

# Wenn differenzierte Zellen wieder zu Stammzellen werden

## Über Perspektiven und Grenzen der regenerativen Medizin

von Hildegard Kaulen

Gen- und Stammzelltherapie stehen für das, wovon die Medizin schon immer geträumt hat: geschädigtes Gewebe durch gesundes ersetzen und die Wirkung defekter Gene durch intakte Kopien korrigieren. Wie ist der Stand der weltweiten Forschung? Welche Hindernisse sind zu überwinden, damit mehr Patienten von der regenerativen Medizin profitieren werden?

Der Mensch war nie bereit, sich Krankheiten widerstandslos hinzugeben, sondern hat sich stets mit allen zur Verfügung stehenden Mitteln gewehrt. Zu den großen Errungenschaften des zurückliegenden Jahrhunderts zählen Antibiotika und Impfstoffe. Sie bewirken, dass viele Krankheiten gar nicht mehr auftreten oder vollständig geheilt werden. Chronische Leiden können dagegen nur gelindert oder hinausgezögert werden. Vielleicht werden Gen- und Zelltherapie bald einige chronische Krankheiten heilen können.

### Sind Stammzellen Alleskönner?

Was wurde bisher erreicht? Um diese Frage für die Zelltherapie zu beantworten, muss man zuerst einen Blick auf die unterschiedlichen Stammzell-Typen werfen. Embryonale Stammzellen sind undifferenzierte Zellen, die sich unbegrenzt teilen und alle möglichen Spezialisierungen in den drei Keimblättern des Embryos annehmen können. **1** Sie können allerdings keinen ganzen Menschen mehr hervorbringen. Über dieses Potenzial verfügen nur die totipotenten Zellen, zu denen die befruchtete Eizelle und der Embryo nach den ersten drei Zellteilungen gehören. Embryonale Stammzellen sind demnach pluripotent.

Die Gewebe-Stammzellen des Menschen, die adulten Stammzellen, sind dagegen multipotent. Sie bringen nur die Zelltypen eines Keimblatts hervor. **2** Typische Vertreter multipotenter Stammzellen sind die blutbildenden Zellen des Knochenmarks, mit denen bei einer Blutstammzell-Transplantation das ausradierte Knochenmark eines Empfängers von Grund auf erneuert wird. Neuerdings ruhen die Hoffnungen der Medizin auf den induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS). Diese Zellen entstehen durch die Reprogrammierung differenzierter Zellen. **3** Der Zellkern



wird dabei einfach wieder auf Start gestellt. Denn die Spezialisierung der Zellen ist keine Einbahnstraße, und selbst Zellen, die bereits ein definiertes Programm ausleben, können diesen Weg wieder verlassen und in einen Zustand zurückversetzt werden, der dem der embryonalen Stammzellen ähnlich ist. Der Japaner Shinya Yamanaka hat gezeigt, dass dafür nur vier Eiweiße notwendig sind.<sup>[11]</sup> Ihrer molekularen Natur nach sind diese Eiweiße Transkriptionsfaktoren, die Gene regulieren.

