Editorial

Totipotenz oder Pluripotenz?

Embryonale Stammzellen, die Alleskönner

Hans-Werner Denker

Embryonale Stammzellen gelten als die Alleskönner unter den Zellen. Konsequenterweise werden sie von vielen Forschern als aussichtsreiche Kandidaten für den Einsatz in der Zellersatztherapie angesehen. Merkwürdig ist daher die Welle von Aufmerksamkeit und Diskussionen, die die in Science veröffentlichten Befunde über die Bildung von Eizellen aus embryonalen Stammzellen von Mäusen in vitro ausgelöst haben (5). Schon seit Beginn der 90er-Jahre ist durch Arbeiten von Nagy et al. (6) bekannt, dass durch einen experimentellen Trick aus embryonalen Stammzellen normale, lebens- und fortpflanzungsfähige Mäuse erzeugt werden können; man braucht dazu für begrenzte Entwicklungsphasen tetraploide Hilfszellen aus einem anderen Embryo. Diese Mäuse produzieren auch Gameten, sonst wären sie nicht fertil.

Diese Tatsache hat, obwohl in unzähligen Laboratorien bestätigt und als gesichertes Wissen der experimentellen Embryologie einzustufen, in der bisherigen öffentlichen Diskussion um die ethische Wertigkeit menschlicher embryonaler Stammzellen kaum eine Rolle gespielt. Unter den Begründungen für das deutsche Stammzellgesetz steht an zentraler Stelle, dass es keinen Konflikt mit dem deutschen Embryonenschutzgesetz gebe, da embryonale Stammzellen nur pluripotent, aber nicht totipotent seien (was aufgrund des Embryonenschutzgesetzes ihre Verwendung ausschließen würde).

Hier wartet die Publikation von Hübner et al. (5) allerdings mit einem wichtigen Reizwort auf: Totipotenz. Es lohnt sich daher, genauer hinzusehen, was die Autoren aus der Gruppe des in Amerika arbeitenden Deutschen Hans Schöler gefunden haben.

Stammzellen zu Keimzellen

Zunächst haben sie mithilfe einer technisch brillianten Methodik gezeigt, dass normale Zellkulturbedingungen ausreichen, damit sich embryonale Stammzellen der Maus zu Keimzellen, und zwar Eizellen, entwickeln können. Sie bedienten sich dabei eines gentechnischen Konstruktes, für das jahrelange Vorarbeiten der Arbeitsgruppe von Schöler notwendig waren: Es wurde ein Promotor (genregulatorischnes Element) eingesetzt, der spezifisch nur in Keimzellen und nicht in Körper- oder frühembryonalen Zellen aktiv ist. Unter der Kontrolle dieses Promotors wurde ein Gen für den Lebendleuchtfarbstoff „enhanced green fluorescent protein“ (EGFP) exprimiert. So konnten die grün markierten Keimzellen identifiziert werden. Nachdem dieses Werkzeug zur Verfügung stand, war es Hübner et al. dann möglich bei lebenden embryonalen Stammzellen zu verfolgen, wie sie sich aus sich selbst heraus ohne fremde Hilfszellen zu Eizellen entwickelten. Überraschend war die große Zahl der Eizellen, die sich in der Kultur bildeten. Die Forscher untermauerten ihre Beobachtungen mit molekularbiologischen Befunden, die zeigten, dass es sich bei den in Zellkultur gezüchteten Eizellen um funktionsfähige Eizellen handeln könnte und nicht nur um Zellen, die Eizellen ähnlich sehen. So durchlaufen Keimzellen die Meiose, ein spezifisches Merkmal von Keimzellen, verbunden mit der Expression meiosespezifischer Gene. Die Gruppe von Schöler war in der Lage, solche Meiose-Marker in den kultivierten Zellen nachzuweisen. Im Anschluss an die ersten Stadien der Meiose durchläuft die Eizelle weitere Reifungsphasen, die mit spezifischer Genexpression einhergehen, und auch hierfür wurden in der Zellkultur Indizien gefunden. Bemerkenswerterweise zeigte sich, dass nicht nur Eizellen selbst sondern offenbar Strukturen mit Eigenschaften ganzer Eierstockfollikel gebildet werden; die beobachteten Hormonbildungsleistungen legen diesen Schluss nahe. Schließlich berichten Hübner und Kollegen von einem weiteren sehr starken Hinweis auf Eizellidentität: Sie beobachteten, dass die in vitro erzeugten Eizellen eine parthenogenetische Embryonalentwicklung starten konnten. Es ist seit langem bekannt, dass Eizellen diese Fähigkeit haben. Dabei entwickelt sich die unbefruchtete Eizelle morphologisch zu einem frühen Embryo im Blastozystenstadium, also einschließlich Trophoblast. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass mit dieser Publikation mit verschiedenen Ansätzen überzeugend gezeigt wurde, dass embryonale Stammzellen der Maus sich in vitro nicht nur zu Körperzellen sondern auch zu Keimzellen und extraembryonalen Zellen entwickeln können. Die Befunde widersprechen damit der vorherrschenden Ansicht, dass embryonale Stammzellen der Maus in ihrem entwicklungsbiologischen Potenzial schon relativ stark eingeschränkt und daher nicht mehr in dem Zustand der Totipotenz seien.

