

Wozu Stammzellforschung und Klonen?

Biologisch-technische Fakten versus ethische Bedenken

Ao. Univ. Prof. Dr. **Georg Weitzer**
Department für Medizinische Biochemie,
Max F. Perutz Laboratorien,
Medizinische Universität Wien

Inhalt

- **Was sind Stammzellen**
 - Welche Arten von Stammzellen gibt es?
 - Worin unterscheiden sich Stammzellen von anderen (somatischen) Zellen?
 - Wo spielen Stammzellen in unserem Körper eine Rolle?
 - Künstlich hergestellte Stammzellen
- **Was kann man mit Stammzellen (nicht) machen?**
 - Grundlagenforschung Wie funktionieren Stammzellen?
 Erforschung von Krankheitsursachen
 - Zelltherapie: Heilung von Krankheiten?
- **Warum ist Stammzellenforschung und deren Anwendung einer ethischen Güterabwägung zu unterziehen?**

Inhalt

- Was sind Stammzellen

- Welche Arten von Stammzellen gibt es?
- Worin unterscheiden sich Stammzellen von anderen (somatischen) Zellen?
- Wo spielen Stammzellen in unserem Körper eine Rolle?
- Künstlich hergestellte Stammzellen

Embryonale Carcinomazellen	~1880 - ~1970
Embryonale Stammzellen	~1930 - 1984
Keimbahnstammzellen	~1880 -
Adulte / somatische Stammzellen	~1998 - 2013 (1)
Krebsstammzellen	~2004 -

Inhalt

- Was sind Stammzellen

- Welche Arten von Stammzellen gibt es?
- Worin unterscheiden sich Stammzellen von anderen (somatischen) Zellen?
- Wo spielen Stammzellen in unserem Körper eine Rolle?
- Künstlich hergestellte Stammzellen

Worin unterscheiden sich Stammzellen von anderen Zellen?

- Selbsterneuerungsfähigkeit

= nicht endend wollende Teilung zu identischen Tochterzellen.

(In vivo gibt es auch die asymmetrische Teilung zu einer gleichbleibenden und einer sich weiter entwickelnden Zelle)

- Differenzierungspotenzial

= Anzahl der Möglichkeiten in verschiedene somatische Zellen zu differenzieren.

Totipotenz (Zygote und Blastomere) > Pluripotenz (ESCs) > Paucipotenz (HSCs) > „Monopotenz“ (somatische Zelle)

- Stammzellen brauchen Nischen zum Überleben.

(In vivo sind sogenannte Helfer- oder Nischenzellen notwendig.)

→ Die Stammzeleigenschaften sind der Grundzustand einer jeden Zelle.

= Alle sich daraus ableitenden zellulären Zustände sind reversibel.

