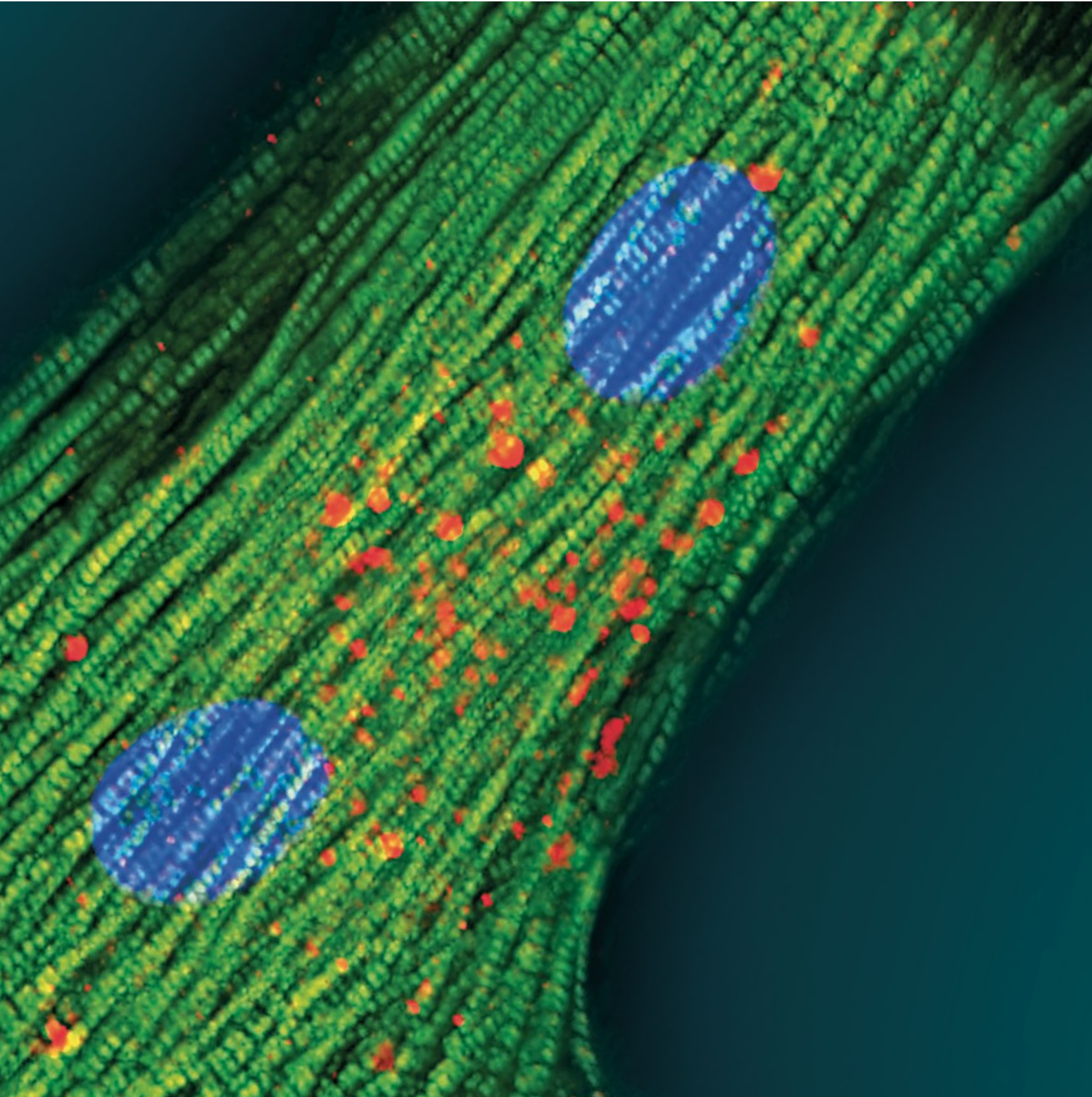


GEN DIALOG

www.gensuisse.ch | April 2015



KLONEN UND REPROGRAMMIEREN

1902



Hans Spemann teilt einen zweizelligen Salamanderembryo mithilfe eines Haars. Es entstehen zwei Salamanderklone. 1928 bestätigt er, dass der Zellkern die Informationen zur Ausbildung eines vollständigen Organismus enthält.

1958



Dem Briten Sir John Gurdon gelingt es, aus dem Zellkern einer amphibischen Körperzelle einen Klon herzustellen.

1984



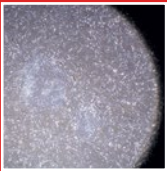
Steen Willadsen kloniert das erste Säugetier, indem er eine Zelle eines achtzelligen Lammembryos isoliert und mit einer entkernten Eizelle verschmilzt. Drei Lämmer entstehen durch somatischen Zellkerntransfer.

1996



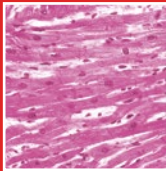
Ian Wilmut gelingt es als Erstem, ein Säugetier aus der Zelle eines erwachsenen Tieres zu klonen – Dolly ist geboren. Ein Jahr später präsentiert Ian Wilmut das transgene Schaf Polly, welches in seiner Milch ein Protein zur Blutgerinnung produziert.

2006



Die Japaner Shin'ya Yamanaka und Kazutoshi Takahashi zeigen an Hautzellen von Mäusen, dass vier Faktoren ausreichen, um die Erbanlagen dieser Zellen zu reprogrammieren und damit in den embryonalen Zustand zurückzusetzen. Sie nennen diese Zellen induzierte pluripotente Stammzellen (iPS-Zellen).

2010



Ieda et al. zeigen, dass Zellen auch direkt reprogrammiert werden können. Sie wandeln Hautzellen mit wenigen Faktoren in Herzmuskelzellen um.

2013



Shoukhrat Mitalipov und sein Team überwinden jahrelange technische Schwierigkeiten beim somatischen Zellkerntransfer und schaffen es als erste Forscher, aus einer erwachsenen Hautzelle menschliche embryonale Stammzellen zu klonen.