Für die in Deutschland laufenden Diskussionen über den Einsatz menschlicher embryonaler Stammzellen ist ein besonders relevanter Punkt, dass Hübner et al. ihre Befunde expressis verbis als Nachweis einer „Totipotenz“ der embryonalen Stammzellen werten. Was

Lehrstuhl für Anatomie und Entwicklungsbiologie, Universitätsklinikum Essen

mit dem Begriff der Totipotenz, der im deutschen Embryonenschutzgesetz und konsekutiv auch im Stammzellgesetz eine wichtige Rolle spielt, gemeint wird, variiert etwas von Autor zu Autor. Unter Totipotenz im engeren Sinne versteht man die Fähigkeit zur Bildung eines ganzen, zum individuellen Leben fähigen Embryonalkörpers. Die Bildung von allen Zelltypen des Körpers (einschließlich der Keimzellen) per se, also nicht notwendigerweise verbunden mit der Strukturierung eines Körpergrundplans und damit einer autonomen Lebensfähigkeit, wäre als Totipotenz im weiteren Sinne anzusprechen (um Verwirrungen zu vermeiden, gibt es den Vorschlag des Autors, dies eventuell auch als Omnipotenz zu bezeichnen [4]). Eine solche Totipotenz im weiteren Sinne oder Omnipotenz ist es, was Hübner et al. jetzt bei embryonalen Stammzellen der Maus nachgewiesen haben.

In vitro war eine solche Oozytenbildung durch embryonale Stammzellen bisher nicht gezeigt worden, und bekannt war diese Fähigkeit nur aus dem genannten Experiment der „teraploiden Komplementierung“ nach Nagy et al. (6). Besonders eindrucksvoll ist darüber hinaus die schon angesprochene Fähigkeit der in vitro entstandenen Oozyten zur parthenogenetischen Bildung von Blastozysten. Es ist bekannt, dass bei parthenogenetischer Entwicklungsanregung normaler Oozyten der Maus die Entwicklung das Stadium der Körpergrundgestalt erreichen kann, danach stoppt sie, was darauf zurückgeführt wird, dass das Imprinting der Gene (unter anderem Methylierungsmuster) bei Oozyten und Spermien verschieden ist und die Kombination beider in der Zygote offenbar eine Bedeutung für die Entwicklung hat, die bisher nur unvollkommen verstanden ist. Hübner et al. kündigen konsequenterweise an, dass sie prüfen wollen, ob die in vitro aus embryonalen Stammzellen erzeugten Oozyten auch normal fertilisierbar sind und auf diese Weise das volle Entwicklungspotenzial erhalten können. Dies scheint durchaus denkbar. Sieht man die gezeigte parthenogenetische Entwicklungsanregung als prinzipielle Bildung eines (wenn auch genetisch wegen der Imprintingprobleme nicht normalen) Individuums an, so muss man sagen, dass in den von Hübner et al. beschriebenen Experimenten in derselben Langzeitkultur sogar zwei Generationen vorhanden sind.