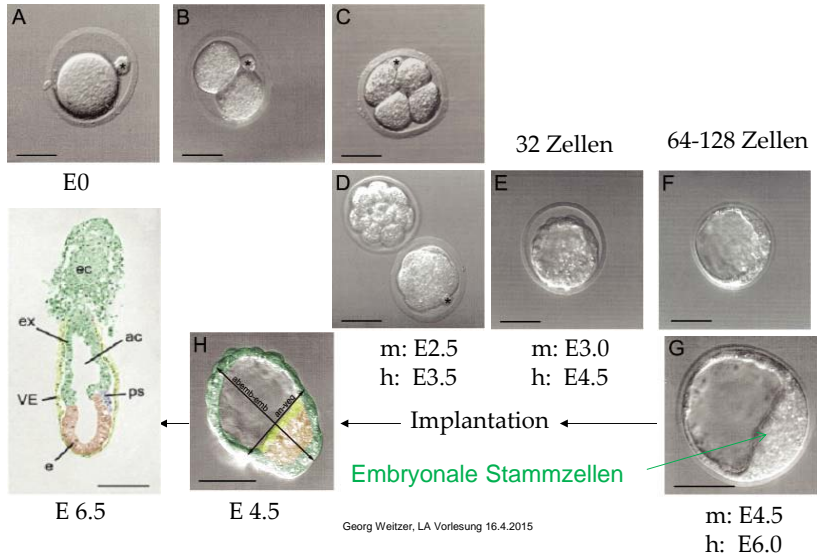
Inhalt

- Was sind Stammzellen

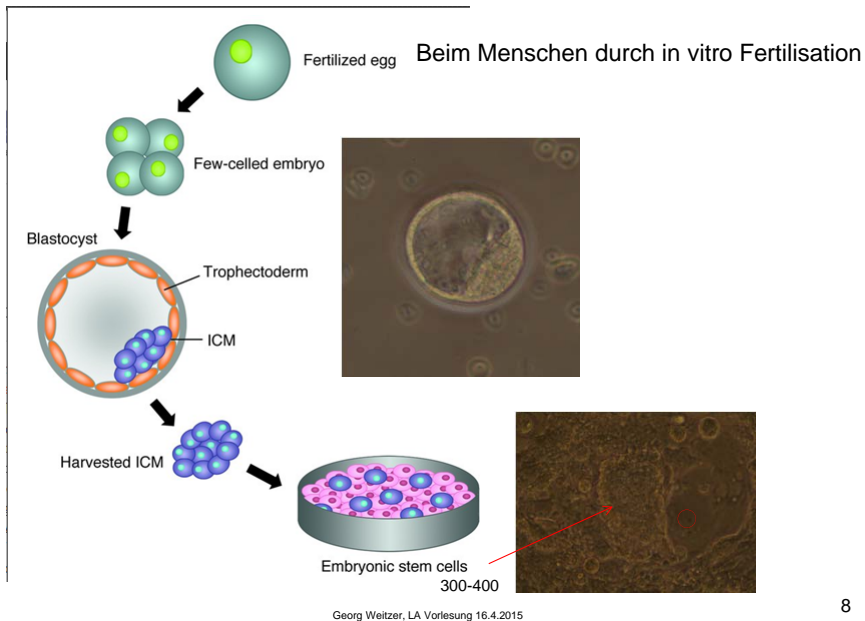
- Welche Arten von Stammzellen gibt es?
- Worin unterscheiden sich Stammzellen von anderen (somatischen) Zellen?
- **Wo spielen Stammzellen in unserem Körper eine Rolle?**
- Künstlich hergestellte Stammzellen

Woher kommen die embryonalen Stammzellen?

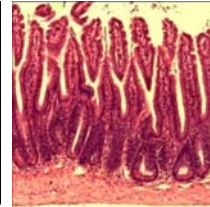
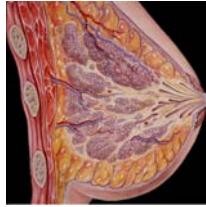
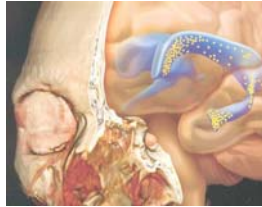
Prägastrulationsentwicklung des Säugetierembryonen



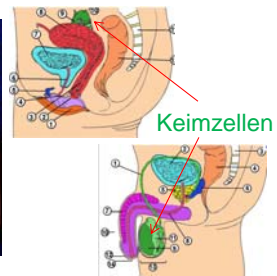
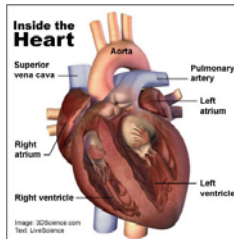
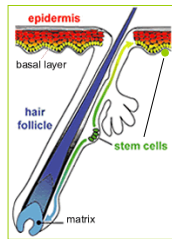
Isolierung von embryonalen Stammzellen



Wo spielen Stammzellen in unserem Körper eine Rolle?