Glossar

Fibroblasten

Bindegewebszellen

Genexpression

Vorgang bei welchem die genetische Information umgesetzt und für die Zelle nutzbar gemacht wird

Genom

Gesamtheit der Erbinformation, d.h. aller Gene, einer Zelle oder einer Art

Graft versus host Syndrom

Zellschädigung infolge einer Immunreaktion nach Transplantation

Methylierung(smuster)

Chemische Kopplung von Methylgruppen an die DNA-Base Cytosin

Mutation

Spontane oder durch äussere Einflüsse (z.B. Strahlung, Chemikalien) erzeugte Veränderung des Erbmateri als

Pluripotenz

Fähigkeit einer Stammzelle, sich in nahezu alle Zellarten differenzieren zu können

Somatischer Zellkerntransfer

Übertragung eines Zellkerns einer Körperzelle in eine kernlose Keimzelle

Spindelproteine

Verteilen die Chromosomen bei der Zellteilung auf die Tochterzellen

Transgen

Gen, das in das Erbgut eines Organismus eingebracht wurde

Transkriptionsfaktor

Proteinkomplex, welcher die Aktivität unserer Gene steuert

3	Vorwort
4	Klonen und Reprogrammieren – von den Anfängen bis heute
6	Grenzen und Möglichkeiten
9	Medizinischer Nutzen und Ausblick
10	Ethische Aspekte
11	Referenzen und Links

Vorwort

Das Thema «Klonen» führt in der ganzen Welt immer wieder zu hitzigen Diskussionen. Insbesondere dann, wenn ein wissenschaftlicher Durchbruch auf diesem Gebiet erzielt wird. So im Jahr 1997, als Ian Wilmut sein Klon-Schaf Dolly präsentierte und damit zeigte, dass es möglich ist, aus einer ausgewachsenen Zelle eines Säugtiers ein genetisch identisches Individuum zu erschaffen. Hingegen sorgte die Meldung, dass Shoukhrat Mitalipov und sein Team im Jahr 2013 erfolgreich embryonale humane Stammzellen aus Hautzellen herstellten und damit die ersten nachgewiesenen menschlichen geklonten Zellen erzeugten, zumindest in der Forscherwelt für wenig Aufsehen. Was war passiert? Im Jahr 2006 entdeckten die Japaner Shin'ya Yamanaka und Kazutoshi Takahashi eine weitaus einfachere Methode, das sogenannte Reprogrammieren, um Zellen in ihren ursprünglichen Zustand zurückzusetzen. Induzierte pluripotente Stammzellen (iPS-Zellen) können sich in beinahe alle Zellarten verwandeln. Das Ziel des Klonens, welches therapeutischen und medizinischen Zwecken dient – und nicht der Herstellung einer identischen Kopie von uns Selbst –, konnte nun wesentlich einfacher und kostengünstiger verfolgt werden, denn iPS-Zellen sind quasi geklonte Zellen. Ein Klon wird definiert als eine genetisch identische Zelle, genetisch identische Zellverbände oder ganze Organismen, welche durch ungeschlechtliche Vermehrung entstanden sind. Klone können natürlich vorkommen, wie dies bei Bakterien, Hefen, der Erdbeere und eineiigen Zwillingen der Fall ist, oder künstlich durch Erzeugung im Labor entstehen.

Dennoch feuerte die Entdeckung von Mitalipov die ethische Debatte wieder an und machte deutlich, dass die Gesetzeslage in vielen Ländern unterschiedlich ist. In der Schweiz ist das Klonen verboten. Die Schweizerische Bundesverfassung und das Fortpflanzungsmedizingesetz halten hierzulande das Klonverbot fest und setzen das Klonen unter Strafe. Im Film «The Island» werden



menschliche Klone als Ersatzteillager für Organe gezüchtet, in «Star Wars» werden Klone als Krieger gezeugt – Schreckensszenarien, die wir nicht zu befürchten haben.

Im aktuellen Gen Dialog nehmen wir Sie mit auf eine Reise durch die Geschichte des Klonens und Reprogrammierens. Wir zeigen Ihnen, mit welchen Risiken das Klonen verbunden ist und präsentieren Ihnen den derzeitigen Stand der Forschung. Der medizinische Nutzen des Forschungsklonens und Reprogrammierens wird dargelegt. Am Ende betrachten wir das Thema aus ethischer Sicht und geben einen kurzen Ausblick.

Dr. Daniela Suter
Geschäftsführerin

GEN SUISSE.

Die Schafe Dolly
und Bonny

Klonen und Reprogrammieren – von den Anfängen bis heute

Klone – genetisch identische Organismen – wurden bereits vor mehr als 100 Jahren zum ersten Mal dokumentiert. Im Jahr 1891 gelang es dem Deutschen Hans Adolf Eduard Driesch an der Zoologischen Station in Neapel, durch Schütteln zweizelliger Seeigelembryonen, welche sich daraufhin teilten, zwei genetisch identische Seeigel heranwachsen zu lassen. Dieses Experiment zeigte, dass jede einzelne Zelle eines frühen Embryos das Potenzial hat, sich zu einem vollständigen Organismus zu entwickeln (Box 1). Im Jahr 1928 konnte Hans Spemann anhand von Experimenten mit Salamanderembryos beweisen, dass der Kern einer Zelle die Informationen enthält, welche für diese Entwicklung notwendig sind.

Sir John Bertrand Gurdon gilt als Pionier des Zellkerntransfers und Klonens. Er war der erste Forscher, dem es 1958 gelang, aus dem Zellkern einer Körperzelle, und nicht wie bisher aus embryonalen Zellen, einen Klon herzustellen. Gurdon transplantierte den Zellkern einer Darmzelle einer Kaulquappe in eine entkernte Frosch-Eizelle. Von der Eizelle ausgehende (noch weitgehend unbekannt) Impulse bewirkten eine Reprogrammierung des Zellkerns und ermöglichten so die Ausbildung eines vollständigen Organismus. Die von Gurdon entwickelten Methoden werden noch heute verwendet (Box 2). Für diese bahnbrechenden Erkenntnisse wurde ihm (zusammen mit Shin'ya Yamanaka) 2012 der Nobelpreis verliehen.

