



Die Zeit für die Zelle zurückdrehen

Reprogrammierung als Chance für die regenerative Medizin

von Frank Schnütgen und Harald von Melchner

Einer der Träume der Medizin ist die Verwendung von Stammzellen als eine Art Ersatzteillager. Mit der Reprogrammierung differenzierter Zellen rückt dieser Traum, nicht abstoßbare, gesunde Organe zu erzeugen, ein Stück weiter in den Bereich des Möglichen.

Frank Schnütgen (links im Bild) und sein Doktorand Duran Sürün beobachten induzierte pluripotente Zellen (auf dem Monitor vergrößert dargestellt) unter einem Inversmikroskop.

Die Entwicklung eines jeden Menschen beginnt mit der Verschmelzung von Eizelle und Spermium. Durch Zellteilungen vermehrt sich der Embryo innerhalb der ersten drei bis vier Tage auf 16 bis 32 Zellen. Jede einzelne Zelle ist in diesem frühen Stadium noch in der Lage, einen kompletten Organismus zu bilden: Sie kann sich in jeden Zelltyp des erwachsenen Menschen verwandeln. Man nennt diese Alleskönner daher totipotent (lat.: totus = ganz und potus = fähig, also »zu allem fähig«). Ab

diesem Zeitpunkt beginnt die erste Differenzierung der Zellen. Der bis dahin kugelige Zellhaufen bildet eine Hülle aus Trophoblasten, aus denen sich die Plazenta und die Fruchthülle entwickeln werden. Im höhlenartigen Inneren entsteht aus einer inneren Zellmasse der Embryoblast. Er besteht aus embryonalen Stammzellen, die nun nicht mehr totipotent, sondern nur noch pluripotent (lat.: plus, pluris = mehr) sind. Aus ihnen entsteht im Verlauf der nächsten Monate der vollständige Mensch.

Durch die Differenzierungsprozesse während der Embryonalentwicklung entstehen letztendlich mehrere Hundert Zelltypen mit unterschiedlichen Aufgaben wie zum Beispiel: motorische Neuronen, die Reize vom Gehirn zu den Muskeln weiterleiten, Herzmuskelzellen, die autonom kontrahieren und so den Herzschlag erzeugen, oder Leberzellen, deren vorherrschende Aufgabe die Verwertung von Nährstoffen im Körper ist. Wenn durch genetische Mutationen diese Zellen an der Erfüllung

ihrer Aufgabe gehindert werden, entstehen Krankheiten. Manche schränken die Lebensqualität des Menschen ein, andere sind lebensbedrohlich. Vollständig heilen kann man solche Krankheiten nur, indem man die genetischen Veränderungen in der Zelle korrigiert.

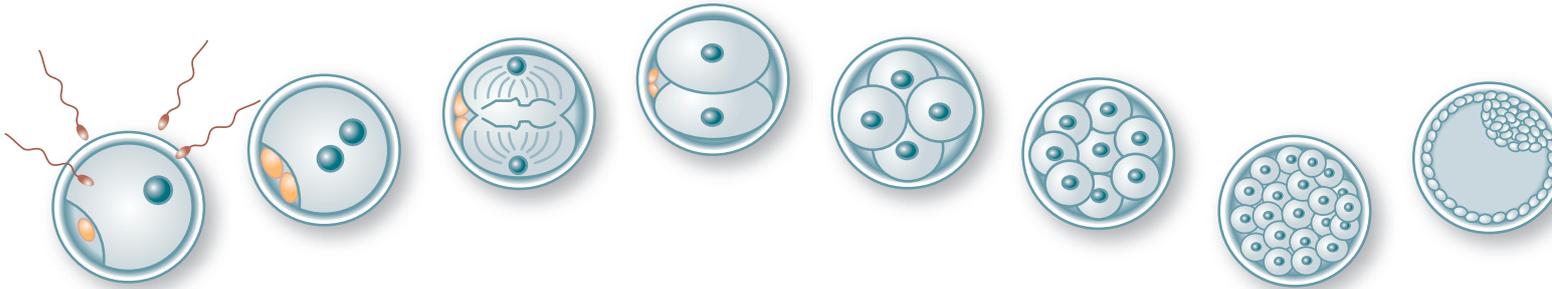
Eine derartige Korrektur wird in der Regel nicht in den jeweiligen differenzierten Zellen versucht, sondern bereits in embryonalen Stammzellen. Embryonale Stammzellen lassen sich nämlich – im Gegensatz zu den meisten ausdifferenzierten Zellen – in Gewebekultur zeitlich unbegrenzt vermehren. Sie können dann korrigiert werden und in Gegenwart bestimmter Signalmoleküle gerichtet zu denjenigen Zelltypen differenziert werden, die ursprünglich eine Mutation aufwiesen. Nach Transplantation ersetzen diese korrigierten Zellen dann die erkrankten Zellen eines Patienten. Die Möglichkeit zur extrakorporalen Vermehrung und

