



# Keine Aussicht auf Heilung

Der Idee, degenerative Krankheiten durch Transplantation von Gewebe zu heilen, das im Labor aus embryonalen Stammzellen gezüchtet wurde, stehen auch nach neun Jahren weltweiter intensiver Forschung und massivem Einsatz von Forschungsgeldern ungelöste Probleme entgegen. Sie sind zum Teil so schwerwiegend, dass die Hoffnung, mit embryonalen Stammzellen einmal Therapien entwickeln zu können, als utopisch betrachtet werden muss. Für LebensForum beleuchtet der Wiener Molekularpathologe Lukas Kenner vier von ihnen näher.

Von Professor Dr. Lukas Kenner

## EMBRYONALE STAMMZELLEN SIND TUMORZELLEN

Humane embryonale Stammzellen werden aus menschlichen Embryonen im Blastozysten-Stadium gewonnen. Die Blastozyste, die dabei zerstört wird, besteht aus einer äußeren Zellschicht von trophoblastären Zellen, welche die spätere Plazenta bilden, und einer inneren Zellmasse, dem so genannten Embryoblasten, aus dem sich im Normalfall der eigentliche Embryo entwickelt. Obgleich embryonale Stammzellen im Embryo (in vivo) nur kurze Zeit vorhanden sind – sie differenzieren im Verlauf der embryonalen Entwicklung in sämtliche Gewebearten, aus denen der menschliche Organismus aufgebaut ist – lassen sich embryonale Stammzellen außerhalb des Embryos unter bestimmten Voraussetzungen über eine lange Zeit in Kultur (in vitro) erhalten und vermehren.

Obwohl embryonale Stammzellen sich in vitro rasch teilen und ein großes Entwicklungspotential besitzen, ist – funktional betrachtet – die künstlich angeregte Differenzierung embryonaler Stammzellen in embryonales Gewebe in vitro der natürlichen Entwicklung embryonaler Gewebe in vivo in mehrfacher Hinsicht unterlegen. So existiert in der Kulturschale weder Polarität, noch ein »body plan«, der in vivo für den Aufbau eines funktionierenden menschlichen Organismus verantwortlich zeichnet. Weil das so ist, können die aus embryonalen Stammzellen bestehenden Zellgebilde in der Kulturschale, so genannte embryoid bodies, offenbar auch keinen lebensfähigen menschlichen Embryo bilden. Das Fehlen eines solchen »body plan« dürfte auch die Ursache dafür sein, dass embryonale Stammzellen außerhalb eines Embryos in der Regel Tumore ausbilden.

Bereits im Jahr 2003 haben Forscher des Max-Planck-Instituts für Neurologische Forschung in Köln (Erdo et al. 2003) festgestellt, dass aus embryonalen Stamm-

---

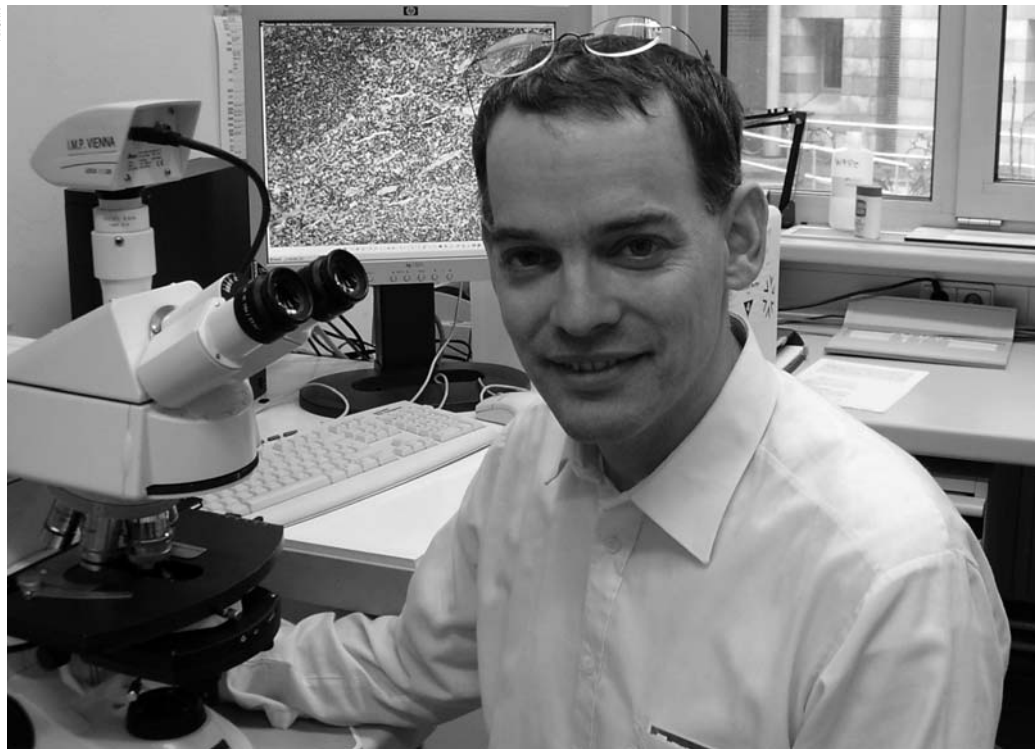
**»In 75 bis 100 Prozent der Fälle wurden Tumore nachgewiesen.«**

