

Organoide – und ihre Anwendungsmöglichkeiten in der Medizin

Organoide sind sich autonom entwickelnde Stammzell-Aggregate.

Was sind Stammzellen?

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



Georg Weitzer
Zentrum für Medizinische Biochemie

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 Stammzellenbiologie: Wie funktionieren Stammzellen?
Erforschung von Entwicklungsprozessen
Erforschung von Krankheitsursachen
 - Zelltherapie: Heilung von Krankheiten?
- Warum ist Stammzellenforschung und deren Anwendung einer ethischen Güterabwägung zu unterziehen?



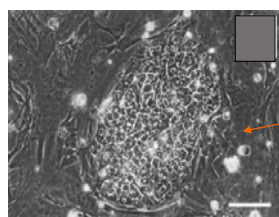
Georg Weitzer
Zentrum für Medizinische Biochemie, MFPL

2

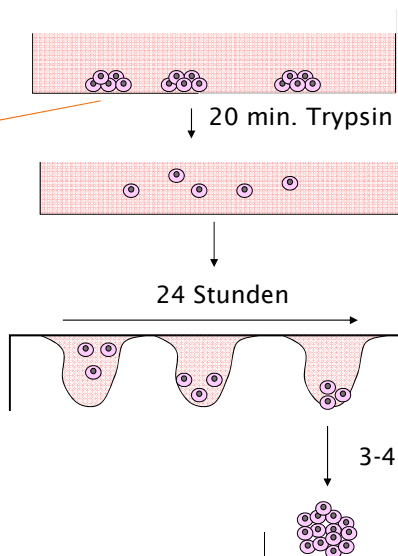
3. Teil
 Donnerstag 10.10.
 Kurze Wiederholung

Herstellung von Embryoid Bodies - Herstellen von somatischen Zellen

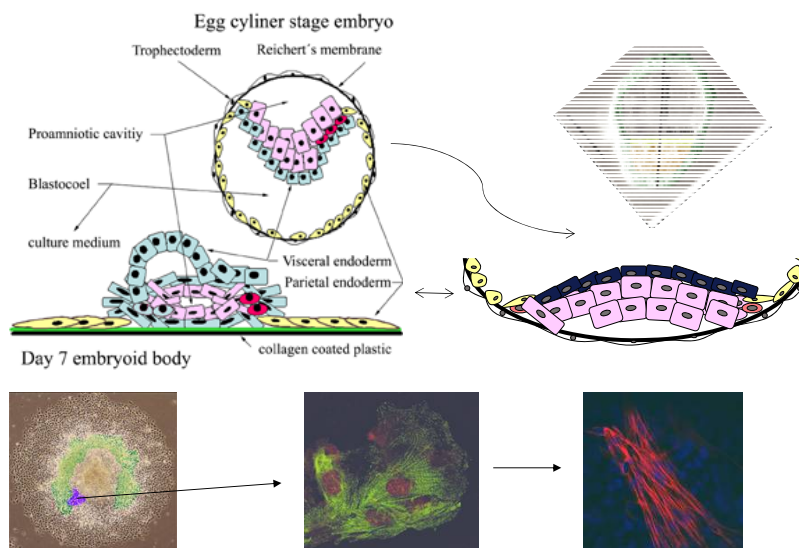
In vitro



ESC Kolonie



Differenzierung von embryonalen Stammzellen zu somatischen Zellen



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 Stammzellenbiologie: Wie funktionieren Stammzellen?
Erforschung von Entwicklungsprozessen
Erforschung von Krankheitsursachen
 - Zelltherapie: Heilung von Krankheiten?
- Warum ist Stammzellenforschung und deren Anwendung einer ethischen Güterabwägung zu unterziehen?

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

Murine Embryo, day 7

Blastocyst, day 3.5

Embryonic Stem Cells

Embryoid Body, day 7

In vivo

In vitro

Bis zur Gastrulation vergleichbar!

MEDICAL UNIVERSITY OF VIENNA

MAX PERUTZ LABS

Georg Weitzer
Zentrum für Medizinische Biochemie, MFPL

7

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.