Somatische oder adulte Stammzellen



Georg Weitzer, LA Vorlesung 16.4.2015

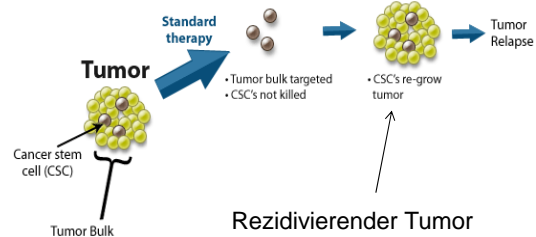
9

Tumorstammzellen und Krebs

Melanome



Tumorstammzellen



Georg Weitzer, LA Vorlesung 16.4.2015

10

Inhalt

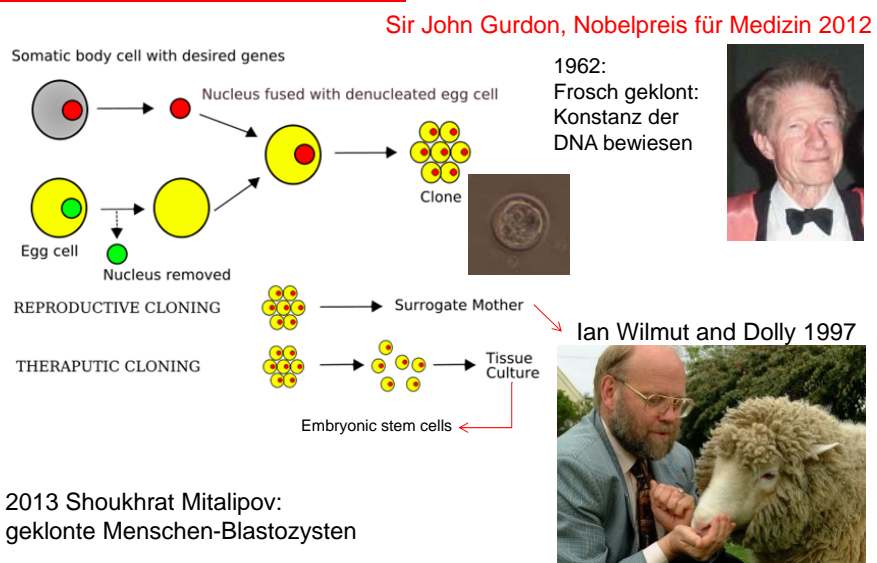
- Was sind Stammzellen

- Welche Arten von Stammzellen gibt es?
- Worin unterscheiden sich Stammzellen von anderen (somatischen) Zellen?
- Wo spielen Stammzellen in unserem Körper eine Rolle?
- Künstlich hergestellte Stammzellen

Georg Weitzer, LA Vorlesung 28.4.2016

11

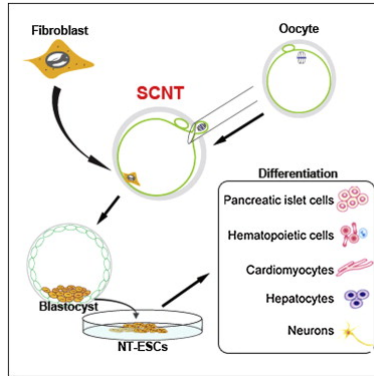
Herstellen von embryonalen Stammzellen durch Klonieren



Georg Weitzer, LA Vorlesung 28.4.2016

12

2013: Erste geklonte humane embryonale Stammzellen



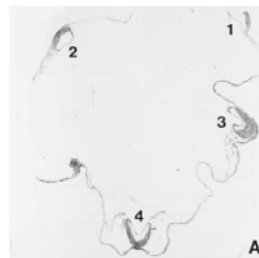
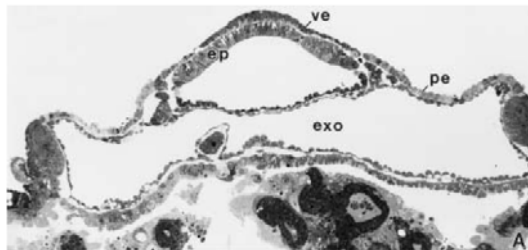
Human Embryonic Stem Cells Derived by Somatic Cell Nuclear Transfer

Masahito Tachibana, Paula Amato, Michelle Sparman, Nuria Marti Gutierrez, Rebecca Tippner-Hedges, Hong Ma, E...
 Cell, Volume 153, Issue 6, 2013, 1228 – 1238 <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.006>

Gürteltiere klonen ihren einzigen Embryo und bekommen immer vier genetisch identische Junge.

Placenta (2002), 23, 71-85
[doi:10.1053/plac.2001.0753](http://www.elsevier.com/locate/BBM), available online at <http://www.elsevier.com/locate/BBM>¹
Implantation in the Nine-banded Armadillo: How Does a Single Blastocyst Form Four Embryos?