Es ist Zeit, unabhängig von allen nomenklatorischen Spitzfindigkeiten (Totipotenz, Omnipotenz, Pluripotenz) unter ethischem Aspekt herauskehren, dass die embryonalen Stammzellen sich wirklich als Alleskönner entpuppen, und es bleibt die Frage zu durchdenken, was dies für unser menschliches Selbstverständnis bedeutet.

Ethische Diskussion im Dilemma

Verfügbare Informationen sollten früher und sorgfältiger genutzt werden, um nicht in weiteren Bereichen als bisher Dinge zu tun, deren ethische Implikationen die Gesellschaft überfordern, weil in der unanschaulichen Materie, mit der die moderne Biomedizintechnik die Menschen konfrontiert, Beurteilungsmaßstäbe des Alltagslebens, eine apriorische Klarheit und/oder tradierte Handlungsanweisungen fehlen. Die Fragen nach dem Status von embryonalen Stammzellen sollten gezielt experimentell untersucht werden, insbesondere, ob die Oozytenbildung durch embryonale Stammzellen in vitro auch bei nichtmenschlichen Primaten zu beobachten ist, und wie weit ein Musterbildungspotenzial in vitro gehen kann.

Der Autor hat schon früher darauf hingewiesen, dass embryonale Stammzellen über diese Totipotenz im weiteren Sinne oder Omnipotenz hinaus auch noch weitergehende Bildungsfähigkeiten im Sinn der frühembryonalen Musterbildung (bis zur Körpergrundgestalt, das heißt Totipotenz im engeren Sinne?) zu besitzen scheinen. Wenn man von dem genannten Experiment von Nagy et al. (6) absieht, das (tetraploide) Hilfszellen einschließt, so weisen die Befunde über die Differenzierung in Kulturen von embryonalen Stammzellen des Weißbüscheläffchens (7) auf eine eindrucksvolle frühembryonale Musterbildungsfähigkeit hin (2,3). Diese Befunde müssen dringend experimentell nachgeprüft und vertieft werden.

Es gibt kaum Arbeitsgruppen, die sich der Bearbeitung der Frage nach Totipotenz, Omnipotenz oder Pluripotenz von embryonalen Stammzellen von Primaten (und dem Menschen) verschrieben haben. Die Arbeitsgruppe des Autors, versucht dies unter Verwendung von embryonalen Stammzellen des Rhesusaffen, da die Stammzellen des Weißbüscheläffchens nicht mehr kommerziell erhältlich sind. (Der Vorschlag des Autors, in Deutschland eigene embryonale Stammzellen des Weissbüscheläffchens herzustellen, konnte leider bisher nicht umgesetzt werden). Erste Ergebnisse der Untersuchungen an Rhesus-Stammzellen zeigen, daß es in vitro zur Aktivierung von Genen kommt, die bei der Bildung des Spemannschen Organisators eine Rolle spielen (1).

In den meisten Ländern außerhalb Deutschlands gilt die Frage nach Totipotenz, Omnipotenz oder Pluripotenz aber nicht als politisch besonders brisant, sondern allenfalls als wissenschaftlich diskussionswürdig, da gesetzliche Regelungen ähnlicher Art, wie sie das deutsche Embryonenschutzgesetz trifft, nicht gelten. Doch auch im Ausland wächst das Bewusstsein, dass das Nachdenken über den Umgang mit embryonalen Stammzellen nicht nur unter Praktikabiltiätsaspekten des eventuellen therapeutischen Einsatzes sondern auch unter Statusaspekten erfolgen sollte. Was sind eigentlich embryonale Stammzellen? Sind sie etwas prinzipiell anderes als gigantisch expandierte Embryoblasten (Teil eines normalen Embryos, der den Embryonalkörper im engeren Sinne bildet)? Hier tut naturwissenschaftliche wie philosophisch-ethische Grundlagenforschung Not, damit wir alle besser verstehen lernen, was wir tun, wenn wir mit embryonalen Stammzellen umgehen.