MEDICAL UNIVERSITY OF VIENNA

MAX PERUTZ LABS

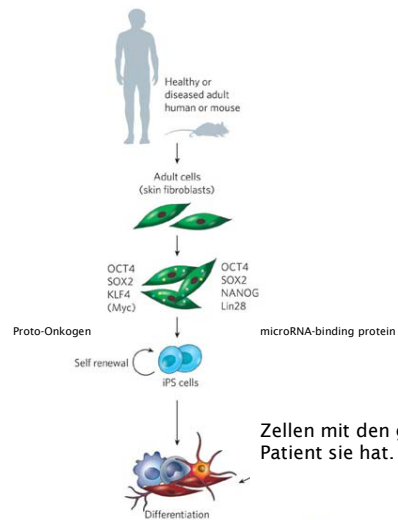
Georg Weitzer
Zentrum für Medizinische Biochemie, MFPL

8

Was kann man mit Stammzellen machen?

- Grundlagenforschung
- Stammzellenbiologie: Wie funktionieren Stammzellen?
- Erforschung von Entwicklungsprozessen
- Erforschung von Krankheitsursachen

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



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

doi:10.1038/nature10821 2012

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

Anwendung der iPSCs



Mason A. Israel^{1,2}, Shauna H. Yuan^{1,2}, Cedric Bardy³, Sol M. Reyna^{1,2}, Yangling Mu⁴, Cheryl Herrera¹, Michael P. Hefferan⁵, Sebastiaan Van Gorp⁶, Kristopher L. Nazor⁷, Francesca S. Boscolo⁸, Christian T. Carson⁹, Louise C. Laurent¹⁰, Martin Marsala^{1,5,10}, Fred H. Gage⁴, Anne M. Remes¹¹, Edward H. Koo⁷ & 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^{FD}), 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^{FD} patients and patient sAD2 exhibited significantly higher levels of the pathological markers amyloid- β (1–40), phospho-tau(Thr231) and active glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β). Neurons from APP^{FD} 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(Thr231) and GSK-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.

 MEDICAL UNIVERSITY OF VIENNA
  MAX PERUTZ LABS
 Georg Weitzer
Zentrum für Medizinische Biochemie, MFPL
11

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 Stammzellenbiologie: Wie funktionieren Stammzellen?
Erforschung von Entwicklungsprozessen
Erforschung von Krankheitsursachen
 - Zelltherapie: Heilung von Krankheiten?
- Warum ist Stammzellenforschung und deren Anwendung einer ethischen Güterabwägung zu unterziehen?

 MEDICAL UNIVERSITY OF VIENNA
  MAX PERUTZ LABS
 Georg Weitzer
Zentrum für Medizinische Biochemie, MFPL
12

Advanced therapy medical products (ATMPs) Advanced therapy (bio-) medical / -cinal products (ATMPs)

- **Arzneimittel für neuartige Therapien** (auch **ATMPs** für *Advanced Therapy Medicinal Products*) ist der Überbegriff dreier Arzneimittel-Produktklassen, den somatischen Zelltherapeutika, den Gentherapeutika und den biotechnologisch bearbeiteten Gewebezubereitungen [auch Tissue-Engineering-Produkte (TEP)].^[1] Diese Arzneimittel enthalten oder bestehen meistens aus lebenden Zellen oder Gewebe und zeichnen sich daher durch eine hohe Komplexität aus. Die verwendeten Zellen werden oft einem Patienten entnommen, im Labor bearbeitet (zum Beispiel vermehrt oder gentechnisch verändert), und anschließend demselben Patienten wieder verabreicht. ATMPs sind aufgrund dessen häufig ein Beispiel für „Personalisierte Medizin“. (<https://de.wikipedia.org> am 24.9.2018)

Es funktioniert bei:

