

Unterrichtung

durch die Bundesregierung

Neunter Erfahrungsbericht der Bundesregierung über die Durchführung des Stammzellgesetzes

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1 Prüfung und Genehmigung von Anträgen auf Einfuhr und Verwendung menschlicher embryonaler Stammzellen zu Forschungszwecken	4
1.1 Berichtsauftrag und Berichtszeitraum.....	4
1.2 Genehmigte Anträge und Genehmigungsverfahren.....	4
1.2.1 Übersicht über die im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben	4
1.2.2 Angaben zu den im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben	4
1.3 Erfüllung der Voraussetzungen nach § 4 StZG.....	10
1.4 Erfüllung der Voraussetzungen nach § 5 StZG.....	12
1.5 Prüfung und Bewertung durch die Zentrale Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES).....	19
2 Stand der Forschung mit pluripotenten und multipotenten menschlichen Stammzellen.....	20
2.1 Einleitung.....	20
2.2 Bestand der menschlichen embryonalen Stammzelllinien.....	21
2.3 Grundlagen zur Forschung mit humanen pluripotenten Stammzellen.....	22
2.3.1 Vergleichende Untersuchungen zum naiven und geprägten Zustand humaner pluripotenter Stammzellen	23
2.3.2 Untersuchungen zu Mechanismen der Reprogrammierung von Körperzellen zu induzierten pluripotenten Stammzellen	24

	Seite
2.3.3	Pluripotente Stammzellen von anderen Tierspezies 25
2.3.4	Untersuchungen zu generellen molekularen Mechanismen in Stammzellen..... 25
2.4	Technologien der Stammzellforschung: Organoide..... 26
2.4.1	In-vitro-Analyse der frühen Embryogenese mithilfe pluripotenter Stammzellen: Embryoide, Blastoide und Gastruloide..... 27
2.4.2	Ethische Betrachtungen zu Embryoiden 27
2.5	Verfahren zur Genom-Editierung in Stammzellen 28
2.5.1	Genom-Editierung mit dem CRISPR/Cas9 System..... 28
2.5.2	Verfahren zur Genom-Editierung im humanen Embryo..... 29
2.6	Entwicklung von Keimzellen..... 29
2.7	Ergebnisse zu Gewebestammzellen und Organoiden 30
2.7.1	Entodermale Stammzellen, Gewebe und Organoide 30
2.7.1.1	Magen-Darm-Trakt 30
2.7.1.2	Bauchspeicheldrüse 31
2.7.1.3	Leber 31
2.7.1.4	Lunge 32
2.7.2	Ektodermale Stammzellen, Gewebe und Organoide 32
2.7.2.1	Hautstammzellen und Wundheilung..... 32
2.7.2.2	Gehirn und neurale Stammzellen..... 33
2.7.2.3	Stammzellen der Retina 34
2.7.3	Mesodermale Stammzellen, Gewebe und Organoide 34
2.7.3.1	Muskel 34
2.7.3.2	Herz..... 35
2.7.3.3	Knochen 35
2.7.3.4	Blutsystem und hämatopoetische Stammzellen 35
2.7.3.5	Niere 37
2.7.4	Andere Zelltypen 37
2.7.5	Stammzellen und Alterung 38
2.7.6	Bedeutung der Stammzellnische..... 38
2.7.7	Bioengineering und Anwendung von Stammzellen..... 39
2.8	Stammzellen zu Erforschung von Infektionskrankheiten: COVID-19 39
2.9	Neue Entwicklung von Therapien mit Stammzellen 40
2.9.1	Entwicklung von Therapien mit embryonalen und induzierten pluripotenten Stammzellen 40
2.9.2	Zellersatz bei neurologischen und neurodegenerativen Erkrankungen..... 41
2.9.3	Stammzell-basierte Behandlungen von Autoimmunerkrankungen 42
2.9.4	Ethische und politische Diskussionen..... 42

	Seite
2.9.5 Ungeprüfte Stammzelltherapien	43
2.9.6 Auflistung der klinischen Studien mit humanen pluripotenten Stammzellen	44
3 Schlussfolgerungen	62
4 Glossar	63
5 Zitierte Literatur.....	66

1 Prüfung und Genehmigung von Anträgen auf Einfuhr und Verwendung menschlicher embryonaler Stammzellen zu Forschungszwecken

1.1 Berichtsauftrag und Berichtszeitraum

Dieser Erfahrungsbericht erfolgt aufgrund von § 15 des Gesetzes zur Sicherstellung des Embryonenschutzes im Zusammenhang mit der Einfuhr und Verwendung menschlicher embryonaler Stammzellen (Stammzellgesetz – StZG) vom 28. Juni 2002 (BGBl. I S. 2277), zuletzt geändert durch das Gesetz zum Abbau verzichtbarer Anordnungen der Schriftform im Verwaltungsrecht des Bundes vom 29.03.2017 (BGBl. I S. 626). Er umfasst den Zeitraum vom 1. Januar 2018 bis zum 31. Dezember 2019 (neunter Berichtszeitraum).

1.2 Genehmigte Anträge und Genehmigungsverfahren

1.2.1 Übersicht über die im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben

Im vorangegangenen Berichtszeitraum (1. Januar 2016 bis 31. Dezember 2017, achter Berichtszeitraum) waren im Zusammenhang mit inhaltlich eigenständigen Projekten 27 Genehmigungen für die Einfuhr und/oder Verwendung humaner embryonaler Stammzellen (hES-Zellen) erteilt worden, von denen 25 inhaltlich verschieden waren. In zwei Fällen wurde eine jeweils identische Genehmigung an jeweils zwei Antragsteller erteilt. Über einen der in diesem Berichtszeitraum gestellten Anträge war am Ende des Berichtszeitraums noch nicht entschieden worden.

Im aktuellen Berichtszeitraum (1. Januar 2018 bis 31. Dezember 2019) wurden 19 Anträge auf Genehmigung der Einfuhr und Verwendung bzw. Genehmigung der Verwendung von hES-Zellen gemäß § 6 StZG an das Robert Koch-Institut (RKI) als zuständige Genehmigungsbehörde gestellt. Ferner war ein Antrag aus dem vorherigen Berichtszeitraum anhängig. Einer der im aktuellen Berichtszeitraum gestellten Anträge wurde vom Antragsteller wegen nur geringer Aussichten auf Genehmigung vor einer Entscheidung zurückgezogen; über einen weiteren Antrag war am Ende des Berichtszeitraums noch nicht entschieden worden. Zwei Anträge waren bezüglich der beantragten Forschungsarbeiten inhaltsgleich und wurden zu verschiedenen Zeitpunkten gestellt; über diese Anträge wurde in gesonderten Genehmigungsverfahren entschieden. Auf einen weiteren Antrag, der zeitgleich von zwei natürlichen Personen gestellt wurde, wurden zwei identische Genehmigungen erteilt. In einem sehr komplexen Antragsverfahren, in dem die Forschungsarbeiten von mehreren unabhängigen Arbeitsgruppen der antragstellenden Institution durchgeführt werden sollen, wurden drei inhaltlich verschiedene Genehmigungen erteilt, so dass sich die Anzahl der im Berichtszeitraum erteilten Genehmigungen für Neuanträge auf 21 beläuft.

Die im Berichtszeitraum erteilten 21 Genehmigungen ergingen an 17 Personen bzw. Institutionen, von denen 6 bereits im Besitz wenigstens einer zuvor erteilten Genehmigung für die Einfuhr und Verwendung humaner ES-Zellen waren. 11 Personen bzw. Institutionen erhielten folglich erstmals eine Genehmigung nach dem StZG; an einigen Institutionen ist weiterhin mehr als eine Forschergruppe mit hES-Zell-Forschung befasst.

Insgesamt wurden vom Inkrafttreten des StZG im Juli 2002 bis zum Ende des Berichtszeitraumes 153 Genehmigungen für die Einfuhr und/oder Verwendung von hES-Zellen an natürliche bzw. juristische Personen erteilt. Im Berichtszeitraum wurden insgesamt fünf in der Vergangenheit genehmigte Forschungsvorhaben beendet, 25 weitere Vorhaben waren bereits zuvor abgeschlossen worden. Die entsprechenden Genehmigungen nach dem StZG sind folglich erloschen. Am Ende des Berichtszeitraumes bestanden somit 123 Genehmigungen für die Durchführung von Forschungsvorhaben unter Verwendung von hES-Zellen, die teilweise mehrfach erweitert wurden. Derzeit haben insgesamt 86 Arbeitsgruppen, die an 53 Institutionen (Universitäten, Universitätsklinik, Forschungsinstituten, Unternehmen etc.) tätig sind, jeweils wenigstens eine Genehmigung für die Einfuhr von hES-Zellen und deren Verwendung für Forschungszwecke.

Am Ende des Berichtszeitraums wurden zudem zwei Anträge auf Erweiterung bereits bestehender Genehmigungen gestellt, über die aber bis zum 31.12.2019 noch nicht entschieden wurde.

1.2.2 Angaben zu den im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben

Bis zum 31.12.2017 (Ende des achten Berichtszeitraumes) waren 132 Genehmigungen nach dem StZG erteilt worden.

Die insgesamt 133. Genehmigung für die Einfuhr und Verwendung humaner ES-Zellen erging am 01.02.2018 an die Uniklinik Köln. Im Rahmen der genehmigten Forschungsarbeiten sollen aus pluripotenten Stammzellen abgeleitete limbale Stammzellen und Limbusepithelzellen hinsichtlich ihrer Eignung für eine Zellersatztherapie zur Rekonstruktion der cornealen Oberfläche bei Limbusstammzellinsuffizienz untersucht werden. Dazu sollen hES-

Zellen und humane induzierte pluripotente Stammzellen (hiPS-Zellen) in limbale Stammzellen und Limbus-epithelzellen differenziert und diese in ein gut charakterisiertes Kaninchen-Modell für eine experimentell erzeugte Limbusstammzell-Insuffizienz transplantiert werden. Die transplantierten Zellen sollen dann vor allem auf ihre Fähigkeit hin untersucht werden, die Integrität der Augenoberfläche zu verbessern. Im Ergebnis der Arbeiten soll das Potential von hES- und hiPS-Zellen zur Differenzierung in limbale Stamm- bzw. Epithelzellen und deren Eignung für die Behandlung der Limbusstammzellinsuffizienz im Kaninchen vergleichend bewertet werden können. Mit den Ergebnissen der genehmigten Arbeiten sollen die Grundlagen für ein standardisiertes und sicheres Verfahren zur Zellersatztherapie geschaffen werden, mit dem die in vielen Fällen bislang nicht adäquat behandelbare Limbusstammzellinsuffizienz künftig behandelt werden könnte.

Die 134. Genehmigung nach dem StZG wurde am 15.03.2018 an die Charité - Universitätsklinikum Berlin, erteilt. Erforscht werden soll ein vermuteter Zusammenhang zwischen einer verstärkten Methylierung bestimmter Regionen des Gens für Proopiomelanocortin (POMC) und einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von Adipositas. Das Produkt des POMC-Gens wird zu Melanozyten-stimulierendem Hormon (MSH) prozessiert, das durch Aktivierung des Melanocortin-4 (MC4)-Rezeptors im Hypothalamus ein Sättigungsgefühl vermittelt. Im Rahmen der Forschungsarbeiten sollen hES-Zellen zu Neuronen des Hypothalamus bzw. zu spezifischen neuronalen Organoiden differenziert werden, an denen die Methylierungsvorgänge während früher menschlicher Differenzierungsprozesse detailliert untersucht und die Frage geklärt werden kann, ob Veränderungen in der Methylierung zu einer veränderten Expression des POMC-Gens und zu Veränderungen in der MSH-Sekretion führen. Durch die Untersuchung des Einflusses sog. C1-Metabolite auf die Methylierung des POMC-Gens während der frühen Differenzierung sollen zudem Hinweise darauf erlangt werden, ob eine starke Präsenz bestimmter Stoffwechselprodukte in frühen Phasen der Schwangerschaft ggf. mit der Entwicklung einer Prädisposition für eine Adipositas assoziiert sein könnte. Mit den Forschungsarbeiten sollen grundlegende Fragen zur DNA-Methylierung während früher Entwicklungsstadien geklärt und zugleich mögliche epigenetische Prozesse bei der Entwicklung einer Adipositas aufgeklärt werden.

Die 135. Genehmigung erging am 05.07.2018 an das Universitätsklinikum Essen für die Nutzung von hES-Zellen zur Erforschung molekularer Ursachen von mentalen Retardierungssyndromen, die mit dem funktionalen Verlust von Genen bzw. Genregionen in Zusammenhang stehen, die einem genomischen Imprinting unterliegen. Insbesondere sollen molekulare Ursachen des Prader-Willi-Syndroms analysiert werden, das mit einem Expressionsverlust einer bestimmten Region des väterlichen Allels von Chromosom 15 assoziiert ist. Die in der betreffenden Region lokalisierten Gene sollen in hES-Zellen funktional deletiert, in ihrer Expression gehemmt oder ektopisch überexprimiert und die Effekte dieser genetischen Veränderungen auf die neurale Differenzierung untersucht werden. Ziel ist es, mögliche Veränderungen in der neuronalen Differenzierung sowie in den Eigenschaften und der Funktionalität der neuronalen Zellen bestimmen zu können. Produkte von Genen, deren Expression in aus genetisch modifizierten hES-Zellen differenzierten Neuronen verändert ist, sollen dann bezüglich ihrer Funktion bei der neuronalen Differenzierung im Detail untersucht werden. Die Forschungsarbeiten sollen zu einem verbesserten Verständnis der molekularen Ursachen des Prader-Willi-Syndroms beitragen. Zudem könnten die angestrebten Erkenntnisse über die in diese Erkrankung involvierten molekularen Vorgänge auch zur Identifizierung neuer Angriffspunkte für Pharmaka zur Behandlung des Prader-Willi-Syndroms führen.

Im Rahmen der ebenfalls am 05.07.2018 an das Universitätsklinikum Essen erteilten 136. Genehmigung sollen molekulare und entwicklungsbiologische Aspekte von genetisch bedingten Erkrankungen untersucht werden, die mit einer Intelligenzminderung verbunden sind und deren Ursachen vermutlich in einem veränderten Nukleosomen-Profil liegen. Als Modellerkrankungen hierfür dienen das Coffin-Siris-Syndrom und das Nicolaides-Baraitser-Syndrom, die mit Mutationen in Genen assoziiert sind, die für Untereinheiten des sog. SWI/SNF-Komplexes kodieren. Der SWI/SNF-Komplex ist maßgeblich an der Remodellierung von Chromatin beteiligt. Die Expression der entsprechenden Gene soll in hES-Zellen experimentell ausgeschaltet, vermindert bzw. erhöht und die genetisch veränderten hES-Zellen sollen dann in Neurone differenziert werden. Die Analyse des Differenzierungsprozesses, die umfassende Charakterisierung der entstehenden neuronalen Zellen und weiterführende Untersuchungen von Genregionen, deren Expression Unterschiede im Vergleich mit genetisch unveränderten Zellen aufweist, sollen Hinweise auf mögliche Veränderungen im SWI/SNF-Komplex, in der Nukleosomen-Verteilung und im Histonbesatz als potentielle Ursache für die Ausbildung der o. g. Syndrome erbringen. Auf diesem Wege sollen molekulare und zelluläre Pathogenesemechanismen der Intelligenzminderung, die auf Veränderungen des Nukleosomenprofils zurückzuführen sind, besser als bislang verstanden werden.

Gegenstand der 137. Genehmigung, die auch am 05.07.2018 erteilt wurde und deren Inhaber wiederum das Universitätsklinikum Essen ist, ist die Untersuchung molekularer Ursachen für Intelligenzminderung, die mit genetischen Veränderungen in X-chromosomal codierten Genen assoziiert sind, insbesondere in IQSEC2 und RBMX.

Die betreffenden Gene sollen in hES-Zellen mutiert bzw. in ihrer Expression moduliert, die Zellen dann in den naiven Zustand der Pluripotenz überführt und in Richtung neuronaler Zellen/Organoide differenziert werden. Dabei soll der Einfluss der jeweiligen genetischen Veränderungen auf die X-Chromosom-Inaktivierung und die neuronale Differenzierung ermittelt, das Spektrum und die Eigenschaften der im Verlauf der Differenzierung entstehenden neuronalen Zellen bestimmt und, da die Produkte der hier interessierenden Gene auch in Spleiß-Vorgänge involviert sind, insbesondere Spleiß-Varianten bestimmter RNAs in verschiedenen Phasen der neuronalen Differenzierung bestimmt werden. Sollten Gene identifiziert werden, deren Expression gegenüber Wildtyp-Zellen verändert sind, so soll der Einfluss von deren Produkten auf die neuronale Differenzierung bestimmt werden, beispielsweise durch Mutation der entsprechenden Gene in hES-Zellen und anschließende Differenzierung in Neurone. Die Forschungsarbeiten haben zum Ziel, das Verständnis der molekularen Ursachen von X-chromosomal-assoziierten Intelligenzminderungen zu vertiefen, die spezifische Rolle der bei diesen Erkrankungen veränderten Gene im gesunden und pathologischen Zustand aufzuklären, krankheitsassoziierte Vorgänge bei der Inaktivierung des zweiten X-Chromosoms besser als bislang zu verstehen und ggf. zur Identifizierung von Zielstrukturen für pharmakologische Interventionen beizutragen, die Grundlage für die Entwicklung neuer Medikamente zur Behandlung dieser Erkrankungen sein kann.

Die Forschungsarbeiten, die im Rahmen der am 12.07.2018 an Frau Dr. Dao Thi, Universitätsklinikum Heidelberg, erteilten 138. Genehmigung durchgeführt werden, zielen auf die Etablierung und Optimierung eines (polarisierten) humanen Leberzellmodells, an dem Prozesse der Infektion menschlicher Leberzellen mit dem Hepatitis-E-Virus (HEV) untersucht werden sollen. Nach der Etablierung dieses Zellmodells sollen daran molekulare Mechanismen der HEV-Infektion untersucht werden, insbesondere der intrazelluläre Transport und die Sekretion des Virus. Dabei sollen auch zelluläre Proteine identifiziert werden, deren Wechselwirkung mit viralen Proteinen für den intrazellulären Transport des Virus und dessen Sekretion durch die Zelle erheblich sind. Angesichts von weltweit ca. 20 Millionen HEV-Infektionen und der Nicht-Verfügbarkeit spezifischer Therapien, ist das in diesem Forschungsvorhaben angestrebte verbesserte Verständnis der HEV-Replikation in menschlichen Leberzellen und der molekularen Wechselwirkungen von HEV- und Wirtsproteinen von erheblicher Relevanz und könnte zur Identifizierung zellulärer Zielstrukturen für die künftige Entwicklung von Inhibitoren der HEV-Infektion beitragen.

Die am 09.10.2018 erteilte 139. Genehmigung nach dem StZG erging an Herrn Prof. Dr. Henrik Semb, Helmholtz Zentrum München GmbH. Vor dem Hintergrund erheblicher Fortschritte bei der Differenzierung humaner pluripotenter Stammzellen in Insulin-produzierende Beta-Zellen sollen hier erste Schritte in Richtung einer klinischen Anwendung von in vitro produzierten Beta-Zellen zur Behandlung des Diabetes mellitus Typ 1 gegangen werden. Dabei sollen zum einen bislang entwickelte pankreatische Differenzierungsprotokolle auf die qualitativen Erfordernisse klinischer Studien übertragen, zum anderen sollen experimentelle Vorgehensweisen entwickelt bzw. optimiert werden, um pankreatische Vorläuferzellen des Menschen in für klinische Zwecke erforderlichen Mengen bereitzustellen und eine verstärkte Reifung aus pluripotenten Stammzellen gewonnenen pankreatischen Vorläuferzellen zu induzieren. Insbesondere sollen die Differenzierungsprotokolle auf die Bedingungen der guten Herstellungspraxis (good manufacturing practice, GMP) übertragen und die dabei gewonnenen pankreatischen Zellen umfassend in vitro und in vivo charakterisiert werden. Ferner sollen Moleküle und Signalwege identifiziert werden, die die Proliferation pankreatischer Vorläuferzellen verstärken. Außerdem soll die Rolle des kortikalen Aktin-Netzwerkes bei der Reifung humaner pankreatischer Zellen näher untersucht werden, wofür verschiedene Prozesse der Umorganisation des Aktin-Netzwerkes spezifisch gehemmt und der Einfluss auf die Reifung pankreatischer Beta-Zellen untersucht werden sollen. Die hier genehmigten Forschungsarbeiten zielen insgesamt auf die Bereitstellung ausreichender Mengen transplantierbarer, reifer Beta-Zellen in vitro, wodurch u. a. Grundlagen für die Durchführung entsprechender klinischer Studien geschaffen werden sollen. Angesichts der hohen Prävalenz von Diabetes mellitus und teils unzureichender Therapiemöglichkeiten ist dies von außerordentlicher Relevanz.

Die Forschungsarbeiten, die im Rahmen der am 09.10.2018 an das Max-Delbrück-Centrum für molekulare Medizin (MDC), Berlin, erteilten 140. Genehmigung durchgeführt werden sollen, zielen auf die Aufklärung von molekularen Veränderungen in Motoneuronen, die verschiedenen sog. Motoneuron-Erkrankungen zugrunde liegen. Im Mittelpunkt steht hierbei die Untersuchung der Lokalisation und Translation von RNA im Soma und in den Neuriten in aus hES-Zellen abgeleiteten Motoneuronen, die für solche Erkrankungen charakteristische Mutationen tragen. Durch Analyse der Zusammensetzung des Transkriptom, Proteoms und Translatoms in verschiedenen intrazellulären Fraktionen krankheitsspezifisch mutierter Neurone sollen veränderte Genfunktionen identifiziert werden; zudem sollen die betreffenden Gene funktional ausgeschaltet bzw. überexprimiert und die phänotypischen und funktionalen Konsequenzen in den entsprechenden Motoneuronen bestimmt werden. Auf diesem Wege soll geklärt werden, ob und inwieweit Veränderungen in der subzellulären Lokalisation und Translation der RNA in Motoneuronen zur Ausprägung von Motoneuron-Krankheiten beitragen. Ziel der Forschungsarbeiten ist

es, wesentliche Faktoren und Signalwege zu bestimmen, deren physiologische und molekulare Funktionen bei Motoneuron-Erkrankungen verschiedener Ätiologie verändert sind. Auf diesem Wege soll zu einem vertieften Verständnis der Pathogenese dieser Erkrankungen beigetragen werden, ferner sollen neue Erkenntnisse über die molekularen Eigenschaften von humanen Motoneuronen gewonnen werden.

Inhaber der am 01.11.2018 erteilten 141. Genehmigung nach dem StZG ist Herr Dr. Moritz Mall, Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg. Vor dem Hintergrund der Erkenntnis, dass Zellidentitäten offenbar nicht dauerhaft festgelegt sind, sondern durch die stete Repression alternativer Entwicklungsprogramme aktiv aufrechterhalten werden müssen, soll die Rolle spezifischer Transkriptions-Repressoren wie beispielsweise MYT1L für die Entstehung und Aufrechterhaltung der Identität neuronaler Zellen des Menschen untersucht werden. Dafür sollen spezifische Mutationen in den entsprechenden Genen in hES-Zellen erzeugt und die genetisch veränderten hES-Zellen anschließend in Neurone bzw. neuronale Organoide differenziert werden. Durch Vergleich des Expressionsprofils in bezüglich des MYT1L-Gens ursprünglichen und genetisch veränderten neuronalen Zellen, sollen Zielgene von MYT1L identifiziert, Wechselwirkungspartner ermittelt und insbesondere epigenetische Veränderungen infolge einer veränderten bzw. fehlenden MYT1L-Genexpression bestimmt werden. Dabei soll auch überprüft werden, ob und wenn ja welche weiteren Faktoren mit Relevanz für die epigenetische Integrität der Zellen von MYT1L als Kofaktoren rekrutiert werden. Die für solche Faktoren codierenden Gene und die Rolle ihrer Genprodukte bei der Entstehung und Funktion von Neuronen sollen dann näher untersucht werden. Ziel der Forschungsarbeiten ist die Erlangung eines besseren Verständnisses darüber, auf welchem Wege MYT1L und verwandte Faktoren neuronale Differenzierungsvorgänge beim Menschen steuern und zur Erhaltung der Zellidentität in menschlichen Neuronen beitragen. Die Arbeiten können ggf. auch zur Identifizierung von Faktoren und Prozessen führen, deren veränderte Regulation Erkrankungen wie Autismus und Schizophrenie, aber auch Hirntumore, bedingen können, wodurch auch Erkenntnisse über molekulare Ursachen dieser Erkrankungen erlangt werden sollen.

Die am 11.12.2018 erteilte 142. Genehmigung nach dem StZG erging an Herrn Dr. Claudio Acuna Goycolea, Universität Heidelberg. Gegenstand der genehmigten Forschungsarbeiten sind Untersuchungen zur Fragestellung, ob und inwieweit Mutationen in spezifischen Regionen der nicht-codierenden DNA (sog. Human Accelerated Regions, HARs), zu veränderten Phänotypen in humanen Neuronen führen können. HARs sind kurze Abschnitte des (i. allg. nicht-codierenden) Genoms, die innerhalb der Wirbeltiere stark konserviert sind, beim Menschen aber deutliche Veränderungen erfahren haben. Die Präsenz von HARs im menschlichen Genom scheint von zentraler Bedeutung für die Evolution und Funktion des menschlichen Gehirns zu sein. Zudem sind human-spezifische HARs häufig in Enhancern für Gene lokalisiert, deren Genprodukte eine Rolle bei der Entwicklung und Funktion neuronaler Zellen spielen, und Mutationen in HAR sind häufig mit neuralen Entwicklungsstörungen wie Autismus oder psychischen Erkrankungen wie Depressionen assoziiert. Im Rahmen der Forschungsarbeiten sollen daher bestimmte HAR-Mutationen in hES-Zellen etabliert, die mutierten Zellen in neuronale Zellen differenziert und der Phänotyp der entsprechenden Neurone umfassend untersucht werden, wobei vor allem die synaptischen Eigenschaften der betreffenden Zellen von Interesse sind. Ferner sollen die Genexpressionsprofile der Neurone bestimmt und Gene, deren Expression infolge der HAR-Mutationen Veränderungen erfahren haben, hinsichtlich der Rolle ihrer Genprodukte für die Entwicklung/Funktion neuronaler Zellen analysiert werden. Das Forschungsvorhaben soll zur Aufklärung einer möglichen Rolle von HAR-Mutationen bei neuralen Entwicklungsstörungen und bei der Pathogenese neuropsychiatrischer Erkrankungen beitragen, zugleich aber auch neue Erkenntnisse über die human-spezifischen Eigenschaften menschlicher Synapsen erbringen.