Das Klonen eines Säugetiers ist technisch sehr viel anspruchsvoller, da die Eizellen wesentlich kleiner sind. Daher gelang das Klonen eines Säugetierembryos zum ersten Mal erst im Jahr 1975 durch J. Derek Bromhall. Dieser Embryo wurde jedoch nie weiter entwickelt als bis zu einem mehrzelligen Stadium (Blastozyste). Die ersten vollständig entwickelten Säugetierklone wurden durch somatischen Zellkerntransfer (Box 2) aus Lammembryonen erzeugt. 1984 wurden so drei genetisch identische Schafe geboren.

Eines der wohl bekanntesten Klonexperimente wurde 1996 durchgeführt und führte zur Geburt des Schafes Dolly. Ian Wilmut und Keith Campbell war es zum ersten Mal gelungen, aus

einer vollständig entwickelten erwachsenen Körperzelle einen kompletten Organismus zu klonen – ein Meilenstein in der Geschichte des Klonens. Diese Entdeckung lieferte den wichtigen Hinweis, dass sich schon differenzierte Säugerzellen mittels aktivierter Eizellen vollständig reprogrammieren lassen. Die Schwierigkeit bei der Nutzung erwachsener Zellen ist, dass die Gene in diesen Zellen zum Teil bereits ausgeschaltet worden sind, da sie für die weitere Entwicklung nicht mehr benötigt werden. Um einen neuen Organismus herzustellen, müssen jedoch genau diese Gene wieder aktiv sein. Daher muss die genetische Information nach dem Kerntransfer wieder auf den Ursprungszustand zurückversetzt werden. Dies gelingt oft nur teilweise und die Ausbildung eines vollständigen Organismus schlägt fehl. Wilmut und Campbell benötigten 227 Anläufe, um das berühmte Schaf Dolly zu klonen. Zudem hatte Dolly eine verkürzte Lebensdauer, da ihr Erbgut dem eines erwachsenen Tieres glich. So starb es bereits im Alter von sechs Jahren – vier Jahre früher als erwartet. Darüber hinaus war Dolly übergewichtig und litt an Arthritis, womöglich Komplikationen aufgrund des Klonens.

Ein weiterer Meilenstein in der Geschichte des Klonens und Reprogrammiers war im Jahr 2006

① EMBRYONENSPLITTING

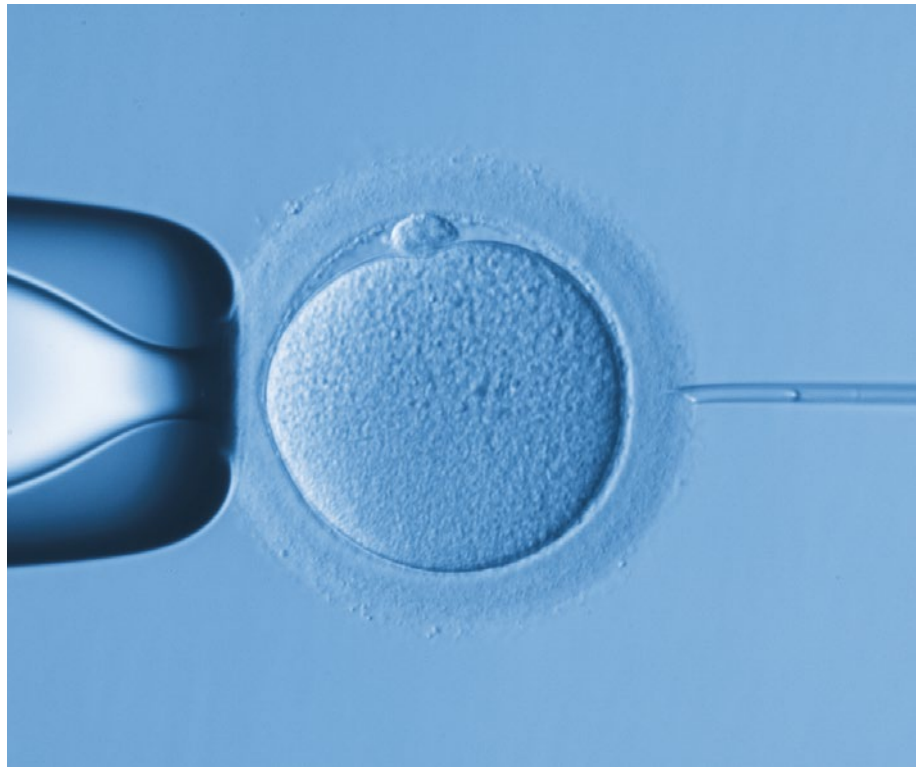
In den ersten Tagen nach der Befruchtung ist ein Embryo aus ein paar undifferenzierten Zellen aufgebaut. Beim künstlich erzeugten Embryonensplitting wird dieser Embryo in der Petrischale in einzelne Zellen aufgeteilt. Jede dieser Zellen enthält das Potenzial, einen kompletten Organismus zu bilden. Ein paar Tage nach der Trennung und nachdem jede einzelne Zelle weitere Zellteilungen durchgemacht hat, werden diese Zellen in eine Gebärmutter eingepflanzt. Die Entwicklung eines Säugetiers ausserhalb des Mutterleibs ist nicht möglich. Auf diese Weise entstehen genetisch identische Organismen. Diese Methode wurde beispielsweise bei Rhesusaffen getestet. Die Erfolgsquote war allerdings sehr gering: Aus 368 Zellverbänden entwickelte sich nur ein Rhesus-Embryo bis zur Geburt.