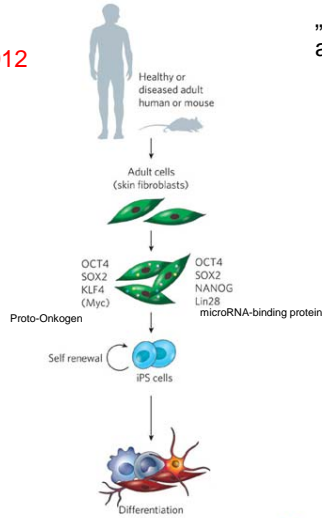
A. C. Enders*
 Department of Cell Biology and Human Anatomy, University of California, Davis, CA 95616, USA
 Paper accepted 16 October 2001



LAVIES/NATIONAL GEOGRAPHIC/GETTY IMAGES

Herstellen von induzierten pluripotenten Stammzellen (iPSCs) seit 2006

Shinya Yamanaka,
Nobelpreis für Medizin 2012



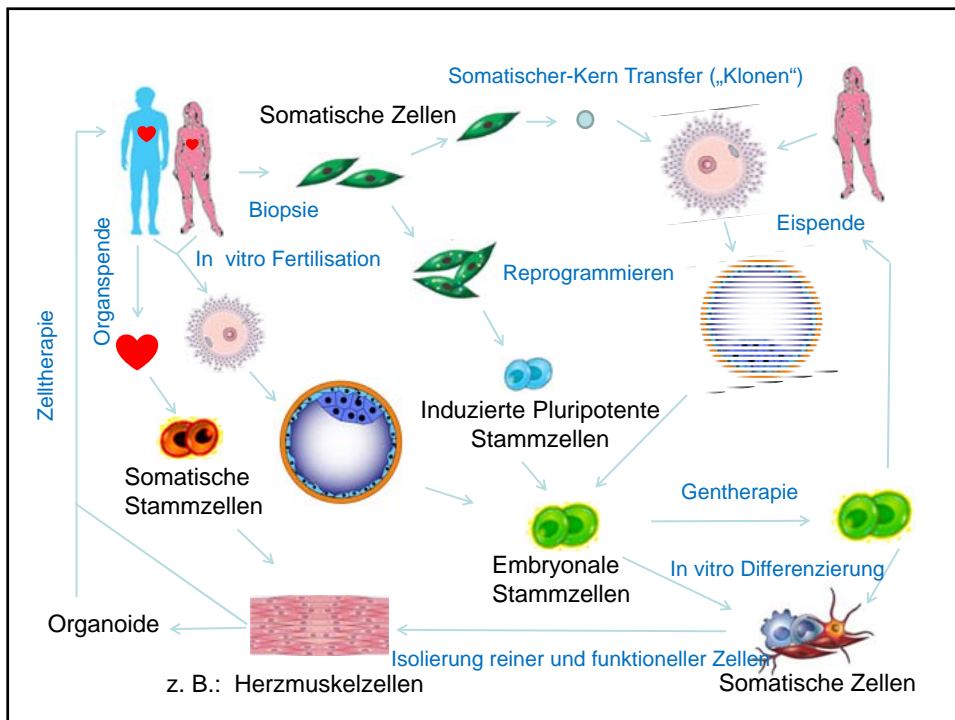
„Künstliche“ Stammzellen
aus somatischen Zellen

Harold Weintraub
1987 (1987 verstorben)
MyoD macht aus
Fibroblasten Muskelzellen



Georg Weitzer, LA Vorlesung
16.4.2015

15



Inhalt

- Was sind Stammzellen

- Welche Arten von Stammzellen gibt es?
- Worin unterscheiden sich Stammzellen von anderen (somatischen) Zellen?
- Wo spielen Stammzellen in unserem Körper eine Rolle?
- Künstlich hergestellte Stammzellen

- Was kann man mit Stammzellen (nicht) machen?

- Grundlagenforschung **Wie funktionieren Stammzellen?**
Erforschung von Krankheitsursachen
- Zelltherapie: Heilung von Krankheiten?

Herstellen von transgenen Mäusen

Durch Injektion von genetisch veränderten embryonalen Stammzellen in die innere Zellmasse von Blastozysten.

In vivo

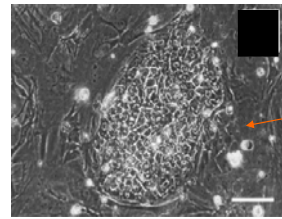
Genetisch Veränderung von embryonalen Stammzellen durch homologe Rekombination.