Die identischen Genehmigungen 143 und 144 ergingen am 31.01.2019 an Frau Dr. Katrin Schrenk-Siemens und Herrn Dr. Claudio Acuna Goycolea, Universität Heidelberg. Im Rahmen der Forschungsarbeiten sollen auf menschlichen Nervenzellen basierende neuronale Netzwerke etabliert und charakterisiert werden, an denen genetische und zelluläre Grundlagen physiologischer und pathologischer Schmerzen analysiert, Ursachen von Schmerzüberempfindlichkeit und Schmerztoleranz bestimmt und künftig ggf. Substanzen identifiziert werden können, die Grundlage für die Entwicklung neuartiger Schmerzmittel sein können. Hierfür sollen hES-Zellen in Richtung von sensorischen Neuronen und Neuronen des Zentralnervensystems (ZNS) differenziert und diese dann in einem Mehrkammer-Kultursystem kokultiviert werden, in dem sich – über Mikrokanäle zwischen den Kammern – synaptische Kontakte zwischen verschiedenen Nervenzelltypen bilden können. In diesen Zellmodellen soll dann ermittelt werden, welche Effekte schmerzauslösende Stimuli bzw. mit pathologischem Schmerz assoziierte Bedingungen auf die Struktur und Funktion der Synapsen haben. Ferner sollen die Effekte von mit Schmerzsyndromen assoziierten Mutationen bzw. Polymorphismen auf die etablierten neuronalen Netzwerke untersucht werden, wofür entsprechende Mutationen in hES-Zellen erzeugt, die hES-Zellen in die o. g. Typen von Neuronen differenziert und ihre Eigenschaften in den oben beschriebenen neuronalen Netzwerken untersucht werden. Schließlich

soll untersucht werden, ob sich die etablierten Zellmodelle zur Bestimmung der molekularen und zellulären Effekte schmerzlindernder Substanzen eignen, wofür insbesondere die Wirkung entsprechender Substanzen auf die synaptische Übertragung zwischen Neuronen sowie auf die Aktivität von an der Schmerztransduktion beteiligter Signalübertragungswege überprüft werden soll. Angesichts eines noch mangelhaften Verständnisses der molekularen Vorgänge bei Schmerzentstehung und -übertragung, im Hinblick auf die große Zahl an Patienten mit chronischen Schmerzen sowie in Anbetracht der nur unzureichenden Möglichkeiten der Schmerztherapie ist die in diesem Forschungsvorhaben vorgesehene Etablierung von humanen Zellmodellen für die Schmerzforschung von erheblichem Interesse und großer Relevanz, um Ursachen für Schmerzen auf zellulärer Ebene zu verstehen und künftig neue Therapiekonzepte zu entwickeln.

Die 145. Genehmigung nach dem StZG wurde am 28.05.2019 an Frau Professor Dr. Michaela Frye, Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ) Heidelberg, erteilt. Im Rahmen der genehmigten Forschungsarbeiten soll die Rolle von RNA-Modifikationen, insbesondere tRNA-Modifikationen, für die Aufrechterhaltung von Pluripotenz und für die neuroektodermale Differenzierung untersucht werden. Hintergrund der Forschungsarbeiten ist die Tatsache, dass Mutationen in Genen, die für RNA-modifizierende Enzyme codieren, teilweise mit schweren neurologischen Erkrankungen und Entwicklungsstörungen assoziiert sind. Daher soll in hES-Zellen die Expression der entsprechenden Gene durch gerichtete Mutationen ausgeschaltet, vermindert oder verstärkt werden. Anschließend sollen die Effekte der genetischen Veränderungen auf das Ausmaß der tRNA-Modifikation in hES-Zellen bestimmt, die Auswirkungen auf die Fähigkeit der Zellen zur Selbsterneuerung und frühen ektodermalen und neuronalen Differenzierung sollen untersucht und die molekularen und funktionalen Eigenschaften der aus diesen Zellen gewonnenen Neurone bzw. neuronalen Organoiden analysiert werden. Ziel der Forschungsarbeiten ist es, zu neuen Erkenntnissen über die Rolle von tRNA-modifizierenden Enzymen für die Aufrechterhaltung der Pluripotenz menschlicher Zellen und für die Authentizität der neuronalen Differenzierung zu gelangen. Durch Untersuchung der molekularen Konsequenzen genetischer Veränderungen in den für tRNAs codierenden Genen können voraussichtlich auch neue Erkenntnisse über die Pathogenese von neuronalen Erkrankungen und Entwicklungsstörungen gewonnen werden.

Inhaberin der ebenfalls am 28.05.2019 erteilten 146. Genehmigung nach dem StZG ist die Technische Universität Dresden. Im Rahmen der genehmigten Forschungsarbeiten sollen Vorgehensweisen für die Herstellung von Zellen der Nebennierenrinde bzw. von Nebennieren-ähnlichen Organoiden entwickelt werden, die Steroidhormone produzieren. Dazu sollen hES-Zellen zunächst in intermediäres Mesoderm differenziert und anschließend neue Vorgehensweisen für dessen weitere Differenzierung in Richtung steroidproduzierender Zellen entwickelt werden. Dabei sollen – als Grundlage für die Etablierung eines effizienten Differenzierungsprotokolls – kleine Moleküle identifiziert werden, die die Entwicklung von Zellen des intermediären Mesoderms in Nebennierenrindenzellen anstoßen oder fördern. Nach umfassender molekularer und funktionaler In-vitro-Charakterisierung der Nebennierenrinden-Zellen/Organoiden sollen diese dann in experimentelle Mausmodelle der Nebenniereninsuffizienz transplantiert und überprüft werden, ob und inwieweit die transplantierten Zellen/Organoiden sich in das Wirtsgewebe integrieren und – durch Produktion menschlicher Steroidhormone – die Nebenniereninsuffizienz kompensieren können. Ferner sollen aus hES-Zellen abgeleitete Nebennierenrindenzellen auch zur Etablierung von Zell-/Organoid-Modellen für genetisch bedingte Nebenniereninsuffizienz genutzt werden, wobei hES-Zellen mit Mutationen in Genen für steroidogene Enzyme als Ausgangspunkt genutzt werden. Ziel des Forschungsvorhabens ist es, die molekularen Grundlagen der Entwicklung der Nebennierenrinde des Menschen besser als bislang zu verstehen, auf diesem Wege – als Grundlage für künftige Gewebeersatztherapien der Nebenniereninsuffizienz – effiziente Differenzierungsprotokolle für die Gewinnung funktionaler Nebennierenrindenzellen zu entwickeln und Zellmodelle für die Untersuchung der molekularen Pathogenese von Nebenniereninsuffizienz zu etablieren.

Die 147. Genehmigung nach dem StZG erging am 01.08.2019 an Herrn Dr. Leo Kurian, Universität zu Köln. In diesem Forschungsvorhaben sollen RNA-bindende Proteine (RBP) untersucht werden, deren Produktion während der Differenzierung von hES-Zellen zu kardialen Zellen erheblichen Veränderungen unterliegt. Dabei soll insbesondere ihre Funktion bei der Regulation der Translation in hES-Zellen sowie während früher Differenzierungsereignisse erforscht werden, wobei u. a. die Assoziation der RBP mit Ribosomen als Maß für deren Involvierung in den Translationsprozess untersucht und die subzelluläre Lokalisation der RBP ermittelt werden sollen. Zudem sollen Interaktionspartner der RBP auf Protein- und RNA-Ebene identifiziert und Veränderungen analysiert werden, die die Wechselwirkungen mit diesen Partnern während der kardialen Differenzierung erfahren. Nach funktionaler Ausschaltung der für RBP codierenden Gene in hES-Zellen sollen die Auswirkungen auf die Pluripotenz der Zellen sowie auf ihr Transkriptom und Proteom bestimmt und überprüft werden, ob und inwieweit die Differenzierung der so veränderten Zellen in Zellen verschiedener Keimblätter ggf. beeinträchtigt ist. Die geplanten Forschungsarbeiten werden voraussichtlich dazu beitragen, die Rolle spezifischer RBP bei der Aufrechterhaltung von Pluripotenz und bei der Differenzierung embryonaler Stammzellen in verschiedene menschliche Zelltypen

besser als bislang zu verstehen. Aus den erwarteten Erkenntnissen lassen sich aller Voraussicht nach Rückschlüsse auf Moleküle, Signalwege und Vorgänge ziehen, die während der frühen Embryonalentwicklung des Menschen eine Rolle spielen, wodurch zu einem besseren Verständnis der Entwicklungsbiologie des Menschen beigetragen werden kann.

Die 148. Genehmigung nach dem StZG wurde, ebenfalls am 01.08.2019, an das Max-Delbrück-Centrum für Molekulare Medizin (MDC), Berlin, erteilt. Die hier genehmigten Forschungsarbeiten schließen an Arbeiten an, deren Durchführung mit der 125. Genehmigung nach dem StZG gestattet worden war. Nunmehr soll untersucht werden, ob und auf welche Weise das humane endogene Retrovirus H (HERVH) die Chromatinstruktur in embryonalen Stammzellen des Menschen beeinflusst und auf diesem Wege ggf. an der Regulation von deren Pluripotenz beteiligt ist. Dafür sollen Subpopulationen von hES-Zellen isoliert und angereichert werden, die die HERVH-Gene stark exprimieren und Merkmale sog. naiver pluripotenter Stammzellen aufweisen. Diese Zellen sollen dann eingehend bezüglich ihrer Chromatinstruktur analysiert und dabei insbesondere Wechselwirkungen zwischen verschiedenen DNA-Domänen bestimmt, genomweite Chromatin-Kontaktkarten erstellt und regulatorische Elemente der Chromatinstruktur identifiziert werden. Weiterhin soll der Einfluss von Histonmodifikationen in HERVH-haltigen Genom-Regionen auf die Pluripotenz-Regulation in hES-Zellen mit hoher und geringer HERVH-Aktivität untersucht und der Einfluss der HERVH-Aktivität auf die Formierung bzw. Stabilisierung sogenannter topologisch assoziierender Domänen (TAD) des Chromatins bestimmt werden. Mit diesen Untersuchungen sollen u. a. die Fragen danach geklärt werden, ob und inwieweit die Regulation der Pluripotenz menschlicher Zellen durch HERVH auch mit spezifischen Chromatin-Konformationen assoziiert ist und ob HERVH die Stabilität oder Entstehung topologisch assoziierender Domänen (TAD) beeinflusst, was für das Verständnis der Grundlagen der Pluripotenz menschlicher Stammzellen relevant sein kann.

Inhaberin der 149. Genehmigung nach dem StZG, die am 10.10.2019 erteilt wurde, ist Frau Prof. Dr. Anne Grapin-Botton vom Max-Planck-Institut für Molekulare Zellbiologie und Genetik (MPI-CBG), Dresden. Die genehmigten Forschungsarbeiten zielen auf die Entwicklung von verbesserten Methoden für eine effektive In-vitro-Gewinnung verschiedener pankreatischer Zelltypen, wobei auch ein besseres Verständnis über die molekularen Vorgänge gewonnen werden soll, die der Entwicklung der verschiedenen pankreatischen Zelltypen des Menschen zugrunde liegen. In diesem Zusammenhang sollen Vorgehensweisen für eine von Tierprodukten freie In-vitro-Vermehrung pankreatischer Vorläuferzellen unter 3D-Bedingungen entwickelt und dann Verfahren etabliert werden, mit denen die Vorläuferzellen effektiv in Richtung der verschiedenen pankreatischen Zelltypen differenziert werden können (endokrine hormonproduzierende Beta- und Alphazellen, exokrine duktales und azinäre Zellen). In diesem Zusammenhang sollen die Transkriptome der sich in die verschiedenen pankreatischen Zelltypen differenzierenden Zellen mittels Einzelzell-Sequenzierung analysiert und durch Vergleich der Daten mit entsprechenden Datensätzen aus primären und fötalen menschlichen Pankreas-Zellen Signalwege entschlüsselt werden, die an der Entwicklung und Reifung des jeweiligen Zelltyps beteiligt sind. Zudem sollen Moleküle identifiziert werden, die die jeweiligen Signalwege modulieren können, und deren Wirkung auf die In-vitro-Entwicklung endokriner und exokriner pankreatischer Zellen soll überprüft werden. Ziel der Forschungsarbeiten ist es, ein umfassenderes Verständnis als bislang von den Prozessen zu gewinnen, die bei der Differenzierung in verschiedene pankreatische Zelltypen des Menschen ablaufen, und auf dieser Grundlage verbesserte Vorgehensweisen für die Gewinnung menschlicher pankreatischer Zellen aus pluripotenten Stammzellen zu entwickeln. Dies ist auch mit Blick auf anderswo bereits in Entwicklung befindliche Gewebeersatztherapien zur Behandlung von Diabetes mellitus bedeutsam.

Die ebenfalls am 10.10.2019 erteilte 150. Genehmigung nach dem StZG erging an die RHEINCELL Therapeutics GmbH, Langenfeld (Rheinland). In diesem Forschungsvorhaben werden hES-Zellen als Referenzmaterial für die Etablierung einer Zellbank von klinisch nutzbaren hiPS-Zellen verwendet, die zum einen bezüglich der humanen Leukozyten-Antigene (HLA) homozygot sind und zum anderen unter GMP-Bedingungen hergestellt werden. Da diese (hiPS-)Zellen künftig als Ausgangsmaterial für die Herstellung allogener Zellprodukte für therapeutische Anwendungen beim Menschen genutzt werden sollen, müssen sie einerseits hohe Qualität und Reinheit aufweisen, andererseits hohe Standards bezüglich ihrer Pluripotenz erfüllen, beispielsweise hinsichtlich ihres Differenzierungsvermögens, was die Nutzung von hES-Zellen als Vergleichsstandard erfordert.

Die 151. Genehmigung nach dem StZG wurde am 03.12.2019 erteilt und erging an Herrn Professor Dr. Dennis Schade, Christian-Albrechts-Universität zu Kiel. Hier soll die Wirkung spezifischer niedermolekularer Aktivatoren des bone morphogenic protein (BMP)-Signalwegs auf die mesodermale/kardiale Differenzierung von hES-Zellen untersucht und auf Grundlage der dabei erzielten Ergebnisse verbesserte Vorgehensweisen für die schrittweise effiziente mesodermale/kardiale Differenzierung entwickelt werden. Der BMP-Signalweg ist für die mes-

odermale/kardiale Differenzierung von zentraler Bedeutung. Die in Frage kommenden Substanzen sollen zur Differenzierung von hES-Zellen eingesetzt, das Zeitfenster ihrer effektiven Wirkung jeweils im Hochdurchsatzverfahren bestimmt, der Effekt der Substanzen auf die Induktion kardialen Mesoderms und die dabei ablaufenden zellulären Prozesse untersucht und ihr Einfluss auf die Strukturierung des kardialen Mesoderms analysiert werden. Anschließend sollen auch Prozesse der Weiterentwicklung des kardialen Mesoderms zu reifen kardialen Zellen optimiert und der Einfluss der Modulation beteiligter Signalwege näher untersucht werden. Zudem sollen die Effekte der BMP-Aktivatoren auf molekularer Ebene im Detail analysiert und insbesondere ihre Wechselwirkungspartner und die für diese codierenden Gene identifiziert und charakterisiert werden. Die Ergebnisse dieser Arbeiten werden voraussichtlich zu neuen Erkenntnissen über die Aktivität und Regulation der Signalübertragungs-Kaskade von BMP während verschiedener Stadien der Differenzierung humaner pluripotenter Stammzellen zu Mesoderm und bei der Reifung von Kardiomyozyten führen. Dies und das genaue Verständnis der Wirkmechanismen der BMP-Aktivatoren kann Grundlage für die Entwicklung verbesserter Differenzierungsprotokolle sein, in denen rekombinant hergestellte Proteine durch chemische Substanzen mit genau definierter Aktivität ersetzt werden, was die Produktion insbesondere kardialer Zellen für weitere Forschungszwecke, aber auch für die absehbare klinische Nutzung, erleichtern wird.

Inhaber der ebenfalls am 03.12.2019 erteilten 152. Genehmigung nach dem StZG ist Herr Dr. Micha Drukker, Helmholtz Zentrum München GmbH. Im Rahmen der genehmigten Forschungsarbeiten soll die Funktion von sog. langen nicht-codierenden RNAs (lncRNAs) und mit diesen assoziierten Proteinen in hES-Zellen und während deren früher Differenzierung untersucht werden. Im Mittelpunkt stehen hier die sog. Paraspeckles, intranukleäre membranlose Organellen, die als wesentliches Strukturelement die lncRNA NEAT1 enthalten und die offenbar an wesentlichen Prozessen der posttranskriptionalen Expressionsregulation beteiligt sind. Zunächst sollen Veränderungen in der Zahl der Paraspeckles bei der Differenzierung von hES-Zellen in verschiedene Zelltypen untersucht und daran anschließend verschiedene genetische Veränderungen am NEAT1-Gen vorgenommen bzw. dessen Expression aus- und eingeschaltet und der Effekt auf Differenzierungsvorgänge sowie auf die molekularen Eigenschaften der sich differenzierenden Zellen analysiert werden. Äquivalente Untersuchungen sollen auch zur Rolle weiterer lncRNAs mit potentieller Funktion in der Differenzierung durchgeführt werden. Ferner sollen Wechselwirkungspartner von NEAT1 identifiziert, die von NEAT1 regulierten Gene bestimmt und molekulare Zusammenhänge zwischen einer Ausschaltung der für Paraspeckles-Proteine codierenden Gene, Veränderungen im Transkriptom/Proteom und veränderten Phänotypen der betreffenden Zellen aufgeklärt werden.

Die mit der 139. Genehmigung inhaltsgleiche 153. Genehmigung nach dem StZG wurde am 19.12.2019 an die Technische Universität München erteilt. Hintergrund ist, dass die im Rahmen der 139. Genehmigung vorgesehenen Arbeiten nun auch unter Bedingungen der guten Herstellungspraxis optimiert werden müssen, um die Vorgehensweisen für die Herstellung des für klinische Studien zur Gewebeersatztherapie des Diabetes mellitus später erforderlichen Zell- und Gewebematerials festzulegen. Dies erfordert spezifische technische Voraussetzungen für die Kultivierung und Differenzierung der Zellen, die beim Genehmigungsinhaber bestehen.

Während im vorherigen Berichtszeitraum (01.01.2016 bis 31.12.2017) neun Anträge auf eine inhaltliche Erweiterung in der Vergangenheit genehmigter Forschungsvorhaben gestellt und genehmigt worden waren, wurden im aktuellen Berichtszeitraum lediglich zwei Anträge auf Erweiterung bereits bestehender Genehmigungen gestellt, die am Ende des Berichtszeitraums noch nicht entschieden waren.

Weitere Angaben zum Gegenstand der erteilten Genehmigungen sowie zu den maßgeblichen Gründen, die jeweils zu einer Bejahung der Frage nach dem Vorliegen der Bedingungen des § 5 StZG geführt haben, sind im Register nach § 11 StZG auf den Internetseiten des Robert Koch-Instituts veröffentlicht.

(http://www.rki.de/DE/Content/Gesund/Stammzellen/Register/register_node.html).

1.3 Erfüllung der Voraussetzungen nach § 4 StZG

Im Rahmen der Bewertung von Anträgen nach dem StZG ist jeweils zu prüfen, ob die hES-Zellen, deren Einfuhr und/oder Verwendung beantragt wurde, den Bedingungen des § 4 StZG entsprechen. Die Prüfung erfolgt auf Grundlage einer vom Antragsteller beigebrachten Dokumentation über die entsprechenden hES-Zell-Linien. In jenen Fällen, in denen die Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen beantragt wird, über die dem RKI bereits eine entsprechende Dokumentation aus vorherigen Antragsverfahren vorliegt, ist eine erneute Erbringung einer entsprechenden Dokumentation nicht erforderlich. Im Berichtszeitraum wurden die Einfuhr und/oder Verwendung von insgesamt 33 verschiedenen hES-Zell-Linien genehmigt; für alle Linien lag die nach § 6 Absatz 2 Nummer 3 StZG erforderliche Dokumentation am RKI bereits vor. Gründe nach § 4 Absatz 2 Nummer 2 StZG standen

der Einfuhr und Verwendung der hES-Zellen jeweils nicht entgegen. Tatsachen, nach denen die Genehmigung entsprechend § 4 Absatz 3 StZG zu versagen wäre, waren jeweils ebenfalls nicht bekannt.

Angaben darüber, welche humanen embryonalen Stammzell-Linien in den jeweiligen Forschungsvorhaben verwendet werden dürfen, finden sich ebenfalls im Register nach § 11 StZG auf den Internetseiten des RKI

(http://www.rki.de/DE/Content/Gesund/Stammzellen/Register/register_node.html).

Für die Durchführung zahlreicher Forschungsvorhaben wurde auch im aktuellen Berichtszeitraum die Einfuhr und Verwendung mehr als einer humanen embryonalen Stammzell-Linie beantragt. Dies ist unter anderem dadurch begründet, dass sich verschiedene hES-Zell-Linien bezüglich ihrer Charakteristika unterscheiden können, beispielsweise in ihrer Fähigkeit zur Differenzierung in einen bestimmten Zelltyp. Da das jeweilige Differenzierungspotential nicht in jedem Fall bekannt ist, kann erst im Laufe des Forschungsvorhabens ermittelt werden, welche hES-Zell-Linie für die Beantwortung der jeweiligen Forschungsfrage am besten geeignet ist. Zudem können Schwierigkeiten bestehen, Zugang zu bestimmten hES-Zell-Linien zu erlangen bzw. die hES-Zellen in der gewünschten Qualität (z. B. in geringer Passagenzahl) zu erhalten.

Seit dem Inkrafttreten des Gesetzes zur Änderung des Stammzellgesetzes vom 14.08.2008 (BGBl I S. 1708) besteht infolge der Verschiebung des Stichtags die Möglichkeit der Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen, die nach dem 01.01.2002 und vor dem 01.05.2007 gewonnen wurden (im Folgenden als „neue“ hES-Zell-Linien bezeichnet). Zuvor war die Nutzung nur weniger „alter“ hES-Zell-Linien statthaft, d. h. von Linien, die vor dem im Stammzellgesetz ursprünglich festgesetzten Stichtag gewonnen worden waren, also vor dem 01.01.2002. Bis zum 31.12.2019 wurden die Einfuhr von 40 verschiedenen „neuen“ hES-Zell-Linien und ihre Verwendung in insgesamt 99 Forschungsvorhaben entweder im Zusammenhang mit der Genehmigung eines neuen Antrags oder im Rahmen der Erweiterung bereits bestehender Genehmigungen nach dem StZG genehmigt. Im Rahmen der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben sollen in etwa 81 Prozent (17 von 21 Forschungsvorhaben) auch neue Linien genutzt werden; ca. 64 Prozent der hES-Zell-Linien (21 von 33), deren Verwendung bzw. Einfuhr und Verwendung genehmigt wurden, sind „neue Linien“. Daneben sollen in nahezu allen im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben (20 von 21, ca. 95 Prozent) auch „alte Linien“ genutzt werden, vor allem jene, die auch außerhalb Deutschlands in der Scientific Community häufig verwendet werden und über die daher zahlreiche publizierte Daten vorliegen.

Im Berichtszeitraum wurde erneut ersichtlich, dass die Stichtagsregelung des Stammzellgesetzes zwar kein grundsätzliches Forschungshemmnis darstellt, jedoch die Forschung in bestimmten Fällen verzögert oder erschwert. Anträge auf Einfuhr und Verwendung von hES-Zell-Linien, die erst nach dem 01.05.2007 abgeleitet worden sind, wurden zwar nicht gestellt, da die Aussichtslosigkeit entsprechender Antragsbegehren nach derzeitiger Rechtslage offensichtlich ist. In einem Fall lagen aber bereits umfangreiche, im Rahmen eines europäischen Kooperationsvorhabens gewonnene Forschungsergebnisse aus dem Ausland vor, die im Rahmen der in Deutschland geplanten Forschung erweitert werden sollten. Allerdings waren die entsprechenden Forschungsarbeiten, die zudem eine GMP-konforme hES-Zell-Linie erforderten, unter Nutzung einer hES-Zell-Linie durchgeführt worden, die erst 2010 etabliert worden war und deren Einfuhr nach (und Verwendung in) Deutschland daher nicht statthaft wäre. Folglich mussten im Vorfeld der Antragstellung umfangreiche Forschungsarbeiten erneut im Ausland durchgeführt werden, um eine GMP-konforme, stichtagsgerechte hES-Zell-Linie zu identifizieren, die sich für die im Forschungsvorhaben vorgesehene Fragestellung grundsätzlich eignete. Dabei ist anzumerken, dass die Überführung in Deutschland nutzbarer hES-Zell-Linien in GMP-konformes Material zwar grundsätzlich möglich ist, jedoch ist dies mit großem Aufwand und – bei einem späteren klinischen Einsatz – ggf. mit zusätzlichen Risiken für den Patienten verbunden, beispielsweise infolge der Transmission tierischer Viren bei ursprünglicher Kokultur mit tierischen Zellen oder Verwendung tierischer Medienbestandteile. Diese Probleme bestehen bei Nutzung einer bereits unter GMP-Bedingungen abgeleiteten neueren, im Ausland verfügbaren hES-Zell-Linie nicht oder in nur geringerem Umfang. Da unter GMP-Bedingungen abgeleitete Linien aber nahezu ausschließlich nach dem 01.05.2007 etabliert wurden, sind klinische Forschung und Entwicklung unter Nutzung dafür gut geeigneter hES-Zellen in Deutschland weiterhin nahezu unmöglich.