Froschembryos übertragen und diese daraufhin zu ausgewachsenen Fröschen heranwachsen. Einige Jahre später gelang es John Gurdon in einem ähnlichen Verfahren, auch durch Injektion von Zellkernen aus ausdifferenzierten Zellen in einzellige, totipotente Froschembryos gesunde Frösche zu erzeugen. Es sollte aber noch 45 Jahre dauern, bis es Campbell und Wilmut gelang, über Kerntransfer das erste Säugetier zu erzeugen, nämlich das klonierte Schaf Dolly, das aus der Verschmelzung eines Brustdrüsenzellkerns mit einer entkernten Eizelle entstand. Diese Arbeiten zeigten, dass die Zelldifferenzierung nun doch keine Einbahnstraße ist, weil differenzierte Zellen im Umfeld einer Eizelle in einem als Reprogrammierung bezeichneten Prozess zu pluripotenten Stammzellen differenzieren können.

Ein neuer, nicht auf Zellen embryonaler Herkunft angewiesener Reprogrammierungsprozess wurde

in den bahnbrechenden Arbeiten von Shin'ya Yamanaka und Kazutoshi Takahashi aus dem Jahr 2006 beschrieben. Die japanischen Forscher identifizierten eine Reihe von Genen, die ohne Kerntransfer in der Lage waren, eine differenzierte Zelle in eine pluripotente Stammzelle zu konvertieren. Sie starteten mit 24 Kandidatengenen, die sie mithilfe von Retroviren in ausdifferenzierte Bindegewebszellen (sogenannte Fibroblasten) einbrachten. Nach dem Test verschiedener Kombinationen wurde die Reprogrammierung auf die Aktivität von nur vier Genen (c-Myc, Klf-4, Oct-4 und Sox-2) eingengt. Zur Abgrenzung von natürlichen embryonalen Stammzellen werden die aus differenzierten Zellen erzeugten Stammzellen induzierte pluripotente Stammzellen (iPS) genannt.

Die Arbeiten von Yamanaka haben die biologisch-medizinischen Naturwissenschaften und



Differenzierung von embryonalen Stammzellen bildet die Voraussetzung für das visionäre Ziel, patientenspezifische Zellen zur Behandlung von genetisch bedingten Erkrankungen einzusetzen.

Die Zeit zurückdrehen

Doch wie gewinnt man embryonale Stammzellen aus dem Körper eines erwachsenen Menschen? Lange glaubte man, dass der Weg von embryonaler Stammzelle zu differenzierten Zellen eine Einbahnstraße ist. Erste Hinweise, dass dem nicht so ist, fanden Robert Briggs und Thomas J. King bereits 1952, als sie Zellkerne aus frühen embryonalen, omnipotenten Zellen in entkernte, einzellige totipotente

An dieser Steril-Werkbank wird ein laminarer, reiner Luftstrom von oben eingeblasen und unten abgesaugt. So können während der Arbeit weder Staub noch kontaminierende Bakterien oder Pilze in die Zellkulturen gelangen.





Zellen werden in speziell zugeschnittenem Zellkulturmedium gezüchtet. Ein pH-Indikator zeigt durch Farbumschlag an, wie viel Nährlösung verbraucht wurde.

[Vergleiche Beitrag von Hildegard Büning und Manuel Grez, Seite 28]. Erste Schritte auf diesem Weg bestehen darin, zu zeigen, dass die Zellen von Patienten mit unterschiedlichen Erkrankungen auch reprogrammierbar sind, was bei einer Reihe von Erkrankungen bereits gelungen ist. So konnten beispielsweise iPS-Zellen für neurologische Erkrankungen wie erblich bedingten Morbus Parkinson oder Chorea Huntington erzeugt werden, aber auch für Blutkrank-

insbesondere das Stammzellfeld revolutioniert. 2012 erhielt er dafür den Nobelpreis für Physiologie oder Medizin. Mittlerweile können iPS-Zellen nicht nur durch viralen Gentransfer erzeugt werden, sondern auch mit Boten-RNA, microRNA oder synthetischen Proteinen. Der Wermutstropfen: Alle Verfahren sind zurzeit noch sehr ineffizient und zeitaufwendig.