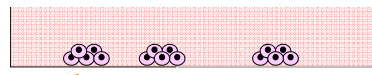
Chimäre Maus
F1 Generation kann das
Transgen in der Keimbahn tragen

→ Erforschung der Funktionen der einzelnen Gene wurde so möglich

Herstellung von Embryoid Bodies – Herstellen von somatischen Zellen



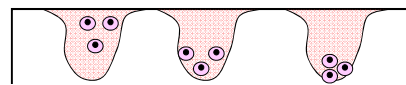
ESC Kolonie



↓ 20 min. Trypsin



24 Stunden



3-4 Tage

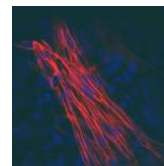
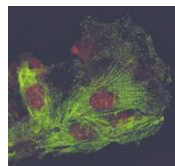
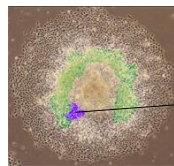
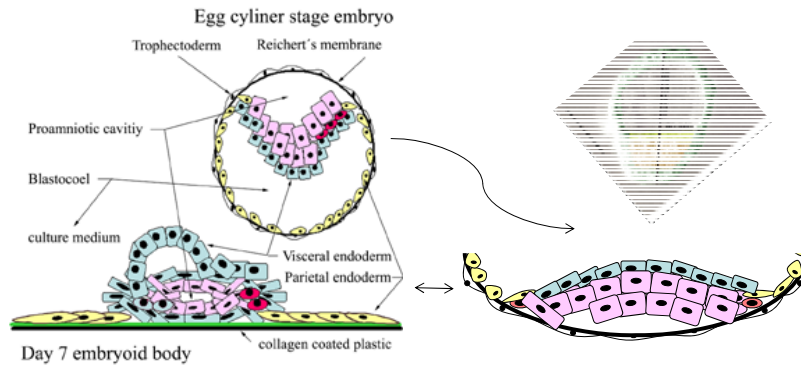


In vitro

Georg Weitzer, LA Vorlesung 16.4.2015

19

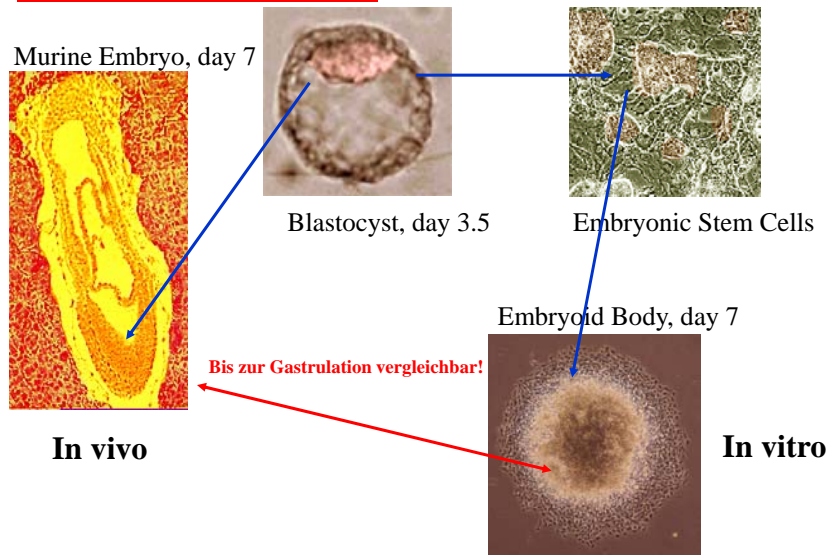
Differenzierung von embryonalen Stammzellen zu somatischen Zellen



Georg Weitzer, LA Vorlesung 16.4.2015

20

Mit Hilfe von ESCs ist das Studium der frühen Embryonalentwicklung in embryoid bodies möglich



Inhalt

- Was sind Stammzellen
 - Welche Arten von Stammzellen gibt es?
 - Worin unterscheiden sich Stammzellen von anderen (somatischen) Zellen?
 - Wo spielen Stammzellen in unserem Körper eine Rolle?
 - Künstlich hergestellte Stammzellen
- Was kann man mit Stammzellen (nicht) machen?
 - Grundlagenforschung Wie funktionieren Stammzellen?
Erforschung von Krankheitsursachen
 - Zelltherapie: Heilung von Krankheiten?

Herstellen von transgenen Mäusen

In vivo

Durch Injektion von genetisch veränderten embryonalen Stammzellen in die innere Zellmasse von Blastozysten.

Genetisch Veränderung von embryonalen Stammzellen durch homologe Rekombination.