In wenigstens zwei weiteren der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben zielen die Fragestellungen zudem auf die Klärung der Eigenschaften naïver hES-Zellen. Naïve hES-Zellen können grundsätzlich zwar durch Reprogrammierung herkömmlicher (bereits geprägter) hES-Zellen gewonnen werden; jedoch wurde in der Diskussion mit den Antragstellern deutlich, dass für derartige Forschungsvorhaben die Nutzung von hES-Zellen wünschenswert wäre, die bereits unter für naïve Pluripotenz erforderlichen Kulturbedingungen etabliert worden sind und ein weniger artifizielles System darstellen als die durch Reprogrammierung geprägte hES-Zellen gewonnenen naïven hES-Zellen; allerdings wurden derartige natürlich-naïve hES-Zell-Linien erst nach dem in Deutschland geltenden Stichtag etabliert.

An diesen Beispielen wird deutlich, dass nach dem 01.05.2007 etablierte hES-Zell-Linien offenbar insbesondere in jenen Fällen erforderlich sind, in denen bestimmte Fragen der Entwicklungsbiologie des Menschen oder der Etablierung spezifischer Voraussetzungen für die Entwicklung und Produktion von Zelltherapeutika unter GMP-Bedingungen beantwortet werden sollen. Für die meisten der auch im aktuellen Berichtszeitraum genehmigten Forschungsarbeiten im Zusammenhang mit noch grundlegenden Fragestellungen und ohne unmittelbare Bezüge zu künftiger medizinischer Anwendung werden auch weiterhin ältere (vor dem derzeit geltenden Stichtag etablierte) hES-Zell-Linien verwendet und sind dafür durchaus hinreichend. Es bestehen zudem auch weiterhin keine Anhaltspunkte dafür, dass infolge einer weiterhin umfangreichen internationalen hES-Zell-Forschung automatisch ein ständig wachsender Bedarf an neuen hES-Zell-Linien verursacht würde. Vielmehr werden – gemäß der in den letzten Jahren publizierten Fachliteratur – trotz der weiterhin intensiven weltweiten Forschung an hES-Zellen weltweit kaum noch neue hES-Zell-Linien etabliert; auch für die Forschung im Ausland werden vorwiegend ältere und gut charakterisierte hES-Zell-Linien verwendet.

1.4 Erfüllung der Voraussetzungen nach § 5 StZG

Im Rahmen der Prüfung der Genehmigungsvoraussetzungen nach § 6 Absatz 4 Nummer 2 StZG hat die Genehmigungsbehörde bei allen im Berichtszeitraum abschließend bewerteten Anträgen in Übereinstimmung mit den jeweiligen Stellungnahmen der Zentralen Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES) die ethische Vertretbarkeit der betreffenden Forschungsvorhaben im Sinne der Erfüllung der gesetzlichen Voraussetzungen nach § 5 StZG bejaht.

Hochrangigkeit der Forschungsziele

Die Forschungsarbeiten, die im Rahmen der 21 im Berichtszeitraum genehmigten Vorhaben unter Verwendung von hES-Zellen durchgeführt werden sollen, zielen mehrheitlich weiterhin auf einen hochrangigen Erkenntnisgewinn zu verschiedenen Fragestellungen der Grundlagenforschung. Hierbei sollen Fragen nach den molekularen Grundlagen von Differenzierung und Entwicklung menschlicher Zellen beantwortet werden, häufig in Zusammenhang mit Fragen nach den Konsequenzen von Mutationen oder einer Fehlregulation von Signalwegen für die Pathogenese verschiedener Erkrankungen des Menschen. hES-Zellen werden nach wie vor zur Entwicklung verbesserter Vorgehensweisen für die Bereitstellung ausreichender Mengen differenzierter und funktional aktiver humaner Zellen genutzt, ferner für die Entwicklung von Zellmodellen für verschiedene Erkrankungen des Menschen. Ein Teil der genehmigten Forschungsvorhaben zielt dabei auch auf die Klärung konkreter Fragestellungen, die mit einem künftigen Einsatz von hES-Zellen als Ausgangsmaterial für Zelltherapeutika in Zusammenhang stehen. Schließlich wurden hES-Zellen auch im vergangenen Berichtszeitraum als Standard- und Referenzmaterial für die Klärung von Forschungsfragen unter Nutzung von hiPS-Zellen benötigt. Im Berichtszeitraum wurden Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen im Wesentlichen für die Klärung folgender Fragestellungen genehmigt:

Erstens zielen einige der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben auf die Klärung von Forschungsfragen, die mit den molekularen Grundlagen der Aufrechterhaltung der Pluripotenz von hES-Zellen und spezifischen molekularen Veränderungen während sehr früher Differenzierungsprozesse zusammenhängen. Dabei soll in einem Vorhaben die Rolle humaner endogener Retroviren bei der Organisation des Chromatins in naiven und geprägten pluripotenten Stammzellen, in einem zweiten Vorhaben die Rolle spezifischer nicht-codierender RNAs für die Aufrechterhaltung der Pluripotenz und den Übergang in die Differenzierung untersucht werden. Mit diesen Forschungsarbeiten soll vorrangig zu einem verbesserten Verständnis molekularer Grundlagen der Pluripotenz menschlicher Zellen beigetragen werden.

Zweitens sollen in mehreren Forschungsvorhaben Fragen nach den molekularen und zellbiologischen Grundlagen von Differenzierungsprozessen beantwortet werden. So sollen in einem Vorhaben Netzwerke von Transkriptionsfaktoren identifiziert werden, die zum einen in spezifische Differenzierungsprozesse involviert sind, zum anderen die Identität von Zellen aufrechterhalten. In einem weiteren Vorhaben soll die Rolle von tRNA-modifizierenden Enzymen für die neuronale Entwicklung menschlicher Zellen geklärt werden. Ein anderes Forschungsvorhaben zielt auf die Klärung der Funktionen spezifischer RNA-bindender Proteine während der kardialen Differenzierung. Diese Forschungsarbeiten zielen darauf, Erkenntnisse über die molekularen Grundlagen von Differenzierungsentscheidungen menschlicher Zellen zu gewinnen und die Rolle bestimmter Proteine, RNAs und/oder Signalübertragungswege für die Auslösung und den Fortgang von Differenzierungsprozessen zu verstehen.

Drittens soll in einer Reihe weiterer Vorhaben das Verständnis von molekularen und zellbiologischen Prozessen vertieft werden, die bei der gerichteten Differenzierung von hES-Zellen in bestimmte Zelltypen des Menschen ablaufen. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse sollen dann Grundlage für die Etablierung bzw. Optimierung entsprechender In-vitro-Differenzierungsprotokolle sein, um die jeweiligen Zelltypen effizient und in ggf. großen

Mengen herstellen zu können. Ziel dieser Forschungsvorhaben ist es, ausreichende Mengen humaner gewebespezifischer Zellen für die Etablierung von Krankheitsmodellen, für die Bearbeitung pharmakologisch-toxikologischer Fragestellungen sowie für künftige Zellersatztherapien bereitstellen zu können. Die im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsarbeiten richten sich auf die Gewinnung verschiedener Typen neuraler, kardialer, pankreatischer und hepatischer Zellen, Zellen der Cornea und Zellen der Nebennierenrinde. Dabei wird üblicherweise an bereits in der wissenschaftlichen Literatur veröffentlichte Vorgehensweisen angeschlossen, wobei die Differenzierungsbedingungen den spezifischen Erfordernissen angepasst und optimiert werden sollen, um gut standardisierbare Methoden zu entwickeln und zu möglichst reifen und funktionalen Zellen zu gelangen. In diesem Zusammenhang wird auch die Differenzierung von hES-Zellen in dreidimensionalen Kontexten untersucht, insbesondere in Organoiden. In einigen Vorhaben sollen Substanzbibliotheken im Hochdurchsatzverfahren auf die Präsenz kleiner Moleküle hin durchsucht werden, die insbesondere die pankreatische und mesodermale/kardiale Differenzierung anstoßen und/oder befördern. Mit den hier geplanten Forschungsarbeiten sollen nach wie vor auch Fragen im Zusammenhang mit den molekularen Grundlagen bestimmter Differenzierungsschritte und mit der Funktion spezifischer Signalübertragungswege und Transkriptionsfaktoren bestimmt werden. Häufig steht die Weiterentwicklung von Differenzierungsprotokollen jedoch auch mit anderen wissenschaftlichen Zielsetzungen in Zusammenhang, vor allem mit der Etablierung von Krankheitsmodellen oder der Entwicklung von Grundlagen für künftige regenerative Therapien.

Viertens zielt ein maßgeblicher Teil der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben auch weiterhin darauf, humane Zellmodelle für die Aufklärung von molekularen und zellulären Ursachen von Erkrankungen bereitzustellen und funktionale Konsequenzen von Gendefekten für die Pathogenese von Erkrankungen des Menschen auf zellulärer Ebene zu bestimmen. Dabei stehen vor allem neurologische Erkrankungen und Entwicklungsstörungen im Mittelpunkt des Interesses, andere Projekte zielen auf die Etablierung von Zellmodellen für die Untersuchung der Grundlagen chronischer Schmerzen bzw. für die Analyse von mit Adipositas assoziierten Gendefekten. Anders als in den vorangegangenen Berichtszeiträumen sollen die aus hES-Zellen abgeleiteten somatischen Zellen dabei weniger als Referenzmaterial bei der Untersuchung von auf entsprechenden krankheitspezifischen hiPS-Zellen beruhenden Zellmodellen dienen; vielmehr soll in den meisten Vorhaben in hES-Zellen ein genetischer Defekt in einem (ggf. potentiell) krankheitsrelevanten Gen erzeugt und die Konsequenzen für die Differenzierung der Zellen sowie die Funktionalität der differenzierten Zellen bestimmt werden, ohne dass die Ergebnisse primär auf mit hiPS-Zell-abgeleiteten Zellmodellen gewonnene Resultate bezogen werden. Dies hängt offenbar mit der rasanten Entwicklung neuer Verfahren auf dem Feld des gene editing (insbesondere CRISPR/Cas) zusammen, durch die hES-Zellen genetischen Veränderungen deutlich leichter zugänglich sind, als dies in der Vergangenheit der Fall war. Diese Arbeiten zielen auf die Gewinnung neuer Erkenntnisse über Veränderungen, die bei der jeweils interessierenden Erkrankung auf molekularer und zellulärer Ebene auftreten, wodurch die entsprechenden Pathogeneseprozesse besser verstanden werden sollen. Die Arbeiten sollen teils auch zur Identifizierung von möglichen targets für pharmakologische Interventionen führen und damit letztlich zur Entwicklung neuer therapeutischer Verfahren zur Behandlung dieser schweren und teils nur inadäquat behandelbaren Erkrankungen beitragen.

Fünftens zielt eines der im Berichtszeitraum genehmigten Vorhaben auf die Etablierung eines hepatischen Zellmodells, an dem bestimmte Prozesse der Infektion mit dem Hepatitis-E-Virus (HEV) *in vitro* untersucht werden sollen. Für HEV existiert derzeit kein adäquates *In-vitro*-Modell, das die zellulären Aspekte der Virusinfektion abbildet. Hier sollen vor allem Erkenntnisse über das Zusammenspiel von viralen und zellulären Faktoren während der HEV-Infektion gewonnen und ggf. Angriffspunkte für neue antivirale Therapien identifiziert werden.

Sechstens werden auch Forschungsarbeiten in einigen der im aktuellen Berichtszeitraum bewerteten Projekten mit der ausdrücklichen Zielstellung verfolgt, Vorgehensweisen für die Bereitstellung von Zellprodukten für künftige klinische Anwendungen zu etablieren, entsprechende Zellprodukte zu gewinnen und sie in präklinischen Modellen zu testen. So sollen hES-Zellen in einem Vorhaben zur Herstellung von limbalen Stammzellen genutzt werden, die dann in ein Tiermodell für experimentell erzeugte Limbusstammzellinsuffizienz transplantiert werden, wobei der therapeutische Effekt bewertet und verschiedene Regimes der Immunsuppression getestet werden sollen. In einem weiteren Projekt sollen hES-Zellen in steroidproduzierende Zellen der Nebennierenrinde differenziert und deren Effekt in einem Tiermodell für Nebenniereninsuffizienz getestet werden. Drei Projekte zielen auf die Etablierung von Vorgehensweisen für die Gewinnung großer Mengen an pankreatischen Zellen, insbesondere an insulinproduzierenden Beta-Zellen. Diese Studien, die zum Teil bereits mit unter GMP-Bedingungen gewonnenem Material durchgeführt werden, zielen letztlich auf die Bereitstellung von Zellprodukten für Gewebersatz-Therapien zur Behandlung des Diabetes mellitus. Zwar zielen diese Vorhaben auch weiterhin nicht unmittelbar auf die Durchführung entsprechender klinischer Studien; jedoch sollen Vorgehensweisen entwickelt

werden, um die für klinische Anwendungen erforderlichen Zellen in der erforderlichen Menge, Reinheit und Qualität bereitstellen zu können.

Das Ziel, die materiellen Grundlagen für die klinische Anwendung hES-Zell-basierter Zell- und Gewebeprodukte schaffen zu wollen, ist angesichts der internationalen Entwicklung auf diesem Gebiet weiterhin von hoher Relevanz; allerdings werden klinische Studien auf der Basis von hES-Zell-abgeleiteten Zellprodukten in Deutschland bislang nicht durchgeführt. Hingegen wurden bis Ende des Jahres 2019 außerhalb Deutschlands wenigstens 33 solcher klinischen Studien gestartet, mit denen unter Nutzung von aus hES-Zellen gewonnenen Zellen/Gewebe neue Therapien für bislang unheilbare Krankheiten entwickelt werden sollen. Wie bereits in der Vergangenheit betont wurde, sind klinische Studien, im Rahmen derer in Deutschland aus hES-Zellen hergestellte Zellen/Gewebe in Patienten transplantiert werden, nach dem StZG zwar zulässig, wenn sie hochrangigen Forschungszielen dienen und alle Genehmigungsvoraussetzungen erfüllt sind. Jedoch wäre – aufgrund des Forschungsvorbehaltes des StZG – nach erfolgreichem Abschluss der klinischen Prüfung eine routinemäßige Nutzung von hES-Zellen zur Herstellung eines in klinischen Studien geprüften und für therapeutische Zwecke einsetzbaren Zellproduktes nicht zulässig. Angesichts des enormen materiellen Aufwands, der mit der klinischen Prüfung neuer Zell- und Gewebeprodukte verbunden ist, werden entsprechende Studien mangels wirtschaftlicher Verwertbarkeit der Ergebnisse bei unveränderter Gesetzeslage in Deutschland vermutlich auch künftig nicht durchgeführt. Bereits in den vorherigen Erfahrungsberichten war in diesem Zusammenhang darauf hingewiesen worden, dass hier eine paradoxe Situation besteht. Zum einen ist es eine mögliche Voraussetzung für die Genehmigungsfähigkeit der Forschung an hES-Zellen, dass medizinische Kenntnisse zur Entwicklung neuer therapeutischer Verfahren erweitert werden; zum anderen ist die Herstellung auf hES-Zellen beruhender neuer Zellprodukte, die klinisch erfolgreich getestet wurden und zur Behandlung von bisher unheilbaren Krankheiten in zahlreichen Patienten eingesetzt werden könnten, auf Basis des derzeit bestehenden Stammzellgesetzes nicht statthaft.

Im Übrigen werden auch aus hiPS-Zellen abgeleitete Zellen/Gewebe zunehmend in klinischen Studien genutzt; bis Dezember 2019 waren wenigstens 18 derartige Studien initiiert worden, davon allerdings keine in Deutschland.

Siebtens werden in einem Teil der genehmigten Forschungsvorhaben (6 von 21) hES-Zellen gemeinsam mit hiPS-Zellen eingesetzt. Dabei sollen in einem Teil der Vorhaben weiterhin die unter Nutzung von hES-Zellen gewonnenen Erkenntnisse in hiPS-Zellen bestätigt werden, wodurch ggf. Klarheit über mögliche Unterschiede gewonnen werden kann, die zwischen den Zelltypen hinsichtlich der jeweils interessierenden Eigenschaften bestehen. Ziel ist es dabei, stärker generalisierte Aussagen über die Charakteristika pluripotenter Stammzellen des Menschen machen zu können. In nur einem Forschungsvorhaben werden hES-Zellen ausschließlich als Referenzmaterial genutzt, um die Eigenschaften der in diesem Forschungsvorhaben zu etablierenden hiPS-Zell-Linien anhand eines Standards bewerten zu können. Hier sind die jeweiligen Eigenschaften von hES-Zellen, bezüglich derer hiPS- und hES-Zellen verglichen werden sollen, für hES-Zellen bereits bekannt. Folglich wird kein eigenständiger Erkenntnisgewinn über hES-Zellen erwartet; die Hochrangigkeit ergibt sich hier ausschließlich aus dem angestrebten Wissenszuwachs über hiPS-Zellen.

Auch im aktuellen Berichtszeitraum bestand in Deutschland Interesse an Forschung unter Verwendung von hES-Zellen. Forschungsbedarf besteht insbesondere weiterhin zu molekularen Grundlagen von Pluripotenz und zu an Differenzierungsentscheidungen beteiligten Molekülen und Signalwegen, hier in jüngerer Zeit insbesondere zur Rolle nicht-codierender RNAs. Nicht vollständig geklärt sind weiterhin Fragen nach den Mechanismen der In-vitro-Reifung von aus hES-Zellen gewonnenen Vorläuferzellen zu somatischen Zellen, die in funktioneller Hinsicht primären menschlichen Zellen gleichen.

Ausdrücklich wird darauf hingewiesen, dass mit den im neunten Berichtszeitraum genehmigten Forschungsarbeiten weiterhin überwiegend ein eigenständiger Erkenntnisgewinn über hES-Zellen bzw. über aus diesen abgeleitete Zellen angestrebt wird. Eine in der Vergangenheit für die Zukunft immer wieder postulierte überwiegende oder gar ausschließliche Verwendung von hES-Zellen als bloßer „gold standard“ für die Forschung mit hiPS-Zellen ist nicht erkennbar. Vielmehr nahm die Anzahl der nach dem StZG genehmigten Forschungsvorhaben, in denen neben hES-Zellen auch hiPS-Zellen verwendet werden sollen, in den letzten Jahren tendenziell ab: während im siebenten Berichtszeitraum (2014 bis 2015) noch in etwa 70 Prozent der genehmigten Forschungsvorhaben sowohl hES- als auch hiPS-Zellen verwendet werden sollten, sank diese Zahl auf ca. 55 Prozent im achten Berichtszeitraum (2016 bis 2017) und auf weniger als 30 Prozent im aktuellen Berichtszeitraum. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass die Forschung an hiPS-Zellen mittlerweile ein eigenständiges Forschungsfeld ist, in dem deutlich seltener Bezug auf hES-Zellen genommen wird als dies in der Vergangenheit der Fall war; umgekehrt werden für die Beantwortung spezifischer Forschungsfragen weiterhin hES-Zellen als vielversprechender und geeigneter angesehen als hiPS-Zellen.

Vorklärung der Forschungsfragen

Nach § 5 Nummer 2 Buchstabe a StZG hat der Antragsteller wissenschaftlich begründet darzulegen, dass die im Forschungsvorhaben vorgesehenen Fragestellungen nach dem anerkannten Stand der Wissenschaft „so weit wie möglich bereits in In-vitro-Modellen mit tierischen Zellen oder in Tierversuchen“ vorgeklärt worden sind. Für die im neunten Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben wurden in den Anträgen die erforderlichen Darlegungen jeweils erbracht. Dabei werden regelmäßig sowohl Ergebnisse eigener Vorarbeiten als auch Erkenntnisse anderer Arbeitsgruppen dargelegt, die in der Fachliteratur veröffentlicht wurden. Die jeweiligen Darlegungen haben nach Auffassung der Genehmigungsbehörde den gesetzlichen Voraussetzungen des § 5 Nummer 2 Buchstabe a) StZG genügt und rechtfertigen jeweils die Nutzung von hES-Zellen.

In der Vergangenheit wurde in den Erfahrungsberichten bereits wiederholt zu § 5 Nummer 2 Buchstabe a StZG erörtert. Die Forderung, dass die Vorklärungen in tierischen Zell- oder Gewebekulturen oder in Tierversuchen erfolgt sein sollen, trägt zwar dem Kenntnisstand von 2002 Rechnung. Nach den Vorstellungen bei Verabschiedung des StZG sollte durch eine möglichst umfassende Vorklärung in einem nicht-humanen System die zur Anwendung kommende wissenschaftliche Vorgehensweise zum einen plausibilisiert und darüber hinaus gewährleistet werden, dass das Forschungsvorhaben eine sinnvolle und folgerichtige Fortsetzung zuvor erfolgter Arbeiten an tierischen Zellen darstellt. Gleichzeitig sollte das Vorklärungserfordernis sicherstellen, dass hES-Zellen nicht für Forschungsansätze verbraucht werden, die bereits unter Nutzung von tierischen Zellkulturen oder im Tierversuch nicht erfolgreich waren, wenn aus diesem Grunde davon ausgegangen werden kann, dass sie auch unter Nutzung von hES-Zellen nicht zu den angestrebten Ergebnissen führen wird. Zum anderen sollte der Einsatz von hES-Zellen auf Fragen beschränkt werden, die sich trotz intensivster Forschung nicht mit anderen Zellen als hES-Zellen und auch nicht unter Nutzung von Versuchstieren beantworten lassen. Das Erfordernis, für die Vorklärung von Forschungsfragen tierische Zellen oder Versuchstiere zu nutzen, war auch der Tatsache geschuldet, dass zum Zeitpunkt der Formulierung des StZG nur wenige publizierte Ergebnisse der Forschung mit hES-Zellen vorlagen und tierische Zellen daher als am besten geeignete Materialien für eine Vorklärung von wissenschaftlichen Fragestellungen angesehen wurden, insbesondere die zu jener Zeit bereits in Teilen gut charakterisierten embryonalen Stammzellen der Maus. Damals bestand offenbar die Vorstellung, dass durch Versuche insbesondere mit embryonalen Stammzellen der Maus bzw. am Mausembryo die jeweilige Forschungsfrage bereits weitgehend beantwortet werden könne und man die Ergebnisse dieser Forschung letztlich nur noch eins zu eins auf das humane Modell zu übertragen brauche, um die entsprechenden biologischen Prozesse im Menschen verstehen zu können.

Dieser Kenntnisstand hat sich jedoch schon seit längerem erheblich verändert. Zum einen liegen tausende in der Fachliteratur publizierte Studien vor, in denen die Ergebnisse einer experimentellen Verwendung von hES-Zellen dokumentiert wurden; Fragestellungen zu hES-Zellen, die zu Beginn der Forschung an diesen Zellen eine Vorklärung an tierischen Zellen aus wissenschaftlicher Sicht tatsächlich erforderlich erscheinen ließen, sind mittlerweile umfassend beantwortet. In der gegenwärtigen internationalen Forschung und in den im Berichtszeitraum bewerteten Forschungsvorhaben geht es größtenteils um die Klärung sehr viel stärker detaillierter und spezialisierter Forschungsfragen. Zu einer Vielzahl dieser Fragestellungen liegen mittlerweile umfangreiche Kenntnisse aus Forschungen an hES-Zellen selbst vor, aber auch aus der Forschung mit anderen menschlichen Zelltypen, die eine höhere Aussagekraft im Hinblick auf die Vorklärung der jeweiligen wissenschaftlichen Fragestellung haben, als Voruntersuchungen an tierischen Zellen oder Tierversuche sie liefern können. Aus diesem Grund kann nach dem zum Zeitpunkt der Antragstellung bestehenden Kenntnisstand für viele an hES-Zellen zu klärende Forschungsfragen kein für die Vorklärung relevanter Erkenntnisgewinn mehr erwartet werden; es ist folglich entbehrlich, hier weitere Vorklärungen unter Nutzung von „In-vitro-Modellen mit tierischen Zellen oder in Tierversuchen“ zu fordern. Der Zweck der Vorklärungsregelung, vor Einsatz von hES-Zellen eine Plausibilitätsprüfung für das Vorhaben vorzunehmen und die Verwendung von hES-Zellen nicht für Projekte zu gestatten, die aufgrund der Ergebnisse von Untersuchungen in tierischen Zellen absehbar nicht erfolgversprechend durchgeführt werden können, wird unter Berücksichtigung des gesamten aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstandes, insbesondere von vorliegenden Ergebnissen der hES-Zell-Forschung selbst, meist wesentlich besser erreicht. Dies gilt beispielsweise für solche Vorhaben, in denen Differenzierungsprotokolle weiterentwickelt und optimiert werden sollen. Hier lagen bereits jeweils zahlreiche Arbeiten vor, in denen entsprechende Protokolle für hES-Zellen entwickelt worden sind und im Rahmen der genehmigten Arbeiten weiter optimiert werden sollen. Eine allein am Wortlaut der gesetzlichen Bestimmung orientierte Forderung, vor einer Genehmigung der Verwendung von hES-Zellen zunächst eine weitere Optimierung des Vorgehens bei der Differenzierung embryonaler Stammzellen der Maus in die jeweiligen Zelltypen vorzunehmen, wäre aus wissenschaftlicher Sicht für die Vorklärung der in Rede stehenden Forschungsfrage nicht sinnvoll.

Zudem hat sich aus der Forschung der letzten 20 Jahre die Erkenntnis ergeben, dass sich für viele Forschungsfragen die Ergebnisse aus Untersuchungen an tierischen Zellen nicht auf das humane System übertragen lassen. Hiervon sind beispielsweise Forschungen zu molekularen Grundlagen der Pluripotenz und zur frühen Differenzierung menschlicher Zellen betroffen, bei denen seit langem bekannte spezifische Unterschiede bestehen. Auch Forschungsvorhaben, in denen Zellmodelle für humane Krankheiten etabliert werden sollen, indem beispielsweise die Expression bestimmter Gene unterdrückt wird, können im Mausmodell nicht mehr sinnvoll vorgeklärt werden, wenn bereits zum Zeitpunkt der Antragstellung bekannt ist, dass die entsprechende genetische Veränderung in der Maus einen anderen Phänotyp als im Menschen zur Folge hat. Auch Fragen zu den molekularen Ursachen bestimmter psychiatrischer Erkrankungen oder neurologischer Entwicklungsstörungen, die beispielsweise mit geistiger Retardierung oder verändertem Sozialverhalten einhergehen, können schwerlich in Mausmodellen adäquat abgebildet und folglich dort nicht sinnvoll vorgeklärt werden. Eine Vorklärung an (pluripotenten) Zellen tierischer Spezies, die über die grundsätzliche und wissenschaftlich nachvollziehbar dargelegte Plausibilisierung der Fragestellung und die Evaluierung möglicher Erfolgsaussichten des jeweiligen Projekts hinausgeht, kann in solchen Fällen daher nicht sinnvoll gefordert werden.