---

zellen differenziertes Gewebe nach der Transplantation in Empfänger-Organismen derselben Spezies in den allermeisten Fällen zu Teratokarzinomen entarten. Für die Studie wurden zunächst embryonale Stammzellen der Maus in neuronale Vorläuferzellen der Maus differenziert

und anschließend in die Gehirne von Ratten transplantiert. Da Mäuse und Ratten unterschiedlichen Spezies angehören, besaßen die den Ratten applizierten Mäusezellen nur eine geringe Neigung, Tumore auszubilden. Im weiteren Verlauf der Studie wurden dann jedoch die aus embryonalen Stammzellen der Maus gezüchteten Zellen in die Hirne von Mäusen transplantiert. Bei dieser homologen Transplantation – die vom Prinzip her auch das Mittel der Wahl für eine embry-

onale Stammzellen. In: Dt. Ärzteblatt, Jahrgang 100, Heft 42, A2730 v. 17.10.2003). Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch andere Studien. So stellten Forscher fest, dass aus embryonalen Stammzellen gezüchtetes Neuronales Gewebe, das nach einem fünfstufigen Modell differenziert wurde, nach der Transplantation in die Hirne von Parkinson-Mäusen dort Tumore bildete, die bei jeder fünften Maus zum Tode führten (Nishimura et al. 2003). Eine Tierstudie zur Therapie von Diabe-



Der Wiener Molekularpathologe Lukas Kenner forscht an embryonalen Stammzellen der Maus.

onale Stammzelltherapie beim Menschen wäre – wurden anschließend in 75 bis 100 Prozent der Fälle Tumore nachgewiesen.

Ursprünglich hatten die Forscher herausfinden wollen, ob sich mit dem aus embryonalen Stammzellen gezüchteten Gewebe Nervenzellen ersetzen lassen, die bei einem Schlaganfall zugrunde gehen. Dazu lösten sie bei den Versuchstieren zunächst einen solchen Schlaganfall aus und applizierten ihnen anschließend das aus embryonalen Stammzellen gezüchtete Gewebe. Während bei den Ratten die transplantierten Zellen tatsächlich in die Schlaganfallregion wanderten, wucherten sie in den Mäusehirnen wild und bildeten dort Tumore aus.