die Entdeckung von Kazutoshi Takahashi und Shin'ya Yamanaka, dass lediglich vier Proteine ausreichen, um eine Zelle in seinen ursprünglichen Zustand zurückzusetzen. Diese Entdeckung öffnete die Tür, um in absehbarer Zukunft eine therapeutische Anwendung im Menschen zu ermöglichen – die Herstellung einer individuellen Stammzelllinie, um Krankheiten zu behandeln oder zu erforschen. Im Jahr 2010 publizierten Vierbuchen et al. darüber hinaus, wie man Hautzellen gezielt in Nervenzellen umwandeln kann, indem man diese Hautzellen mit bestimmten Faktoren anreichert. Diese direkte Umwandlung spart sehr viel Zeit, da man nun Zellen nicht erst in den ursprünglichen Zustand versetzen muss, um diese dann in Nervenzellen umzuwandeln. Durch die Entdeckung der gezielten Reprogrammierung von Zellen wurden weitere Anstrengungen, menschliche Zellen zu klonen, praktisch überflüssig, denn das übergeordnete Ziel des Klonens menschlicher Zellen – zu Forschungs- und Therapiezwecken – konnte nun noch einfacher erreicht werden. Das Klonen eines Menschen gilt ohnehin weltweit als ethisch nicht vertretbar, unterliegt strikten rechtlichen Schranken und war nie Ziel seriöser Forscher. Dennoch gaben Shoukhrat Mitalipov und seine Gruppe nicht auf. Nach ersten Erfolgen des Klonens von Affenzellen im Jahr 2007 schafften sie letztendlich den Durchbruch im Jahr 2013 und publizierten die erfolgreiche Herstellung menschlicher embryonaler Stammzellen durch somatischen Zellkerntransfer. In ihrem Experiment nutzten die Forscher Hautzellen eines acht Monate alten Babys mit einer seltenen genetischen Krankheit und fusionierten diese mit Spender-Eizellen. Der daraus entstandene Embryo wurde nach maximal sieben Tagen in eine embryonale Stammzelllinie umgewandelt. 2014 zeigten Robert Lanza und Dong Ryul Lee darüber hinaus, dass es auch möglich ist, geklonte embryonale Stammzellen aus Hautzellen älterer Menschen herzustellen.

Bisher gibt es keine Hinweise darauf, dass jemals ein erwachsener Mensch erfolgreich geklont werden könnte.

② SOMATISCHER ZELLKERN-TRANSFER (SCNT)

Unter einer somatischen Zelle versteht man jede Zelle eines Körpers mit Ausnahme der Geschlechtszellen (Eizelle, Spermium). Jede Zelle – bis auf die roten Blutkörperchen – besitzt einen Zellkern, welcher unsere DNA (Erbgut) enthält. Diese DNA trägt alle Informationen, welche notwendig sind, um einen Organismus auszubilden. Für die somatische Zellkernübertragung (SCNT) wird einem Organismus eine somatische Zelle entnommen. Der Zellkern dieser Zelle wird mit einer hauchdünnen Pipette abgesaugt und in eine Spender-Eizelle übertragen, welcher vorher ebenfalls der Zellkern entfernt wurde. Substanzen der Eizelle reprogrammieren die DNA des Zellkerns durch noch weitgehend unverstandene Prozesse und versetzen sie somit in einen Ursprungszustand. Indem die Zelle einem elektrischen Strom und verschiedenen Medien ausgesetzt wird, kann sie nun aktiviert werden und beginnt sich zu teilen. Die Zugabe und Reihenfolge bestimmter Faktoren legen fest, in welche Zellart sich die embryonalen Zellen ausbilden werden. Durch Zugabe der Inhibitoren *2i/LIF* können die Zellen zum Beispiel in einem pluripotenten Zustand gehalten werden.



Grenzen und Möglichkeiten

Kann man Menschen klonen?

Ist es möglich – alle ethischen Bedenken ausgeschlossen –, eine identische Kopie von uns Selbst zu erschaffen? Theoretisch ja, aus praktischer Sicht ist dies jedoch schwierig zu erreichen.

Aus Experimenten mit Tieren weiss man, dass das reproduktive Klonen gesundheitliche Probleme verursacht: Organe waren nicht vollständig ausgebildet, das Immunsystem funktionierte nicht richtig, es kam zu Fehlbildungen oder zum sogenannten *large offspring syndrom* (Übergrösse). Manche Klone alterten frühzeitig. Die Erfolgsrate des Klonens war sehr gering und liegt bei 0,5 bis 5 Prozent, je nach Organismus. Praktisch benötigt man beim reproduktiven Klonen sehr viele Eizellen, um das Erbgut erfolgreich zu vervielfältigen. Würde man einen Menschen klonen wollen, bestünde hier ein medizinisches Risiko für die Frauen, welche die Eizellen spenden, da es sich um einen operativen Eingriff handelt. Ein weiteres praktisches Problem liegt in den Spindelproteinen, welche bei Primaten sehr nah bei den Chromosomen liegen. Bei einer Zellkernentnahme gehen diese oft verloren und die Zelle kann sich nicht mehr teilen.

Doch selbst wenn man all diese technischen Schwierigkeiten bewältigt hätte, wäre der geklonte Mensch nie 100 Prozent identisch mit seinem Original. Zum einen kommt die mitochondriale DNA von der Eizelle und damit von der Spenderin, zum anderen wird unser Erbgut während der Keimzellenentwicklung durch chemische Markierungen programmiert, welche sich im Laufe des Lebens verändern können. Diese Markierungen umfassen zum Beispiel die Methylierung bestimmter DNA Abschnitte und werden als «epigenetisch» bezeichnet, da sie nicht die DNA Sequenz direkt beeinflussen, sondern nur deren Lesbarkeit. In dem Moment, wo beim Klonen im Plasma befindliche Faktoren die DNA des Zellkerns auf seinen ursprünglichen Zustand zurückversetzen, wird auch das Methylierungsmuster komplett neu hergestellt. Es entspricht deshalb nicht mehr dem Muster der ursprünglichen Spenderzelle. Das Methylierungsmuster entscheidet aber, wie aktiv unsere Gene sind. Je mehr Methylgruppen an unserer DNA gebunden sind, desto schlechter kann ein betroffenes Gen gelesen werden, und es bleibt damit ausgeschal-

tet. Epigenetische Markierungen sind auch der Grund, warum sich Zwillinge immer mehr unterscheiden, je älter sie werden.

Darüber hinaus bestimmen die Umwelt und unser Umfeld zu einem grossen Teil unser Ich. So entwickelt sich aus einem in Europa aufgewachsenen Zwilling eine herausragende Pianistin, während die Zwillingsschwester in Nordamerika kein Interesse an der Musik hat, jedoch eine exzellente Mathematikerin wird. Selbst Zwillinge, welche im gleichen Haushalt aufwachsen, teilen nicht unbedingt dieselben Interessen und Vorlieben.

Theoretisch ist es also möglich, einen Menschen zu klonen, praktisch jedoch beinahe unmöglich, und keine Kopie würde 100 Prozent dem Original entsprechen.