Medikamente testen – Krankheiten heilen

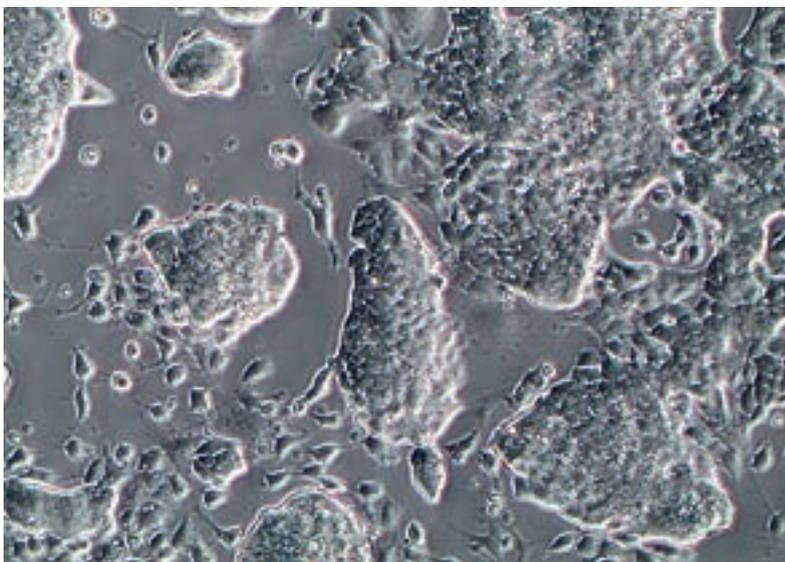
Eine Vision der Forscher ist die Verwendung von iPS-Zellen bei der Entwicklung von Medikamenten. Die Idee ist, die Reaktion Patienten-spezifischer iPS-Zellen auf bestimmte Wirkstoffe in Gewebekultur zu testen. Die bislang zu diesem Zweck benutzten Zelllinien müssen

im Vorfeld mit gentechnischen Methoden erst mühsam generiert werden. Eine weitere Voraussetzung ist, dass die krankheitsrelevante genetische Veränderung bekannt sein muss. Obwohl es bislang noch keine Hochdurchsatz-Studie zum Screening von Medikamenten auf iPS-Zellen gibt, ist eine derartige Studie angesichts der rasanten Entwicklung der iPS-Technologie in nächster Zukunft zu erwarten. Ebenfalls in greifbarer Nähe scheint der Einsatz von iPS-Zell-basierten Zellkulturmodellen zu sein, mit denen Patienten-spezifische pathogene Mechanismen untersucht werden können. Dies ist eine wichtige Voraussetzung für die Entwicklung individualisierter Therapien.

Die Korrektur von Gendefekten steht dagegen noch am Anfang

☛ Auf den Punkt gebracht

- Gen-Korrekturen macht man bevorzugt in pluripotenten embryonalen Stammzellen. Da man diese Zellen beim Erwachsenen nicht gewinnen kann, versuchen Forscher, differenzierte Zellen zu reprogrammieren.
- Induzierte pluripotente Stammzellen (iPS-Zellen) könnten in naher Zukunft dazu dienen, Medikamente Patienten-spezifisch zu testen.
- Im Tiermodell können iPS-Zellen zu spezifischen Zellen differenziert werden, die dann degenerative oder abgestorbene Zellen ersetzen. Bis sich aus iPS-Zellen ganze Organe entwickeln lassen, ist es noch ein weiter Weg.



heiten (Fanconi-Anämie), Muskelerkrankungen (Muskeldystrophie) und metabolische Erkrankungen (Diabetes). Auch bei degenerativen Erkrankungen, wie zum Beispiel Herzerkrankungen (Herzinfarkt), kann man die abgestorbenen oder nicht mehr funktionierenden Zellen durch gesunde Zellen ersetzen,

Diese embryonalen Stammzellen der Maus finden sich in der inneren Zellmasse im Blastozystenstadium eines sehr frühen Embryos. Sie lassen sich daraus isolieren und in Zellkultur für unbegrenzte Zeit in undifferenziertem Zustand kultivieren. Über verschiedene zellbiologische Protokolle können sie in andere Zellen ausdifferenziert oder genetisch modifiziert werden.



Der Inkubator ahmt die Bedingungen im Körper nach. Hier werden die Zellen bei einer konstanten Temperatur von 37°C und einem CO₂-Gehalt von fünf Prozent in einem feuchten Millieu gehalten.

breitete und bisher unheilbare Augenkrankheit führt aufgrund einer irreversiblen Degeneration des Pigmentepithels zum Erblinden. In der japanischen Studie werden iPS-Zell-derivierte, patientenspezifische Pigmentepithelzellen in das Auge implantiert. Anders als iPS-Zelltherapien für Erkrankungen anderer Gewebe, ist eine Zelltherapie am Auge weitaus weniger riskant, weil die implantierten Zellen durch die besondere Anatomie des Auges vom Organismus abgeschottet sind.

die aus Stammzellen gewonnen wurden. In den meisten Fällen konnten die iPS-Zellen im Hinblick auf eine zukünftige Zelltherapie auch in die gewebespezifischen Zelltypen differenziert werden.