Bei der Entscheidung darüber, ob das Forschungsvorhaben den Bedingungen des § 5 Nummer 2 Buchstabe a StZG entspricht, werden von der Genehmigungsbehörde Sinn und Zweck des Vorklärungserfordernisses so ausgelegt, dass die Forschungsfragen „wenigstens“ an tierischen Zellen oder im Tierversuch vorgeklärt sein müssen. Das Erfordernis, dass die Forschungsfragen „so weit wie möglich“ an tierischen Zellen bzw. im Tierversuch untersucht sein sollen, wird so verstanden, dass die Forschungsfragen nach dem jeweils aktuellen Stand des Wissens hinreichend vorgeklärt sein müssen. Angesichts des gegenwärtigen internationalen Forschungsstandes zu humanen pluripotenten Stammzellen und der Tatsache, dass die Schlüssigkeit eines Forschungsansatzes mittlerweile nicht selten allein mit dem bereits vorhandenen Kenntnisstand zu hES-Zellen begründet werden kann, erscheint dieses Verständnis dem Normzweck des § 5 Nummer 2 Buchstabe a) besser zu entsprechen als eine ausschließlich wörtliche Auslegung. Entsprechend wurde auch im aktuellen Berichtszeitraum bei Darlegung „hinreichender“ Vorklärungen der wissenschaftlichen Fragestellungen, die im übrigen ggf. auch an anderen menschlichen Zellen als hES-Zellen durchgeführt worden sein können, regelmäßig keine Notwendigkeit für die weitere Vorklärung derselben Fragestellung in „In-vitro-Modellen mit tierischen Zellen oder in Tierversuchen“ gesehen. Dieses Verständnis der Vorgaben des StZG steht zudem auch in Einklang mit der Auffassung der Zentralen Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES) zu dieser Frage; unabhängig davon trägt dies im Ergebnis zugleich dazu bei, die Anzahl der Tierversuche in Deutschland zu reduzieren. Allerdings sind Aspekte des Tierschutzes bei der Prüfung des Vorliegens einer hinreichenden Vorklärung der Forschungsfrage weiterhin allein kein zulässiger Grund, für notwendig befundene Voruntersuchungen im Tiermodell nicht zu verlangen.

Erforderlichkeit der Verwendung von hES-Zellen

Gemäß § 5 Nummer 2 Buchstabe b StZG ist durch den Antragsteller darzulegen, dass der mit dem Forschungsvorhaben angestrebte wissenschaftliche Erkenntnisgewinn voraussichtlich nur unter Verwendung von hES-Zellen erreicht werden kann. In diesem Zusammenhang ist durch die Genehmigungsbehörde auf Grundlage der Darlegungen des Antragstellers jeweils zu prüfen, ob ggf. Alternativen zur Nutzung von hES-Zellen bestehen und ob ggf. hinreichende Belege dafür existieren, dass die Forschungsziele auch unter ausschließlicher Nutzung anderer Zellen als hES-Zellen erreicht werden können. In diesem Fall wären die Einfuhr und/oder Verwendung von hES-Zellen nicht genehmigungsfähig.

Im Berichtszeitraum wurde in allen Antragsverfahren von den Antragstellern auf Grundlage des aktuellen Stands des Wissens jeweils dargelegt, dass die Verwendung von hES-Zellen zur Erreichung der Forschungsziele erforderlich ist. Dabei wird jeweils insbesondere geprüft, ob sich nach gegenwärtigem Kenntnisstand die Forschungsfragen ggf. unter Nutzung (i) nicht-humaner Zellen bzw. unter Nutzung von Versuchstieren, (ii) menschlicher nicht-pluripotenter Zellen oder Stammzellen oder (iii) humaner induzierter pluripotenter Stammzellen beantworten lassen.

Die mit den im neunten Berichtszeitraum genehmigten Anträgen angestrebten Forschungsziele lassen sich jeweils nicht unter Nutzung tierischer Zellen erreichen. Dies ist durch bereits bekannte speziesspezifische Unterschiede in den Eigenschaften der Zellen begründet und ergibt sich zwingend aus den jeweils verfolgten Forschungszielen. Hiervon betroffen sind beispielsweise Forschungsvorhaben, die auf neue Erkenntnisse über Grundlagen der menschlichen Pluripotenz zielen. Auch die Entwicklung von Vorgehensweisen für die Bereitstellung von humanem Zellmaterial, wie es für zukünftige klinische Anwendungen oder für die Untersuchung pharmakologisch-toxikologischer Fragestellungen mit Spezifität für den Menschen benötigt wird, erfordert die Nutzung humaner Zellen. Schließlich kann auch die Etablierung von Zellmodellen zur Erforschung molekularer Grundlagen von

Erkrankungen des Menschen nicht an tierischen Zellen erfolgen, wenn beispielsweise die den jeweiligen Erkrankungen zugrundeliegenden genetischen Veränderungen in der Maus andere phänotypische Effekte erzeugen, als sie beim Menschen beobachtet werden.

Auch die in vorherigen Berichten benannten Einschränkungen für nicht-pluripotente Zellen des Menschen bestehen unverändert fort. Die Möglichkeit zur Nutzung solcher Zellen als mögliche Alternative zu hES-Zellen wird von der Genehmigungsbehörde jeweils geprüft, teils unter Bezug auf über die Darlegungen der Antragsteller hinausgehende wissenschaftliche Daten. Primäre somatische Zellen des Menschen stehen nicht in der für die jeweilige Projektdurchführung erforderlichen Menge und nicht in reproduzierbarer Qualität zur Verfügung. Somatische (adulte) Stammzellen des Menschen sind in vielen Fällen nicht oder nur schwer zugänglich, lassen sich in Kultur teils nur zu für die Projektdurchführung unzureichenden Zellzahlen vermehren oder haben bereits die im jeweiligen Forschungsvorhaben zu analysierenden Entwicklungsstadien durchlaufen. Zudem ist für humane somatische und fötale Stammzellen teils nicht oder nur unzureichend bekannt, ob und inwieweit sie genetischen Veränderungen in gleichem Maße wie hES-Zellen zugänglich sind; präzise genetische Veränderungen und die Vermehrung der genetisch veränderten Zellen zu für die Forschungsarbeiten ausreichenden Zellmengen sind aber Voraussetzung für die Durchführung fast aller im Berichtszeitraum genehmigter Forschungsvorhaben. Diese Einschränkungen gelten auch für die denkbare Verwendung von (Stamm)Zellen aus abgetriebenen menschlichen Föten, deren Nutzung bei gleicher Eignung zur Erreichung der Forschungsziele gemäß § 5 Nummer 2 Buchstabe b) StZG einer Verwendung von hES-Zellen vorgezogen werden muss. In diesem Fall dürfte ein Antrag auf Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen nicht genehmigt werden; vielmehr müsste der Antragsteller auf die Möglichkeit der Nutzung von Zellen aus abgetriebenen Föten verwiesen werden, die für die Forschung gespendet werden. Humane immortalisierte Zellen, wie beispielsweise Tumorzell-Linien oder (immortalisierte) Zell-Linien aus abgetriebenen Föten, weisen vielfach die für die jeweilige Projektdurchführung erforderlichen biologischen Eigenschaften nicht auf und waren vor allem aus diesem Grunde für die Erreichung der jeweiligen Forschungsziele ungeeignet.

Weiterhin ist zu prüfen, ob das formulierte Forschungsziel voraussichtlich unter ausschließlicher Verwendung von hiPS-Zellen erreicht werden kann. Während die Ungeeignetheit tierischer oder nicht-pluripotenter menschlicher Zellen für die Erreichbarkeit eines spezifischen Forschungsziels häufig ohne weiteres offensichtlich ist, ist die Bewertung einer ggf. bestehenden alternativen Nutzbarkeit von hiPS-Zellen deutlich schwieriger und aufwendiger, da hES- und hiPS-Zellen zumindest teilweise sehr ähnliche Eigenschaften aufweisen. Der Terminus der „Voraussichtlichkeit“ ist unbestimmt. Theoretisch ließe er sich so verstehen, dass durch die Genehmigungsbehörde eine Abschätzung der Wahrscheinlichkeit vorgenommen werden soll, mit der die Verwendung eines anderen als des vom Antragsteller vorgesehenen Zelltyps (hier iPS-Zellen) ebenfalls zur Erreichung des angestrebten Forschungsziels führen könnte. Dabei ist jedoch zu bedenken, dass dem Antragsteller nicht faktisch zunächst ein anderes Forschungsprojekt abverlangt werden kann als das von ihm beantragte, nämlich die Klärung der Machbarkeit seiner Fragestellung mit anderen Zellen als von ihm plausibel begründet. Hierauf liefe es aber im Ergebnis hinaus, wollte man eine bloße Prognose der Wahrscheinlichkeit, die letztlich Vermutungscharakter hat, für die Versagung des Zugangs zu hES-Zellen genügen lassen.

Vielmehr ist für Entscheidungen über die Anträge die Sach- und Rechtslage zum Zeitpunkt der Antragstellung maßgeblich. Die Verwendung von hES-Zellen kann nur dann untersagt werden, wenn bereits zum Zeitpunkt des Antrags nach dem Stand der Wissenschaft von der grundsätzlichen Eignung anderer Zellarten als hES-Zellen für die Klärung der konkreten Fragestellungen auszugehen ist. Die bloße – wissenschaftlich noch nicht geklärte – Vermutung, dass die jeweils zu klärenden Forschungsfragen ggf. durch ausschließliche Nutzung von hiPS-Zellen beantwortet werden könnten, d. h. dass hiPS- und hES-Zellen bezüglich der zu untersuchenden Eigenschaft voraussichtlich identisch sein könnten, ist für eine Versagung der Genehmigung aus den o.g. Gründen nicht hinreichend. Vielmehr müssten zum Zeitpunkt der Entscheidung über den entsprechenden Antrag bereits Forschungsergebnisse vorliegen, die mit hinreichender Sicherheit belegen, dass die Forschungsziele unter alleiniger Nutzung von hiPS-Zellen tatsächlich erreichbar sind, oder die Gleichheit von hES- und hiPS-Zellen bezüglich der interessierenden Eigenschaft müsste auch ohne Vorliegen entsprechender Daten bereits hinreichend evident sein.

Für alle im neunten Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben wurde im jeweiligen Antragsverfahren ausdrücklich dargelegt, dass nach dem Stand des Wissens eine vergleichbare Eignung von hiPS-Zellen zur Erreichung der Forschungsziele nicht bekannt ist, dass teils erhebliche Zweifel bzw. Unsicherheiten im Hinblick auf die vergleichbare Eignung von hES- und hiPS-Zellen bestehen und der angestrebte Erkenntnisgewinn daher voraussichtlich nicht durch ausschließliche Nutzung von hiPS-Zellen erreicht werden könne, sondern dass jeweils die Verwendung von hES-Zellen erforderlich war. Dabei ist darauf zu achten, dass die Vergleichbarkeit von hES- und hiPS-Zellen stets mit Blick auf die konkrete Forschungsfrage neu zu beurteilen ist. In diesem Zusammenhang

wurde in vielen Fällen Bezug darauf genommen, dass in der wissenschaftlichen Literatur weiterhin teils widersprüchliche Angaben darüber vorliegen, ob und inwieweit hES- und hiPS-Zellen identische Eigenschaften haben. Unterschiede zwischen beiden Zelltypen werden weiterhin regelmäßig beobachtet. Insbesondere weisen hiPS-Zellen im Vergleich zu hES-Zellen eine erhebliche Variabilität in ihrem Differenzierungsvermögen auf, was u. a. durch die Methode der Reprogrammierung, den für die Reprogrammierung genutzten somatischen Zelltyp und ein durch ggf. unvollständige Reprogrammierung bedingtes epigenetisches Gedächtnis verursacht sein kann. Auch die in der Literatur vielfach beschriebene Präsenz von Mutationen in hiPS-Zellen, deren Ursprung in den somatischen Ausgangszellen oder im Reprogrammierungsprozess liegen kann, sowie dokumentierte epigenetische Unterschiede zwischen hES- und hiPS-Zellen wurden häufig als Gründe für die Notwendigkeit der Nutzung des stärker ursprünglichen Materials, also hES-Zellen, für die Beantwortung der Forschungsfragen genannt. Allgemeine Betrachtungen zur Vergleichbarkeit und Unterschieden von hES- und hiPS-Zellen waren jedoch nur dann entscheidungsrelevant, wenn die entsprechenden Erkenntnisse für die Fragestellungen des jeweiligen Projektes erheblich waren.

Auch im aktuellen Berichtszeitraum zielten einige Forschungsvorhaben auf die Etablierung von Zellmodellen für Krankheiten, deren genetische Ursachen gut verstanden sind und bei denen hES-Zellen potentiell die Möglichkeit bieten, die Krankheit vor einem isogenen genetischen Hintergrund durch gerichtete genetische Veränderung der Zellen und die anschließende Differenzierung in den jeweils betroffenen Zelltyp zu modellieren. Derartige Forschungsvorhaben sind vor dem Hintergrund eines ansonsten unveränderten, stark ursprünglichen und nicht durch Mutationen belasteten Genoms, wie es hES-Zellen üblicherweise haben, ggf. wissenschaftlich deutlich aussagekräftiger als identische Arbeiten an patientenspezifischen hiPS-Zellen, die ggf. im Zuge der Reprogrammierung erworbene bzw. in den zur Reprogrammierung genutzten somatischen Zellen bereits vorhandene genetische Veränderungen aufweisen können. Andere Forschungsvorhaben, in denen beispielsweise auch epigenetische Mechanismen von Entwicklung und Differenzierung untersucht werden sollen, setzen Zellen mit einem nach Möglichkeit stark ursprünglichen Epigenom voraus und erfordern daher die Nutzung von hES-Zellen, da hiPS-Zellen ggf. epigenetische Modifikationen erfahren haben können, die nicht mehr der in hES-Zellen anzutreffenden (ursprünglichen und natürlichen) Situation entsprechen.

Zudem werden auch für einige im aktuellen Berichtszeitraum genehmigte Forschungsvorhaben hES-Zell-Linien benötigt, in denen außerhalb Deutschlands bereits spezifische und teils sehr umfangreiche und aufwendige genetische Veränderungen vorgenommen wurden, die für die Beantwortung der jeweiligen Forschungsfragen essentiell sind. Ob und inwieweit hingegen die Herstellung entsprechender genetisch veränderter Zellen aus hiPS-Zellen zu einem zellulären Phänotyp führen würde, der mit jenem der genetisch veränderten (und bereits für ähnliche wissenschaftliche Fragestellungen erprobten) hES-Zellen identisch ist, kann nicht vorhergesagt werden. Die bloße Vermutung, dass identische genetische Veränderungen in hiPS-Zellen zu einem identischen Phänotyp führen könnten, ist auch hier nicht hinreichend, um die Nutzung der hES-Zellen zu versagen. Vielmehr ist der jeweils bestehende Stand der Wissenschaft für die Prüfung der Notwendigkeit der Nutzung von hES-Zellen maßgeblich. In den vorliegenden Fällen wäre aber die Forderung, zunächst entsprechende Experimente an hiPS-Zellen durchzuführen, de facto eine Forderung nach Schaffung eines neuen Stands von Wissenschaft und Technik zu hiPS-Zellen, bevor die Nutzung von hES-Zellen genehmigt werden kann.

In einem im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben soll geklärt werden, ob die im Forschungsvorhaben zu etablierenden hiPS-Zellen in vollem Umfang pluripotent sind. Dies erfordert zwingend die Nutzung von hES-Zellen als Referenzmaterial. Im Gegensatz zu den anderen Forschungsvorhaben, in denen hES- und hiPS-Zellen vergleichend untersucht werden sollen und wo zu den jeweils interessierenden Charakteristika für beide Zellarten noch keine umfangreichen Kenntnisse vorliegen, besteht hier – im Hinblick auf Pluripotenz – bereits ein umfassendes Wissen zu den für das Forschungsvorhaben relevanten Eigenschaften der genutzten hES-Zellen, die folglich als „gold standard“ Verwendung finden sollen.

Schließlich gibt es Fragestellungen, für die allgemein bereits bekannt ist, dass sie sich nicht unter Verwendung von hiPS-Zellen klären lassen. Eines der im Berichtszeitraum genehmigten Vorhaben zielt beispielsweise auf die weitere Untersuchung der Rolle endogener humaner Retroviren für die Aufrechterhaltung der Pluripotenz bzw. für die Etablierung verschiedener Pluripotenz-Zustände. Hier können hiPS-Zellen bereits wegen der infolge der Reprogrammierung veränderten Aktivierung humaner endogener Retroviren im Genom der hiPS-Zellen nicht zur Beantwortung der Forschungsfrage genutzt werden. In einem Projekt, in dem die Rolle X-Chromosom-assoziiertes Mutationen auf neurale Fehlentwicklungen untersucht werden soll, ist eine vergleichbare Eignung von hiPS-Zellen für die Forschungsfrage zumindest nicht belegt: während Fragen nach der Aktivität des X-Chromosoms für viele hES-Zellen detailliert untersucht worden sind, liegen für hiPS-Zellen zu dieser Frage widersprüchliche Resultate vor, und es ist fraglich, ob und inwieweit bei der Reprogrammierung somatischer Zellen zu hiPS-Zellen

auch eine Reaktivierung der X-Chromosomen erfolgt. Auch für die Beantwortung von Forschungsfragen in Zusammenhang mit Veränderungen im Epigenom, die während Entwicklungs- und Differenzierungsprozessen auftreten und die im Rahmen einiger der genehmigten Forschungsvorhaben untersucht werden sollen, sind hiPS-Zellen infolge von Unklarheiten bezüglich der Integrität ihres Epigenoms nach derzeitigem Kenntnisstand nicht in gleichem Maße geeignet wie gut charakterisierte hES-Zellen.

Die noch offenen Fragen nach der genetischen und epigenetischen Stabilität von hiPS-Zellen sowie nach ihrer Fähigkeit zur Differenzierung in spezifische Zelltypen sind auch im Hinblick auf eine künftige klinische Nutzung pluripotenter Stammzellen des Menschen von großem Interesse. Es ist derzeit weiterhin nicht absehbar, welche Art pluripotenter menschlicher Stammzellen künftig Ausgangspunkt für welche Therapien zur Behandlung welcher bislang nicht heilbarer Erkrankungen sein könnte. Bis zum Ende des Berichtszeitraums (Dezember 2019) wurden weltweit wenigstens 32 klinische Studien zur Therapie bislang unheilbarer Erkrankungen durchgeführt bzw. begonnen, in denen auf hES-Zellen basierende Zellprodukte zur Anwendung kommen. Unter Nutzung von hiPS-Zell-basierten Zellprodukten wurden/werden 18 Studien durchgeführt. Auch unter dem Aspekt einer künftig geplanten Nutzung von hES-Zellen für therapeutische Zwecke ist es – entsprechend der Beleglage für die jeweilige Fragestellung – weiterhin notwendig und gerechtfertigt, die damit verbundenen wissenschaftlichen Fragestellungen an hES-Zellen klären zu wollen. Sollten hES-Zellen das Ausgangsmaterial für klinisch einzusetzende Zell- oder Gewebeprodukte bilden, müssen die mit der Entwicklung derartiger Zell- und Gewebeprodukte in Zusammenhang stehenden Forschungen selbstverständlich unter Nutzung von hES-Zellen erfolgen. Solche Arbeiten sind in einigen der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben vorgesehen; die Nutzung von hES-Zellen in den entsprechenden Forschungsvorhaben ist erforderlich.

1.5 Prüfung und Bewertung durch die Zentrale Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES)

Die Zentrale Ethik-Kommission für Stammzellenforschung (ZES) hat die gesetzliche Aufgabe, Anträge auf Einfuhr und Verwendung von hES-Zellen anhand der eingereichten Unterlagen hinsichtlich der Frage zu prüfen und zu bewerten, ob die betreffenden Forschungsvorhaben die gesetzlichen Voraussetzungen nach § 5 StZG erfüllen und in diesem Sinne ethisch vertretbar sind. Sie hat hierzu gegenüber der Genehmigungsbehörde eine schriftliche Stellungnahme abzugeben. Das Vorliegen einer Stellungnahme der ZES ist nach § 6 Absatz 4 Nummer 3 StZG eine Voraussetzung für die Entscheidung über einen Antrag auf Einfuhr und Verwendung humaner embryonaler Stammzellen zu Forschungszwecken.

Die ZES hat in ihren Stellungnahmen zu allen Forschungsvorhaben, die Gegenstand der im Berichtszeitraum genehmigten Forschungsvorhaben waren, im Ergebnis die gesetzlichen Voraussetzungen nach § 5 StZG als erfüllt und die Forschungsvorhaben als in diesem Sinne ethisch vertretbar bewertet. Sie hat die Wahrnehmung ihrer Aufgaben in ihren Tätigkeitsberichten nach § 14 der ZES-Verordnung (ZESV) vom 18. Juli 2002 (BGBl. I S. 2663) für den Zeitraum vom 1. Januar 2018 bis 31. Dezember 2018 (16. Tätigkeitsbericht der ZES) und für den Zeitraum vom 1. Januar 2019 bis 31. Dezember 2019 (17. Tätigkeitsbericht der ZES) dargestellt. Die Tätigkeitsberichte sind unter anderem auf den Internetseiten des Bundesministeriums für Gesundheit veröffentlicht (<https://www.bundesgesundheitsministerium.de/service/begriffe-von-a-z/z/zentrale-ethik-kommission-fuer-stammzellenforschung.html>).

2 Stand der Forschung mit pluripotenten und multipotenten menschlichen Stammzellen

2.1 Einleitung

Der neunte Erfahrungsbericht der Bundesregierung zur Durchführung des Stammzellgesetzes (StZG) umfasst den Berichtszeitraum 2018 und 2019 und behandelt aktuelle Entwicklungen im Forschungsfeld der humanen embryonalen Stammzellen (hES-Zellen) und der humanen induzierten pluripotenten Stammzellen (hiPS-Zellen). Weiterhin werden auch Neuerungen bei anderen Arten von Stammzellen verschiedener Gewebe (adulte Stammzellen), darunter auch Blutstammzellen (hämatopoetische Stammzellen, HSZ) vorgestellt. Der Stammzellbericht zeigt die Grundlagen in der Forschung auf, die für das Verständnis der dargestellten Entwicklungen relevant sind. Für weitere Grundlagen wird auf die vorhergehenden Erfahrungsberichte und die einschlägige Fachliteratur verwiesen (zusammengefasst in Diekämper et al., 2018; Zenke et al., 2018; Walter und Schickl, 2019; Gerke et al. 2020; Bartfeld et al., 2020; Gassner und Spranger, 2020).

In den vorangegangenen acht Erfahrungsberichten der Bundesregierung zur Durchführung des StZG sind jeweils die aktuellen Entwicklungen im Berichtszeitraum sowie im Entstehen begriffene Themenfelder abgedeckt worden. Diese Berichte aus den einzelnen Berichtszeiträumen, die jeweils auf den etablierten Grundlagen ihrer Vorgänger basieren, stellen folgende Themen dar:

1. Der erste Erfahrungsbericht der Bundesregierung zur Durchführung des Stammzellgesetzes im Zeitraum 2002/03 (Bundestagsdrucksache, Bundestagsdrucksache 15/3639) stellte die Rahmenbedingungen, Ergebnisse und Ausblicke der Grundlagenforschung und mögliche zukünftige Einsatzgebiete von embryonalen und adulten Stammzellen in der modernen Medizin bis einschließlich 2003 dar.
2. Im zweiten Erfahrungsbericht 2004/05 (Bundestagsdrucksache 16/4050) wurden die seit dem ersten Bericht erzielten Fortschritte, die bis einschließlich 2005 noch offenen Fragen im Bereich der Forschung sowie Perspektiven eines möglichen therapeutischen Einsatzes von embryonalen und adulten Stammzellen beschrieben.
3. Im anschließenden dritten Bericht 2006/07 (Bundestagsdrucksache 16/12956) wurden, basierend auf den ersten beiden Berichten, wissenschaftliche Erkenntnisse bis einschließlich 2007 zusammengefasst. Zu diesem Zeitpunkt war die Forschung mit humanen embryonalen Stammzellen (hES-Zellen) bereits weltweit etabliert. Neu in diesem Berichtszeitraum war die Entwicklung der Reprogrammierung (Takahashi und Yamanaka, 2006). Induzierten pluripotenten Stammzellen (iPS-Zellen) aus Körperzellen erwachsener Individuen werden durch das Einbringen der vier Transkriptionsfaktoren OCT4, SOX2, KLF4 und cMYC in einen pluripotenten Zustand versetzt, der auch in embryonalen Stammzellen vorliegt. Die Kombination der vier Transkriptionsfaktoren wird nach Ihrem Erfinder Shinya Yamanaka auch als „Yamanaka-Cocktail“ bezeichnet.
4. Zum Zeitraum 2008/09 erschien der vierte Bericht (Bundestagsdrucksache 17/4760) und beschrieb erneut die wesentlichen wissenschaftlichen Erkenntnisse und Entwicklungen der Forschung mit humanen embryonalen Stammzellen und anderen Stammzellen. Schwerpunkt des Berichtes war die Generierung von humanen iPS-Zellen, die 2007 erstmals beschrieben wurden (Takahashi et al., 2007; Yu et al., 2007), und auf die Unterschiede zwischen hiPS-Zellen und hES-Zellen sowie verschiedener hES-Zellen eingegangen.
5. Im fünften Bericht zum Zeitraum 2010/11 (Bundestagsdrucksache 17/12882) wurde auf die verschiedenen Anwendungsfelder, besonders die Entwicklung von In-vitro-Testmethoden für toxikologische und pharmakologische Untersuchungen sowie auf die Entwicklung von stammzellbasierten Therapien eingegangen.
6. Der den Berichtszeitraum der Jahre 2012/13 umfassende sechste Erfahrungsbericht (Bundestagsdrucksache 18/4900) gab einen Überblick über aktuellen Entwicklungen der Forschung mit humanen embryonalen Stammzellen (hES-Zellen) und mit humanen induzierten pluripotenten Stammzellen (hiPS-Zellen) sowie über aktuelle Entwicklungen zu anderen biomedizinisch einsetzbaren adulten Stammzellen. Im Bericht wurde ein besonderes Augenmerk auf neue Methoden zur punktgenauen genetischen Veränderung von pluripotenten Stammzellen (Genom-Editierung), auf die Fortschritte bei der direkten Umprogrammierung (Transprogrammierung) eines somatischen Zelltyps in einen anderen sowie die Vorbereitung von klinischen Studien mit Derivaten aus humanen embryonalen Stammzellen gerichtet.
7. Im siebten Bericht (Bundestagsdrucksache 18/12761) zu den Jahren 2014/15 wurden die neuen Forschungsaktivitäten zu den im sechsten Bericht dargestellten Entwicklungen vertieft vorgestellt und über aktuelle Entwicklungen von biomedizinisch einsetzbaren Stammzellen berichtet. Der Bericht stellte vor, wie Verfahren der Genom-Editierung in der Stammzellforschung eingesetzt werden und erläuterte Zellkulturtechniken zur Erzeugung dreidimensionaler Aggregate, der sogenannten Organoide.