Wie einer der Autoren der Studie in einem Beitrag für das »Deutsche Ärzteblatt« schrieb, handelt es sich bei der Tumorneigung embryonaler Stammzellen »um ein grundsätzliches Problem der homologen Transplantation« (vgl. Hossmann K.: Tumorrisiko embryonaler

tes Typ I mit Insulin produzierenden Zellen, die aus embryonalen Stammzellen differenziert wurden, zeigte einen kurzfristigen therapeutischen benefit, der aber durch Entstehen von Teratomen bei 60 Prozent der Versuchstiere zunichte gemacht wurde (Fujikawa et al. 2005). Die Untersuchung der Teratome zeigte Zellen, die für embryonale Stammzellen typischen Marker SSEA-1 und Oct-4 exprimierten, obwohl diese vor der Transplantation nicht entdeckt worden waren. Eine weitere deutsche, von der DFG geförderte Studie fand bei Transplantation von aus embryonalen Stammzellen gezüchteten Zellen, die bis zum »stage 4«-Stadium differenziert worden waren eine Tumorzellhäufigkeit von 70 Prozent. Bei solchen Zellen, die bis zum »stage 5«-Stadium differenziert wurden, betrug die Tumorzellhäufigkeit immerhin noch 17 Prozent. Wie die Autoren schreiben, genüge bereits ein äußerst geringer Anteil von fünf undifferenzierten embryonalen

Stammzellen in 100.000 transplantierten Zellen, um bei einer homologen Transplantation im Zielgewebe des Transplantatempfängers Tumore auszubilden (Dihné et al. 2006).

Die in vitro-Kultur embryonaler Stammzellen ist häufig mit einer erhöhten epigenetischen Instabilität und einer Veränderung der Genpromoter-Methylierung verbunden (Humpherys et al. 2001). Außerdem konnte gezeigt werden, dass in Kulturen menschlicher embryonaler Stammzellen Genomveränderungen vorkommen, die häufig in Karzinomen des Menschen beobachtet werden (Maitra et

Transplantationen) nicht nur reduziert, sondern praktisch zu 100 Prozent eliminiert werden müsste. Für humane embryonale Stammzellen lässt sich natürlich dieser Nachweis durch nicht-homologe Transplantationen in Tiere nie führen (Erdo et al. 2003). Zudem müsste insbesondere der sichere tierexperimentelle Nachweis geführt sein, dass ein Tumorriskiko nicht nur in einer relativ kurzen Studie, sondern gerade auch langfristig ausgeschlossen werden kann. Die erforderliche Sicherheit wäre selbst dann noch nicht gegeben, wenn sich keine undifferenzierten embryonalen Stammzellen

prinzipielle Probleme, welche die Entwicklung von Therapien mit embryonalen Stammzellen höchst unwahrscheinlich erscheinen lassen.