Regenerative Medizin statt Organtransplantation?

Organtransplantationen haben den Nachteil, dass sie den Organismus mit fremden, »allogenen« Zellen konfrontieren. Bei 30 bis 40 Prozent der Transplantations-Patienten kommt es daher zu Abstoßungsreaktionen. Die dauerhafte Gabe von Immunsuppressiva kann diese Reaktionen zwar mildern oder auch vollständig unterdrücken. Allerdings gelingt dies nicht immer. Etwa 10 Prozent der allogenen Organtransplantationen führen zu schwer kontrollierbaren und lebensbedrohlichen Abstoßungsreaktionen. Um diese zu vermeiden, wären aus Empfänger-iPS-Zellen generierte Transplantate die ideale Lösung. Dazu müsste man die Patienten-iPS-Zellen in genügender Zahl vermehren, genetisch korrigieren und anschließend in die gewünschten Organe ausdifferenzieren. Obwohl dies mit zirkulierenden Blutzellen zumindest experimentell bereits möglich ist, liegt die Erzeugung dreidimensionaler Organstrukturen aus iPS-Zellen noch in ferner Zukunft.

Beispielhaft sei hier erwähnt, dass mit der iPS-Zelltechnologie eine genetisch bedingte Hämoglobin-Erkrankung (Sichelzellanämie) im Mausmodell geheilt werden

konnte. Hierfür wurden aus Hautzellen gewonnene iPS-Zellen genetisch korrigiert, in Blutzellen differenziert und den erkrankten Mäusen transplantiert, was zu einer deutlichen und stabilen Verbesserung des Krankheitsbildes führte. Obwohl diese Studie zum ersten Mal das Potenzial der regenerativen Medizin im Versuchstier demonstrieren konnte, ist das Verfahren noch lange nicht auf den Menschen übertragbar. Dies liegt hauptsächlich darin begründet, dass die Qualität der iPS-derivierten Zellen noch viel zu wünschen übrig lässt. Zum einen können durch die Einführung der Reprogrammierungsfaktoren bösartige Tumoren induziert werden, zum anderen führen die Reprogrammierungs- und Differenzierungsschritte häufig zu neuen pathologischen genetischen Veränderungen.

Ähnliche Ansätze wurden auch bei Erkrankungen anderer Gewebe ausprobiert. So konnten aus iPS-Zellen der Maus Neuronen erzeugt werden. Nachdem sie in ein Rattenmodell für Morbus Parkinson transplantiert worden waren, kam es zu einer Linderung der klinischen Symptome. Ebenso verbesserten aus humanen iPS-Zellen gewonnene Herzmuskelzellen die Herzfunktion in einem Mausmodell für Herzinfarkt.

Eine erste klinische Studie mit iPS-Zellen wurde im März dieses Jahres vom RIKEN Institut in Japan zur Behandlung der altersbedingten Makuladegeneration (AMD) beantragt. Diese weitver-

Zur Person

Privatdozent Dr. Frank Schnütgen, 44, ist Chemiker in der Abteilung Molekulare Hämatologie von Prof. Harald von Melchner und habilitierte sich 2008 an der Universitätsklinik Frankfurt. Nach seinem Studium in Münster absolvierte er als Marie-Curie-Stipendiat von 1998 bis 2001 ein Postdoktoranden-Studium am Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire in Strasbourg bei Professor Pierre Chambon. Von dort wechselte er nach Frankfurt und übernahm hier die Gruppenleitung für Genfallen-Entwicklung für das Deutsche Genfallenkonsortium (GGTC) und das Europäische konditionale Maus-Mutagenese Projekt (EUCOMM). Seine Hauptinteressen liegen in der Entwicklung von Strategien zur gerichteten genetischen Veränderung von Zellen sowie in neuartigen Ansätzen zur Gentherapie beim Menschen.



Frank Schnütgen

Die Zeit vergesse ich beim Mountainbiken in den Wäldern des Spessarts.

Wer es in einem Fachgebiet zu etwas bringen will, braucht Geduld, Kreativität und Ausdauer.

Erfolge feiere ich still.

Ich rege mich über Leute auf, die sich über andere stellen.