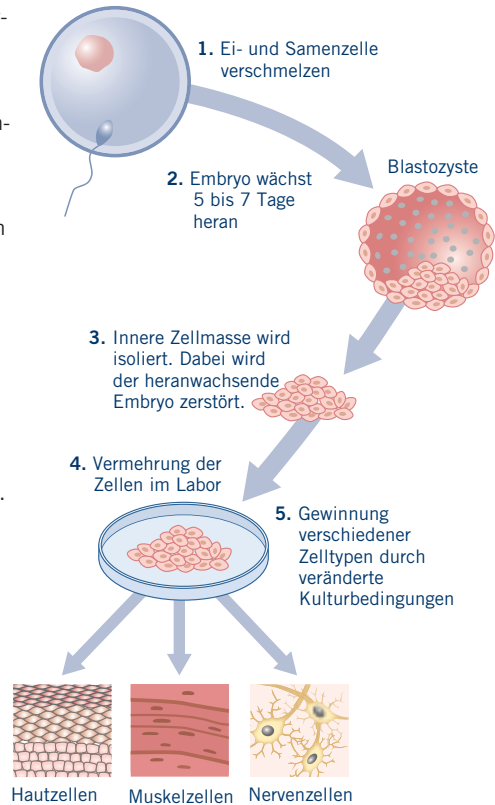
Normalerweise lenken sie das Schicksal der Zellen während der Embryonalentwicklung in die eine oder andere Richtung. Bei der Herstellung der iPS-Zellen löschen sie das bestehende Programm. Yamanaka hat diese vier Eiweiße zunächst mit Gen-Taxis in die differenzierten Zellen geschleust, inzwischen können diese Proteine auch direkt in die Zellen eingebracht werden. Aus den iPS-Zellen lassen sich wiederum differenzierte Zellen herstellen. Je nach Erfordernis können das Nerven-, Muskel-, Haut- oder andere Spezialzellen sein. Für seine Entdeckungen hat Shinya Yamanaka im vergangenen Herbst zusammen mit dem Briten John Gurdon den Nobelpreis für Physiologie oder Medizin bekommen.<sup>[12]</sup>

## Ende der Einbahnstraße

Warum beflügeln die iPS-Zellen die Fantasie der Wissenschaftler? Anders als die embryonalen Stammzellen, für deren Gewinnung ein Embryo verbraucht wird, ist der Einsatz von iPS-Zellen ethisch unbedenklich. Sie können in großen Mengen erzeugt werden und haben die gleiche genetische Ausstattung wie der Spender der differenzierten Ausgangszelle. Drei Anwendungen sind im Gespräch.<sup>[13]</sup>

- ▶ Die iPS-Zellen liefern Material für eine Zell-Therapie. Dabei ist folgendes Szenario denkbar: Ein Patient mit einer Muskelkrankheit spendet Zellen der Haut. Deren Programmierung wird gelöscht, und aus den iPS-Zellen entstehen im Labor neue Muskelzellen. Diese werden dann für eine Therapie verwendet. Bislang allerdings nur im Tierversuch. **[4]**

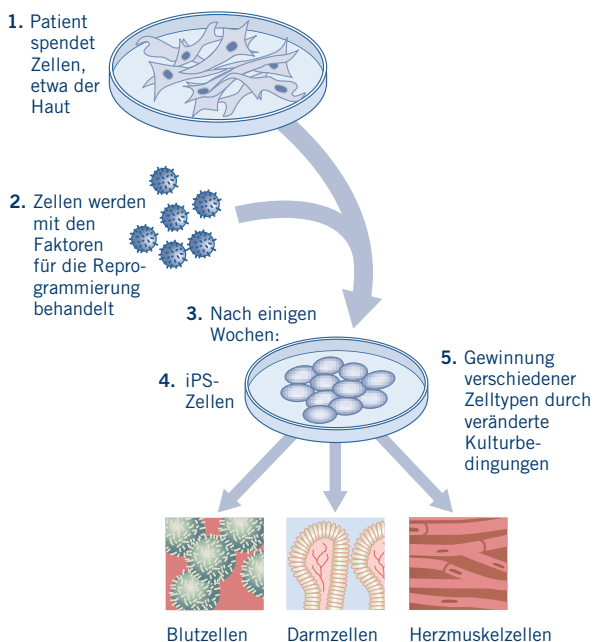
**[1]** Gewinnung embryonaler Stammzellen: Embryonale Stammzellen stammen aus einem heranwachsenden Embryo, der dafür getötet wird. Die Zellen sind pluripotent und können sich in jeden beliebigen Zelltyp verwandeln. In Deutschland verbietet das Embryonen-Schutzgesetz, menschliches Leben nur zu dem Zweck zu erzeugen, damit es anschließend vernichtet wird.