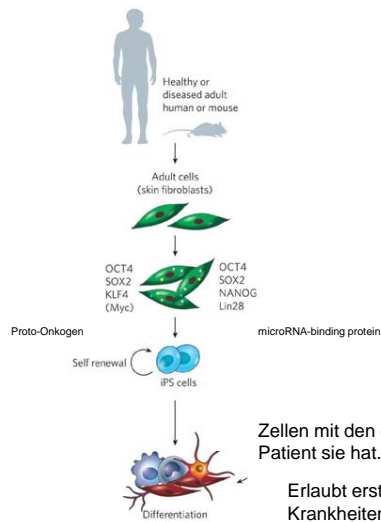
Chimäre Maus
F1 Generation kann das
Transgen in der Keimbahn tragen

→ Erforschung der Funktionen der einzelnen Gene wurde so möglich

Georg Weltzer, LA Vorlesung 28.4.2016

23

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



Zellen mit den gleichen Defekten, wie der Patient sie hat.

Erlaubt erstmals die Untersuchung von Krankheiten die polygenetischen Ursprungs sind.

Georg Weltzer, LA Vorlesung 28.4.2016

24

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

Mason A. Israel^{1,2}, Shauna H. Yuan^{1,3}, Cedric Bardy⁴, Sol M. Reyna^{1,2}, Yangling Mu⁴, Cheryl Herrera¹, Michael P. Hefferan⁵, Sebastian Van Gorp⁶, Kristopher L. Nazor⁷, Francesca S. Boscolo⁸, Christian T. Carson⁹, Louise C. Laurent², Martin Marsala^{5,10}, Fred H. Gage², Anne M. Remes¹¹, Edward H. Koo⁹ & Lawrence S. B. Goldstein^{1,2}

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 nun möglich.

Georg Weitzer, LA Vorlesung 16.4.2015

25

Inhalt

- Was sind Stammzellen
 - Welche Arten von Stammzellen gibt es?
 - Worin unterscheiden sich Stammzellen von anderen (somatischen) Zellen?
 - Wo spielen Stammzellen in unserem Körper eine Rolle?
 - Künstlich hergestellte Stammzellen
- Was kann man mit Stammzellen (nicht) machen?
 - Grundlagenforschung Wie funktionieren Stammzellen?
Erforschung von Krankheitsursachen
 - Zelltherapie: Heilung von Krankheiten?

Knochenmarksstammzellen-Austausch bei Patienten mit Leukämie.

Seit 1968 möglich.

Georg Weitzer, LA Vorlesung 28.4.2016

26

Inhalt

- Was kann man mit Stammzellen (nicht) machen?

- Grundlagenforschung
- Erforschung von Krankheitsursachen
- Zelltherapie: Heilung von Krankheiten oder doch Krebs

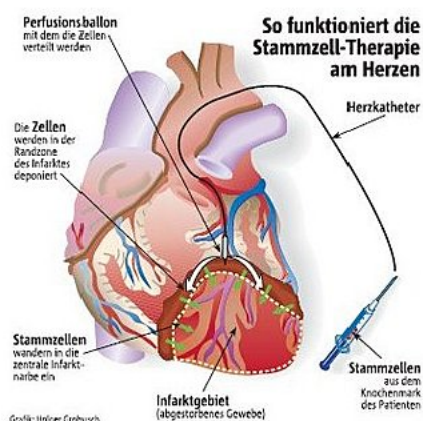
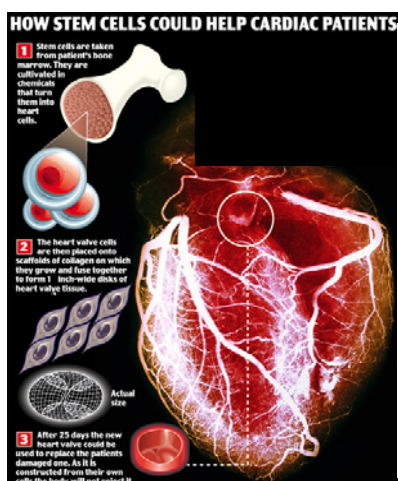
Knochenmarksstammzellen-Austausch bei Patienten mit Leukämie.

Georg Weitzer, LA Vorlesung
16.4.2015

27

Heilung von Krankheiten?

Heilungsversuche von Herzkrankheiten mittels **Knochenmark**-Stammzellen.



Nach 16 Jahre noch immer kein Erfolg !