Nachdem dieses Editorial zum Druck angenommen worden war, ist von einer japanischen Gruppe gezeigt worden, dass sich embryonale Stammzellen der Maus in vitro auch zu Spermienvorstufen differenzieren können, die nach Transplantation in den Hoden zu Spermien heranreifen (Toyooka Y, Tsunekawa N, Akasu R, Noce T: Embryonic stem cells can form germ cells in vitro. USA: Proc Natl Acad Sci 2003; 100: 11457–11462.)

Manuskript eingereicht: 2. 6. 2003, angenommen: 27. 6. 2003

Zitierweise dieses Beitrags:
Dtsch Arztebl 2003; 100: A 2728–2730 [Heft 42]

Literatur

1. Behr R, Thie M, Bruckmann E, Kromberg I, Denker H-W: Rhesus embryonic stem cell colonies express marker genes for early embryonic patterning. 98. Versammlung der Anatomischen Gesellschaft, Dresden, 28.–31. März 2003. Anat Anz/Ann Anat 2003; 185 (Suppl.): 224.
2. Denker H-W: Embryonic stem cells: An exciting field for basic research and tissue engineering, but also an ethical dilemma? Cells Tissues Organs 1999; 165: 246–249.
3. Denker H-W: Embryonale Stammzellen und ihre ethische Wertigkeit: Aspekte des Totipotenz-Problems. In: L. Honnefelder und C. Streffer (eds.): Jahrbuch für Wissenschaft und Ethik, Band 5. Berlin, New York: de Gryter 2000; 291–304.
4. Denker H-W: Forschung an embryonalen Stammzellen: Eine Diskussion der Begriffe Totipotenz und Pluripotenz. In: Oduncu F, Schroth U, Vossenkuhl W, (eds.): Stammzellenforschung und therapeutisches Klonen. Göttingen: Vandenhoeck und Ruprecht 2002; 19–35.
5. Hübner K, Fuhrmann G, Christenson LK, Kehler J, Reinbold R, De La Fuente R, Wood J, Strauss III JF, Boiani M, Schöler HR: Derivation of oocytes from mouse embryonic stem cells. Science 2003; 300: 1251–1256.
6. Nagy A, Rossant J, Nagy R, Abramow-Newerly W, Roder JC: Derivation of completely cell culture-derived mice from early-passage embryonic stem cells. Proc Nat Acad Sciences (USA) 1993; 90: 8424–8428.
7. Thomson JA, Kalishman J, Golos TG, Durning M, Harris CP, Hearn JP: Pluripotent cell lines derived from common marmoset (Callithrix jacchus) blastocysts. Biology of Reproduction 1996; 55: 254–259.

Anschrift des Verfassers:
Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Hans-Werner Denker
Lehrstuhl für Anatomie und Entwicklungsbiologie
Universitätsklinikum Essen
Hufelandstraße 55
45122 Essen

Referiert

Tumorrisiko embryonaler Stammzellen

Die Transplantation undifferenzierter embryonaler Stammzellen in immunkompatible Organe erzeugt im Gegensatz zu der Transplantation fetaler oder adulter Stammzellen Teratome oder Teratokarzinome.

Das Risiko der Tumorbildung sinkt mit fortschreitender Reifung und lässt sich nach allgemeiner Auffassung durch Prädifferenzierung der Stammzellen verlässlich vermeiden. Diese Hypothese wird durch zahlreiche Untersuchungen gestützt, in denen nach der Transplantation von prädifferenzierten embryonalen Stammzellen keine Bildung von Tumoren beobachtet wurde.

Es handelte sich bei diesen Experimenten jedoch überwiegend um xenologe Transplantate, also um Tierversuche, bei denen prädifferenzierte embryonale Stammzellen einer Spezies (etwa der Maus oder des Menschen) auf eine andere Spezies übertragen wurden. In einer neueren Arbeit stellte sich jedoch heraus, dass im xenologen System nicht nur die Transplantation prädifferenzierter, sondern auch die Transplantation undifferenzierter embryonaler Stammzellen keinerlei Tumorbildung erkennen ließ (1). In dieser in den Proceedings of the National Academy of Science publizierten Untersuchung wurden undifferenzierte murine embryonale Stammzellen in das Gehirn immunsupprimierter Ratten transplantiert. Bei diesen Tieren wurde experimentell durch Verschluss der Arteria cerebri media ein Schlaganfall ausgelöst.