Klonen – Stand der Dinge

Beim Klonen unterscheidet man grundsätzlich zwei Verfahren: das Forschungsklonen (ehemals therapeutisches Klonen) und das reproduktive Klonen. Ziel des Forschungsklonens ist die Gewinnung embryonaler oder persönlicher Stammzellen für therapeutische oder medizinische Zwecke wie beispielsweise Medikamententests, Studien von Erbkrankheiten oder die Herstellung von körpereigenem Gewebe (regenerative Medizin). Beim reproduktiven Klonen wird eine Kopie eines Individuums (z. B. eines Tiers) erschaffen.

Reproduktives Klonen

Das reproduktive Klonen eines Menschen wird fast auf der ganzen Welt abgelehnt, es existiert jedoch kein generelles Verbot, da Befürworter und Gegner sich über den Rahmen der Einschränkungen nicht einigen konnten. In den USA legt jeder einzelne Bundesstaat fest, ob es ein generelles Klonverbot gibt oder Forschungsklonen erlaubt ist. In vielen Bundesstaaten gibt es jedoch gar keine Regelung. Heute werden gelegentlich Nutztiere geklont wie beispielsweise Kühe, welche mehr Milch produzieren oder qualitativ hochwertigeres Fleisch liefern. Auch das Klonen von Rennpferden oder Rennmaultieren ist seit wenigen Jahren schon Praxis in den USA.

Für den Fall, dass ein genetisch verwandtes Tier existiert, lassen sich auch ausgestorbene Tiere klonen. Folch et al. klonen im Jahr 2009 den

im Jahr 2000 ausgestorbenen Pyrenäensteinbock mithilfe einer Eizelle des Iberiensteinbocks. Bereits im Jahr 1999 wurde eine Zellprobe des noch lebenden Tieres entnommen und eingefroren. Diese wurde zehn Jahre später verwendet, um den ausgestorbenen Pyrenäensteinbock zu klonen. Bereits wenige Minuten nach der Geburt starb das Tier jedoch an einem Lungendefekt.

Dass in Zukunft Dinosaurier wieder unsere Erde bewohnen werden, ist extrem unwahrscheinlich, da DNA (Erbgut) über einen längeren Zeitraum kaum unbeschadet erhalten bleibt. Eine Ausnahme ist die DNA eines in Sibirien im Permafrost gefundenen Wollhaarmammut-Weibchens, welches vor etwa 43 000 Jahren gelebt hat. Südkoreanische und amerikanische Forscher haben sich zum Ziel gesetzt, dieses Mammut zu klonen. Doch bisher wurden nur DNA-Fragmente gefunden und kein ganzes Mammut-Genom, welches dafür notwendig wäre. Zudem gibt es tierethische Bedenken, denn für die Klonierung müssten Elefanteweibchen Eizellen entnommen und wieder eingepflanzt werden. Darf ein Tier leiden müssen, damit ein anderes Tier leben kann?

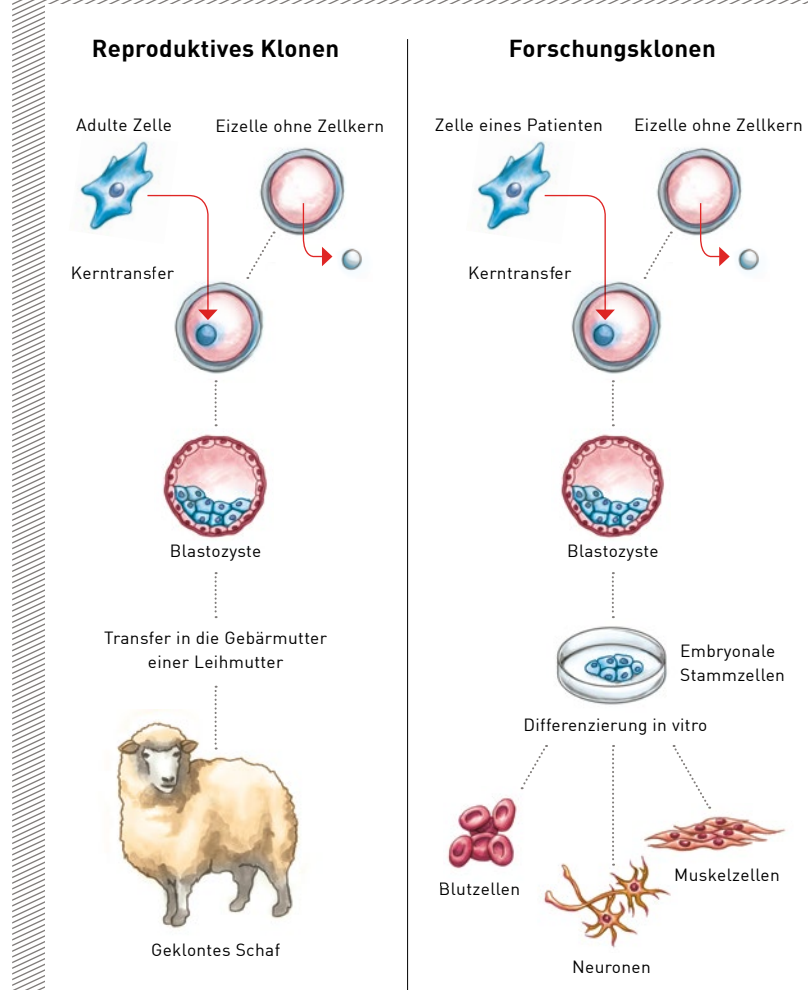
Forschungsklonen

Das Forschungsklonen ist in Grossbritannien, Schweden, Belgien, in den USA und in vielen asiatischen Ländern erlaubt. In der Schweiz sind hingegen alle Arten des Klonens verboten. Dies schliesst auch Eingriffe in das Erbgut menschlicher Keimzellen und Embryonen mit ein. Beim Forschungsklonen werden geklonte Zellen bis zur Blastozyste (Tag 5) entwickelt und embryonale Stammzellen gewonnen (Grafik rechts). Diese embryonalen Stammzellen können beispielsweise in Hautzellen umgewandelt werden, um eine schwere Verbrennung zu behandeln. Die Herstellung dieser embryonalen Stammzellen ist jedoch sehr aufwendig und benötigt – neben den geklonten Embryonen – Eizellen. Daher haben Forscher nach alternativen Methoden gesucht.