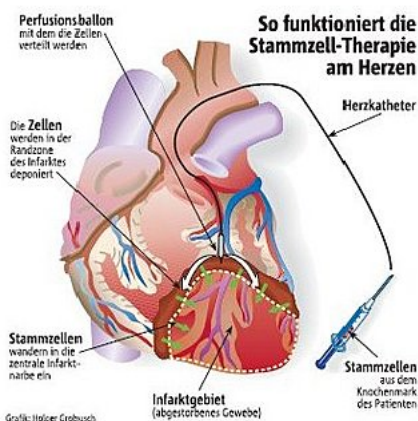
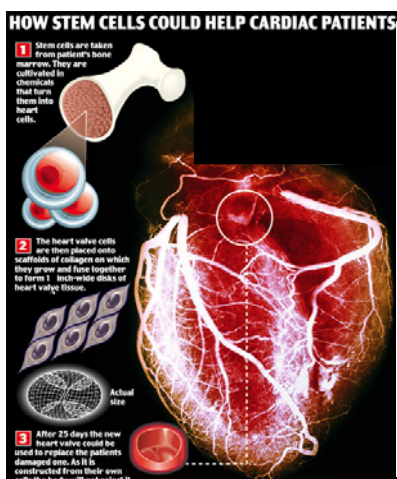
Knochenmarksstammzellen-Austausch bei Patienten mit Leukämie.

Eigene Knochenmarksstammzellen werden durch hohe tödlichen Dosen an Strahlung vernichtet und durch allogene gesunde Knochenmarksstammzellen ersetzt. Danach ist allerdings lebenslange Immunsuppression notwendig.

Alternative: Eigene Knochenmarksstammzellen genetisch reparieren, expandieren und nach Strahlenbehandlung den Patienten wieder einpflanzen. (geht derzeit nur bei der Maus)

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

Heilung von Krankheiten?



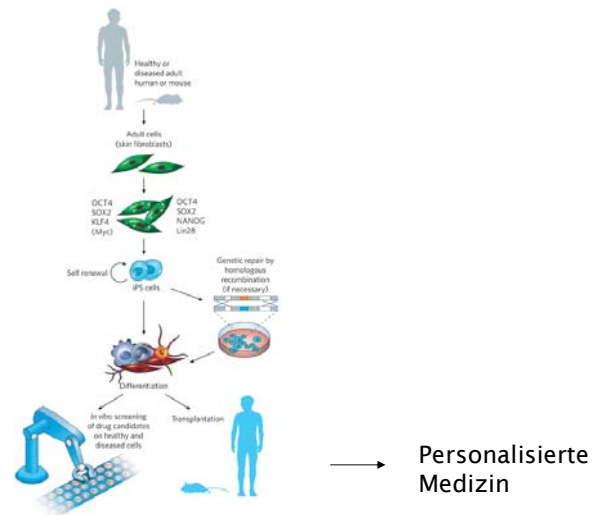
Nach 19 Jahre noch immer kein Erfolg !

Stammzellentherapie mit aus **embryonalen** Stammzellen und iPSCs 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.japantimes.co.jp/news/2018/11/09/national/science-health/kyoto-university-performs-worlds-first-ips-cell-transplant-parkinsons/>
 - → <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352304217300247>

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 epigenetische 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?

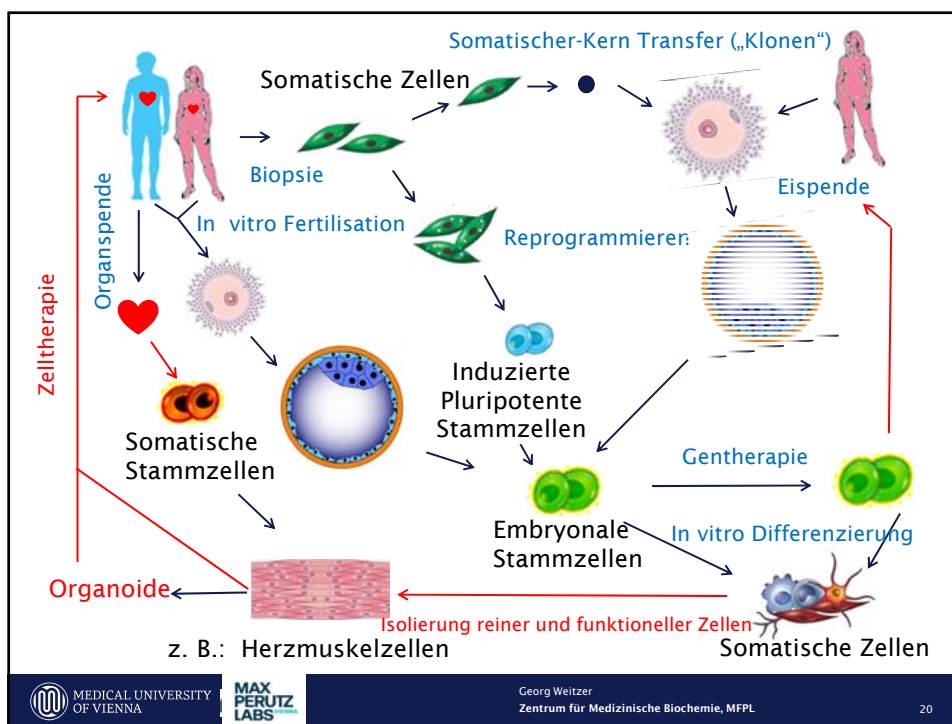
Herstellung von transgene Mäuse, von hiPSCs und hNT-ESCs für die Grundlagenforschung ist möglich.