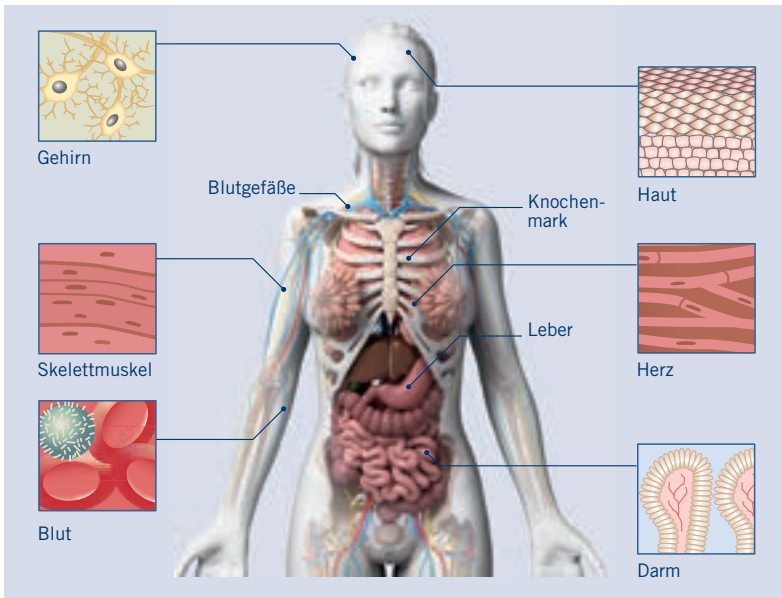


- ▶ Wenn die iPS-Zellen durch die Reprogrammierung einer genetisch kranken Ausgangszelle entstehen, haben sie auch die krankmachenden Gene. Diese iPS-Zellen können dann als Modellsystem für das jeweilige Leiden erhalten – als Krankheit in der Petrischale sozusagen. Theoretisch denkbar ist auch, den Gendefekt zu reparieren und dem Patienten die gesunden Zellen zurückzugeben, die aus der Differenzierung der korrigierten iPS-Zellen entstanden sind. Dieses Szenario ist bereits bei der Maus erfolgreich erprobt worden und wird als somatische Gentherapie bezeichnet.
- ▶ iPS-Zellen werden zur Testung neuer Wirkstoffe eingesetzt. Dadurch können vielleicht eines Tages Tierversuche reduziert oder ersetzt werden. Diese Anwendung ist ebenfalls noch in der Erprobung. **[4]**

Die Tierversuche haben einige Probleme offenbart. Undifferenzierte iPS-Zellen können nach der Transplantation an Ort und Stelle im Körper einen Tumor erzeugen. Deshalb dürfen in dem Zellgemisch, das zur Behandlung verwendet wird, keine undifferenzierten iPS-Zellen mehr enthalten sein. Die Wissenschaftler haben inzwischen Verfahrensweisen entwickelt, die dies sicherstellen. Sie müssen allerdings auch die Mechanismen der Reprogrammierung noch besser verstehen. So ist zum Beispiel noch unklar, wie sich die Rückführung in den Embryonalzustand von der Krebsentstehung unterscheidet. Denn Krebs ist im Grunde nichts anderes als eine unheilvolle Reprogrammierung des zellulären Schicksals.

**[2]** Gewinnung induzierter pluripotenter Stammzellen (iPS): iPS-Zellen entstehen durch Reprogrammierung differenzierter Zellen. Es sind nur vier Eiweiße nötig, um die einmal eingeschlagene Spezialisierung wieder zu löschen. iPS-Zellen ähneln den embryonalen Stammzellen in vielerlei Hinsicht.