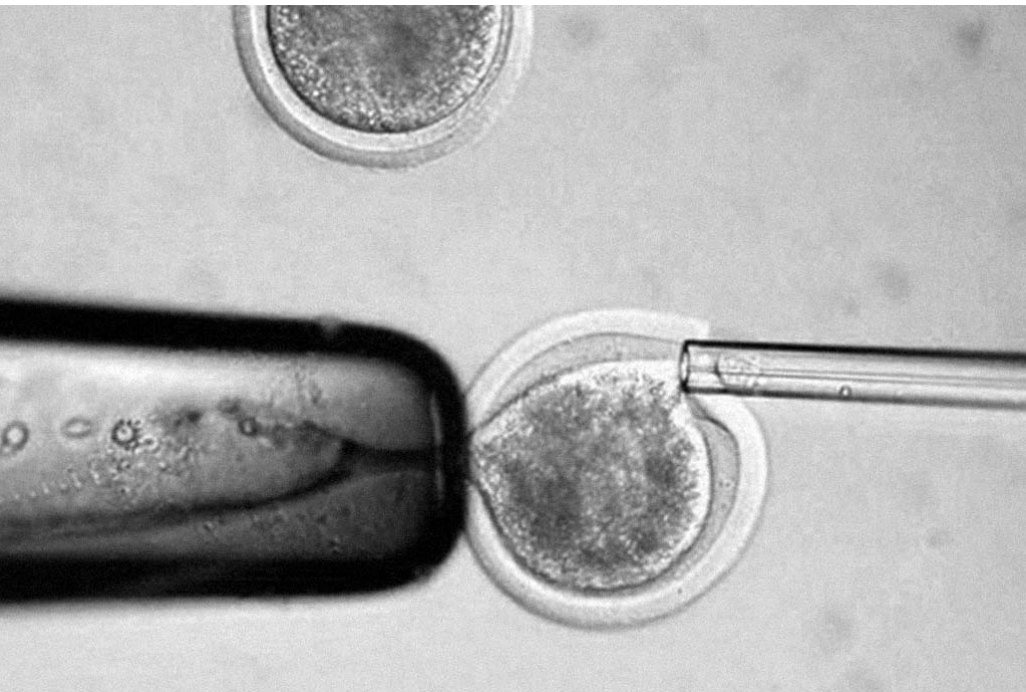
### FUNKTIONALE INTEGRATION

Bis jetzt ist es gelungen, eine Reihe unterschiedlicher Gewebegruppen aus menschlichen embryonalen Stammzellen zu züchten. So etwa Vorläuferzellen von Nervenzellen, Herzmuskelzellen, Blutgefäßzellen, Blutzellen, Bauchspeicheldrüsenzellen, Leberzellen und Trophoblastenzellen. Die Zuordnung der Vorläuferzellen zu einer dieser Gewebegruppen erfolgte dabei jedoch zumeist nicht durch den Nachweis ihrer Funktionalität, sondern aufgrund der von den Zellen gebildeten Oberflächenmoleküle. Nur in einigen Fällen wurden die aus menschlichen embryonalen Stammzellen gewonnenen Vorläuferzellen in Modellorganismen wie Mäuse und Hühner transplantiert. In keinem dieser Fälle konnte bislang eine funktionale Beteiligung der Zellen an einem Gewebeverband beschrieben werden. (Kompetenz Netzwerk Stammzellforschung NRW 2007).

Dabei ist es wichtig zu sehen, dass der Nachweis der korrekten funktionalen Beteiligung der Zellen an einem Gewebeverband nicht nur erbracht werden muss, um tatsächlich davon sprechen zu können, dass sich embryonale Stammzellen vollständig zu gewebespezifischen Zellen differenzieren lassen, sondern vor allem auch, um den anvisierten therapeutischen Effekt erzielen zu können. Erst wenn die im Labor aus embryonalen Stammzellen gezüchteten Zellen nach der Transplantation im Zielgewebe des Empfängers einwachsen und dort jene Funktionen übernehmen, die zuvor von den dort zugrunde gegangenen Zellen wahrgenommen wurden, kann von einem therapeutischen Ansatz mit menschlichen embryonalen Stammzellen die Rede sein.

### PLURIPOTENZ HUMANER EMBRYONALER STAMMZELLEN

Eine embryonale Stammzelle sollte sich in alle Zellen eines erwachsenen Organismus differenzieren können. Diese Differenzierung sollte in vitro und in vivo stattfinden können, in Tumoren und in Chimären. Weiter sollten embryonale Stammzellen in den Chimären zu Gameten differenzieren können, aus denen sich wiederum normale adulte Organismen entwickeln sollten. Bis jetzt erfüllen einzig und allein embryonale Stammzellen der Maus diese Kriterien (Solter 2006). Wie



Klonen: Das Bild zeigt den Versuch, eine Körperzelle in eine zuvor entkernte menschliche Eizelle zu übertragen.

al. 2005). Epigenetische Veränderungen führen häufig zu einer erhöhten Tumorneigung (Rugg-Gunn et al. 2005). Auch kommt es in embryonalen Stammzellen zu einer Selektion aneuploider Zellen mit chromosomaler Instabilität (Draper et al. 2004), was wiederum die Wahrscheinlichkeit der Entstehung von Tumoren deutlich erhöht. Eine wichtige neuere Arbeit zeigt, dass menschliche embryonale Stammzellen selbst im Falle einer Xenotransplantation auf Ratten rasch zu Instabilität und undifferenzierter Vermehrung neigen (Roy et al. 2006). Daher wäre das Risiko für den zu behandelnden Patienten, an Krebs zu erkranken, selbst dann sehr hoch, wenn es für embryonale Stammzellen Differenzierungs- und Aufreinigungsmethoden gäbe, mit denen sich eine hundertprozentige Reinheit erzielen ließen.