8. Im Mai 2019 erschien der achte Erfahrungsbericht der Bundesregierung (Bundestagsdrucksache 19/10060) zur Umsetzung des Stammzellgesetzes in der Entwicklung des Forschungsfeldes in den Jahren 2016 und 2017. Der Bericht beleuchtete die neuen wissenschaftlichen Entwicklungen in der Erforschung humaner pluripotenter Stammzellen (hPS-Zellen), zu denen sowohl hES-Zellen als auch hiPS-Zellen zählen. Es wurden Weiterentwicklungen in den Bereichen der Organoiden, der Modellsysteme zu Erkrankungen, zur Wirkstoffforschung (Medikamenten- und Toxizitäts-Tests) und der Genom-Editierung mit Designernukleasen vorgestellt. Ein weiterer Schwerpunkt lag auf der Entwicklung von Technologien für Einzelzellanalysen, die wesentlich präzisere Erkenntnisse zur Entwicklungsbiologie von Stammzellen ermöglichen. Der Bericht widmete sich umfassend den weltweit durchgeführten klinischen Studien mit pluripotenten Stammzellen bzw. den daraus abgeleiteten Zelltypen.

Der vorliegende neunte Erfahrungsbericht führt die Darstellung der aktuellen Entwicklungen in der Stammzellforschung, insbesondere im Bereich der humanen pluripotenter Stammzellen (hPS-Zellen), also humaner embryonaler Stammzellen (hES-Zellen) und humaner induzierter pluripotenter Stammzellen (hiPS-Zellen), aus den Jahren 2018 und 2019 fort.

Dieser Berichtszeitraum zeichnet sich durch die konsequente Weiterentwicklung der Forschungsansätze basierend auf den technologischen Entwicklungen der jüngsten Vergangenheit (iPS-Zell-Technologie (2007), Organoidtechnologie (2009), Genome Editing (CRISPR/Cas9, 2012), Einzelzellanalyse (2016)) aus. In der Grundlagenforschung werden im Berichtszeitraum die molekularen Mechanismen und Grundlagen des natürlichen („naiven“) und in ES-Zellen „geprägten“ embryonalen Zustandes und deren Auswirkungen weiter untersucht. Differenzierungsprozesse von pluripotenten Stammzellen in verschiedene Zelltypen werden mittels neuer Technologien wie der genetischen Einzelzellanalyse durchleuchtet. Ein weiterer Schwerpunkt stellen 3D-Modelle (Organoiden, Spheroide) und die Ausreifung und Alterung von (Stamm-)Zelltypen dar. Die Grundlagen für diese Forschungsziele sind in früheren Stammzellberichten detailliert beschrieben worden.

Es lässt sich feststellen, dass spezifische Gewebszellen aller lebenswichtiger Organe aus hPS hergestellt und an ihnen sowohl Grundlagenforschung als auch Krankheitsmodellierung durchgeführt wird. Vermehrt werden hPS-abgeleitete Gewebszellen auch in der Wirkstoffforschung eingesetzt, Grundlage dafür ist die standardisierte Herstellung solcher Zellen in großem Maßstab. Auch die Vorbereitungen von klinischen Studien zur Testung von Derivaten aus pluripotenten Stammzellen zum Zellersatz, hauptsächlich bei Degenerationserkrankungen der Makula (altersbedingte Makuladegeneration) und neuronalen Erkrankungen (z. B. Parkinson-Krankheit), schreiten voran. Inzwischen sind eine ganze Reihe von (genetisch modifizierten) hiPS-Derivaten in der klinischen Erprobung. Beispielsweise hat BlueRock Therapeutics, eine Tochter des Pharmakonzerns Bayer, in den USA eine klinische Studie zu Derivaten aus hES-Zellen bei Parkinson gestartet und Fate Therapeutics hat mehrere klinische Studien zu Krebstherapien mit Derivaten aus hiPS-Zellen angemeldet. Diese Studien lassen sich aber auf Grund der Langwierigkeit solcher Untersuchungen noch nicht abschließend beurteilen.

2.2 Bestand der menschlichen embryonalen Stammzelllinien

Mehrere Hunderte von hES-Zelllinien sind seit der ersten erfolgreichen Gewinnung dieser Zellen im Jahr 1998 durch die Gruppe von James A. Thomson publiziert worden (Thomson et al., 1998). Im „Human Pluripotent Stem Cell Registry“ (hpscereg.eu), einem durch die EU-Kommission geförderten Online-Informationsportal, werden seit 2007 Informationen zu humanen pluripotenten Stammzellen (hPS-Zellen) zusammengetragen (Seltmann et al., 2016). Am 1. Januar 2020 waren in dem Register 754 hES-Zelllinien und 2275 hiPS-Zelllinien verzeichnet (hPSC Registry, 2020). Beide Zelltypen werden zusammengefasst als humane pluripotente Stammzellen (hPS-Zellen) bezeichnet. Zum Vergleich: Am 1. Januar 2018 waren lediglich 726 hES-Zelllinien und 1185 hiPS-Zelllinien erfasst. Somit ist ein signifikanter Zuwachs an induzierten pluripotenten Stammzellen weltweit zu verzeichnen (1090 Linien), während im Berichtszeitraum nur 28 neue hES-Zelllinien registriert wurden. Eine große Anzahl dieser neuen Registrierungen bezieht sich allerdings auf genetische Modifikationen bereits früher registrierter hES-Zelllinien, die zu einem neuen Eintrag führten.

Die US-amerikanischen National Institutes of Health (NIH) führen seit 2001 ebenfalls ein Register, welches hES-Zelllinien erfasst, die für Forschungsprojekte mit öffentlicher NIH-Förderung verwendet werden dürfen (National Institutes of Health, 2020). Zum 31. Dezember 2019 waren dort 410 hES-Zelllinien verzeichnet. Im Jahr 2018 sind 8 Linien und im Jahr 2019 noch einmal 12 Linien hinzugekommen. 10 der 20 neuen Zelllinien sind aufgrund von Mutationen in krankheitsrelevanten Genen generiert worden. Diese können zu Modellsystemen für diese Erkrankungen entwickelt werden. Die restlichen 10 neuen hES-Zelllinien sind genotypisch Wildtyp. Sie wurden überwiegend aus den entsprechenden Zwillingen der mutierten Embryonen gewonnen und stellen gute Vergleichsstandards für die Zelllinien mit Mutationen dar. Die britische UK Stem Cell Bank (UK-SCB) des National

Institute for Biological Standards and Control (NIBSC) erfasst britische hES-Zelllinien, von denen 17 Linien für klinische Studien nach den Richtlinien der Europäischen Kommission für Gewebe- und Zell-Transplantation (EU Tissue and Cells Directive - EUTCD) in Patienten verwendet werden können (UK Stem Cell Bank/NIBSC, 2020). Die UK Stem Cell Bank listet auch 23 hES Zelllinien auf, die für Forschungszwecke zur Verfügung stehen, inklusive zweier Zelllinien aus Indien.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass weltweit immer weniger neue hES-Zelllinien generiert werden. Diese Tendenz zeichnete sich bereits im 8. Stammzellbericht ab und setzt sich für den aktuellen Berichtszeitraum fort. Im Gegensatz zu humanen embryonalen Zelllinien verzeichnete das Register hpscereg.eu 1090 neu registrierte hiPS-Zelllinien in den Jahren 2018/2019. Die internationale Forschergemeinde, die mit pluripotenten Stammzellen arbeitet, konzentriert sich vorwiegend auf einige wenige hES-Zelllinien als Standard. Somit werden nur wenige Daten zu neu gewonnenen hES-Zelllinien publiziert. Neue hES-Zelllinien werden derzeit nur noch selten für allgemeine Forschungszwecke gewonnen. In erster Linie dienen diese neuen Zelllinien der Erforschung von Erbkrankheiten und der Etablierung von Krankheitsmodellen, die auch zum Testen von neuen Wirkstoffen verwendet werden können. Einige neue hES-Zelllinien sind dabei unter Bedingungen hergestellt worden, die sie für den Einsatz in klinischen Studien an Menschen qualifizieren würden. Diese sind zum Beispiel nicht mit tierischen Produkten in Berührung gekommen. Allerdings können ältere Linien ebenfalls für klinische Anwendungen für Menschen verwendet werden, wenn bestimmte Regeln bei der Zellkultur eingehalten werden. In klinischen Studien werden daher hauptsächlich Zelllinien genutzt, die schon vor längerer Zeit etabliert worden sind (siehe Kapitel 2.5, Tabelle: hES-Zelllinien, die in klinischen Studien verwendet werden). Es zeigt sich daher zusammenfassend, dass international nur sehr wenige überzählige humane Embryonen zur Generierung neuer embryonaler Stammzelllinien verbraucht werden.

Auch in Deutschland wird vorwiegend mit einigen wenigen hES-Standardzelllinien gearbeitet. Das lässt sich an den Genehmigungen zur Einfuhr und Verwendung von hES-Zelllinien nach § 11 des Stammzellgesetzes ablesen. Von den 21 neuen Genehmigungen im Berichtszeitraum beziehen sich alle Anträge, bis auf eine Ausnahme, auf etablierte Standardzelllinien (Thomson-Zelllinien) wie H1 und H9 vom WiCell Research Institute, Madison, WI, USA (Thomson et al., 1998). Jedoch beschränken sich nur vier genehmigte Projekte ausschließlich auf die ursprünglichen Thomson-hES-Zelllinien. Alle anderen Projekte beinhalten auch Experimente mit Zelllinien aus Harvard (USA), Rockefeller (USA), Cambridge (UK), Sheffield (UK) und Newcastle (UK) sowie Israel, Singapur, Japan, Schweden und Finnland. Obwohl nur einige wenige, schon lang bestehende, humane embryonale Stammzelllinien sowohl in der Forschung aber auch in der möglichen Anwendung in klinischen Studien und potenziellen Zelltherapien gebraucht werden, sind sie für die Forschung weiterhin relevant. Sie gehören nach wie vor zu den am besten erforschten und beschriebenen hES-Zellen und werden darüber hinaus öfter bei klinischen Studien eingesetzt als iPS Zellen.

Für die Kultivierung von hES- und hiPS-Zelllinien werden heutzutage routinemäßig chemisch definierte von Tierprodukten freie Medien und Faktoren verwendet. Hier hat es wenig neue Entwicklungen gegeben. Zahlreiche Fortschritte wurden hingegen bei der Zellkulturtechnik gemacht. Insbesondere gilt das für die Differenzierung von hiPS-Zellen in verschiedene spezialisierte Zelltypen. Laborprotokolle in diesem Bereich werden stetig optimiert, und teilweise werden neue Faktoren oder neue Behandlungsregime beschrieben.

2.3 Grundlagen zur Forschung mit humanen pluripotenten Stammzellen

Die folgenden Kapitel geben einen Überblick über wichtige Entwicklungen und Fortschritte in der Forschung mit humanen embryonalen (hES-Zellen) und humanen induzierten pluripotenten (hiPS-Zellen) Stammzellen für die Jahre 2018 und 2019. Verschiedene Publikationen bieten detaillierte Zusammenfassungen der Forschungstrends mit menschlichen pluripotenten Stammzellen (Zenke et al., 2018; Guhr et al., 2018; De Luca et al., 2019; Gassner und Spranger, 2020). Im November 2018 jährte sich zum 20. Mal die Veröffentlichung der bahnbrechenden Publikation über humane embryonale Stammzellen (hES-Zellen), in der über die ersten Ableitungen von hES-Zellen berichtet wurde und so das neue Gebiet der Forschung an humanen pluripotenten Stammzellen eröffnet wurde (Thomson et al., 1998). Zur Erinnerung an diesen bedeutenden Meilenstein der Stammzellforschung fasste ein Forum-Artikel im Journal Cell Stem Cell die wissenschaftlichen, wirtschaftlichen und klinisch relevanten Auswirkungen dieser Errungenschaft zusammen (Ludwig et al., 2018).

2.3.1 Vergleichende Untersuchungen zum naiven und geprägten Zustand humaner pluripotenter Stammzellen

Die Frage nach der Vergleichbarkeit von humanen ES-Zellen und ES-Zellen der Maus (mES-Zellen) wurde bereits im siebten Erfahrungsbericht (2014/2015) intensiv diskutiert. Im achten Erfahrungsbericht wurden die verschiedenen Zustände humaner embryonaler Stammzellen im Vergleich zu embryonalen Stammzellen der Maus vorgestellt. In den Jahren 2018 bis 2019 gab es dazu eine Reihe weiterer wichtiger Veröffentlichungen (zusammengefasst in Dong et al., 2019; Geng et al., 2019; Takahashi et al., 2018). In diesen Studien konnte gezeigt werden, dass die Hemmung von zentralen Signalmolekülen, einschließlich Tankyrase, durch spezifische Inhibitoren humane pluripotente Stammzellen in einen naiven Zustand überführen kann. Das Enzym Tankyrase ist in die Regulation der Telomeren (Enden) der Chromosomen und in die Regulation des Wnt Signalweges involviert. Die Regulation der Telomerlänge ist ein zentraler Mechanismus zur Erhaltung der Integrität des Genoms (Gao et al., 2019). In weiteren Publikationen wurde gezeigt, dass die Inhibierung des Wnt Signalwegs während der Reprogrammierung von Körperzellen zu pluripotenten Zellen diese in einen naiven Zustand überführt (Bredenkamp et al., 2019) und dass eine Hemmung des MEK/ERK Signalweges für die Stabilität des Genoms in naiven humanen embryonalen Stammzellen wichtig ist (Di Stefano et al., 2018). Eine weitere Studie aus dem Jahr 2018 zeigt, dass allein durch die Veränderungen der Kulturbedingungen in verschiedenen Kulturmedien unterschiedliche embryonale Zustände in hPS-Zellen etabliert werden können, die denen von Embryonen entsprechen. Auf diese Weise ist es auch möglich, Zellen im naiven und im geprägten Zustand direkt miteinander zu vergleichen (Kilens et al., 2018). Im Labor von Lorenz Studer (Sloan Kettering Cancer Center (SKCC), New York) konnte gezeigt werden, dass die Verfügbarkeit von exogenen Lipiden die Regulierung der menschlichen Pluripotenz beeinflusst und hPS-Zellen bei dem Entzug von Lipiden einen stabilen, pluripotenten Zustand etablieren, der ein Stadium zwischen dem naiven und dem geprägten Zustand darstellt (Cornacchia et al., 2019).

Eine Studie aus dem Labor von Jürgen Knoblich (IMBA, Wien) beschreibt die koordinierte Regulation ribosomaler RNAs und der Proteinsynthese durch das RNA-bindende Protein HTATSF1 als einen zentralen Mechanismus in der Steuerung der frühen Embryogenese in Säugetieren (Corsini et al., 2018). Eine große Anzahl von Studien zum naiven Zustand wurde mit pluripotenten Zellen der Maus durchgeführt (siehe Dong et al., 2019; Geng et al., 2019). Hier konnten diverse Mechanismen und Moleküle dargestellt werden, beispielsweise die Funktion der Heterogenität des Pluripotenz-Transkriptionsfaktors Nanog (Hastreiter et al., 2018), die Regulation der Epigenetik und der Chromatinstruktur an Genloci durch den Transkriptionsfaktor Esrrb (Adachi et al., 2018) und die Kontrolle von verschiedenen Gen-Enhancern durch den Transkriptionsfaktor GRHL2 beim Übergang vom naiven in den geprägten Zustand (Chen et al., 2018). Eine Studie untersucht in naiven und geprägten pluripotenten Stammzellen das Auftreten von Mutationen in Genen, die eine Krebsentstehung auslösen können. Es wurde eine Strategie zur Identifizierung krebsassoziiierter Punktmutationen in hPS-Zellen etabliert, wobei neben den zuvor in p53 nachgewiesenen Mutationen ebenfalls reproduzierbare Mutationen in über 20 weiteren krebsassoziierten Genen zur Krebsentstehung nachgewiesen wurden. Humane naive hPSC enthalten im Durchschnitt viermal mehr Mutationen als ihre präparierten Pendanten. Diese treten vor allem in Signalwegen auf, die während der naiven Konversion gehemmt werden (Avior et al., 2019).

Wichtig für das weitere Verständnis der frühen Embryogenese in Säugetieren sind auch die Studien aus dem Labor von Maria-Elena Torres-Padilla am Helmholtz Zentrum München. Die Experimente zum Zwei-Zell-Stadium in der Maus mit Screens von kleinen inhibierenden RNAs (siRNA) zeigen die komplexen Mechanismen der epigenetischen Kontrolle in diesem Entwicklungsstadium. Die Zellen im Zwei-Zell-Stadium, also direkt nach der ersten Teilung der Zygote, sind anders als pluripotente Stammzellen totipotent und können in alle Zelltypen sowohl des Embryos als auch der extraembryonalen Gewebe differenzieren. Aus mES-Zellen lassen sich seltene Zellen isolieren, die sich wie Zellen aus dem Zwei-Zell-Stadium verhalten. Ähnliche Mechanismen sind auch im humanen System mit hES-Zellen zu vermuten (Rodriguez-Terrones et al., 2018). Vergleichende RNAi-Screens in isogenen menschlichen Stammzellen wurden ebenfalls verwendet, um die zentrale Funktion von SMARCA4 zu beschreiben, ein Faktor, der in die Chromatin-Remodellierung für verschiedenen Typen von Stammzellen einschließlich der pluripotenten Stammzellen involviert ist (Güneş et al., 2019).

Zusammengefasst eröffnen die vorgestellten Studien neue Ansätze, pluripotente Stammzellen sowohl humanen Ursprungs wie auch von anderen Spezies beispielsweise der Maus, in einen naiven Zustand zu überführen und weitere Möglichkeiten der Differenzierung von verschiedenen Zelltypen auch für die weiteren Anwendungen dieser Zellen zu ermöglichen. Gleichzeitig können mit naiven Zellen Krankheitsmechanismen in frühen Entwicklungsstadien besser aufgeklärt werden.

2.3.2 Untersuchungen zu Mechanismen der Reprogrammierung von Körperzellen zu induzierten pluripotenten Stammzellen

Eine Reihe von Studien, die im Berichtszeitraum veröffentlicht wurden, untersucht die Mechanismen zur Reprogrammierung von humanen Körperzellen zu hPS-Zellen (siehe Erfahrungsberichte 2006/07 und 2008/09; zusammengefasst in Yamanaka, 2020; Abu-Dawud et al., 2018). Die Technologie ist seit der Erstbeschreibung durch Takahashi und Yamanaka in Mauszellen (Takahashi und Yamanaka, 2006) und der Anwendung in humanen Zellen (Takahashi et al., 2007; Yu et al., 2007) kontinuierlich weiterentwickelt, und die Mechanismen, die dem Prozess zugrunde liegen, immer besser erforscht worden. Es bleiben weiterhin fundamentale wissenschaftliche Fragestellungen zu den zugrundeliegenden Mechanismen zu klären.

In den Berichtszeitraum fallen wichtige neue Erkenntnisse zur Funktion des Transkriptionsfaktors OCT4. Ursprünglich wurde angenommen, dass OCT4 die wichtigste Rolle bei der Induktion der Pluripotenz spielt, zumal es auch der einzige Faktor im „Yamanaka-Cocktail“ mit den vier Faktoren OCT4, SOX2, KLF4 und MYC ist, der ausschließlich eine Funktion in pluripotenten Zellen hat. Alle drei anderen Faktoren haben ebenfalls wichtige Funktionen in Körperzellen adulter Gewebe. Eine neue Studie hat nun gezeigt, dass OCT4 sowohl in der Maus als auch in menschlichen Zellen durch einen anderen Transkriptionsfaktor der Familie der Homöobox-Faktoren, NKX3-1, ersetzt werden kann. Dieser Faktor ist bisher hauptsächlich mit der Proliferation von Zellen der Prostata in Verbindung gebracht worden, und seine Rolle bei der Pluripotenz wurde bislang nicht beschrieben. In Zellen der Prostata wurde NKX3-1 als spezifischer Tumorsuppressor, d. h. als Faktor, der die Entstehung von Tumorzellen unterdrückt, beschrieben. Eine Studie zeigt, dass NKX3-1 für die induzierte Reprogrammierung pluripotenter Stammzellen benötigt wird und OCT4 bei der Reprogrammierung von Gewebezellen zu iPS-Zellen in der Maus und beim Menschen ersetzen kann (Mai et al., 2018). Weiterhin konnte in einer wegweisenden Studie aus dem Labor von Hans Schöler in Münster nachgewiesen werden, dass der Ausschluss von OCT4 aus dem „Yamanaka-Cocktail“ das Entwicklungspotenzial von iPS-Zellen der Maus freisetzt. Die Daten deuten darauf hin, dass eine Überexpression von OCT4 während der Reprogrammierung zu einer unkontrollierten Aktivierung von Genen führt und somit epigenetische Aberrationen zur Folge hat, die den Prozess der Reprogrammierung und der anschließenden Differenzierung in verschiedene Zelltypen aus iPS-Zellen negativ beeinflusst. Diese Zusammenhänge wurden bisher in Zellen der Maus gezeigt (Velychko et al., 2019a). Eine Ausweitung der Analyse dieser Mechanismen auf humane Zellen ist Gegenstand der aktuellen Forschung. Die Fusionierung von Proteindomänen verschiedener Reprogrammierungsfaktoren erlaubt die determinierte Programmierung von Ausgangszellen in verschiedene Zelltypen. Bestimmte Proteinfusionskonstrukte, die anstelle von OCT4 den homologen Faktor BRN4 produzieren, können Fibroblasten in neurale Zellen transprogrammieren. Allerdings kann bei der Transprogrammierung durch einige Proteine ein pluripotenter Zustand durchlaufen werden, welcher mit einer erhöhten Gefahr der Tumorbildung verbunden ist, während andere Proteine eine direkte Transprogrammierung erlauben. Diese Ergebnisse haben erhebliche Auswirkungen auf die Technologien zur Umwandlung von Zelllinien, die das Potenzial haben, eine sicherere Alternative zu iPS-Zellen für die klinische Anwendung sowohl in vitro als auch in vivo zu bieten (Velychko et al., 2019b).

Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass die Behandlung von hiPS-Zellen mit Signalmolekülen, die für die frühen Entwicklungsprozesse eine Rolle spielen, eine räumlich definierte Entwicklung ermöglicht. Dies spricht für eine Selbstorganisation der Zellen. Unterschiedliche Konzentrationen der Faktoren bzw. Morphogene führten zu verschiedenen spezifischen Differenzierungen der humanen iPS-Zellen (Manfrin et al., 2019). RNA bindende Proteine (RBPs) und lange, nicht-kodierende RNAs (lncRNAs) sind Schlüsselregulatoren der Genexpression. Ihre gemeinsamen Funktionen bei der Koordination von Entscheidungen zur Entwicklung von Zellen sind jedoch bisher nur unzureichend verstanden. In diesem Zusammenhang konnte gezeigt werden, dass die gegenseitige Regulation zwischen dem RNA bindenden Protein TDP-43 und der langen, nicht-kodierenden RNA Neat1 für die effiziente Regulierung eines großen Netzwerks von Genen verantwortlich und somit von entscheidender Bedeutung für die Regulation der Pluripotenz und der Differenzierung von Zellen ist (Modic et al., 2019). Die zitierte Literatur stellt dabei nur einen kleinen repräsentativen Ausschnitt der gesamten Publikationstätigkeit in diesem Forschungsfeld dar.

Dass die Mechanismen, die bei Säugetieren in die Reprogrammierung involviert sind, in der Evolution schon lange vor der Entstehung von Säugetieren für die Zelldifferenzierung verantwortlich waren, zeigen Experimente am Fadenwurm, *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*). Das Protein FACT, das an der Regulation von Chromatin beteiligt ist und in einem genetischen Test in *C. elegans* in Zusammenhang gebracht wurde mit Prozessen zur Umprogrammierung von Körperzellen, erfüllt ähnliche Funktionen auch bei der Reprogrammierung menschlicher Zellen. Dabei hemmt ein Proteinkomplex mit FACT als zentraler Komponente die Reprogrammierung von Zellen und ist so für die Sicherstellung der Zellidentität verantwortlich. Derartige Mechanismen sind essenziell für die

Erhaltung der Zellidentitäten und verhindern so, dass Zellen sich unkontrolliert in andere Zellarten entwickeln (Kolundzic et al., 2018).