☒ Lage der adulten Stammzellen im Körper: Adulte Stammzellen ersetzen abgenutzte oder verschlissene Zellen. Sie halten den Körper ein Leben lang in Schuss und kommen in vielen Organen vor. Sie bringen nur die Zellen des jeweiligen Organs hervor, in dem sie lokalisiert sind und haben deshalb nur ein eingeschränktes Potenzial. Die Abbildung zeigt Positionen für adulte Stammzellen im Körper.

erreichen, erhält der Spender vorher einen Wirkstoff, der die Ausschüttung der Stammzellen in das Blut fördert. Der Patient unterzieht sich einer Hoch-Dosis-Chemotherapie, bei der das vom Blutkrebs befallene Knochenmark zerstört wird.

Die Ärzte sind zunächst immer bemüht, einen Spender mit identischen Gewebemerkmalen zu finden, damit es nicht zu der gefürchteten Graft versus Host Disease (GvHD) kommt. Bei dieser Komplikation greifen die Immunzellen des Spenders die Körperzellen des Empfängers an. Stimmen die Gewebemerkmale überein, sind GvHD-Reaktionen seltener und besser kontrollierbar. Weichen sie allerdings ab, kann es zu gravierenden Abwehrreaktionen kommen, die schwer zu beherrschen sind. Falls kein geeigneter Knochenmarkspender zur Verfügung steht, ist heute auch eine haploidentische Transplantation von Blutstammzellen möglich. Bei diesem Verfahren erhalten die Kranken die Spende eines Elternteils. Weil aber nur die Hälfte ihrer Gewebemerkmale mit denen des Vaters oder der Mutter übereinstimmen, besteht immer eine große Gefahr für eine GvHD-Reaktion.

### Blutstammzellen zur Regeneration des Herzmuskels

Die blutbildenden Stammzellen des Knochenmarks werden auch für die Regeneration des infarktgeschädigten Herzens verwendet.<sup>15/</sup> Den Patienten werden dazu eigene Blutstammzellen entnommen, im Labor aufbereitet und wenige Tage nach der Öffnung des verschlossenen Herzkranzgefäßes über einen Herzkatheter an die Infarktstelle gebracht. Dabei gehen die Mediziner ähnlich wie bei der Behandlung von Blutkrebs

### Seit über 50 Jahren Knochenmarkstransplantation

Während die Therapie mit iPS-Zellen noch Zukunftsmusik ist, ist die Behandlung mit den hämatopoetischen Stammzellen des Knochenmarks bei Blutkrebs längst tägliche Routine.<sup>14/</sup> Die erste Knochenmarkstransplantation liegt mehr als 50 Jahre zurück. 1959 erhielt eine todkranke Leukämie-Patientin frische blutbildende Zellen aus dem Knochenmark ihrer eineiigen Zwillingsschwester. Ihr eigenes mit Krebszellen durchsetztes Knochenmark war zuvor durch Bestrahlung zerstört worden. Die Leukämie konnte damals nur für drei Monate zurückgedrängt werden. Das Verfahren ist inzwischen in vielerlei Hinsicht weiterentwickelt worden, so dass heute viele Patienten geheilt werden können. Allerdings werden die Stammzellen nur noch selten aus dem Knochenmark des Spenders isoliert, sondern aus seinem Blut. Um eine gute Ausbeute zu