Für die Praxis bedeutet dies, dass das Tumorriskiko vor jedem therapeutischen Einsatz tierexperimentell (in homologen

mehr nachweisen lassen: Denn das Nichtvorhandensein ihres Nachweises ist nicht gleichbedeutend mit dem Nachweis ihres Nichtvorhandenseins.

Um letzteren zu erhalten, bedürfte es nicht nur reproduzierbarer Protokolle zur Aufreinigung der differenzierten Zellen, sondern auch deren langfristiger Erprobung in Tierstudien. Die Nicht-Beobachtung von Tumorbildung im Mausmodell über wenige Wochen gewährleistet eben nicht die für eine klinische Studie notwendige Sicherheit. Eine solche Evidenz, die unabdingbare Voraussetzung klinischer Studien am Menschen wäre, ist jedoch nicht vorhanden. Unter anderem gibt es deshalb weltweit bislang keine einzige klinische Studie am Menschen mit humanen embryonalen Stammzellen.

Neben der Neigung embryonaler Stammzellen außerhalb des Embryos Tumore auszubilden, gibt noch drei weitere

Solter feststellt, fehlen bis heute sowohl der stringente Nachweis der Pluripotenz menschlicher embryonaler Stammzellen, als auch der Nachweis der funktionalen Integration von menschlichen embryonalen Stammzellen in humane Blastozysten in vivo (James et al. 2006).

## IMMUNVERTRÄGLICHKEIT

Das vierte strukturelle Problem, das der Entwicklung von Therapien mit menschlichen embryonalen Stammzellen entgegensteht, betrifft die mangelnde Immunverträglichkeit solcher Zellen. Da die aus den embryonalen Stammzellen eines menschlichen Embryos gezüchteten Zell-Transplantate vom Immunsystem des Empfängers als körperfremd erkannt werden, ist damit zu rechnen, dass das Immunsystem entsprechend reagiert und – wie bei anderen Organtransplantationen auch – versucht wird, das transplantierte Gewebe abzustößt.

Anders als bei Therapien mit adulten Stammzellen, die jeder Mensch besitzt und die im Idealfall dem Empfänger des aus ihnen gezüchteten Gewebes zuvor entnommen wurden (autologe Transplantation), würde eine Therapie mit embryonalen Stammzellen eine lebenslange Immunsuppression erforderlich machen. Aus der Organtransplantation sind gravierende Nebenwirkungen der Immunsuppression bekannt, darunter die einer massiven Infektionsgefahr und die einer langfristigen Organvergiftung sowie ein Tumorrisiko von 2,6 Prozent (Hoshida & Aozasa 2004).

Um dennoch die Immunverträglichkeit von Gewebe sicherzustellen, das aus embryonalen Stammzellen gezüchtet wurde, wird das so genannte therapeutischen Klonens diskutiert. Die Hypothese, dass »therapeutisches« Klonen beim Menschen funktionieren könnte, basiert wesentlich auf den Ergebnissen von zwei Beiträgen. In einem fälschlicherweise als »proof-of-principle« bezeichneten Artikel (Rideout et al. 2002) waren die Autoren nicht in der Lage, die Defekte der durch das Fehlen eines für das Immunsystem essentiellen Gens (Rag2) durch gentechnische Korrekturen an embryonalen Stammzellen der Originalmäuse und nachfolgendem »therapeutischen« Klonen zu heilen.

Die Ursache des Therapieversagens der durch Kerntransfer gewonnenen embryonalen Stammzellen war bei den Empfänger-mäusen das Auftreten von so genannten natürlichen Killerzellen (NK), die zur Abstoßung der aus geklonten embryonalen Stammzellen gewonnenen

Zellen führten. Dazu kam es anscheinend, weil die aus den geklonten Embryonen gewonnenen Stammzellen eine zu niedrige Konzentration von MHC-Klasse-I-Molekülen aufwiesen, Proteine, die das Immunsystem zur Selbsterkennung benötigen. Um doch noch einen »Erfolg« zu erzielen, wurde die Therapie an anderen mutierten Rag2-defizienten Mäusen durchgeführt, die auch keine NK Zellen produzieren können. Es wurde ein – wenn auch äußerst bescheidender – therapeutischer Effekt beobachtet. Diese Mäuse waren jedoch nicht die Patiententiere, deren Zellkerne zum Klonen verwendet worden waren! Ein tatsächlicher therapeutischer Erfolg stellte sich erst nach reproduktivem Klonen (Austragung geklonter Tiere) ein, deren adulte (!) Stammzellen das Immunsystem des Zellkernspender-Tieres wieder herstellten.