2.3.3 Pluripotente Stammzellen von anderen Tierspezies

Bereits seit einiger Zeit fokussiert sich die Forschung an pluripotenten Zellen nicht nur auf Zellen des Menschen und der Maus, sondern auch auf Zellen anderer Spezies. Die Gewinnung von pluripotenten Zellen anderer Spezies spielt u. a. eine Rolle dabei, die Biodiversität zu erhalten und genetische Informationen einer Vielzahl von Spezies zu bewahren. Inzwischen gibt es eine regelrechte Menagerie von Stammzellmodellen aus vielen verschiedenen Spezies (Madhusoodanan, 2020). Bereits publizierte Ergebnisse lassen hoffen, dass die Etablierung von undifferenzierten pluripotenten Stammzellen gemeinsam mit neuen assistierten Reproduktionstechniken (ART) eine praktikable Strategie zur Rettung von Genen aussterbender Tierarten darstellen könnte. Die Spezies des nördlichen Breitmaulnashorns, welche nur noch zwei weibliche Tiere seiner Art aufweist und damit de facto ausgestorben ist, könnte vielleicht mithilfe von Stammzellen und Eizellen vom südlichen Breitmaulnashorn wieder etabliert werden. Ein Erfolg dieser Studien wäre von großer Bedeutung, da dann die Hoffnung bestünde, dass diese Techniken auch auf andere gefährdete große Säugetierarten übertragen werden könnten (Hildebrandt et al., 2018). Wenn herkömmliche Labormodelle zum Studium biologischer Mechanismen nicht geeignet sind, können Stammzellen von Eichhörnchen, Robben und anderen Arten alternative Modellsysteme darstellen. Auf diese Weise können dann physiologische Prozesse beispielsweise beim Streifenhörnchen untersucht werden. So bieten iPS-Zellen von Streifenhörnchen eine einzigartige Plattform, um Kaltadaptionsstrategien zum Winterschlaf zu erforschen. Die Forschungsergebnisse könnten auch eine medizinische Anwendung auf die Kälteadaptation beim Menschen haben (Ou et al., 2018). Ebenso sind in Studien eine ganze Reihe von iPS-Zellen aus landwirtschaftlich wichtigen Tierarten entstanden, welche nahezu unbeschränkte Zellquellen für die Untersuchung der Embryonalentwicklung und Zelldifferenzierung dieser Arten darstellen. Sie finden Anwendung beim Screening und der Etablierung erwünschter Merkmale für eine nachhaltige landwirtschaftliche Produktion sowie als veterinärmedizinische und präklinische therapeutische Instrumente für tierische und menschliche Krankheiten (zusammengefasst in Su et al., 2020).

2.3.4 Untersuchungen zu generellen molekularen Mechanismen in Stammzellen

Die Techniken der Analyse von einzelnen differenzierenden Zellen in einem größeren Zellverband mittels Sequenzierung der Einzelzellanalyse sind im vorherigen Erfahrungsbericht der Jahre 2016/17 (Kapitel 2.5.2) eingeführt und detailliert beschrieben worden. Mit der Technologie können die Einzigartigkeit jeder Stammzelle und ihrer Derivate dargestellt werden. So lassen sich signifikante neue Erkenntnisse über den Ablauf von entwicklungsbiologischen und regenerativen Prozessen gewinnen. Diese Studien führen zur Entwicklung neuer Technologien in der Zellbiologie und helfen bei der Aufklärung, wie verschiedene Zellzustände bzw. Zellstadien erreicht und definiert werden können, welche Mechanismen Änderungen in den Zellzuständen kontrollieren können und wie diese Mechanismen in der Grundlagenforschung nutzbar gemacht werden können (zusammengefasst in Kruger, 2019). Die Anwendung dieser Technologie hat unter anderem die Analyse von Transkriptionsfaktoren in sehr seltenen Zellpopulationen ermöglicht, die für die Entwicklung oder bei Erkrankungen von großer Bedeutung sind (Hainer et al., 2019). Solche Einzelzell-Analysen wurden ebenfalls genutzt, um die Expression von Genen in 20 verschiedenen Organen der Maus darzustellen und ein Kompendium (Tabula Muris) aus Daten von mehr als 100.000 Zellen aus diesen 20 Organen und Geweben zu erstellen (Tabula Muris Consortium et al., 2018). Ein Einzelzell-DNA-Replikations-Sequenzierungsverfahren, scRepli-seq, konnte dazu beitragen, replizierende und nicht replizierende DNA im gesamten Genom von mES-Zellen zu identifizieren. Die Ergebnisse bilden eine Grundlage für das Verständnis der DNA-Replikationsregulation auf Einzelzellebene und bieten Einblicke in die dreidimensionale Organisation des Genoms (Takahashi et al., 2019). Eine weitere Studie bestätigt ebenfalls, dass stochastische Variationen im Ablauf der DNA-Replikation in mES-Zellen intrinsisch sind und unabhängig von Genelementen, die das Timing kontrollieren oder auf extrazelluläre Einflüsse reagieren (Dileep und Gilbert, 2018). Für die kardiale Entwicklung ist durch Einzelzellanalyse ein Modell der transkriptionellen und epigenetischen Regulationen generiert worden, das die Differenzierung von kardialen Vorläuferzellen in unterschiedliche Zelltypen im Herzen beschreibt (Jia et al., 2018). Weiterhin zeigte eine Studie mithilfe dieser Technologie, dass eine einzige Stammzelle nach Schädigung des Darms mobilisiert werden, das homöostatische Stammzellkompartiment neu bilden sowie das Darmepithel regenerieren kann (Ayyaz et al., 2019).

Inzwischen ist es auch gelungen, Proteine in einzelnen Zellen zu untersuchen. Hierzu wurden Proteine mittels neuer Markierungstechniken, basierend auf Schwermetallionen, die an Proteine gebunden werden, bis in einzelne Zellen verfolgt. Die Einzelzell-Proteomik zeigt, dass quantitative Veränderungen in Transkriptionsfaktoren, die

spezifisch für einen Zelltyp bei der Entwicklung von humanen hämatopoetischen Zellen aus Blutstammzellen sind, die gesamte Entwicklung bestimmen. Die Aufregulation eines Transkriptionsfaktors in Megakaryozyten, FLI1, in frühen Vorläuferzellen ist ausreichend, um die Zellen von einer erythroiden Entwicklung in die Entwicklung zu Megakaryozyten zu bringen. Auf der anderen Seite führt die Aufregulation des Transkriptionsfaktors KLF1 in den Vorläuferzellen zur einer erythroiden Entwicklung. Die Ergebnisse aus der humanen Hämatopoese mittels Analyse von Proteinen in einzelnen Zellen werden auch für weitere Stammzellpopulationen wichtige Daten generieren (Palii et al., 2019).

Auf europäischer Ebene hat sich in den letzten Jahren ein Konsortium mit einer großen Anzahl von europäischen Forschungslaboren zu diesen neuen Einzelzelltechnologien etabliert. Das LifeTime Konsortium hat zum Ziel, Zellen während der Entstehung und des Fortschreitens komplexer Erkrankungen zu verfolgen, zu verstehen und gezielt zu regulieren sowie die Effekte von Therapien auf klinisch relevante Zelltypen in Einzelzellanalysen aufzuklären (Rajewsky et al., 2020).

2.4 Technologien der Stammzellforschung: Organoide

Organoide sind in vitro kultivierte dreidimensionale Strukturen, die Schlüsselaspekte von in vivo Organen rekapitulieren. Sie können aus pluripotenten Stammzellen und aus adulten Stammzellen hergestellt werden. Die Grundlagen der Modellsysteme aus Organoiden sind wie die Einzelzellanalysen im 8. Erfahrungsbericht 2016/17 eingehend vorgestellt worden (zusammengefasst in Kim et al., 2020; Schutgens und Clevers, 2020). Zu diesem Thema ist kürzlich ein umfangreicher Übersichtsband im Nomos Verlag erschienen, welcher die verschiedenen Aspekte der Bedeutung von Organoiden in Forschung und Medizin eingehend darstellt (Bartfeld et al., 2020). In diesem Zusammenhang sind die Kernaussagen aus dem Buch und ein journalistischer Text zur Forschung in einem White Paper des German Stem Cell Network, der Interdisziplinären Arbeitsgruppe Gentechnologiebericht der Berlin-Brandenburgischen Akademie der Wissenschaften und dem Berlin Institute of Health (BIH) zusammengefasst (Graf et al., 2020). Durch die Möglichkeiten, die Organoide im allgemeinen und speziell menschliche Organoide bieten, kann die Architektur und Physiologie bestimmter Teile menschlicher Organe in bemerkenswerter Detailtreue nachgebildet werden. Humane Organoide bieten neue Möglichkeiten für das Studium menschlicher Krankheiten und ergänzen nicht nur Tiermodelle, sondern können in bestimmten Fällen sogar Ergebnisse liefern, die mit Tieren nicht möglich sind. Die erste Beschreibung der dreidimensionalen Organmodelle geht auf die Gruppe von Yoshiki Sasai zurück. In einer wegweisenden Publikation konnte die selbstorganisierte Bildung von kortikalem Gewebe aus mES-Zellen unter Verwendung einer effizienten dreidimensionalen Aggregationskultur gezeigt werden. Ein wichtiges Ergebnis dieser Versuche war, dass sich entwickelnde Gewebe aus pluripotenten Stammzellen in vitro in der Lage sind, sich selbst in neurale Strukturen zu organisieren, wie es bei der Entwicklung in vivo auch zu beobachten ist (Eiraku et al., 2008). Ein Jahr später, im Jahr 2009, gelang die Etablierung von Organoiden aus adulten Stammzellen. Toshiro Sato aus der Gruppe von Hans Clevers gelang es, dreidimensionale Organoide aus Darmgewebe zu kultivieren, in denen verschiedene Zelltypen des Darms eine typische Organisation aufwiesen (Sato et al., 2009). In 2013 konnte Madeline Lancaster aus dem Forscherteam von Jürgen Knoblich zeigen, dass unter verbesserten Kulturbedingungen mit dem Einbringen von extrazellulärer Matrix aus menschlichen pluripotenten Zellen zerebrale Organoide entstanden. Die Organoide zeigten Zelltypen in ähnlichen Gewebestrukturen wie im menschlichen Gehirn und konnten zur Modellierung von Krankheiten, insbesondere Mikrozephalien, eingesetzt werden (Lancaster et al., 2013). Menschliche Organoide wurden inzwischen zur Untersuchung von Infektionskrankheiten, genetischen Störungen sowie Krebs eingesetzt. Hierzu wurden auch die Möglichkeiten gentechnisch Veränderung von menschlichen Stammzellen und die Erzeugung von Organoiden direkt aus Biopsieproben von Patientinnen und Patienten genutzt (siehe auch Tachibana, 2018). Insbesondere die Möglichkeiten, Organoide als Krankheitsmodelle zu nutzen, sind von großer Bedeutung für das weitere Verständnis menschlicher Krankheiten und deren Behandlung (zusammengefasst in Lancaster und Huch, 2019).

Die Selbstorganisation und Herstellung von Organoiden verschiedener Gewebe wird durch neue Technologien weiter vorangetrieben. Kulturvorrichtungen, in denen verbesserte Bedingungen für das Wachstum der organ-ähnlichen Strukturen gewährleistet werden können, bringt das Forschungsfeld weiter voran. Die obere Größengrenze von Organoiden, wie z. B. Hirnorganoiden, wird mit fortschreitender Vaskularisierung und anderen verwandten Techniken erweitert (Brassard und Lutolf, 2019). Im Berichtszeitraum sind eine große Anzahl an Studien zu Organoiden publiziert worden (siehe Kapitel 2.7), welche die zentrale Bedeutung für diese stammzellbasierten Strukturen auch für zukünftige medizinische Anwendungen unterstreichen.

2.4.1 In-vitro-Analyse der frühen Embryogenese mithilfe pluripotenter Stammzellen: Embryoide, Blastoide und Gastruloide

Eine zentrale Entwicklung, die mit der Kultivierung von dreidimensionalen Strukturen einhergeht, ist die Herstellung von Embryoide. Embryoide sind synthetische embryonenähnliche Strukturen. Man kann bereits sogenannte Blastoide und Gastruloide bilden. Blastoide sind Gebilde, die sich bis zu einem blastozystenähnlichen Stadium entwickeln, Gastruloide, sind Gebilde in denen schon Migrationsbewegungen der Zellen ähnlich wie in der Gastrulation stattfinden.

Die Experimente zu Embryoide sind bisher fast ausschließlich mit murinen Stammzellen durchgeführt worden. Durch das kontrollierte Hinzufügen von Stammzellen für die extraembryonalen Linien entstehen - zusammen mit mES-Zellen - dreidimensionale Modelle. Sie entwickeln sich autonom von der Umgebung und rekapitulieren viele Entwicklungsschritte des prä- und postimplantierten Mausembryos bis hin zur Gastrulation. In diesen Modellen können die Prinzipien der Selbstorganisation überprüft und Zellbewegungen im frühen Mausembryo nachvollzogen werden. Sie bieten somit einen Einblick in die frühe Embryonalentwicklung von Säugetieren (zusammengefasst in Shahbazi et al., 2019). Die Entstehung von Form und Funktion während der Embryogenese von Säugetieren ist ein komplexer Prozess, der mehrere regulatorische Ebenen umfasst. Die Grundlagen des Körperplans werden in den ersten Tagen der Entwicklung nach der Implantation gelegt, wenn die embryonalen Stammzellen die Symmetrie brechen und die Spezifikation der Entwicklung der Zelllinien einleiten. Diese Prozesse basieren auf einer globalen morphologischen Reorganisation des Embryos. Die entsprechenden experimentellen Modelle zur Dekonstruktion und Rekonstruktion der frühen Embryogenese im Säugetier prägen unser Verständnis der Embryonalentwicklung und sind auch für die menschliche Frühentwicklung relevant (Shahbazi und Zernicka-Goetz, 2018). Bereits 2018 konnte Rivron et al. zeigen, welche embryonalen Prozesse entscheidend sind, um einen Trophektoderm-Zustand zu bilden, der sich robust im Uterus einnistet und eine Dezidualisierung, d. h. den Prozess einer Sekretionsphase des Uterus nach der Einnistung, auslöst. In diesem Stadium treibt also der heranwachsende Embryo die Entwicklung und Einnistung des Trophektoderms an (Rivron et al., 2018a). Das Forscherteam von Magdalena Zernicka-Götz konnte zudem zeigen, dass das Mischen von drei verschiedenen Mausstammzelltypen in vitro, mES-Zellen, trophoektodermale Stammzellen und Stammzellen des extra-embryonalen Entoderms, Embryoide entstehen lässt, die räumlich und zeitlich korrekt die Ereignisse des gastrulierenden Säugetierembryos ausführen (Sozen et al., 2018). Des Weiteren wurden Daten publiziert, wonach mES-Zellen unter weiter entwickelten pluripotenten Kulturbedingungen nur mit Trophoblasten-Stammzellen ein Blastoid bilden können. Morphogenetische Untersuchungen und Transkriptom-Profilanalysen zeigen, dass diese Blastoide eine ausgeprägte embryonale Achse und primitive Entoderm-Differenzierung aufweisen und den Übergang von der Morphologie der Eizylinder vor und nach der Implantation in vitro einleiten können (Sozen et al., 2019). Weitere publizierte Ergebnisse belegen ebenfalls eine Selbstorganisationsfähigkeit aggregierter mES-Zellen und zeigen das Potenzial, dass Embryoide zur Untersuchung früher Entwicklungsereignisse haben könnten (Beccari et al., 2018). Sie ebnet auch den Weg zur Erzeugung lebensfähiger synthetischer embryonenähnlicher Entitäten unter Verwendung kultivierter Zellen (Li et al., 2019).

Die Entwicklung einzelner Zelltypen (Fatemap) im frühen Embryo während der Gastrulation ist für fast alle Modellorganismen inzwischen relativ genau beschrieben. Eine Fatemap der Zellen im gastrulierenden menschlichen Embryo ist nach wie vor schwer zu erstellen. Basierend auf der In-vitro-Herstellung menschlicher Gastruloide können nun die Entwicklung von Zelllinien für den Primitivstreifen in der menschlichen Entwicklung erstellt werden. Unterschiedliche Mengen der extrazellulären Faktoren BMP, WNT und NODAL und somit Unterschiede in der Aktivierung bzw. Inhibition der Signalwege, führen zu einer Selbstorganisation der Gastruloide in homogene Subpopulationen von Entoderm und Mesoderm. Diese Daten bieten einen ersten Einblick, wie die Etablierung des Primitivstreifens im menschlichen System induziert wird (Martyn et al., 2019). Mit humanen Zellen konnte ebenfalls gezeigt werden, dass ein menschlicher Modell-Epiblast die Axialsymmetrie eigenständig ohne Asymmetrie eines Ausgangssignals und ohne Anwesenheit von extraembryonalem Gewebe bzw. mütterlichen Faktoren brechen kann. Es wurde ein dreidimensionales Modell entwickelt, um die molekularen Ereignisse zu untersuchen, die der Veränderung der menschlichen Axialsymmetrie zugrunde liegen (Simunovic et al., 2019).

2.4.2 Ethische Betrachtungen zu Embryoide

Mit den innovativen Technologien zu Embryoide entstehen neue Fragestellungen, die ethisch und eventuell auch rechtlich betrachtet werden müssen (zusammengefasst in Nicolas et al., 2020). Auch die beteiligten Forscherinnen und Forscher haben den Bedarf einer breiten ethischen Diskussion zu den neuen Möglichkeiten erkannt (Rivron et al., 2018b). Bei diesem gesellschaftlichen und politischen Diskurs sollte eine pragmatische ethische Haltung

im Mittelpunkt stehen. Die moralischen Werte in einer multikulturellen Gesellschaft sind nur schwierig miteinander in Einklang zu bringen. Auch die internationale Abstimmung dieser Werte in verschiedenen Kulturkreisen und Rechtssystemen ist äußerst komplex. Nicolas et al. regen an, dass ein aufgeklärter und rationaler Dialog zu diesen neuen Technologien bereits jetzt geführt werden sollte. Beim gegenwärtigen Stand der Technik lässt sich noch nicht abschätzen, ob sich diese Modelle länger als ein paar Tage *in vitro* entwickeln können und ob sie sich im Tiermodell bis zu einem geborenen Organismus entwickeln können. Es sollte davon ausgegangen werden, dass die Zellkulturmethoden sich über die nächsten Jahre so weit verbessern, dass die Modelle Schlüsselmerkmale der frühen menschlichen Entwicklung aufweisen und dem menschlichen Embryo immer ähnlicher werden können. Eine ethische Einordnung dieser Strukturen ist bisher nicht hinreichend erfolgt, insbesondere, wenn hiPS-Zellen als Ausgangsmaterial verwendet werden und nicht hES-Zellen. In dem Artikel von Nicolas et. wird weiter ausgeführt, dass in der Debatte eindeutig zwischen individuellen Moralvorstellungen und gesellschaftlichen Einordnungen unterschieden werden sollte. Um mit dem Tempo der Wissenschaft Schritt zu halten, sollte ein ethischer Rahmen definiert werden, der den Umgang mit diesen Entitäten in der internationalen Forschung im Vergleich zum moralischen Status des intakten Embryos aufzeigt. Die Empfehlungen zu den Werten, Intentionen, Notwendigkeiten und Risiken/Nutzen-Abwägungen der Forschungsprojekte, die in der Publikation von Nicolas et al. vorgeschlagen werden, sollten hierbei als Beginn einer öffentlichen Debatte zwischen den Wissenschaften, der Forschungspolitik, der Bioethik und der Öffentlichkeit verstanden werden (Nicolas et al., 2020).

2.5 Verfahren zur Genom-Editierung in Stammzellen

Die Möglichkeiten der Genom-Editierung von Stammzellen und insbesondere von pluripotenten Stammzellen ist im vorhergehenden Erfahrungsbericht eingehend beschrieben worden. Die Kombination von Stammzell- und Gentherapien wird für ein breites Spektrum an Krankheiten neue Optionen für die Therapie aufzeigen. Insbesondere wenn Genmutationen die Grundlage der Erkrankung bilden, kann in autologen (patienteneigenen) Stammzellen durch das Hinzufügen eines nicht mutierten Genes oder über die gezielte Genveränderung die Mutation korrigiert werden und Patientinnen und Patienten mit gesunden eigenen Stammzellen behandelt werden. Ein erstes Produkt dieser Kategorie von genetisch veränderten Stammzellen, Strimvelis, wird nun für die Erkrankung ADA-SCID kommerziell angewendet und zeigt das Potenzial der Stammzellgentherapie, die Behandlung eines breiten Spektrums von Krankheiten zu revolutionieren (Nogrody, 2019). Während Strimvelis noch durch die Anwendung Retrovirus-vermittelte Genmanipulation hergestellt wird, ermöglicht die Genom-Editierung mit dem CRISPR/Cas9 System deutlich kleinere, gezielte Änderungen, die für die Manipulation von Genen zur Untersuchung von Genfunktionen während der Hämatopoese sowie zur Korrektur von Genmutationen in humanen hämatopoetischen Stammzellen bei Krankheiten wie Sichelzellanämie, β -Thalassämie und primären Immundefekten, die auf monogenetischen Mutationen beruhen, oft besser geeignet sind (Bak et al., 2018). Weitere Modifikationen des Systems ergeben zusätzlich höhere Effizienzen der Gen-Editierung (Riesenberg und Maricic, 2018). Das Team um Matthew Porteus hat auch gezeigt, dass humane neurale Stammzellen (hNS-Zellen) mit der CRISPR/Cas9 Technologie genetisch verändert werden können. Genetisch veränderte hNS-Zellen und daraus abgeleitete Zelltypen können in immundefiziente Mäuse transplantiert und dort erfolgreich in Hirnstrukturen integriert werden. Diese genetisch veränderten hNS-Zellen haben das Potenzial, als Zell- und Gentherapie für eine Reihe von neurodegenerativen Erkrankungen und Verletzungen des Zentralnervensystems einschließlich lysosomaler Speicherkrankheiten genutzt zu werden (Dever et al., 2019).

2.5.1 Genom-Editierung mit dem CRISPR/Cas9 System

Die Bedeutung der neuen Verfahren zur Gen-Editierung wird unterstrichen durch die Vergabe des Nobelpreises für Chemie an die beiden Erfinderinnen der CRISPR/Cas9 Technologie, Emmanuelle Charpentier, Leiterin der Max-Planck-Forschungsstelle für die Wissenschaft der Pathogene in Berlin, und Jennifer Doudna, UC Berkley. Das Nobelpreiskomitee würdigte Charpentier für ihre Entdeckung des bisher unbekanntes tracrRNA im Bakterium *Streptococcus pyogenes*, die den Anstoß für die Entwicklung dieser Technologie gab. Charpentier berichtete 2011, dass tracrRNA eine entscheidende Rolle bei der Reifung der CRISPR-RNA spielt. Im selben Jahr begannen Charpentier und Doudna mit der Zusammenarbeit, um diese Gen-Editierungsmaschinerie zu untersuchen, zu reinigen und zu vereinfachen. Im Jahr 2012 zeigten Jennifer Doudna und Emmanuelle Charpentier, wie das System für die ortsspezifische DNA-Editierung eingesetzt werden könnte (Mullard, 2020; Ledford und Callaway, 2020). Basierend auf diesem System und weiteren Systemen mit Designernukleasen sind in der Zukunft weitere neue Therapien für Erkrankungen zu erwarten.

2.5.2 Verfahren zur Genom-Editierung im humanen Embryo

Verfahren zur Gen-Editierung in Embryonen wurden bereits im Bericht 2016/17 zusammen mit den ethischen Kontroversen beschrieben, die sich aus der Anwendung der Technologie in Embryonen, beispielweise in Großbritannien, ergeben haben (Fogarty et al., 2017). Ähnlich ist auch eine Studie aus dem Labor von Shoukhrat Mitalipov an der Oregon Health Sciences University (OHSU) kritisiert worden (Ma et al., 2017), da für die Studie einige humane Embryonen eingesetzt wurden. Zum anderen werden die Ergebnisse im Forschungsfeld skeptisch gesehen, und ihre Interpretation der Ergebnisse der Publikation kontrovers diskutiert (Callaway, 2017). Nachdem frühere Experimente gezeigt haben, dass die CRISPR/Cas9-Methode „Off-Target“-Genmutationen weit entfernt von der Zielstelle verursachen kann, sind große Anstrengungen unternommen worden, um diese Effekte zu verringern. Allerdings zeigen neueste Studien, dass auch Genveränderungen in nächster Nähe zur Zielstelle entstehen können, die mit Standard-Analysemethoden häufig übersehen werden (Ledford, 2020).

Nach der Anwendung von CRISPR/Cas9 in menschlichen Embryonen, die nicht implantiert wurden (Callaway, 2016), wurde 2018 eine CRISPR/Cas9-vermittelte Genomeditierung in Embryonen berichtet, die anschließend zur Geburt gebracht wurden. Der chinesische Forscher He Jiankui berichtete in einem YouTube Film und auf einer Konferenz in Hongkong, dass er in zwei Embryonen Genmutationen mit CRISPR/Cas9 vorgenommen und diese implantiert hatte. Es sind zwei Mädchen entstanden, die zweieiigen Zwillinge Lulu und Nana, die eine Mutation im CCR5 Gen haben sollen (Greely, 2019). Das CCR5 Gen ist ein wichtiger Ko-Rezeptor für das HI-Virus und es ist beschrieben worden, dass Mutationen in diesem Rezeptor die weitere Infektion durch das HI-Virus in T-Zellen mit dem mutierten Gen verhindern kann (Gupta et al., 2019). Folglich soll eines der beiden Mädchen, das beide Allele des CCR5 Rezeptors mutiert vorliegen hat, gegen das HI-Virus immun sein. Die Ergebnisse sind bisher nicht in einem wissenschaftlichen Journal publiziert worden und die Genmutationen sind ebenfalls von keinem unabhängigen Labor bestätigt worden (Regalado, 2019a). Selbst wenn die Genmutation in einem der beiden Zwillinge vorliegen sollte, kann das Experiment nicht überprüft werden, da eine Infektion mit dem Virus ethisch nicht vertretbar wäre. Weiterhin ist auch nicht bedacht worden, dass CCR5 eventuell für die Abwehr anderer Infektionen wichtig ist, beispielsweise durch das West Nile Virus (Lim et al., 2008). Infolge starker internationaler Proteste (Krimsky, 2019) hat die chinesische Regierung nach anfänglich positiven Kommentaren zu den Experimenten, Strafmaßnahmen gegen He Jiankui angekündigt. Am 30. Dezember 2019 ist He Jiankui vom Volksgerichtshof des Bezirks Nanshan (Shenzhen) zu drei Jahren Gefängnis, umgerechnet 350.000 € Geldstrafe und einem lebenslangen Verbot, in der reproduktiven Medizin zu arbeiten, verurteilt worden (Regalado, 2019b).