## Kleines Stammzell-Glossar

- ▶ **Adulte Stammzellen** sind im Körper vorhandene Stammzellen. Sie regenerieren das Gewebe bei Verletzungen und erneuern kurzlebige Zellen.
- ▶ **Embryonale Stammzellen** sind frühe embryonale Zellen. Sie können sich unter Wahrung ihrer Identität immer wieder selbst erneuern und sich in rund 200 verschiedene Zelltypen des Körpers verwandeln. Neuerdings scheint sogar die Möglichkeit zu bestehen, sie ohne Befruchtung aus geklonten Körperzellen zu gewinnen. Dabei wird der Kern einer adulten menschlichen Zelle in eine entkernte menschliche Einzelle transferiert.
- ▶ **Haploidentische Stammzellen** sind Stammzellen eines Knochenmarkspenders, die nur bei der Hälfte der Gewebemerkmale mit denen des Empfängers übereinstimmen.
- ▶ **Induzierte pluripotente Stammzellen** sind Zellen, die durch die Reprogrammierung differenzierter Zellen gewonnen werden.
- ▶ **Knochenmarkzellen** sind ein aus den Beckenknochen entnommenes und im Labor aufgearbeitetes Gemisch verschiedener Stammzellen.
- ▶ **Multipotente Stammzellen** bilden spezialisierte Zellen und Gewebetypen, aus Blutstammzellen entwickeln sich zum Beispiel die verschiedenen Zellen des Blutes.
- ▶ **Periphere Blutstammzellen** werden nach der Gabe eines blutbildenden Wachstumsfaktors aus dem Knochenmark in die Blutbahn abgegeben.
- ▶ **Pluripotente Zellen** können sich in jeden Zelltyp verwandeln, aber keinen neuen Organismus bilden.
- ▶ **Somatische Stammzellen** sind multipotente Stammzellen aus den verschiedenen Geweben des Körpers.
- ▶ **Totipotente Zellen** können sich in ein ganzes Individuum entwickeln, totipotent sind die befruchtete Eizelle und der frühe Embryo bis zum Achtzellstadium.

vor, nur dass die hämatopoetischen Stammzellen nicht ins Blut, sondern ins Herz gegeben werden. Die klinischen Studien haben zwar gezeigt, dass sich die Herzleistung durch die Stammzelltherapie vorübergehend verbessert, dass die Zellen aber noch nicht lange gut genug im Infarktareal bleiben, um dort eine dauerhafte Regeneration des Herzmuskelgewebes zu bewirken. Die meisten Stammzellen verschwinden zu schnell wieder und die wenigen, die bleiben, entfalten ihre therapeutische Wirkung eher über die Freisetzung von Botenstoffen als durch die Umwandlung in Herzmuskelzellen. Offensichtlich ist die ideale Stammzelle für die Therapie der Herz- und Gefäßerkrankungen noch nicht gefunden worden.