Da es weder in Frage kommt, Menschen zu produzieren, die keine NK-Zellen haben und auch das »reproduktive« Klonen übereinstimmend geächtet ist, stellt sich die Frage, was von der so genannten »proof of principle«-Arbeit dann noch übrig bleibt.

In dem zweiten Artikel (Barberi et al. 2003) beschreiben die Autoren die erfolgreiche Implantation Dopamin produzierender Nervenzellen aus geklonten embryonalen Stammzellen in Parkinson-Mäusen. Die Transplantation funktionierte zwar ohne Abstoßung, allerdings konnte auch bei aus normalen, ivf-Embryonen gewonnenen, embryonalen Stammzellen eine ebenso erfolgreiche Implantation erreicht werden. Diese Tatsache liegt vermutlich daran, dass das Gehirn ein immunprivilegiertes Organ ist (Drukker et al. 2004). Dazu kommt noch, dass die Gewinnung der wenigen embryonalen Stammzelllinien durch Kerntransfer, die in dieser Studie verwendet worden waren, überaus ineffizient war (Mombaerts 2003). Noch dazu dauerte die Studie zu kurz (wenige Wochen), um eine möglichen Teratomentstehung sicher auszuschließen (Nishimura et al. 2003). Wie oben erwähnt, führen die beim Klonen gehäuft auftretenden epigenetischen Modifikationen zum vermehrten Risiko einer Tumorentstehung (Gaudet et al. 2003).

Zusammenfassend muss gesagt werden, dass es derzeit keine harten Daten gibt, aus denen hervorgeht, dass das »therapeutische« Klonen jemals funktionieren könnte. Aus Sicht des Wissenschaftlers ist das jahrelange Ausbleiben weiterer Arbeiten auf diesem Gebiet mangels veröffentlichter Studien sehr auffällig und deutet darauf hin, dass dieser Ansatz aufgegeben wurde. Veröffentlichungen der

Gruppe um Woo-suk Hwang, die zunächst als Nachweis der Möglichkeit der Herstellung menschlicher embryonaler Stammzellen durch Kerntransfer erschienen, stellten sich im Nachhinein als Fälschungen heraus (Rusnak & Chudley 2006). Insofern muss es erstaunen, dass die öffentliche Wahrnehmung des »therapeutischen Klonens« teilweise immer noch im Gegensatz zur wissenschaftlichen Sicht steht. Besonders erstaunlich ist es, wenn trotz der vernichtenden wissenschaftlichen tierexperimentellen Befunde hin und wieder auch politisch das experimentelle Klonen menschlicher Embryonen zur Entwicklung des »therapeutischen Klonens« gefordert wird.

## FAZIT

Ungeachtet der ethischen Problematik der menschliche Embryonen verbrauchenden embryonalen Stammzellforschung, gibt es aus wissenschaftlicher Sicht derzeit keine realistische Aussicht auf einen therapeutischen Erfolg versprechende Entwicklung zur Heilung degenerativer Erkrankungen auf Basis embryonaler Stammzellen. Anlass für realistische Hoffnungen auf Heilung bietet hingegen die adulte Stammzellforschung, die zudem praktisch keine ethischen Probleme aufwirft.

Angesichts knapper öffentlicher Mittel, die für Forschung zu Verfügung stehen, dürfte es eigentlich nicht im Interesse der Politik liegen, einem zwar naturwissenschaftlich interessanten, aber therapeutisch hoffnungslosen Forschungsfeld gewaltige Subventionen zukommen zu lassen und ihm so eine Priorität zuzumessen, die es angesichts der tatsächlichen, therapeutisch relevanten Forschungsergebnisse nicht besitzen kann.