2.6 Entwicklung von Keimzellen

Durch einen noch nicht genau verstandenen spontanen Prozess können sich ES-Zellen in Keimzellen verschiedener Stadien differenzieren, was teilweise auf ihre Selbsterneuerungsfähigkeit und die Kulturbedingungen zurückzuführen ist. Die Differenzierung von hES-Zellen und mES-Zellen in primordiale Keimzellen wurde in mehreren Studien nachgewiesen; es wurde auch über die Differenzierung funktioneller Spermien in Rhesusaffen berichtet (Fayomi et al., 2019). Die genauen zugrundeliegenden Mechanismen müssen jedoch erst richtig verstanden werden, und daher ist die klinische Anwendung von ES-Zellen-abgeleiteten Keimzellen noch nicht möglich. Dennoch ist zu erwarten, dass diese Herstellung von Keimzellen aus pluripotenten Zellen in Zukunft eine potenzielle Behandlungsoption für Unfruchtbarkeit werden könnte (zusammengefasst in Lorzadeh und Kazemirad, 2018). Ein Durchbruch bei der Generierung von Oogonien aus hES-Zellen konnte 2018 berichtet werden. Einem Team um Mitinori Saitou gelang es, aus hiPS-Zellen primordiale keimzellähnliche Zellen zu generieren und diese in einem langwierigen Kulturverfahren über vier Monate in Oogonien zu differenzieren, die Kennzeichen epigenetischer Reprogrammierung - genomweite DNA-Demethylierung, Löschung des Imprintings und Veränderung des abernanten DNA-Methylierung - zeigten. Die Zellen erlangen ebenfalls einen Zustand, der der meiotischen Rekombination unmittelbar vorausgeht, allerdings sind noch keine funktionellen Oozyten bei diesen Experimenten entstanden (Yamashiro et al., 2018; kommentiert in Gill und Peters, 2018; Gell und Clark, 2018).

Eine zunehmende Zahl erwachsener Männer ist mit Subfertilität oder sogar dauerhafter Infertilität konfrontiert, die auf den Verlust von spermatogonialen Stammzellen u. a. auch als Nebenwirkung von pädiatrischen gonadotoxischen Behandlungen zurückzuführen ist, darunter Krebstherapien sowie die Behandlung der β -Thalassämie. Erwachsene Männer können Spermien als Fruchtbarkeitsreserve kryokonservieren, wohingegen diese Option präpubertären Patienten allerdings nicht zur Verfügung steht. Die Entfernung und Kryokonservierung von spermienhaltigem Hodengewebe könnte daher eine Strategie zur Erhaltung der Keimbahn der präpubertären Person darstellen (zusammengefasst in Neuhaus und Schlatt, 2019; Sharma et al., 2019b). In Rhesusaffen ist gezeigt worden, dass spermienhaltiges Hodengewebe von präpubertären Affen in kastrierten erwachsenen Affen zu funktionellen

Spermien heranreifen kann, wodurch die so behandelten Affen Nachkommen zeugen können. Wenn der Nachweis erbracht werden kann, dass ähnliche Ergebnisse bei nicht kastrierten Empfängern erzielt werden, könnte die Hodengewebestransplantation auch beim Menschen in der Klinik angewendet werden. Die autologe Transplantation von kryokonservierten präpubertären Hodenzellen könnte somit infertilen Patienten erlauben, Nachkommen zu zeugen (Fayomi et al., 2019; Ntemou et al., 2019).

2.7 Ergebnisse zu Gewebestammzellen und Organoiden

Nachfolgend werden die wichtigsten Entwicklungen aus dem Berichtszeitraum zur Differenzierung von pluripotenten Stammzellen in verschiedene Gewebe sowie zu Gewebe-spezifischen Organoiden und neue Ergebnisse zu Gewebestammzellen zusammengefasst. Ein Übersichtsartikel beschreibt das aktuelle Wissen darüber, wie Zellzyklusproteine die Zellproliferation, Pluripotenz und die Spezifikation der Zelldifferenzierung mechanistisch miteinander verknüpfen und der Zellzyklus bei diesen Zellentscheidungen eine zentrale Rolle spielt (Liu et al., 2019). Eine weitere Studie zeigte mittels Rekapitulation von einzelnen Zelldifferenzierungsschritten durch Einzelzellanalyse, dass die Entscheidungen über die Differenzierung früher erfolgt, als selbst von den modernsten Algorithmen erkannt wird, und dass die Zellen mit präziser und konsistenter Dynamik stetig durch den zeitlichen Ablauf der Differenzierung gehen (Weinreb et al., 2020).

2.7.1 Entodermale Stammzellen, Gewebe und Organoiden

Das Entoderm ist das innere der drei Keimblätter, die während der Embryogenese entstehen. Aus dem Entoderm geht unter anderem der überwiegende Teil der Gewebe des Gastrointestinaltrakts wie Speiseröhre, Magen und Darm und dessen Anhangsorgane wie Speicheldrüsen, Schilddrüse, Leber, Bauchspeicheldrüse, die Lunge und die Blase hervor. Für eine Reihe von entodermalen Geweben sind Organoiden beschrieben, die sowohl aus pluripotenten als auch aus adulten Stammzellen bestehen (zusammengefasst in Lewis et al., 2020). Das Zusammenspiel von verschiedenen entodermalen Zelltypen ist in einer Studie beschrieben worden. Die Ergebnisse zeigen, dass experimentell ein integratives Multiorgan-Modell experimentell aus hPS-Zellen durch die Kokultur von abgeleitetem Vorder- und Mitteldarmgewebe etabliert werden kann. Dieses Modell wäre potenziell dazu geeignet, ein manipulierbares und leicht zugängliches Modell für die Untersuchung der komplexen Organogenese des menschlichen Entoderms zu bilden. In der Kokultur zeigt sich die Organogenese von Leber, Galle und Bauchspeicheldrüse, die an der Grenze zwischen Vorderdarm und Mitteldarm angesiedelt ist (Koike et al., 2019).

2.7.1.1 Magen-Darm-Trakt

Der Magen-Darm-Trakt ist eines der bestbeschriebenen Organsysteme mit der Funktion von Darmstammzellen. Aus adulten Darmstammzellen bestanden auch die ersten Organoiden, die eindeutig die Homologie zur In-vivo-Entwicklung auswiesen (Sato et al., 2009). Der Ist-Stand der Forschung mit Magen- und Darmorganoiden wurde kürzlich umfassend dargestellt (Kayisoglu et al., 2020). In diesem Übersichtsartikel wird beschrieben, wie neuere mRNA-Profile der Submukosa des Darms von Maus und Mensch in Verbindung mit hochauflösender Mikroskopie das organisierte Gewebe des Darms darstellen und Zellen mit unterschiedlichen molekularen Eigenschaften und Funktionen dieses Gewebe ausmachen (zusammengefasst in (McCarthy et al., 2020)). Im Folgenden werden einige der wichtigsten Studien zur Entwicklung des Magen-Darmtrakts und der Funktion seiner Stammzellen vorgestellt.

Der LGR5 Rezeptor ist ein wichtiges Oberflächenmolekül, um Stammzellen zu identifizieren. LGR5 wurde erstmals im Darm beschrieben, und die Identifizierung führte zur eindeutigen Bestimmung der Gewebestammzellen. Der Ligand für LGR5 ist R-SPONDIN 3 (RSPO3), und es konnte gezeigt werden, dass RSPO3 für die epitheliale Reparatur durch Induktion des Wnt-Signals in differenzierten Zellen essentiell ist. Es fördert die Regeneration der Darmstammzellen und die Epithelregeneration im Dickdarm (Harnack et al., 2019). Es ist ebenfalls gezeigt worden, dass die RSPO3-LGR5-Achse gleichzeitig sowohl die antimikrobielle Abwehr als auch die mukosale Regeneration im Magen reguliert (Sigal et al., 2019). Einzelzellanalysen der Stammzellen im Darmepithel erlauben die Definition einer einzigartigen Stammzelle, die durch Schädigung mobilisiert wird, das homöostatische Stammzellkompartiment zu erneuern und das Darmepithel zu regenerieren (Ayyaz et al., 2019). Weitere Ergebnisse zeigen, dass intestinale Stammzellen den Hexosamin-Biosyntheseweg (HBP) zur Überwachung des Ernährungszustands nutzen. Eine erhöhte HBP-Aktivität fördert die metabolische Reprogrammierung, die zur Anpassung der Teilungsrate der Stammzellen je nach Nährstoffgehalt erforderlich ist. Die intrinsische Hexosaminsynthese bei Stammzellen reguliert die Aktivitäten des Stoffwechselweges und die Antwort der Stammzellen auf Faktoren aus der umliegenden Nische (Mattila et al., 2018). Rodriguez-Fernandez et al. beschreiben in ihrer Studie in der Fruchtfliege *Drosophila* einen neuen Mechanismus, durch den somatische Stammzellen die Homöostase

(Gleichgewicht) der Zellproteine (Proteostase) erhalten. Sie zeigen ebenfalls mögliche Interventionsstrategien zur Regulation der regenerativen Homöostase bei altersbedingter epithelialer Dysfunktion auf (Rodriguez-Fernandez et al., 2019).

Die Zellen des Magen-Darm-Trakts sind als schnell regenerierendes Gewebe auch oft von Tumorbildung und Entwicklung von Krebszellen (z. B. das Kolorektalkarzinom) betroffen. Hierzu konnte gezeigt werden, dass durch vielfältige genetische Anomalien, die den Wnt- und R-spondin Signalweg betreffen, Krebsstammzellen menschlicher Magenkarzinome unabhängig von der Stammzellnische werden. Diese Ergebnisse unterstreichen die Wichtigkeit einer Screening-Strategie nach Phänotyp und Genotyp für ein tieferes Verständnis menschlicher Krebserkrankungen (Nanki et al., 2018). Das Forscherteam um Michael Boutros konnte zeigen, dass klinisch zur Behandlung von Kolorektalkarzinomen eingesetzte MEK-Inhibitoren als unbekannt Nebenwirkung der Hemmung der RAS-ERK Signalwegs den Wnt-Signalweg aktivieren und so eine ungewollte Plastizität der Krebsstammzellen induzieren (Zhan et al., 2019). Eine selektive Aktivierung des intestinalen Farnesoid X Rezeptors FXR, der durch Gallensäure aktiviert wird, kann das abnormale Zellwachstum von LGR5-positiven Krebsstammzellen verhindern und die Progression von Kolorektalkarzinomen eindämmen. Somit stellt FXR ein potenzielles therapeutisches Ziel in humanen Krebsstammzellen des Kolorektalkarzinoms dar (Fu et al., 2019). Eine weitere Studie beschreibt die Stammzellndynamik im normalen menschlichen Dickdarm, um die Effizienz der Expansion einzelner Stammzellklone und die Rate der anschließenden lateralen Expansion zu bestimmen. Gegenüber diesen Standardwerten für das normale Gewebe kann die verstärkte Proliferation von Stammzellen quantifiziert werden, um die altersbedingte Belastung durch pro-onkogene Mutationen vorherzusagen (Nicholson et al., 2018); kommentiert in (Hodder et al., 2018).

2.7.1.2 Bauchspeicheldrüse

Die Wiederherstellung der Insulinunabhängigkeit und der Normoglykämie, die von der korrekten Funktion der Bauchspeicheldrüse abhängig ist, ist das übergeordnete Ziel der Diabetesforschung und -therapie. Während die Transplantation von ganzen Bauchspeicheldrüsen und Inselzellen zu einer etablierten Therapieoption für die Glukosekontrolle bei Diabetes-Patienten geworden ist, behindert der ausgesprochene Mangel an geeigneten Spendergeweben die breite Anwendung dieser Therapien erheblich. In einem Übersichtsartikel werden die Bemühungen beschrieben, eine nachhaltige Quelle funktionsfähiger, aus menschlichen Stammzellen gewonnener und Insulin produzierender Inselzellen für die Zelltransplantation zu schaffen. Da Diabetes Typ 1 aufgrund Autoimmunreaktion entsteht, die auch transplantiertes Gewebe zerstören kann, werden Technologien diskutiert, um Zellen durch Immunmodulations- und Verkapselungsstrategien vor einem Angriff des Immunsystems zu schützen (zusammengefasst in Sneddon et al., 2018).

Wichtige neue Entwicklungen gab es zu Organoiden der Bauchspeicheldrüse (Pankreas). Genomanalysen während der Differenzierung von pankreatischen Zellen haben dazu beigetragen, die Rolle des Chromatinstatus sowie von Transkriptionsfaktoren und nicht kodierenden RNAs bei der Entwicklung der Bauchspeicheldrüse aufzuklären. Auch die Analyse von Zellen mit krankheitsrelevanten Mutationen gibt Einblick in die molekularen Grundlagen genetisch bedingter Erkrankungen (zusammengefasst in Gaertner et al., 2019). Inselgroße angereicherte Cluster aus β -Zellen, die aus hES-Zellen abgeleitet wurden, zeigen bereits drei Tage nach der Transplantation in Mäuse eine durch Glukose stimulierte Insulinsekretion. Das endokrine Zell-Clustering in Kultur, welches die In-vivo-Entwicklung rekapituliert, fördert die Reifung von β -Zellen der Bauchspeicheldrüse aus hES-Zellen (Nair et al., 2019). Einzelzellanalysen der Pankreasentwicklung aus hES-Zellen in einer räumlichen und zeitlichen Auflösung zeigen eine enge Verbindung zwischen der Morphologie der Zellen und der endokrinen Differenzierung, wobei pankreatische α - und β -Zellen geschichtete Inselstrukturen bilden (Sharon et al., 2019). Organoide tragen auch zum besseren Verständnis des Entstehens von Tumoren bei. So zeigen Organoide eines menschlichen Pankreastumors einen Verlust der Abhängigkeit von Faktoren aus der Stammzellnische (Seino et al., 2018). In einer weiteren Arbeit wurden humane pluripotente Stammzellen verwendet, um Mutationen im Transkriptionsfaktor HNF1A als häufigste Ursache für monogenen Diabetes, zu untersuchen. Es zeigten sich Defekte in der Genexpression, bei der Entwicklung von β -Zellen, deren Funktion und ihrem Metabolismus in der Bauchspeicheldrüse, wenn mutante Formen von HNF1A exprimiert wurden (Cardenas-Diaz et al., 2019).

2.7.1.3 Leber

Zur Leberentwicklung ist im Zeitraum 2018/19 eine Publikation hervorzuheben, die auf Basis von einer Einzelzellanalyse einen Atlas menschlicher Leberzellen vorstellt. Die Analysen zeigen eine hohe Heterogenität der Zelltypen und die Identifikation von epithelialen Vorläuferzellen in der Leberentwicklung. Dieser Leberzellatlas stellt eine wichtige Ressource dar, die die Entdeckung bisher unbekannter Zelltypen in normalen und kranken Lebern

ermöglicht (Aizarani et al., 2019). In einer Publikation zur langfristigen Expansion von funktionellen Leberzellen (Hepatozyten) der Maus und menschlichen Leberzellen in 3D-Organoiden konnte das Transkriptionsprofil der Organoiden erstellt werden. Die Profile ähneln denen der proliferierenden Hepatozyten nach einer akuten Leberschädigung und partieller Hepatektomie. Die Hepatozyten in den Organoiden zeigen also eine verstärkte Proliferation als Antwort auf eine Schädigung. Organoiden aus humanen Hepatozyten proliferieren nach der Transplantation in immunkomprimierte Mäuse extensiv und rekapitulieren so die proliferative Schadensreaktion von Hepatozyten (Hu et al., 2018). In einer anderen Publikation sind die genomischen Methylom/Hydroxymethylom-Landschaften in Leberorganoiden und in der Lebergeneration untersucht worden. Die Daten sprechen für einen epigenetischen Mechanismus als Reaktion auf Schädigungen, der zur Umgestaltung des Methyloms und Hydroxymethyloms führt, also der Gesamtheit der Methyl- und Hydroxymethylgruppen auf der DNA. Dies ist ein generell aktiver Mechanismus, der zur Folge hat, dass differenzierte Zellen als Reaktion auf Gewebeschäden den differenzierten Zustand verlassen (Aloia et al., 2019).

2.7.1.4 Lunge

Zur Biologie von Stammzellen der Lunge und der Differenzierung von Lungenzellen aus pluripotenten Stammzellen sind im Berichtszeitraum einige Publikationen erschienen, von denen drei exemplarisch vorgestellt werden. Eine Studie berichtet, dass die Repopulation der Lungenmatrix mit Lungenepithelzellen, die von humanen iPS-Zellen abgeleitet wurden, eine praktikable und vielversprechende Strategie für die Regeneration der menschlichen Lunge sein könnte und die vorgestellten biotechnologischen Methoden ein wichtiger erster Schritt zur Herstellung von Ersatzorganen für Lungentransplantationen sind (Ghaedi et al., 2018). Bei der genetischen Erkrankung Mukoviszidose stellt die geschädigte Funktionalität der Lunge ein großes Problem für die betroffenen Patientinnen und Patienten dar. Infolge eines mutierten Chloridkanals (CFTR) ist die Reinigungsfunktion des Organs durch die Lungenepithelzellen eingeschränkt und es kann zu lebensbedrohlichen Lungenentzündungen kommen. In diesem Zusammenhang konnte gezeigt werden, dass isogene Reporterzelllinien humaner iPS-Zellen, die entweder nur den mutierten CFTR-Rezeptor oder auch den Wildtyp-Rezeptor exprimieren, ein hervorragendes Instrument für die Modellierung der Mukoviszidose, das Wirkstoffscreening und schließlich die Entwicklung von zellulären Therapien darstellen (Engels et al., 2019). In einer weiteren Arbeit ist die Identifizierung einer Reihe validierter Zielmoleküle beschrieben worden, welche die Funktion des mutierten CFTR verbessern. Anhand einer Bibliothek mit ~42.500 chemischen Verbindungen konnte gezeigt werden, dass Kultursysteme aus Lungenzellen, die von iPS-Zellen abgeleitet wurden, für die Krankheitsmodellierung und auch für das Arzneimittel-Screening in einem Hochdurchsatz-Format genutzt werden können (Merkert et al., 2019).

2.7.2 Ektodermale Stammzellen, Gewebe und Organoiden

Das Ektoderm ist das obere oder erste Keimblatt in der Embryonalentwicklung. Es ist die nach der Gastrulation außenliegende Zellschicht. Das primitive Ektoderm bringt durch den Vorgang der Neurulation (dem Beginn der Entwicklung des Nervensystems) das embryonale Mesoderm hervor (Primitivstreifen). Aus dem ektodermalen Keimblatt bilden sich, a) die Haut (Cutis) mit Hautstammzellen und daraus gebildete Hautanhangsorgane wie Haare und Krallen, das Epithel der Epiphyse und der Hypophyse, b) das Nervensystem mit den neuronalen Stammzellen und Nebennierenmark, c) die Sinnesorgane einschließlich der Sinnesorgane der Epidermis, die Hornhaut und Linse des Auges und d) die Zähne sowie speziell der Zahnschmelz.

2.7.2.1 Hautstammzellen und Wundheilung

Die Forschung an Hautzellen und Hautanhangsorganen wie Haare, Talg- und Schweißdrüsen ist ein Forschungsgebiet mit Ergebnissen, die für die normale Homöostase des Organs, die Wundheilung und letztendlich auch für das Verständnis der Hautalterungsprozesse eine bedeutende Rolle spielen. Die Gewebereparatur der Haut ist entscheidend für das Überleben. Die Epidermis der Haut ist Verletzungen besonders ausgesetzt, was eine rasche Reparatur erforderlich macht. Die koordinierte Wirkung verschiedener epidermaler Stammzellen aus verschiedenen Hautregionen ist zusammen mit anderen Zelltypen, darunter Fibroblasten und Immunzellen, erforderlich, um eine effiziente und harmonische Wundheilung zu gewährleisten. Ein komplexes Zusammenspiel von diversen Zelltypen und molekularen Mechanismen stellt die Aktivierung, Migration und Plastizität der beteiligten Zellen während der Gewebereparatur sicher (zusammengefasst in Dekoninck und Blanpain, 2019). Stellvertretend für ein hochdynamisches Forschungsfeld werden zwei herausragende Studien vorgestellt. Das Team von Elaine Fuchs konnte 2018 zeigen, dass die definierte zeitliche Abfolge von äußeren Signalen die Umlagerung des Chromatins im Zellkern während der Regeneration von Stammzellen des Haarfollikels kontrolliert. Während der gesamten Regeneration übernimmt der Transkriptionsfaktor LEF1, der vom Wnt Signalweg angesprochen wird und

für diese Zelllinien eine zentrale Rolle spielt, eine wichtige Funktion. Allerdings wird die Spezifität und die konzertierte Abfolge des Regenerationsprozesses durch zusätzliche Signalgeber im Zusammenspiel mit der LEF1 Signalübertragung genau koordiniert. Die Plastizität der Vorläuferzellen wird dann eingeschränkt, wenn andere Transkriptionsfaktoren aufgrund äußerer und innerer Signale, die Aktivität von LEF1 an den regulierten Genen beeinflussen (Adam et al., 2018). Aufgrund der Erfassung der gesamten Stammzellaktivität in großen Regionen der Mausepidermis konnten Mesa et al. berichten, dass die Selbsterneuerung von Stammzellen durch die Differenzierung von Nachbarzellen induziert wird. Diese Studie identifiziert die physiologischen Faktoren, die die Selbsterneuerung von Stammzellen antreiben, und erweitert damit das derzeitige Verständnis der epidermalen Homöostase und Regeneration (Mesa et al., 2018).

2.7.2.2 Gehirn und neurale Stammzellen

Die Erforschung der Hirnentwicklung aus pluripotenten Stammzellen von neuronalen Stammzellen ist schon wie in vorangegangenen Jahren ein wissenschaftliches Feld mit großer Forschungsanstrengung gewesen. Eine umfassende Bestandsaufnahme der gesamten Literatur zu neuronalen Stammzellen, der Differenzierung von neuronalen Zellen aus pluripotenten Stammzellen und zu zerebralen Organoiden ist an dieser Stelle nicht realisierbar. Es werden einige Studien vorgestellt, die die Dynamik der Forschungsaktivitäten erkennen lassen. Eine Studie aus dem Labor von Ana Martin-Villalba im Jahr 2019 identifiziert einen Kontrollmechanismus, durch den die Regulation des Zellzyklus in neuronalen Stammzellen an die posttranskriptionelle Unterdrückung von Regulatoren der Stammzellidentität gekoppelt ist. Der Übergang zu differenzierenden Zellen und die Beendigung des Stammzellstadiums sind an die Änderungen des Zellzyklus und die posttranskriptionelle Regulation gebunden. Sie werden also durch die mRNA-Stabilität und nicht durch deren transkriptionelle Neusynthese kontrolliert. Der Beginn der Differenzierung wird in adulten neuronalen Stammzellen auch posttranskriptionell kontrolliert (Baser et al., 2019). In einer zweiten Studie konnte die Gruppe einen Ruhezustand (Quieszenz) identifizieren, der ein zentrales Merkmal von alten neuronalen Stammzellen ist. Der Zustand wird durch die umliegenden Zelltypen in der Stammzellnische induziert. Die Studie deckt somit Möglichkeiten auf, durch gezielte Intervention der Signale aus der Nische die Stammzellen wieder zu aktivieren, um so das alternde Gehirn zu reparieren (Kalamakis et al., 2019). Eine weitere Publikation zeigte, dass die Aktivierung von Lysosomen zur Beseitigung von schädlichen Proteinaggregaten führt und ruhende alte neurale Stammzellen aktiviert (Leeman et al., 2018). Zur altersbedingten Quieszenz von neuronalen Stammzellen ist ebenfalls ein Modell aus Daten zur Verfolgung einzelner neuronaler Zellen entstanden. Die Forscherinnen und Forscher verfolgten dabei die Abstammungslinien einzelner neuronaler Stammzellen in den Gehirnen junger und alter Mäuse, um den altersbedingten Rückgang der Neurogenese zu untersuchen. Die mathematische Modellierung der Abstammungsdynamik zeigte altersbedingte Veränderungen im Verhalten der neuronalen Stammzellen (Bast et al., 2018). Auch andere Forscherinnen und Forscher haben mathematische Modelle verwendet, um altersbedingte Veränderungen der adulten Neurogenese zu analysieren (Ziebell et al., 2018). Die Rolle der Chromosomen-Zentrosomen, welche die korrekte Segregation der Chromosomen in der Mitose gewährleistet, untersuchte eine wegweisende Studie aus dem Labor von Magdalena Götz. Camargo-Ortega et al. konnten zeigen, dass das Zentrosomen Protein AKNA über die Organisation der Mikrotubuli eine entscheidende Rolle bei der Neurogenese spielt. Durch diesen Mechanismus reguliert AKNA den Epithel-zu-Mesenchym-Übergang, der für die Migration von Zellen entscheidend ist. Da AKNA diesen Prozess auch in anderen Epithelzellen reguliert, kann dies eine allgemeine Bedeutung für die Kontrolle der Aktivierung von Zellmigration haben (Camargo Ortega et al., 2019). Es wurde auch gezeigt, dass die adulte Neurogenese durch symmetrische Selbsterneuerung und Differenzierung aufrechterhalten wird (Obernier et al., 2018; Corsini und Knoblich, 2018). Daten aus der Einzelzellanalyse konnten ebenfalls zur Untersuchung der adulten Neurogenese herangezogen werden und illustrieren die Leistungsfähigkeit der Einzelzell-RNA-Sequenzierung zur Charakterisierung von neuronalen Zelltypen und zur Aufklärung von Veränderungen in Zellen, die zum Verlust ihrer Funktionalität führen (Zywitzka et al., 2018).