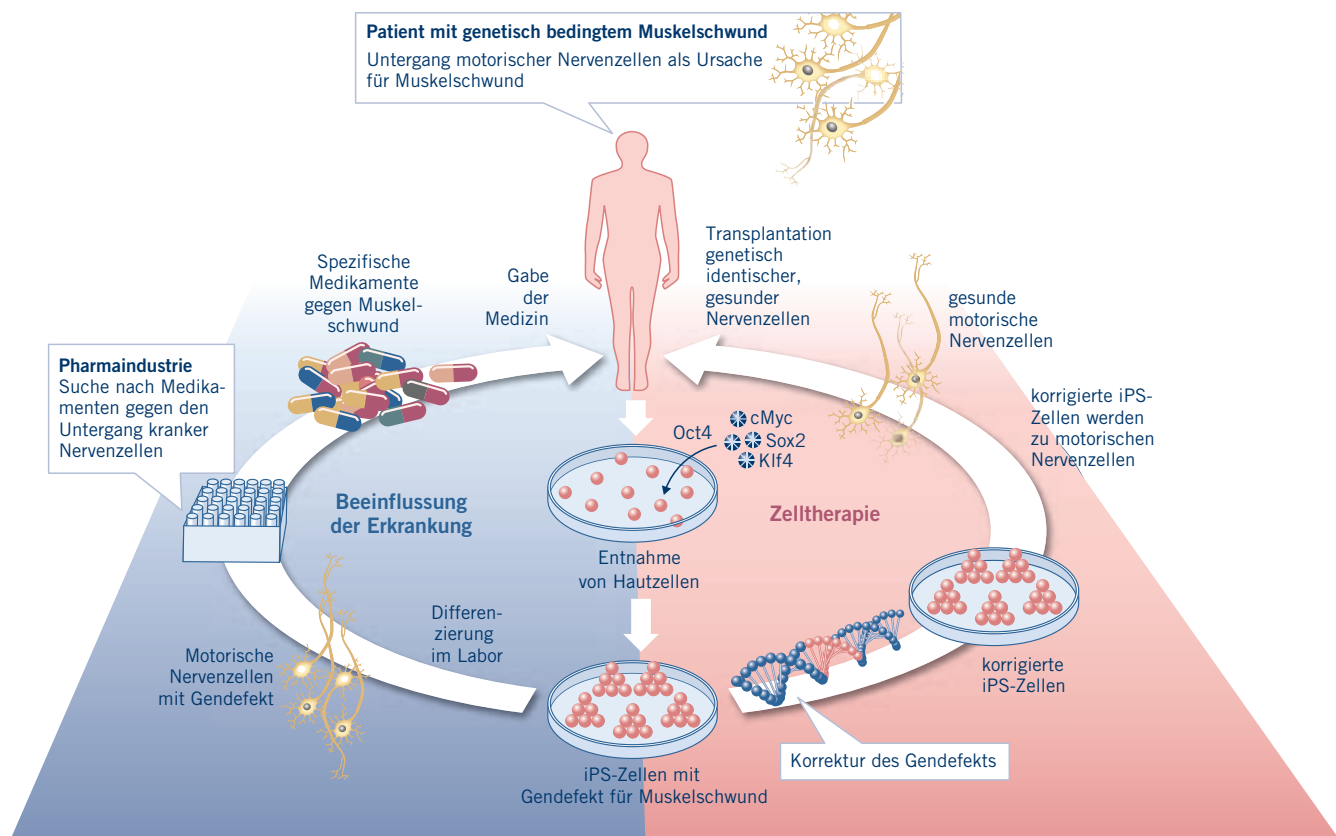
## Mit dem Gen-Taxi in den Zellkern

Bei der somatischen Gentherapie versuchen die Wissenschaftler, die Wirkung einer krankmachenden Mutation in den Körperzellen aufzuheben. Weil die Genkorrektur nicht vererbt wird, bleibt sie auf den Patienten beschränkt – wie ein Kunstgelenk oder eine Herzklappe. Eine Keimbahntherapie, bei der die Genkorrektur an die nachfolgenden Generationen weitergegeben wird, ist dagegen weltweit geächtet. Wie bei der somatischen Gentherapie vorgegangen wird, hängt von der Wirkung der krankmachenden Mutation ab.<sup>161</sup> Sorgt der Fehler im Erbgut dafür, dass ein relevantes Eiweiß fehlt oder defekt ist, wird man bei der Gentherapie versuchen, den Zellen eine intakte Kopie des Gens zu geben, damit wieder ein funktionierendes Ei-

weiß hergestellt wird. Führt die Mutation dazu, dass ein Eiweiß über den Bedarf hinaus produziert wird, ist das Ziel der Gentherapie, seine Herstellung wieder auf das normale Maß zurückzuschrauben. Eine weitere Strategie kann sein, mit dem therapeutischen Gen nur die Folgen einer Mutation zu korrigieren, ohne direkt an dem mutierten Gen anzusetzen. Auch ein Austausch des defekten Gens gegen eine intakte Kopie, also eine echte Gen-Reparatur, ist theoretisch denkbar. Dazu muss das kranke Gen aus dem Genom einer Zelle herausgeschnitten und an gleicher Stelle durch ein gesundes Gen ersetzt werden.

Therapeutische Gene werden zumeist mit Gen-Taxis in die Zielzellen geschleust. Gentherapie-Forschung ist deshalb in großen Teilen Gen-Taxi-Forschung. Als Gen-Taxis werden vor allem Viren verwendet, weil sie im Laufe der Evolution effiziente Strategien entwickelt haben, um Erbmateriale in eine Zielzelle zu transferieren. Außerdem haben Viren ein sehr kleines und übersichtliches Genom. Bisher wurden vor allem entschärfte Retroviren, Lentiviren, Adenoviren oder Adeno-assoziierte Viren als Gen-Taxis verwendet. Lentivirale Taxis leiten sich von dem HI-Virus ab, adenovirale Taxis vom Schnupfenvirus.

