolgreiche IVF in Österreich; nach 680 Fehlversuchen! [Wilfried Feichtinger](#)
Heute Erfolgsrate 15,8% der Einnistungsversuche (Schweizer Daten von 2016 bis 2017; 1 bis 3000 Eier werden pro Jahr dabei vernichtet.) → Nur 3,5% der Zygoten werden auch ein Mensch!

1990 Erste Präimplantations-Diagnostik (PID) am menschlichen Embryo. Houston, Texas;
[N. Engl. J Med. 1992, 327, 905-909.]

Ab 2005 Präimplantations-Diagnostik in Österreich unter bestimmten Umständen erlaubt;
siehe <http://www.wunschbaby.at>

2013 Erste durch SCNT hergestellte menschliche Blastozysten ([Shukrat Mitalipov](#), USA)

Georg Weitzer



6

1.5. Stammzellforschung

- 1981 Maus 1. Embryonale Stammzelllinie (ESCs); [Martin Evans](#) und [Matthew Kaufman](#) benötigen STO Fibroblasten und Leukämie Inhibitions Faktor (LIF) zur Selbsterneuerung.
- 1984 Erste Transgene Maus mit Stammzellengenom. [Allan Bradley](#) → Reverse Genetics; 23 Jahre später*: 2007 Nobelpreis für Physiologie und Medizin: Transgene Maus; [Mario Capecchi](#), [Oliver Smithies](#), [Martin Evans](#) Knock-out (KO) Mäuse.
- 1995 ESCs des Rhesus Affen (1. Primat); [James A. Thomson](#)
- 1998 ESCs des Menschen; [James A. Thomson](#)
- 2004 ESCs des Hundes
- 2013 ESCs aus geklonten menschlichen Blastozysten

* Es dauerte 23 Jahre bis Experten auf diesen Gebiet erkannten, dass diese Daten von großer Bedeutung sind. Die Forderung, dass Forschung innerhalb weniger Jahre Erfolge ergibt ist absurd und ignoriert die Wissenschaftsgeschichte.

Georg Weitzer



7

1.6. Stammzelltherapie

- Ab 1968 Transplantation von hämatopoetischen Stammzellen-endhaltenden Zellpopulationen bei Leukämien und Multiplen Myelomen (Plasmozytom); << 62% Erfolg.
- ab 2000 Autologe Knochenmarkzellmischungen zur Linderung des Herzinfarktes > 10.000 Versuche alleine in Deutschland: LVEF+3.5% = keine Verbesserung
- ab 2009 Oligodendrozyten aus hESCs für die Heilung des Rückenmarks nach Querschnittlähmung Geron, USA; 2011 kommentarlos abgebrochen <http://www.geron.com/> (12.10.2011) und → 10.10.2017 „Cancer therapy company“
- ab 2011 Retinazellen aus hESCs gegen Maculadegeneration, 2017 alle 3 Opfer vollkommen erblindet (FL, USA) - DFA alles eingestellt. Siehe Therapie der Stargardt Erkrankung <http://www.advancedcell.com/> (12.10.2011) → www.Advancell.com (10.10.2017).
- Ab 2014 Mesenchymale Stammzellenpopulationen aus dem Knochenmark für die Kniescheiben-Regeneration; bis heute eher negative Folgen beobachtet.
- ab 2014 Retinazellen aus hiPSCs, Tokyo
2019: Masayo Takahasi berichtet positive Ergebnisse; sind aber nicht publiziert → bis heute kein kausaler Effekt aufzeigbar!

Georg Weitzer



8

1.7. Somatic cell nuclear transfer (SCNT) = Klonen

- 1981 Somatic cell nuclear transfer (SCNT) bei der Maus durch [Karl Illmensee](#); Genf (war nicht reproduzierbar)
- 1991 1. klonierte Maus aus einem Blastomerenkern
- 1997 1. Schaf, [Ian Wilmut](#) aber: [Keith Campbell](#); Roslin Institute, Edinburgh, Scotland
(*Dolly* lebte nur 7 Jahre, Lebenserwartung bei Schafen 12 Jahre)
- 1998: 8 Kühe geboren, [Yukio Tsunoda](#), Nara, Japan
- 1998 1. Maus, [Cumulina](#), [R. Yanagimachi](#), Hawaii, USA
- 2000 1. Schwein, [H. S. Campell](#), UK
- 2002 1. Katze, *CC* (für *Carbon copy*), College Station, Texas. Epigenetik und Umwelt ergaben "ganz anderes Tier"
- 2004 1. humane Klone bis zum Blastozystenstadium [Hwang Woo-suk](#), Südkorea
(Sehr wahrscheinlich Betrug, aber Partenogenese dürfte erstmals bei menschlichen Eiern ex vivo funktioniert haben.)
- 2013 1. Somatic cell nuclear transfer (SCNT) beim Menschen (Kerne aus Kinderzellen) [Shoukhrat Mitalipov](#)
Oregon, USA
- 2014 1. erfolgreicher SCNT mit humanen Zellkernen von Erwachsenen von [Dieter Egli](#), NY und bestätigt durch [Dong Ryul Lee](#), Südkorea
- 2014 1. reproduktives Klonen von Menschen (nicht erfolgreich), [Robert Lanza](#), Advanced Cell Technology (ACT), USA
2015 ntESCs werden wegen fremder Mitochondrien abgestoßen; [Sonja Schrepfer](#); Hamburg
- 2017 Nachweis, dass SCNT mit Gentherapie kombinierbar ist. Diabetische Maus nicht mehr Insulinpflichtig, [Dieter Egli](#)
- 2017 hSCNTECs sind hiPSCs sehr ähnlich! ([Josef Wu Lab](#))
- 2018 1. geklonte Affen geboren ([Zhen et al., 2018](#)).