Alternativen zum Klonen

Induzierte pluripotente Stammzellen (iPS)

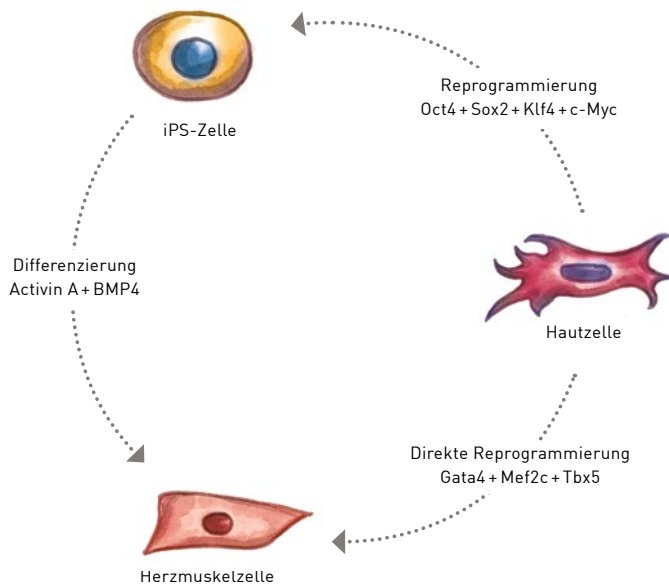
Eine alternative zum Forschungsklonen, bei welcher keine Eizellen benötigt werden, ist die sogenannte Reprogrammierung. Zellen können



mithilfe von bestimmten Transkriptionsfaktoren (Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc) in einen stammzellähnlichen Zustand versetzt werden und erhalten somit wieder die Möglichkeit, sich in viele verschiedene Zellarten zu verwandeln. Forscher sprechen von induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS-Zellen). Vorteil dieses Verfahrens im Gegensatz zum Klonen ist, dass kein Zellkerntransfer und damit keine Eizellspende notwendig ist. Nachteilig ist, dass zwei der verwendeten Proteine möglicherweise Krebs auslösen. Klf4 und c-Myc sind sogenannte Onkogene, Proteine, welche in hohen Konzentrationen in Krebszellen zu finden sind. Daher suchen Forscher heute nach alternativen Proteinen, um Zellen zu reprogrammieren.

Egli et al. bestätigten im Jahr 2014, dass – im Vergleich zu normalen Hautzellen – Klone und iPS-Zellen ähnliche Unterschiede in Bezug auf Mutationen, Methylierung und Genexpression

(In)direkte Reprogrammierung



aufweisen. Damit war klar, dass es kaum eine Rolle spielt, mit welcher Methode die pluripotenten Zellen hergestellt werden. Ein Unterschied zwischen geklonten Zellen und iPS-Zellen besteht in der mitochondrialen DNA. Mitochondrien sind die Kraftwerke unserer Zellen, haben eine eigene DNA und befinden sich im Zellplasma und nicht im Zellkern, wie der grösste Teil unseres Erbguts. Da beim Klonen Zellplasma und Zellkern von verschiedenen Quellen stammen, können geklonte Zellen beispielsweise bei Krankheiten, welche die Mitochondrien betreffen, wie die mitochondriale Myopathie (Muskelerkrankung), eingesetzt werden. Bei dieser Muskelerkrankung liegt ein Defekt in den Mitochondrien vor.

Die sogenannten induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS-Zellen) werden heute bereits vielfach in der Forschung und teilweise in der Vorklinik eingesetzt, um ihre Wirkungsweise zu testen. In Japan wandelte das Team von Masayo Takahashi beispielsweise Hautzellen einer 70-jährigen Patientin mit altersbedingter Makuladegeneration (AMD) in iPS-Zellen um und liess diese im Labor in retinale Pigmentepithelzellen differenzieren. Nach 10-monatiger Züchtung wurden diese Zellen im September 2014 in die

Netzhaut der Patientin transplantiert. Über vier Jahre wird nun beobachtet, ob die Zellen vom Körper angenommen werden und ob es zur Bildung von Krebs kommt.

Direkte Reprogrammierung

Grundsätzlich unterscheidet man indirekte Reprogrammierung, bei welcher Zellen in iPS-Zellen verwandelt werden, um sie dann in eine bestimmte Zellart zu differenzieren, und direkte Reprogrammierung, bei welcher Zellen direkt in eine bestimmte Zellart umgewandelt werden, ohne zuerst in einen stammzellartigen Zustand überzugehen (Grafik links). Diese Methodik ist relativ neu. Zwei Beispiele aus der Forschung zeigen im Folgenden, was heute bereits möglich ist:

Herzkrankheiten zählen neben Krebs zu den häufigsten Todesursachen in der Schweiz. Oft ist der Verlust oder eine Fehlfunktion der Herzmuskelzellen der Grund für diese Herzkrankheiten. Bisher gibt es kaum Möglichkeiten, um diese Herzmuskelzellen wieder zu aktivieren. Ieda et al. zeigten im Jahr 2010, dass drei Transkriptionsfaktoren (Gata4, Mef2c, Tbx5) ausreichen, um im Herzen der Maus Bindegewebszellen in funktionelle Herzmuskelzellen zu reprogrammieren. Bindegewebszellen machen im Menschen etwa 50 Prozent aller Herzzellen aus. Wenn es möglich wäre, diese Entdeckung an Herzpatienten zu bestätigen, könnte man Herzkrankheiten besser behandeln und vielleicht sogar heilen. Von einer medizinischen Anwendung am Menschen ist man jedoch noch weit entfernt. Derzeit werden erste Studien mit Säugetieren durchgeführt.

Nach einer Verletzung des Gehirns oder bei Morbus Alzheimer sammeln sich häufig Gliazellen in Teilen des Gehirns an, die neuronale Reparaturmechanismen unterbinden. Guo et al. ist es im Jahr 2014 gelungen, reaktive Gliazellen im Mausmodell direkt in Neuronen zu reprogrammieren. Sie nutzten dazu den Transkriptionsfaktor Neuro D1. Diese Umwandlung gelang zudem in humanen Zellkulturen. Ob Neuro D1 in Zukunft verwendet werden kann, um Morbus Alzheimer zu bekämpfen, muss jedoch erst in klinischen Studien bestätigt werden.