Jedes dieser Gen-Taxis hat andere Vor- und Nachteile. Retro- und lentivirale Vektoren bauen ihre Gefrachts in das Erbgut der Zielzelle ein. Adenoviren finden nur den Weg in den Zellkern, aber nicht ins Genom. Ein ins Erbgut der Körperzelle integriertes Therapie-Gen wird bei der Zellteilung an beide Tochterzel-



4 Einsatzgebiete für Stammzellen: Stammzellen können für eine Zell-Therapie oder für die Arzneimittelforschung verwendet werden. Das Potenzial wird am Beispiel eines Patienten illustriert, der unter spinaler Muskelatrophie leidet, einer angeborenen Form von Muskelschwund. Die Krankheit entsteht dadurch, dass defekte motorische Nervenzellen ihre Impulse nicht mehr an die Muskeln weitergeben. Die Muskeln zeigen daraufhin Lähmungserscheinungen und verkümmern. Der Patient könnte genkorrigierte motorische Nervenzellen erhalten, oder die defekten Nervenzellen könnten für die Suche nach einem Medikament verwendet werden. Die Verfahren sind noch nicht über das Experimentalstadium hinausgekommen.

## Auf den Punkt gebracht

- Induzierte pluripotente Stammzellen, kurz iPS-Zellen, beflügeln die Fantasie der Wissenschaftler und die Hoffnung der Patienten: Sie liefern ausreichend Material für Zell- und Gentherapie und sind – anders als die embryonalen Stammzellen – ethisch unbedenklich.
- Gen-Taxis schleusen die intakte Kopie eines Gens in die Zelle und korrigieren die Wirkung einer krankmachenden Gen-Mutation. Die Mechanismen der Gentherapie sind im Prinzip verstanden worden, jetzt müssen die Sicherheitsstandards erhöht werden. Wissenschaftler erforschen daher die Vor- und Nachteile unterschiedlicher Viren als Gen-Taxi.
- Lernen aus Rückschlägen – der lange Weg zur breiten Anwendung bei Patienten: Wenn unerwartete Abwehrreaktionen gegen gespendetes Knochenmark auftauchen, wenn Stammzellen verschwinden, bevor sie dauerhaft zur Regeneration des Herzmuskels beitragen, wenn Gen-Taxis unerwünschte Immunreaktionen auslösen, müssen Grundlagenforscher gemeinsam mit Medizinern »nachbessern«.

len weitergegeben. Ein nicht integriertes Therapie-Gen wird sich bei der Zellteilung verdünnen, weil es ungleich an die beiden Tochterzellen weitergereicht wird. Deshalb wird man für die Korrektur von Erbkrankheiten Vektoren verwenden, die ihre Fracht ins Genom einbauen, während man bei der Therapie anderer Erkrankungen eher auf Vektoren setzen wird, die sich allmählich ausdünnen, so dass mit Erreichen des Therapieziels auch das therapeutische Gen verschwindet. Retrovirale Vektoren befallen nur Zellen, die sich teilen. Lentivirale Vektoren verschaffen sich auch Zutritt zu ruhenden Zellen. Sie sind damit vielfältiger einsetzbar. Adenovirale und Adeno-assoziierte Vektoren gelangen ebenfalls in ruhende und sich teilende Zellen.

### Erhöhte Sicherheitsstandards für Gen-Taxis

Die retroviralen Gen-Fähren der ersten Stunde haben ihr Erbgut vor allem in der Nähe von aktiven Genen der Wirtszelle integriert. Dadurch konnte es zu einer Fehlregulation der betroffenen Gene oder benachbarter Gene kommen, was bei einigen Patienten zu Krebserkrankungen geführt hat. Diese Probleme sind inzwischen weitgehend – aber nicht vollständig – gelöst worden, weil die Forscher die Gen-Fähren anders zusammensetzen. Auch der Ort, an dem das Gen integriert werden soll, kann heute – zumindest im Labor – besser angesteuert werden, so dass die Gen-Fracht gezielt an bestimmten Stellen im Genom deponiert wird.