28

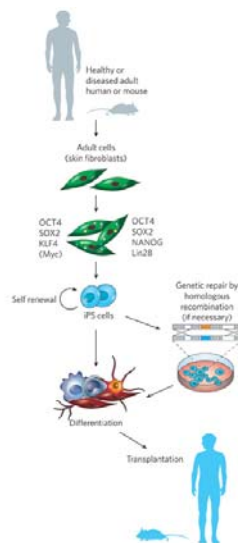
Georg Weitzer, LA Vorlesung 28.4.2016

Stammzellentherapie mit aus **embryonalen** Stammzellen hergestellten somatischen Zellen:

- Geron 2009-2011 Oligodendrozyten aus humanen ESCs
• FDA approved dann abgebrochen (<http://www.geron.com/>)
- Advanced Cell Technology (ACT) 2010 – 2016
 Makula degeneration (jetzt <https://www.ocata.com/>)
 bis jetzt keine messbaren Erfolge
- XCell Center
- Deutsches Zentrum für Frischzellen-Therapie
- Stem Tech Lab
- Parkinson's Disease and Macula degeneration therapies with autologous and allogenic iPSCs
• → <https://www.ipscell.com/2015/11/parkinsons-ips-cell-trial-in-japan-switching-to-allogeneic/>

Induzierte pluripotente Stammzellen zur Heilung von genetisch bedingten Erkrankungen

autologous and allogenic iPSCs



Warum wird man voraussichtlich mit den bis heute hergestellten geklonten ESCs und iPSCs keine Therapie durchführen können?

- Das epigenetisches Gedächtnis der iPSCs kann nicht richtig gelöscht werden.
- Gefahr der Tumorbildung durch virale Vektoren und Proto-Onkogene in den Zellen.
- Derzeitige Unmöglichkeit reine somatische Zellen eines Typs herzustellen.

Was kann man mit Stammzellen (nicht) machen?

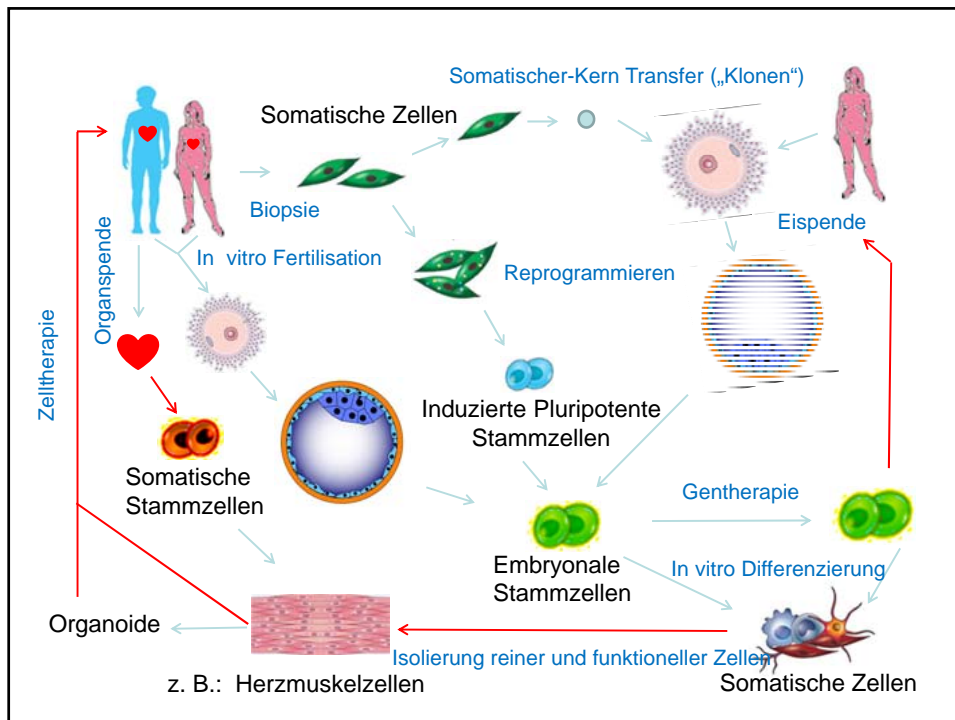
Herstellung von transgene Mäuse, von hiPSCs und hNT-ESCs für die Grundlagenforschung ist möglich.

Aufklärung von Genfunktionen und Entwicklungsprozesse ist möglich.

Aufklärung von Ursache von genetisch bedingten Erkrankungen ist möglich.

Aber:

Bis heute gibt es keine etablierte Therapie von Krankheiten.