Medizinischer Nutzen und Ausblick



Prof. Dr. Rudolf Jaenisch
Whitehead Institute, MIT

Disease modelling und drug screening

«Dank patientenspezifischer iPS-Zellen ist es heute möglich, Krankheiten gezielt zu studieren», sagt Prof. Dr. Rudolf Jaenisch, Whitehead Institute, MIT. «Die Systeme, welche man bisher in der Gewebekultur entwickelt hat, um beispielsweise Neuronen oder Herzmuskelzellen herzustellen, sind sehr vielversprechend», ergänzt Rudolf Jaenisch. Die derzeit wichtigste Anwendung von iPS-Zellen ist das bereits etablierte *drug screening*, bei welchem die Wirkung von Medikamenten an humanen, einfachen Zellkulturen getestet wird. Dank Reprogrammierung besteht in Zukunft auch die Möglichkeit, beispielsweise aus körpereigenen Hautzellen Herzzellen herzustellen, um die Wirkung spezifischer Herzmedikamente an der Zellkultur zu testen. Auf diese Weise muss einem Patienten kein Herzgewebe entnommen werden.

Bei Parkinsonpatienten konnte bereits gezeigt werden, dass patientenspezifisch hergestellte Neuronen Defekte aufweisen und früher absterben. «Heute

gibt es vielversprechende Ansätze, welche versuchen, diesen Degenerationsprozess zu verhindern», erklärt Rudolf Jaenisch und ergänzt: «Ich bin der festen Überzeugung, dass es in Zukunft möglich sein wird, den Degenerationsprozess bei Krankheiten wie Parkinson oder Morbus Alzheimer zu stoppen.»

Eine zukünftige Anwendung von iPS-Zellen liegt im sogenannten *disease modelling*. Bei diesem Ansatz werden Krankheitsabläufe in Zell- bzw. Gewebekulturen analysiert. Bereits heute gibt es dreidimensionale biologische Testsysteme, welche aus verschiedenen menschlichen Zellen aufgebaut sind. An diesen werden beispielsweise Krebsmedikamente getestet. Diese Testsysteme erlauben die Analyse komplizierter biologischer Prozesse wie die Invasion von Tumorzellen in benachbartes Gewebe, welche weder am Tiermodell noch an einfachen Zellkulturen studiert werden können. Forscher erhoffen sich, eines Tages patientenspezifische Testsysteme entwickeln zu können, um die Wirksamkeit von bestimmten Medikamenten im Einzelfall zu beobachten.

Gentherapie

«Im Prinzip können iPS-Zellen für eine Transplantation verwendet werden, da dies patienteneigene Zellen sind und daher nach einer Transplantation nicht abgestossen werden», sagt Rudolf Jaenisch. iPS-Zellen können darüber hinaus unbegrenzt vermehrt werden und stehen damit in ausreichendem Mass zur Verfügung. Dies ist derzeit jedoch sehr kostspielig, denn um ausreichend Zellen für eine Transplantation zu generieren, vergehen einige Monate. «Unsere Studien an Mäusen konnten zeigen, dass die Blutkrankheit Sichelzellanämie durch Transplantation manipulierter

iPS-Zellen geheilt werden kann», erwähnt Rudolf Jaenisch. Eine Anwendung beim Menschen ist derzeit jedoch noch nicht möglich, da es bisher nicht gelungen ist, somatische Zellen in Blutstammzellen zu verwandeln. «Dieses technische Problem wird man allerdings in Zukunft lösen können», ist Rudolf Jaenisch überzeugt.

Ein erster gentherapeutischer Ansatz am Menschen ist, neben der oben beschriebenen klinischen Studie von Masayo Takahashi zur Behandlung der altersbedingten Makuladegeneration (AMD), beispielsweise die Entdeckung von Dieter Egli und Susan Solomon im Jahr 2014, dass es möglich ist, mithilfe von SCNT Bauchspeicheldrüsenzellen aus Hautzellen herzustellen. Bauchspeicheldrüsenzellen sind bei Patienten mit Diabetes Typ 1 zerstört und fehlen so für die Regulierung des Blutzuckerspiegels. Die Menge gewonnener Zellen reichte jedoch noch nicht aus für eine Therapie.

«Die Erwartungen an iPS-Zellen sind sehr gross. Mit dieser Entdeckung hat sich eine ganz neue Dimension aufgetan für die Erforschung zahlreicher Krankheiten und die Etablierung neuer therapeutischer Strategien, um diese Krankheiten zu verstehen, zu mildern oder zu heilen», betont Rudolf Jaenisch. In ferner Zukunft wird es vielleicht gelingen, bei Herzinfarktpatienten durch direkte Reprogrammierung Fibroblasten in intakte Herzmuskelzellen umzuwandeln und damit eine invasive Operation oder gar Herztransplantation überflüssig zu machen. Bis zu diesem Tag müssen jedoch die Risiken (Grad der Differenzierung, Zellqualität, Entstehung von Krebs) an Tiermodellen und in klinischen Studien abgeklärt werden.

Ethische Aspekte



Dr. Anna Deplazes Zemp,
Wissenschaftliche
Mitarbeiterin, Institut für
Biomedizinische Ethik
und Medizingeschichte,
Universität Zürich

Die Ehrfurcht vor dem Leben und der besondere Schutz des ungeborenen Lebens sind in allen Gesellschaften vorhanden. Sie sind meist mit einem Abwägen der Güter verbunden. Die Gewichtung kann dabei unterschiedlich sein. In der Schweizerischen Bundesverfassung (BV) ist ein generelles Klonverbot verankert. In Artikel 119 Absatz 2a heisst es: «Alle Arten des Klonens und Eingriffe in das Erbgut menschlicher Keimzellen und Embryonen sind unzulässig.» Das Fortpflanzungsmedizingesetz (FMedG), welches im Jahr 2001 in Kraft getreten ist, ergänzt in Artikel 36 Absatz 1: «Wer einen Klon, eine Chimäre oder eine Hybride bildet, wird mit Gefängnis bestraft.» Dies schliesst sowohl das reproduktive als auch das Forschungsklonen mit ein. Ethisch gesehen wird diese Regelung für das Forschungsklonen auf der einen Seite damit gerechtfertigt, dass bei diesem Prozess menschliche Embryonen abgetötet werden, was von vielen als moralisch verwerflich betrachtet wird. Auf der anderen Seite verzichtet man jedoch auch auf eine potenzielle Behandlungsoption und unterlässt somit dem Menschen Hilfe. «Zurzeit ist das generelle Klonverbot in der Schweiz aus praktischen Gründen sinnvoll, da sich zum einen in der Schweiz momentan wohl eine Mehrheit in der Bevölkerung dafür aussprechen würde, und zum anderen motiviert es, die Forschung mit adulten Stammzellen/iPS-Zellen voranzutreiben», meint Dr. Anna Deplazes Zemp, Wissenschaftliche Mitar-

beiterin am Institut für Biomedizinische Ethik und Medizingeschichte der Universität Zürich.