Allerdings bergen alle Verfahren, bei denen Genmaterial stabil ins Wirtsgenom integriert wird, ein theoretisches Restrisiko für Krebs. Der Nachteil der adenoviralen Vektoren besteht darin, dass sie Immunreaktionen auslösen. Diese können so schwerwiegend sein, dass sie den ohnehin geschwächten Patienten ernsthaft gefährden. Der Tod des 18-jährigen Jesse Gelsinger, der 1999 dem Höhenflug der Gentherapie einen ersten Rückschlag versetzt hat, ist auf eine solche Komplikation zurückzuführen. Das Schicksal der

bis heute mit Gentherapie behandelten Patienten zeigt, dass eine Korrektur der Gendefekte möglich ist, und dass auch eine lang anhaltende Besserung erreicht werden kann. Dennoch sind weitere Anstrengungen nötig, um die Gentherapie noch sicherer und effizienter zu machen. Die Datenbank *Gene Therapy Clinical Trials Worldwide* listet fast zweitausend durchgeführte Gentherapie-Studien auf. Bei zwei Drittel der Studien wurde Krebs behandelt, bei jeweils knapp 10 Prozent der Studien wurden Herz-Kreislauf-Erkrankungen oder Erbkrankheiten – wie etwa angeborene Immundefekte – therapiert.

### Weit entfernt von Routinebehandlungen

Vor einigen Monaten kam die erste kommerzielle Gentherapie in der westlichen Hemisphäre auf den Markt – eine von den Behörden zugelassene Therapie, keine klinische Studie mehr.<sup>171</sup> In China werden zwar auch Gentherapien angeboten, allerdings ist darüber nur sehr wenig bekannt. Mit der zugelassenen Gentherapie wird ein Fehler im Fettstoffwechsel korrigiert, die Lipoprotein-Lipase-Defizienz. Dieses Leiden tritt bei ein bis zwei Personen pro einer Million Einwohner auf. Die Betroffenen können Fett nicht richtig verdauen. Sie erhalten das Therapie-Gen über einen Adeno-assoziierten Virus-Vektor. An der Sicherheit hatten die Behörden keinen Zweifel, eher an der Wirksamkeit. Weil die Krankheit so selten ist, waren für die Zulassung nur 27 Personen behandelt worden. Von einem Routineverfahren ist die Gentherapie also noch weit entfernt. ♦

## Die Autorin



**Dr. Hildegard Kaulen**, 54, ist Molekularbiologin. Nach Stationen an der Rockefeller Universität in New York und der Harvard Medical School in Boston ist Hildegard Kaulen seit Mitte der 1990er Jahre für angesehene Tageszeitungen und Wissenschaftsmagazine als freie Wissenschaftsjournalistin tätig.

### Ausgewählte Literatur

- |   |  |  |
|---|--|--|
| <sup>11/</sup> Takahashi K., Yamanaka S. (2006) <i>Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors</i> Cell 126: 663–676. | <sup>14/</sup> Copelan EA. (2006) <i>Hematopoietic stem cell transplantation</i> The New England Journal of Medicine 354: 1813–1826. | <sup>16/</sup> Fischer A., Cavazano-Calvo M. (2008) <i>Gene therapy of inherited diseases</i> The Lancet 371: 2044–2047. |
| <sup>12/</sup> www.nobelprize.org.  | <sup>15/</sup> Assmus B. et al., (2006) <i>Transcatheter transplantation of progenitor cells after myo-</i>                          | <sup>17/</sup> Gruber K. <i>Europe gives gene therapy the green light.</i> (2012) The Lancet 380: November 17, e10.      |