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
 - Stammzellenbiologie: Wie funktionieren Stammzellen?
 - Erforschung von Entwicklungsprozessen
 - 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 sind vielschichtig:

Basis: 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.

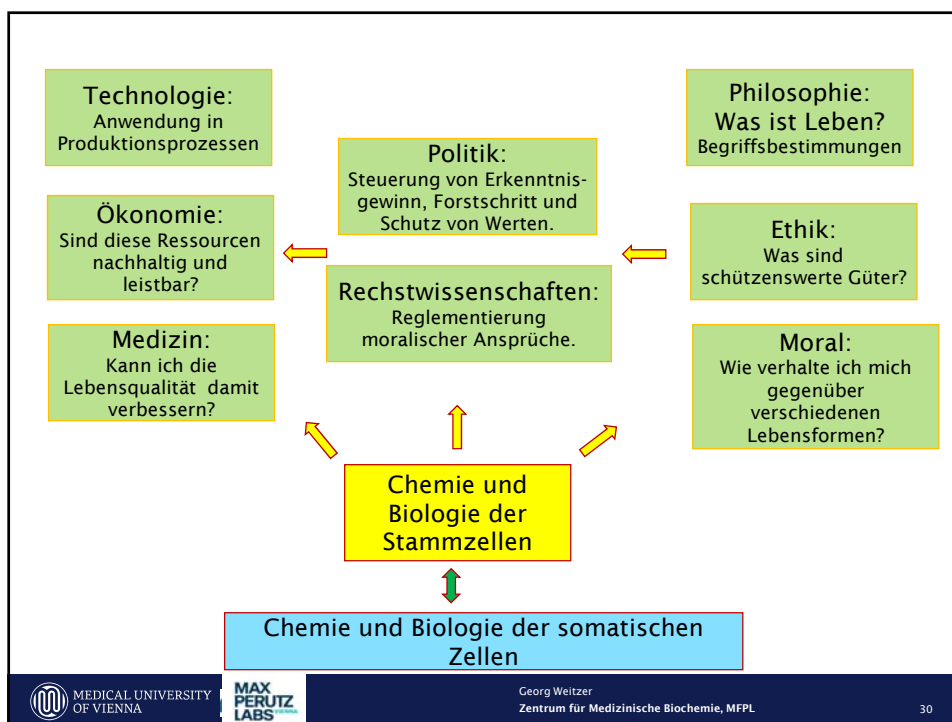
→ Kulturell bedingter Wissenshorizont

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.



Thema diese Seminars:

Organoide als Advanced therapy (bio-)medical products (ATMPs) und ihre Anwendungsmöglichkeiten in der Medizin

Einfacher:

Kann man mit Organoiden Menschen therapieren und heilen?

Was sind Organoide?

Was sind Organe?

Was ist ein Organ?

Ein Organ (von altgriechisch ὄργανον *organon*, deutsch ‚Werkzeug, Sinneswerkzeug‘) ist ein spezialisierter Körperteil aus unterschiedlichen Zellen und Geweben.

Ein Organ ist eine abgegrenzte Funktionseinheit in einem vielzelligen Lebewesen.

Ein Organ geht auf eine eigene Organanlage zurück und durchläuft eine spezifische Organogenese.