Die Forschung mit Stammzellen ist in der Schweiz erlaubt und im Stammzellenforschungsgesetz geregelt. Das Gesetz soll Missbräuche verhindern und die Menschenwürde schützen. Für den Schweizer Gesetzgeber besteht aus ethischer Sicht ein Unterschied zwischen der Verwendung von überzähligen Embryonen für die medizinische Forschung, wie sie bei der In-vitro-Fertilisation entstehen, und dem Zellkerntransfer zum Forschungsklonen. Im ersten Fall werden überzählige Embryonen, die gemäss geltendem Recht vernichtet werden müssen, für die medizinische Forschung genutzt. Im zweiten Fall würden Embryonen mit einem gezielt ausgewählten und kopierten Genom zum Zweck der Forschung geschaffen. Daher ist der Zellkerntransfer in der Schweiz untersagt, die Forschung an überzähligen Embryonen als auch mit iPS-Zellen ist jedoch erlaubt. Global sieht die Lage anders aus: Der Europarat hat das Klonen generell verboten, die Vorlage wurde jedoch nicht von allen Mitgliedsstaaten unterzeichnet. Und in den USA sowie in Südkorea ist der somatische Zellkerntransfer erlaubt.

«So wie die Entstehung des Menschen ein gradueller Prozess ist, sollte auch der Schutz graduell zunehmen.»

Ein zentraler Punkt in der ethischen Diskussion ist die Würde des Menschen. Die Menschenwürde ist ebenfalls in der Schweizerischen Bundesverfassung verankert. In Artikel 7 steht: «Die Würde des Menschen ist zu achten und zu schützen.» Doch wann genau beginnt diese? Die Nobelpreisträgerin Christiane Nüsslein-Volhard sieht den Beginn der Würde des Menschen mit der Einnistung des Embryos in den Uterus der Mutter, da ab diesem Zeitpunkt das volle Entwicklungsprogramm gestartet wird. So gesehen verstösst

nur das reproduktive Klonen gegen die Würde des Menschen, das Forschungsklonen und die Forschung an Stammzellen widersprechen der Menschenwürde nicht. «Im Kontext des ungeborenen Lebens ist «Menschenwürde» ein schwieriger Begriff. Wer damit argumentiert, spricht sich meist dafür aus, den Embryo zu respektieren und zu achten. Es gilt, ihn zu schützen. Aber so, wie die Entstehung des Menschen ein gradueller Prozess ist, sollte auch der Schutz graduell – nach Entwicklungsstatus – zunehmen», sagt Anna Deplazes. Hier gehen die Meinungen allerdings auseinander und werden kontrovers diskutiert. Klar ist, dass das reproduktive Klonen national als auch international als ethisch nicht vertretbar gilt. «Für das Selbstverständnis des geklonten Individuums wäre das Bewusstsein, als Kopie eines anderen Menschen produziert worden zu sein, sehr problematisch, seine Autonomie wäre eingeschränkt», betont Anna Deplazes. Zudem wäre hier die gezielte Selektion der Menschen und Fähigkeiten, die man klonen möchte, ethisch höchst problematisch. Hinzu kommen wissenschaftliche, gesellschaftliche und juristische Bedenken. «Beim weniger problematischen therapeutischen Klonen können drei Argumente dagegen vorgebracht werden: das Risiko des Missbrauchs, das heisst, dass doch versucht werden könnte, Individuen zu klonen, gesundheitliche Risiken (z. B. Krebs) in den medizinischen Anwendungen und die erwähnten Bedenken bezüglich der Menschenwürde des Embryos. Demgegenüber stehen der potenzielle medizinische Nutzen und die Forschungsfreiheit», ergänzt Anna Deplazes. Hier gilt es, in Zukunft die Risiken dieser Methoden genau abzuklären und in medizinischen Studien zu prüfen und die Entwicklung von alternativen Möglichkeiten (wie den iPS-Zellen) zu beobachten.

Referenzen und Links

Guo, Z. et al., 2014:

In vivo direct reprogramming of reactive glial cells into functional neurons after brain injury and in an Alzheimer's disease model; *Cell Stem Cell* 14 (2), p. 188–202.

Ieda, M. et al., 2010:

Direct reprogramming of fibroblasts into functional cardiomyocytes by defined factors; *Cell* 142 (3), p. 375–386.

Johannesson, B. et al., 2014:

Comparable frequencies of coding mutations and loss of imprinting in human pluripotent cells derived by nuclear transfer and defined factors; *Cell Stem Cell* 15 (5), p. 634–642.

Tachibana, M. et al., 2013:

Human embryonic stem cells derived by somatic cell nuclear transfer; *Cell* 153 (6), p. 1228–1238.

Takahashi, K. & Yamanaka, S., 2006:

Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors; *Cell* 126 (4), p. 663–676.

Vierbuchen, T. et al., 2010:

Direct conversion of fibroblasts to functional neurons by defined factors; *Nature* 463 (7284), p. 1035–1041.

Yamada, M. et al., 2014:

Human oocytes reprogram adult somatic nuclei of a type 1 diabetic to diploid pluripotent stem cells; *Nature* 510 (7506), p. 533–536.

www.admin.ch

{810.31 Bundesgesetz über die Forschung an embryonalen Stammzellen}

GEN SUISSE.

«Der Dialog ist unser Ziel.»

Stiftung Gen Suisse

Postfach

CH-3000 Bern 14

T +41 (0)31 356 73 84

F +41 (0)31 356 73 01

info@gensuisse.ch

www.gensuisse.ch