Die Stammzellen wanderten vom Transplantationsort über das Corpus callosum in die vom Schlaganfall betroffene gegenseitige Hemisphäre und siedelten sich nach spontaner Differenzierung in Neurone und Gliazellen in der Randzone des Infarktes an. Diese Befunde erweckten die Hoffnung, dass im Gehirn – im Gegensatz zu anderen Körperorganen – auch die Transplantation undifferenzierter embryonaler Stammzellen nicht zur Tumorbildung, sondern zu einem krankheitsgerichteten, selbstgesteuerten Ersatz der verlorengegangenen Hirnzellen führt.

Die Wiederholung dieses Versuches im homologen System – das heißt die Transplantation muriner Stammzellen in das Gehirn von Mäusen – ergab jedoch, dass dies nicht der Fall ist (2). Stattdessen wurden nicht nur nach Transplantation undifferenzierter, sondern auch nach Transplantation prädifferenzierter Stammzellen in nahezu 100 Prozent hochmaligne Teratokarzinome induziert, wie aus der Arbeit, die im Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism publiziert wurde, hervorgeht. Die hohe Tumorinzidenz war unabhängig von Geschlecht, Alter, Mäusestamm oder begleitender Immunsuppression. Erstaunlich war auch die geringe Anzahl undifferenzierter Stammzellen, die für die Tumorinduktion ausreichend war: Bereits 500 undifferenzierte Zellen entwickelten sich innerhalb von zwei Wochen zu makroskopisch sichtbaren Tumoren. Dies erklärt auch die Tumorinduktion der prädifferenzierten Zellen: Obwohl der Reinheitsgrad der verwendeten Nestin-positiven/Oct4-negativen Zellen bei mehr als 99 Prozent lag, waren offensichtlich immer noch genügend undifferenzierte Zellen vorhanden, um ein Tumorwachstum auszulösen.

Die Ursache für den eklatanten Unterschied im Tumorrisiko homologer und xenologer Stammzelltransplantate ist derzeit noch unbekannt. Sofern es sich, wie zu befürchten ist, um ein grundsätzliches Problem der homologen Transplantation handelt, hätte dies gravierende Konsequenzen für die Sicherheitsbewertung von humanen embryonalen Stammzellen. Da humane Stammzellen präklinisch nur im xenologen System auf ihre Tumorigenität überprüft werden können, lässt sich ihr Verhalten unter homologen klinischen Bedingungen nicht voraussagen. Mit den derzeit verfügbaren Testverfahren wird es deshalb nicht möglich sein, die Sicherheit von embryonalen humanen Stammzellen vor ihrem klinischen Einsatz zu überprüfen. **hsm**

Literatur

1. Hoehn M, Küstermann E, Blunk J, Wiedermann D, Trapp T, Wecker S, Föcking M, Arnold H, Hescheler J, Fleischmann BK, Schwindt W, Bühl C: Monitoring of implanted stem cell migration in vivo: A highly resolved in vivo magnetic resonance imaging investigation of experimental stroke in rat. Proc Nat Acad Sci (USA) 2002; 99: 16267–16272.
2. Erdö F, Bührle C, Blunk J, Hoehn M, Xia Y, Fleischmann B, Föcking M, Küstermann E, Kolossov E, Hescheler J, Hossmann K-A, Trapp T: Host-dependent tumorigenesis of embryonic stem cell transplantation in experimental stroke. J Cereb Blood Flow Metab 2003; 23: 780–785.

Prof. Dr. Konstantin-A. Hossmann, Max-Planck-Institut für neurologische Forschung, Gleueler Straße 50, 50931 Köln, E-Mail: hossmann@mpin-koeln.mpg.de