Das Zusammenspiel der Organe realisiert den Organismus.

Organe sind funktional durch Organsysteme direkt miteinander verbunden.

Was ist ein Organoid?

Organoiden sind künstlich hergestellte Gewebe und Organ-ähnliche Zellaggregate aus dem Reagenzglas.

Organoiden entstehen aus Stammzellen durch (von außen beeinflusste) Selbstorganisationsprozesse.

Die gezielte Herstellung der Organoiden entwickelte sich aus der Herstellung und Weiterentwicklung von embryoid bodies, und schon Gewebs-spezifischen Stammzellaggregaten, wie cardiac bodies, Cardiosphären und Neurosphären.

In einer bahnbrechenden Arbeit wurde 2011 erstmals, durch eine japanische Gruppe gezeigt, dass aus embryoid bodies funktionstüchtige Mäuseaugen entstehen können.

Seit diesem Zeitpunkt intensivierte sich die Forschung um Mini-brains, Mini-hearts, Mini-guts und Mini-pankreas.

Mini-pankreas, wurden bereits in Mäusen zur Heilung von Diabetes Typ 1 getestet.

Suchbegriffe zu dem Thema „Organoiden als Advanced therapy (bio-) medical products (ATMPs) und ihre Anwendungsmöglichkeiten in der Medizin“.

Organoid: 12065 Einträge in der Datenbank PUBMED am 11.9.2019.

Advanced therapy medicinal products (ATMPs)

Suchbegriff combination: atmp OR "atmps" 208 Einträge (11.9.2019)

- zu wenig, weil zu komplex - deshalb zB

"medicinal product" 895 Einträge

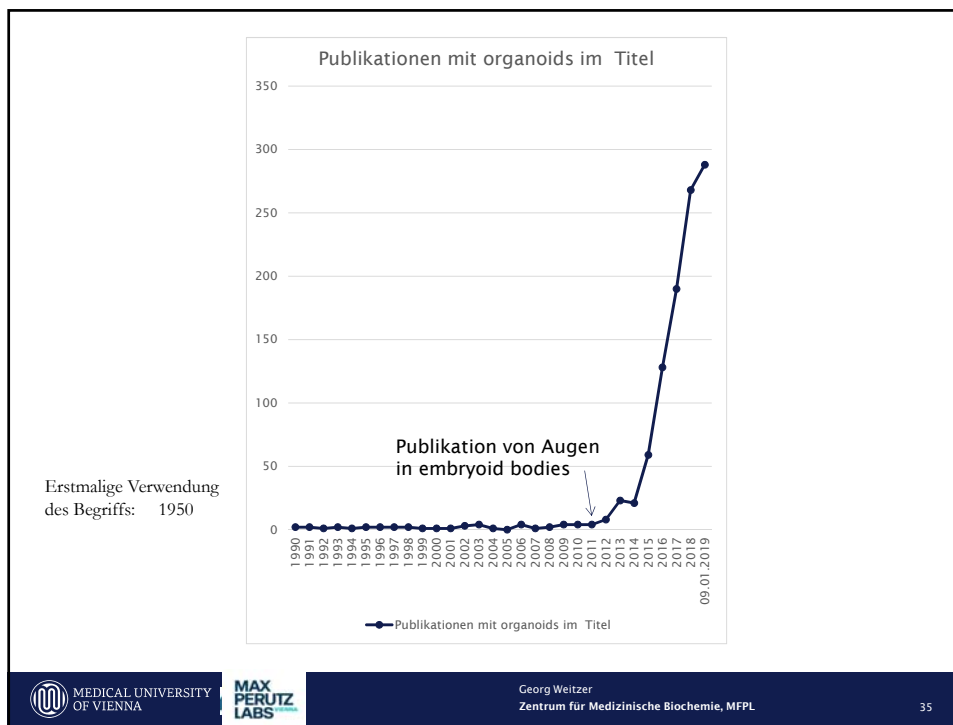
"medicinal product" AND organoid(s) 0

organoid AND "medical product" 0

→ Suche nach "organoids" in der Grundlagenforschung notwendig!

organoid[ti] 537 Einträge (12.9.2019)

→ organoid[ti] AND <organ type>



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])