Bis 10/2019: 33 Publikationen in denen SCNT mit Gentherapie verbunden wurden.

Weiters wurden bis heute das Dromedar, die Ziege und Büffel geklont.



9

Georg Weitzer

1.8. Induzierte pluripotente Stammzellen (iPSCs)

- 2006 iPSCs [Shin'ya Yamanaka](#) und [Rudolf Jänisch](#), ... ESC-ähnliche Stammzellen aus Fibroblasten, Magenzellen, Fettzellen, etc. mit Oct4, Sox2, Klf4 und c-Myc transfiziert.
- ab 2007 laufender Ersatz der Transkriptionsfaktoren durch kleine synthetische Moleküle die verschiedenste Signalübertragungswege und epigenetische Modifikationen der DNA inhibieren. Z.B. RepSox für Sox2
- 2013 Chemical induced pluripotent stem cells (ciPSCs) aus Fibroblasten; [Hongkui Deng](#), Peking
- 2017 ciPSCs aus Fettgewebe-Stammzellen
- 2018 iPSCs fast mit ntESCs identisch, [Josef Wu](#), USA.



10

Georg Weitzer

1.9. Somatische (adulte) Stammzellen

1956 Blutbildende Stammzellen

1998 Hirnstammzellen; [Sally Temple](#)

1998 Herzstammzellen; [Piero Anversa](#), Boston, 2018 teilweiser Betrug, 31 papers von Harvard zurückgezogen, alleine 2019, 7 papers von Journalen ohne Zustimmung der Autoren zurückgezogen.

2000 Stammzellen in den Gonaden der Fruchtfliege

Ab dann Stammzellen im Darm, Haarwurzeln, Hirn, Fett, Milchdrüse, ... aufgefunden.



Aber derzeit keine Stammzelllinien (weil Nischen nicht bekannt) außer

2013 1. Herzstammzelllinien aus 2 Mäusestämmen ([Höbaus et al.](#)), - von anderen Labors nie nachgemacht.

2015 Leber

2019 Mehrere papers: „Es gibt keine Herzstammzellen“.

Georg Weitzer





11



1.10. Überblick und Zusammenfassung der Embryonen und Stammzellforschung (143 Jahre)

1876	ECCs	1970		
Entdeckung	94 Jahre	Erste Zelllinie		
	1961	SCNT	(2013)	2018
	Frosch	57 Jahre	Mensch (BCs)	Affe
	1981	ESCs	1998	
	Maus	17 J.	Mensch	
	1989*	iPSCs	2006	
		17 J.		
	1991	NT-ESCs	2013	
	Maus	22 J.	Mensch	
	1998	Heart SCs	2013	
		15 J.		
		2006 iPSCs → ciPSCs	2013	
			7 Jahre	

* Harold Weintraub 10T1/2 + MyoD = Myoblasts



Georg Weitzer

12

1.11. Klassifikation der Stammzellen und der Stammzelllinien

• Embryonale Stammzellen	ESCs	√
• Primäre Keimbahnzellen	PGCs	
• Embryonale Keimzellen	EGCs	√ (5)
• Embryonale Teratokarzinomzellen	ETCs	√ (2)
• Somatische Stammzellen	SSCs	
• Kardiovaskuläre Vorläuferzellen	CVPCs	√ (1)
• Knochenmarkstammzellen		
• Hämatopoetische Stammzellen	HSCs	
• Mesenchymale Stammzellen	MSCs	√ (1, ?)
• Induzierte pluripotente Stammzellen	iPSCs	√
• Chemisch induzierte Stammzellen	ciPSCs	√
• Geklonte embryonale Stammzellen	eESCs	√
• Krebsstammzellen	CSCs	√ (???)

Weiterführende Literatur für darüber hinaus interessierte Studierende:

Siehe Autoren in PubMed

Gail Martin

Allan Bradley

Shin'ya Yamanaka

Rudolf Jänisch

Elaine Fuchs

Konrad Hochedlinger

Marius Wernig