**INFO** Die Literatur zu diesem Beitrag kann unter [www.alfa-ev.de](http://www.alfa-ev.de) eingesehen werden.

## IM PORTRAIT

### Professor Dr. Lukas Kenner

Univ.-Prof. Dr. Lukas Kenner ist Molekularpathologe. Er lehrt an der Universität



Wien und forscht am Ludwig-Boltzmann-Institut für Krebsforschung in Wien. Bei der Anhörung des Deutschen Bundestags im Mai zur Stammzellforschung war Kenner als Experte geladen.

## **Literaturliste zum Beitrag „Keine Aussicht auf Heilung“ von Professor Dr. Lukas Kenner, LebensForum 83 - 03/2007**

Hossmann K.: Tumorrisiko embryonaler Stammzellen. In: Deutsches Ärzteblatt, Jahrgang 100, Heft 42, A2730 vom 17.10.2003

Nishimura F, Yoshikawa M, Kanda S et al. Potential use of embryonic stem cells for the treatment of mouse Parkinsonian models: improved behaviour by transplantation of in vitro differentiated dopaminergic neurons from embryonic stem cells. *Stem Cells* 2003; 21 (2):171-80.

Dihné, M., C. Bernreuther, et al. (2006). „Embryonic stem cell-derived neuronally committed precursor cells with reduced teratoma formation after transplantation into the lesioned adult mouse brain.“ *Stem Cells* 24(6): 1458-66.

Fujikawa, T., S. H. Oh, et al. (2005). "Teratoma formation leads to failure of treatment for type I diabetes using embryonic stem cell-derived insulin-producing cells." *Am J Pathol* 166(6): 1781-91.

Humpherys D, Eggan K, Akutsu H et al. Epigenetic instability in ES cells and cloned mice. *Science* 2001; 293 (5527):95-7.

Maitra A, Arking DE, Shivapurkar N et al. Genomic alterations in cultured human embryonic stem cells. *Nat Genet* 2005; 37 (10):1099-103.

Rugg-Gunn PJ, Ferguson-Smith AC, Pedersen RA. Human embryonic stem cells as a model for studying epigenetic regulation during early development. *Cell Cycle* 2005; 4 (10):1323-6.

Draper JS, Smith K, Gokhale P et al. Recurrent gain of chromosomes 17q and 12 in cultured human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2004; 22 (1):53-4.

Roy NS, Cleren C, Singh SK et al. Functional engraftment of human ES cell-derived dopa-minergic neurons enriched by coculture with telomerase-immortalized midbrain astrocytes. *Nat Med* 2006; 12 (11):1259-68.

Erdo F, Buhrlé C, Blunk J et al. Host-dependent tumorigenesis of embryonic stem cell transplantation in experimental stroke. *J Cereb Blood Flow Metab* 2003; 23 (7):780-5.

Solter D. From teratocarcinomas to embryonic stem cells and beyond: a history of embryonic stem cell research. *Nat Rev Genet* 2006; 7 (4):319-27.

James D, Noggle SA, Swigut T et al. Contribution of human embryonic stem cells to mouse blastocysts. *Dev Biol* 2006; 295 (1):90-102.

Hoshida, Y. and K. Aozasa (2004). "Malignancies in organ transplant recipients." *Pathol Int* 54(9): 649-58.

Rideout WM, 3rd, Eggan K, Jaenisch R. Nuclear cloning and epigenetic reprogramming of the genome. *Science* 2001; 293 (5532):1093-8.

Barberi T, Klivenyi P, Calingasan NY et al. Neural subtype specification of fertilization and nuclear transfer embryonic stem cells and application in Parkinsonian mice. *Nat Biotechnol* 2003; 21 (10):1200-7.

Drukker M, Benvenisty N. The immunogenicity of human embryonic stem-derived cells. *Trends Biotechnol* 2004; 22 (3):136-41.

Gaudet F, Hodgson JG, Eden A et al. Induction of tumors in mice by genomic hypomethylation. *Science* 2003; 300 (5618):489-92.

Rusnak AJ, Chudley AE. Stem cell research: cloning, therapy and scientific fraud. *Clin Genet* 2006; 70 (4):302-5.