Als Jugendlicher wollte ich immer schon Chemiker werden, weil mich die Welt des ganz Kleinen von Anfang an interessierte.

Rat suche ich bei meiner Familie.

Den Kindern rate ich: »Lebt Euren Traum!«

schnuetgen@em.uni-frankfurt.de

Zur Person

Prof. Dr. Dr. Harald von Melchner, 62, leitet die Abteilung für Molekulare Hämatologie an der Goethe-Universität. Seine wissenschaftlichen Schwerpunkte liegen in der Entwicklung von Hochdurchsatzverfahren zur Auffindung und Charakterisierung von Krankheitsgenen und in der Entwicklung von Zell- und Tiermodellen für menschliche Erkrankungen.



Harald von Melchner

Ein guter Arbeitstag beginnt mit einem Glas Milch.

Die Zeit vergesse ich beim Musikhören.

Wer es in einem Fachgebiet zu etwas bringen will, muss kämpfen.

Erfolge feiere ich mit Partys.

Ich rege mich über Unfairness auf.

Als Jugendlicher wollte ich die Welt erobern.

Rat suche ich bei meinen Freunden.

Den Kindern rate ich: »Setzt euch durch!«

melchner@em.uni-frankfurt.de

noch zahlreiche Engpässe gibt, deren Behebung in Zukunft ansteht. Zum einen ist die effiziente Erzeugung von iPS-Zellen ohne Einführung von permanenten genetischen Veränderungen noch recht problematisch. Ebenso ist es schwierig, die potenziell Tumoren erzeugenden Reprogrammierungsfaktoren anschließend zu entfernen. Zum anderen sind die bisherigen Gen-Reparaturstrategien suboptimal, weil für eine gezielte Korrektur von Mutationen patientenspezifische Verfahren entwickelt werden müssen, die sehr viel Zeit und Geld in Anspruch nehmen würden. Deswegen sind standardisierte Gen-Reparaturverfahren erforderlich, die auf alle Patienten mit vergleichbaren Erkrankungen anwendbar sind. In neuesten Projekten versuchen unter anderem auch wir, diese beiden Engpässe zu meistern: Dazu ist es notwendig, die Reprogrammierungsfaktoren zusammen mit einem korrigierten Gen nicht wie bisher zufällig, sondern gezielt und reversibel direkt in das erkrankte Gen einzubringen.

Zukunftsperspektiven

Mit der Entwicklung der somatischen Zellreprogrammierung ist die Medizin bei der Verwirklichung des Traums einer individualisier-

ten Zell- und Gentherapie einen wesentlichen Schritt vorangekommen. Die Technologie hat zum ersten Mal einen Weg aufgezeigt, wie patientenspezifische Zellen in großer Zahl außerhalb des Körpers erzeugt werden können.

Ein weiterer Schritt in diese Richtung ist die Entwicklung von Methoden zur Transdifferenzierung. Sie ermöglichen es, ohne den Umweg über iPS-Zellen einen Zelltyp direkt in einen anderen zu konvertieren. So kann beispielweise ein Fibroblast durch ein einziges Genprodukt in eine Muskelzelle verwandelt werden. Sollten sich in Zukunft Wege eröffnen, transdifferenzierte Zellen ähnlich wie iPS-Zellen in Gewebekultur zu vermehren, wäre die Transreprogrammierung der weitaus kürzere und mit weniger Komplikationen (wie der Entstehung von Tumoren) behaftete Weg zu einer erfolgreichen individualisierten Zell- und Gentherapie.

Mit der somatischen Zellreprogrammierung und deren vielfältigen Möglichkeiten hat eine neue Epoche für die bisher noch als »Science-Fiction« geltende regenerative Medizin begonnen. Zu deren Erfolg trägt das LOEWE-Zentrum für Zell- und Gentherapie wesentlich bei. ♦

Insgesamt lässt sich festhalten, dass es in der durch iPS-Zellen getriebenen regenerativen Medizin

Anzeige



RESTAURANT
STURM **DRANG**
CAFÉ-BISTRO

Speis + Trank

AM CAMPUS WESTEND

TÄGLICH WECHSELNDE SPEISEN | FIRMEN- UND FAMILIENFEIERN | CATERING

Wir freuen uns auf Ihren Besuch!

Sturm und Drang
Tel: 069 / 798 34551
Email: info@cafe-sturm-und-drang.de
www.cafe-sturm-und-drang.de

Bildnachweis: Johann Heinrich Wilhelm Tischbein, Goethe in der römischen Campagna, 1787, Städtel Museum, Frankfurt am Main, Foto: Städtel Museum - Altbühke