Inhalt

- Was sind Stammzellen
 - Welche Arten von Stammzellen gibt es?
 - Worin unterscheiden sich Stammzellen von anderen (somatischen) Zellen?
 - Wo spielen Stammzellen in unserem Körper eine Rolle?
 - Künstlich hergestellte Stammzellen
- Was kann man mit Stammzellen (nicht) machen?
 - Grundlagenforschung Wie funktionieren Stammzellen?
Erforschung von Krankheitsursachen
 - Zelltherapie: Heilung von Krankheiten?
- Warum ist Stammzellenforschung und deren Anwendung einer ethischen Güterabwägung zu unterziehen?

Warum ist Stammzellenforschung und deren Anwendung einer ethischen Güterabwägung zu unterziehen?

- Weil bei der Isolierung von embryonalen Stammzellen, primären Keimzellen oder fötalen Stammzellen immer ein potenziell zum Leben fähiger Embryo vernichtet wird.
- Somatische Stammzellen setzen immer den Tod einer organspendenden Person voraus.

(- solange nicht durch Biopsie isolierbar und kontinuierlich kultivierbar.)

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

Ethisch relevante Aspekte der humanen Stammzellforschung

Gewinnung von Stammzellen – es wird menschliches Leben vernichtet

Potenzial von Stammzellen inkl. iPSCs – es könnten Menschen daraus entstehen

Klonieren von Organismen – es könnten Menschen daraus entstehen

In vitro Fertilisation: Eispende / Samenspende / Leihmutter / Präimplantationsdiagnostik etc. -

- birgt immer die Gefahr der **Instrumentalisierung** von Menschen in sich

Es besteht die Notwendigkeit einer Güterabwägung !

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

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

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

Probleme die bei der Diskussion der Embryonenforschung auftreten liegen auf einer ...

Naturwissenschaftliche
Fakten

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 Heilen (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).

Religiöse 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*

* Man das das Leben von Neugeborenen den Göttern zurückgeben.

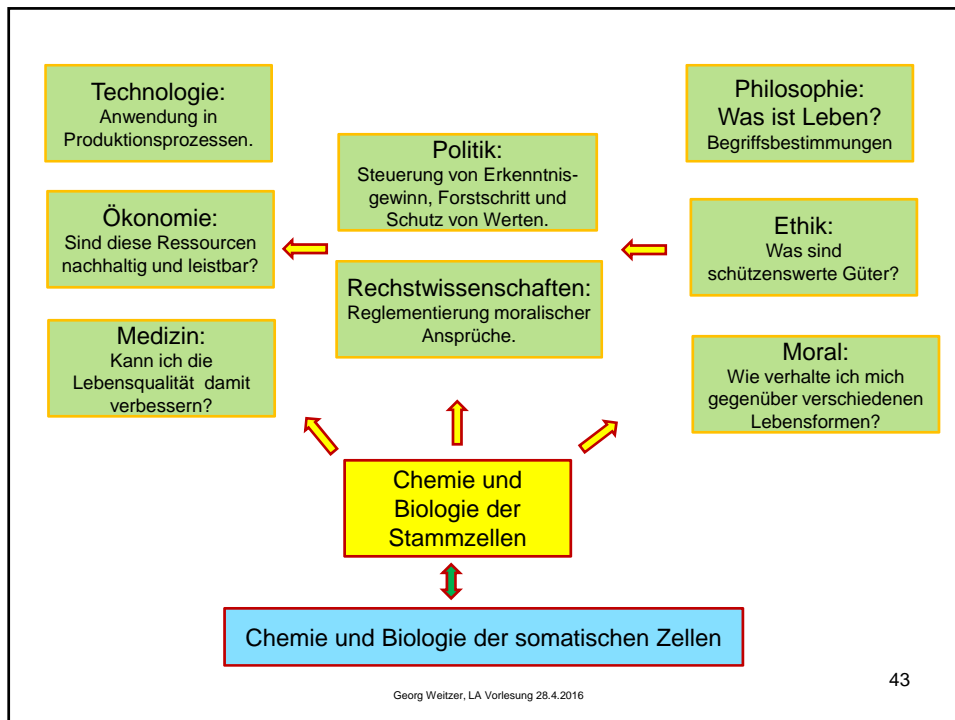
→ Kulturell bedingter Wissenshorizont

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)

- 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.



Sie finden den Vortrag und eine Zusammenfassung auf meiner Homepage unter dem URL

<http://homepage.univie.ac.at/georg.weitzer/>

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

*Nicht liegt es an dir, das Werk zu vollenden,
aber du bist auch nicht frei, von ihm abzulassen.*

(Rabbi Tarphon Pirkej Awot 2,21.[Talmud])