Zur direkten Umprogrammierung, eine Methode, die bereits im vorherigen Erfahrungsbericht beschrieben wurde, sind weitere wichtige Studien publiziert worden. Thier et al. berichten über die direkte Umprogrammierung von Mausfibroblasten in induzierte neurale Stammzellen, die sich zu differenzierten neuronalen Zelltypen weiterentwickeln können. Nach erfolgreicher Umprogrammierung sind die externen Faktoren, die zur Umprogrammierung geführt haben, überflüssig und werden abgeschaltet (Thier et al., 2019). Sheng et al. konnten zeigen, dass induzierte neurale Stammzellen aus adulten Blutzellen für die Modellierung der pathologischen Proteinaggregation und für die Transplantation von neuronalen Zellen verwendet werden können. Die Umwandlung von Blut in neurale Stammzellen eröffnet einen schnellen alternativen Weg sowohl für die Krankheitsmodellierung als auch für die Untersuchung der Neuroregeneration. Im Gegensatz zu bisherigen Beobachtungen zur direkten Umprogrammierung von Hautfibroblasten in induzierte Neurone (iN) durchlaufen diese Zellen eine epigenetische Verjüngung (Sheng et al., 2018). Insgesamt bleibt festzustellen, dass die gezielte Programmierung von Zellschicksalen mit

Hilfe überexprimierter Transkriptionsfaktoren vermehrt für die Umwandlung somatischer Zellen und die kontrollierte Differenzierung pluripotenter Stammzellen eingesetzt wird (zusammengefasst in Flitsch et al., 2019, 2020).

Zur Modellierung von neurodegenerativen Erkrankungen sind einige Studien im Berichtszeitraum erschienen. Es wurde hierzu eine 3D-Kulturmethode entwickelt, welche die proliferative und neurogene Kapazität menschlicher neuraler Stammzellen fördert. Durch die Verwendung des Systems zur Modellierung der Alzheimer-Krankheit wurde das Wechselspiel von Kynurensäure, einem Metaboliten der Aminosäure L-Tryptophan, und IL-4 aufgedeckt, dass auch bei Alzheimer-Mäusen und menschlichen Gehirnen beobachtet wird (Papadimitriou et al., 2018). Sommer et al. konnten wiederum nachweisen, dass eine spezifische Immunantwort von Interleukin 17 produzierenden T-Lymphozyten (Th17-Lymphozyten) eine entscheidende Rolle bei der spontanen Form der Parkinson-Krankheit spielt (Sommer et al., 2018).

Zur Herstellung von zerebralen Organoiden ist eine umfassende Bestandsaufnahme schon im vorhergehenden Bericht erstellt worden (zusammengefasst in Kim et al., 2020; Tanaka und Park, 2020). Wesentliche Diskussionen in der Berichtszeit werfen die Frage auf, inwieweit diese dreidimensionalen Zellklumpen und körperlose Gehirne empfindungsfähig sein könnten und wie beurteilt werden könnte, ob sie es sind (Reardon, 2020). Autoren unter der Leitung von Alysson Muotri haben die elektrische Aktivität in Hirnorganoiden über einen Zeitraum von zehn Monaten aufgezeichnet. Diese neue Studie zeigt, dass die Zellzusammensetzung der Organoiden - und damit die elektrische Aktivität der Neuronen – mit der Zeit komplexer wurde (Trujillo et al., 2019).

2.7.2.3 Stammzellen der Retina

Für die Translation von Ansätzen bei Erkrankungen der Netzhaut spielen stammzellbasierte Ansätze eine wichtige Rolle. In einer präklinischen Studie mit blinden Mäusen konnte gezeigt werden, dass eine strukturelle und funktionelle Netzhautreparatur durch die Kombination von Stammzelltherapie und Optogenetik (Steuerung der Genexpression durch Lichtsignale) möglich ist (Garita-Hernandez et al., 2019).

2.7.3 Mesodermale Stammzellen, Gewebe und Organoiden

Das Mesoderm bildet die „Mittelschicht“ im sich entwickelnden Embryo. Aus ihr entstehen beispielsweise Muskelzellen, Herzmuskelzellen, Nierenzellen, Zellen des Blutsystems und Osteoblasten. Eine kürzlich publizierte Studie zeigt nun Kontrollmechanismen im frühen Embryo, die die Differenzierung von Zellen des Mesoderms regulieren. Die De-novo-DNA-Methylierung erleichtert die Stabilisierung zellulärer Identitäten während der Embryogenese, während Loci, die Regulatoren von Entscheidungen über das Schicksal von Entwicklungszellen kodieren, hypomethyliert bleiben. Frank et al. haben eine lange, nicht kodierende RNA, *yylnct*, identifiziert, die die Methylierung des Genlocus des mesodermspezifischen Transkriptionsfaktors *BRACHYURY* reguliert und in Locus vor anormaler DNA-Methylierung schützt (Frank et al., 2019).

2.7.3.1 Muskel

Die Skelettmuskulatur hat ihre eigenen adulten Stammzellen, die so genannten Satellitenzellen. Einige Forschungsprojekte beschäftigen sich mit der Aktivierung von Stammzellen in der normalen Homöostase von Muskeln und nach Verletzungen (zusammengefasst in van Velthoven und Rando, 2019; Baghdadi und Tajbakhsh, 2018). Der Transkriptionsfaktor *GLIS1* wird bei der Muskelregeneration durch Satellitenzellen abgeschaltet und gleichzeitig wird ein muskelspezifisches Transkriptionsprogramm, das vom Faktor *LSD1* abhängig ist, für eine physiologische Muskelregeneration aktiviert (Tosic et al., 2018). Ein Bericht beschreibt eine regulatorische Wirkkette, die aus der MikroRNA *miR-1/133a*, miRNAs des *Dlk1-Dio3*-Genclusters und dem Transkriptionsfaktor *MEF2A* besteht. Dieses Regulationssystem ist für die normale mitochondriale Morphologie und deren Funktion in der Skelettmuskulatur entscheidend. Eine Inaktivierung dieses Systems verhindert die Aktivierung einer effizienten mitochondrialen Atmung nach der Muskelstammzellendifferenzierung und bei andauernder Muskelaktivität (Wüst et al., 2018). Eine weitere Studie beschreibt eine *NOTCH-COLV*-Calcitonin-Rezeptor-Signalkaskade, die Satellitenzellen zellautonom in einem ruhenden Zustand hält, und die Möglichkeit aufwirft, dass in verschiedenen Stammzellpopulationen ähnliche reziproke Mechanismen wirken (Baghdadi et al., 2018).

Bei der Induktion der Tumorentwicklung in Muskelstammzellen ist die Rolle der onkogenen Amplifikation zygotischer Dux-Transkriptionsfaktoren in *p53*-defizienten Muskelstammzellen gezeigt worden. Diese Ergebnisse belegen, wie Regeneration und genomische Instabilität interagieren können, um zygotische Gene zu aktivieren, die die Tumorentstehung und das Tumorentstehen antreiben. Die Regeneration *p53*-defizienter Muskelstammzellen definiert einen molekularen Krebs-Subtyp (Preussner et al., 2018; kommentiert in Preussner et al., 2019).

2.7.3.2 Herz

Die Entwicklung von Herzmuskelzellen wird für die zukünftige Behandlung von Herzerkrankung eine entscheidende Rolle spielen. Das Verständnis der grundlegenden Prozesse der Entwicklung von Herzmuskelzellen aus pluripotenten Stammzellen ist hierbei von großer Bedeutung. In der frühen Phase der kardialen Differenzierung humaner pluripotenter Stammzellen ist die Aktivierung der Transkriptionsfaktors EOMES von entscheidender Bedeutung (Pfeiffer et al., 2018). Einzelzellanalysen haben gezeigt, dass die Differenzierungsschritte von kardialen Vorläuferzellen mit der Funktion von ISL1 und NKX2-5 bei unterschiedlichen offenen Chromatinzuständen assoziiert sind. Diese Daten liefern ein Modell der transkriptionellen und epigenetischen Regulationen während der Entscheidung über die Differenzierungsschritte kardialer Vorläuferzellen (Jia et al., 2018). Weitere Studien berichten über eine neue Strategie zur Erzeugung von Herzgewebe aus Kardiomyozyten, abgeleitet von hPS-Zellen, die einen Reifegrad erreichen, der der Struktur und Funktion des menschlichen Herzmuskels bei Erwachsenen nahekommt (Ronaldson-Bouchard et al., 2018; kommentiert in Maxwell und Xu, 2018). Beim Upscaling des Prozesses der kardialen Differenzierung auf hPS-Zellen in der Suspensionskultur spielt die Regulation des WNT Signalweges und die Funktion der Rezeptoren ROR1/CD13 als Marker auf der Zelloberfläche eine entscheidende Rolle (Halloin et al., 2019).

2.7.3.3 Knochen

Auch im menschlichen Knochen konnten nun authentische Stammzellen identifiziert werden. Humane Knochenstammzellen zeigen lokal eine Aktivierung als Reaktion auf eine akute Knochenverletzung. Der Vergleich der Genexpression und der epigenetischen Daten von Skelettstammzellen der Maus und des Menschen zeigt evolutionär konservierte Funktionen, aber auch divergierende Prozesse (Chan et al., 2018). Die Knochendehnung erfordert den Erhalt einer Wachstumsplatte aus Knorpel. Zwei Studien haben jetzt Stammzellen identifiziert, die spezifisch für diese Struktur sind und sowohl Knorpelzellen als auch Knochenmarkstammzellen hervorbringen (zusammengefasst in Wuelling und Vortkamp, 2019). Skelettstammzellen regulieren das Knochenwachstum und die Homöostase, indem sie verschiedene Zelltypen erzeugen, darunter Knorpelzellen (Chondrozyten), Osteoblasten und Stromazellen des Knochenmarks. Neue Ergebnisse identifizieren einen Typ somatischer Stammzellen, der anfänglich unipotent ist und im post-mitotischen Stadium Multipotenz erwirbt, was die formbare Natur der Skelettzelllinie und die Generierung aus verschiedenen Zelltypen unterstreicht. Dieses System bietet ein Modell, in dem funktionell Stammzellen und ihre Nischen postnatal spezifiziert und während des gesamten Gewebewachstums durch ein präzises Rückkopplungsregulationssystem aufrechterhalten werden (Mizuhashi et al., 2018). Ergebnisse einer zweiten Studie deuten darauf hin, dass sich postnatal in der epiphysären Wachstumsplatte eine Stammzellnische entwickelt, die eine kontinuierliche Versorgung mit Knorpelzellen (Chondrozyten) über einen längeren Zeitraum gewährleistet (Newton et al., 2019). Die Knochenstruktur wird durch die Balance zwischen zwei Zelltypen im adulten System aufrechterhalten. Osteoblasten bilden die Knochenstruktur, während diese von Osteoklasten umgebaut wird, sodass eine Knochenmarkshöhle entstehen kann. Die Osteoklasten, große Fresszellen mit vielen Zellkernen, kommen aus dem blutbildenden System (siehe Abschnitt 2.7.3.4). Die Arbeitsgruppe um Claudia Waskow (Leibniz Institut für Altersforschung, Jena) konnte vor Kurzem in Zusammenarbeit mit Frederic Geissmann (Sloan Kettering Institute, New York) zeigen, dass Osteoklasten embryonalen Ursprungs sind und ihre lebenslange Regeneration durch die Fusion mit monozytären Zellen des adulten blutbildenden Systems gewährleistet wird. Diese wegweisenden Daten legen Strategien zur Rettung des Osteoklastenmangels bei Osteoporose und zur Modulation der Osteoklastenaktivität in vivo nahe (Jacome-Galarza et al., 2019).

2.7.3.4 Blutsystem und hämatopoetische Stammzellen

Die Blutstammzelle oder hämatopoetische Stammzelle (HS-Zelle) ist die „klassische“ Stammzelle, die historisch die erste beschriebene und identifizierte Stammzellpopulation darstellt. Es sind auch solche Zelltypen, die bereits seit Jahrzehnten in der klinischen Anwendung sind. Täglich werden Patienten entweder autologe körpereigene oder allogene, von Spendern gewonnene HS-Zellen transplantiert. Die Forschung an HS-Zellen ist sehr intensiv und die bei weitem meisten Publikationen werden in diesem Feld publiziert. Es kann daher hier nur ein kleiner Ausschnitt der Literatur zu HS-Zellen betrachtet werden. HS-Zellen erneuern sich selbst, differenzieren lebenslang in alle Blutlinien und können nach der Transplantation geschädigte Blutssysteme reparieren (zusammengefasst in Haas et al., 2018). Eine publizierte Studie legt nahe, dass die Abstammungslinien der HS-Zellen in der normalen Hämatopoese grundlegend überarbeitet werden sollten und hebt die einzigartigen Eigenschaften von multipotenten Vorläufern und hämatopoetischen Stammzellen hervor (Rodriguez-Fraticelli et al., 2018). Es wird vermutet, dass die asymmetrische Zellteilung, d. h. dass zwei unterschiedliche Tochterzellen generiert werden,

die Differenzierung in verschiedene Zellpopulation aus einer Stammzelle reguliert. In einer wegweisenden Publikation konnte nun gezeigt werden, dass die zellulären Organellen, die für den Abbau von Biomolekülen zuständig sind - darunter Lysosomen, Autophagosomen, Mitophagosomen und das Protein NUMB – zumindest in vitro asymmetrisch an die Tochterzellen weitergegeben werden und die weitere Differenzierung der Tochterzellen in unterschiedliche Zellschicksale bestimmen (Loeffler et al., 2019). In einer weiteren Arbeit wurde ein Panel, OMIP-059, von Oberflächenmarkern für HS-Zellen und differenzierten Blutzellen erstellt, der es erlaubt, alle wichtigen Populationen des hämatopoetischen Systems der Maus mit hoher Auflösung zu diskriminieren und zu quantifizieren. Um das Anwendungsspektrum zu erweitern, wurden zusätzliche Analysen des internen Reporter-GFP sowie der genetischen Allele CD45.1 und CD45.2 in den Panel aufgenommen, um diese Zellen in einer Transplantationssituation zu untersuchen – die einzige Möglichkeit um das Potential der Tochterzellen einschätzen zu können (Eich et al., 2019).

Die Nutzung natürlich vorkommender Mutationen zur Darstellung der klonalen Architektur eines Organs ermöglicht die hochauflösende Rekonstruktion der somatischen Zelldynamik beim Menschen (Lee-Six et al., 2018). Die Anzahl blutbildender Stammzellen steigt bis in die Adoleszenz und bleibt danach stabil. In gealterten hämatopoetischen Stammzellen akkumulieren epigenetische Änderungen, die zu veränderten Transkriptionsprofilen führen und die veränderte Funktion von T- und B-Zellen, die aus diesen gealterten Stammzellen abgeleitet wurden, bestimmen. Dies führt zu einem alterungsassoziierten Umbau des Immunsystems und der Immunantwort (Leins et al., 2018). Epigenetische Markierungen sind aber auch essentiell für die Regulierung der Blutbildung in jungen Mäusen. Das Team um Claudia Waskow konnte zeigen, dass der epigenetische Faktor *Setd1a* notwendig ist, um die Integrität des Genoms während der Blutbildung zu erhalten (Arndt et al., 2018) – in rasch teilenden Zellen würden sich sonst vermehrt Mutationen ansammeln, die zu Leukämien führen können. Mit diesen Daten wurde erstmalig die Verbindung zwischen epigenetischer Histonmodifikation und Genomintegrität im blutbildenden System gezeigt (kommentiert in Beerman, 2018). Die Cholesterinbiosynthese ist untrennbar mit der Regulation der Hämatopoese verbunden und Fette fördern die Entstehung von HS-Zellen. Dies scheint zur Interaktion zwischen Hämatopoese und Herz-Kreislauf-Erkrankungen beizutragen (zusammengefasst in Rajan und Berman, 2019). Studien skizzieren einen Mechanismus der vom ApoA-I-Bindungsprotein, das einen Cholesterin-Efflux induziert, reguliert wird und die Entstehung von HS-Zellen und Vorläuferzellen in der Entwicklung und die Expansion der Zellen bei Herz-Kreislauf-Erkrankungen auslöst (Gu et al., 2019). Somatische Mutationen in hämatopoetischen Zellen, welche die epigenetische Regulation betreffen, insbesondere in den Genen für TET2 und DNMT3A, tragen zur klonalen Expansion von hämatopoetischen Stammzellen bei und sind mit der Progression und der schlechten Prognose bei chronisch ischämischer Herzinsuffizienz assoziiert (Dorsheimer et al., 2019).

Die Genom-Editierung in HS-Zellen ist eine wichtige Technologie, um mutierte Gene in Zellklonen vor einer autologen Transplantation zu reparieren. Das nicht homologe Editieren am Enhancer des *BCL11A* Gens auf der Basis der ‚End-joining‘-Reparatur, das zu einer vollständigen Abschaltung des Allels führt, ist eine praktikable therapeutische Strategie zur Erzeugung einer dauerhaften Induktion des fötalen Hämoglobins und somit zu einer therapeutischen Option für die Behandlung der Sichelzellanämie und der β -Thalassämie (Wu et al., 2019). Eines der Hauptprobleme der Blutstammzelltransplantation ist die geringe Anzahl der zur Verfügung stehenden Spenderzellen. Zur Optimierung der Transplantation von HS-Zellen, und um die fast unbegrenzte Anzahl an potentiellen Spenderzellen aus dem Nabelschnurblut nutzen zu können, sind weitere Experimente in der Maus durchgeführt worden. Mit einem neu entwickelten System wachsen HS-Zellkulturen, die nur wenige Zellen (ca. 50) umfassen, in Empfänger-mäusen robust und reproduzierbar an, ohne dass eine toxische Vorkonditionierung (z. B. Bestrahlung) erforderlich wäre. Dieses hochgradig effektive Transplantationssystem kann auch für die optimierte HS-Zelltransplantation bei Menschen relevant sein und diese Ergebnisse haben daher äußerst wichtige Implikationen sowohl für die Grundlagenforschung mit HS-Zellen als auch für die klinische Hämatologie (Wilkinson et al., 2019).

Mit zunehmendem Alter wird die menschliche Hämatopoese durch Blutzellklone mit erworbenen Mutationen beeinträchtigt, was zur klonalen Hämatopoese führt. Ortman et al. zeigen, dass durch autologe Stammzelltransplantation und zytotoxische Therapie verursachter hämatopoetischer Stress sowohl die Größe als auch die Anzahl der mutierten Klone bei Myelom- und Lymphom-Patienten fördert. (Ortman et al., 2019). Bei Patienten mit akuter myeloischer Leukämie (AML) entsteht nach der Therapie oft eine signifikante Abnahme der Krebszellen; viele sterben dann aber anschließend an einem Rückfall, der durch chemotherapieresistente leukämische Stammzellen ausgelöst wird. Es wurde gezeigt, dass die Verwendung von Inhibitoren von PARP1 (poly-ADP-ribose polymerase 1) über die Aktivierung von natürlichen Killerzellen (NK-Zellen) eine gezielte Bekämpfung therapieresistenter leukämischer Stammzellen erlaubt (Paczulla et al., 2019). Eine weitere Studie beschreibt die Rolle des Homeobox-Transkriptionsfaktors, HLX, bei der Regulierung des Stoffwechselzustands hämatopoetischer Zellen und der Induktion von AML (Piragyte et al., 2018). Der Transkriptionsfaktor MYC ist essenziell für die

Regulation von hämatopoetischen Stammzellen und Vorläuferzellen und hat eine kritische Funktion bei hämatopoetischen Malignomen. Es konnte nun gezeigt werden, dass eine evolutionär konservierte „Super-Enhancer“ Region, die sich im Genom 1,7 Megabasen oberhalb des MYC-Gens befindet, für die Regulation der MYC-Expressionsniveaus sowohl in normalen hämatopoetischen als auch in leukämischen Stammzellhierarchien in Mäusen und Menschen essentiell ist (Bahr et al., 2018). Milanovic et al. zeigten Daten, wonach eine Seneszenz, eine alterungsassoziierte Aktivierung des Stammzellpotenzials von B-Zell-Lymphomen, ein unerwartetes, zellautonomes Merkmal ist, das ein schädliches, hoch aggressives Wachstumspotenzial auslöst, wenn es der Zellzyklusblockade entkommt und sich bei einem Rückfall des Tumors anreichert. Diese Erkenntnisse haben tiefgreifende Auswirkungen auf die Krebstherapie und liefern neue mechanistische Erkenntnisse zur Plastizität von Krebszellen (Milanovic et al., 2018). Der Faktor SCRIBBLE, der als Gerüstprotein andere Proteine in einen Komplex zusammenbringen kann, spielt für die Fähigkeit der Selbsterneuerung und der Proliferation von Leukämie-Stammzellen eine entscheidende Rolle. Scribble ist ein Regulator adulter HS-Zellen, der für die Aufrechterhaltung der Funktion der Stammzellen in Phasen von Zellstress unerlässlich ist (Mohr et al., 2018).

Das humane Immundefizienz-Virus 1 (HIV-1) infiziert spezifisch T4-Lymphozyten über einen Mechanismus, der den CD4 Rezeptor der T4-Zellen und einen Co-Rezeptor CCR5, einen Zytokin-Rezeptor, benötigt. Eine Mutation im CCR5 Rezeptor scheint, wie bereits oben beschrieben, die Infektion des HIV-1 zu verhindern und die Träger resistent zu machen, wenn die Mutation homozygot also auf beiden Chromosomen vorliegt. Diese Zusammenhänge wurden beim so genannten „Berlin Patient“ genutzt. Der Patient hatte eine HIV-1 Infektion und gleichzeitig auch eine Leukämie (AML), die eine Stammzelltransplantation notwendig machte. Es wurde nun ein Spender gesucht, der ein immunologischen Match darstellte und eine Mutation im CCR5 Gene auswies, womit also die Resistenz gegenüber dem Virus mit übertragen wurde (Hütter et al., 2009). Der Patient hatte nach der Transplantation 2008 bis zu seinem Tod im Jahr 2020 keinen nachweisbaren HIV-1 in seinem Blut. Sein Tod war letztendlich durch ein erneutes Auftreten der Leukämie hervorgerufen worden. Inzwischen ist ein zweiter Patient mit HS-Zellen, die den mutierten CCR5 Rezeptor tragen, transplantiert worden. Obwohl es 18 Monate nach der Unterbrechung der Behandlung verfrüht ist, auf eine Heilung dieses Patienten zu schließen, deuten die publizierten Daten darauf hin, dass eine einzige allogene HS-Zelltransplantation mit Spenderzellen, die homozygot das mutierte CCR5 Gen tragen, ausreichen könnte, um eine HIV-1-Remission zu erreichen (Gupta et al., 2019; kommentiert in Henrich, 2019). Die zelltherapeutischen Bemühungen bei der Behandlung von HIV1-Patienten werden erschwert durch die begrenzte Verfügbarkeit von Spendern mit natürlich vorkommenden CCR5-Mutationen, die eine Resistenz verleihen. Xu et al. (2019) berichten nun über eine CRISPR-basierte Methode zur Mutation von CCR5 in hämatopoetischen Stammzellen vor der Transplantation, die einen Proof-of-Concept für die Erweiterung des Pools potenzieller Spender darstellt (Xu et al., 2019b; kommentiert in Cannon, 2019).

Einige weitere Studien beschäftigen sich spezifisch mit der Differenzierung von Makrophagen aus humanen HS-Zellen oder aus iPS-Zellen. In einer Studie wird ein Makrophagen-Krankheitsmodell für eine erhöhte Empfänglichkeit für Mykobakterien aufgrund einer genetischen Störung in der Interferon- γ (IFN γ) Signalübertragung vorgestellt (Neehus et al., 2018). Die Generierung spezifischer Immunzellen aus iPS-Zellen in skalierbaren Rührkessel-Bioreaktoren kann das Feld der Immuntherapie auf bakterielle Infektionen ausweiten und weitere innovative zellbasierte Behandlungsstrategien ermöglichen. Die bioreaktorbasierte Massenproduktion der von menschlichen iPS-Zellen abgeleiteten Makrophagen ermöglicht die Entwicklung von Immuntherapien gegen bakterielle Atemwegsinfektionen (Ackermann et al., 2018).

2.7.3.5 Niere

Die Entwicklung der Niere aus Stammzellen kann mithilfe der Organoidtechnologie untersucht werden (zusammengefasst in Gupta et al., 2020). Nierentubuloide (Organoid), die aus dem Urin eines Patienten mit Mukoviszidose gewonnen wurden, ermöglichen eine Ex-vivo-Beurteilung der Wirksamkeit von Behandlungen mit Arzneimitteln. Nierentubuloide, die auf mikrofluidischen Organ-on-a-Chip-Platten kultiviert werden, nehmen eine röhrenförmige Konformation an und weisen eine aktive (trans-)epitheliale Transportfunktion auf. Es wird gezeigt, dass Stammzellen aus der Niere und dem Urin erwachsener Menschen die Fähigkeit haben Tubuloide zu bilden, die zur personalisierten Krankheitsmodellierung genutzt werden können (Schutgens et al., 2019).

2.7.4 Andere Zelltypen

Neben den oben genannten Geweben und Stammzelltypen sind weitere adulte Stammzellen und Zelltypen anderer Gewebe aus pluripotenten Stammzellen beschrieben worden. Neuralleistenzellen bilden während der Embryonalentwicklung eine große Anzahl verschiedener Zelltypen beispielweise Melanozyten, die eine erhebliche Migration zeigen. Das Branchio-Oculo-Facial Syndrom (BOFS), eine seltene Erbkrankheit, ist auf eine Fehlfunktion

dieser Neuralleistenzellen zurückzuführen. Die Aufklärung der weitreichenden Pathomechanismen bei Zelltypen der Neuralleiste *in vivo* ist aufgrund der unterschiedlichen Empfindlichkeit der Gendosierung bei Mäusen und Menschen oft schwierig. In einer Publikation wurden nun menschliche Neuralleistenzellen, die aus patientenspezifischen hiPS-Zellen generiert wurden, mit funktioneller Genomik untersucht, um die Grundlagen des BOFS aufzuklären. Es zeigte sich, dass eine Gen-Inversion, durch die der Transkriptionsfaktor TFAP2A von seinen Genregulationselementen (Enhancern) getrennt wird, für das BOFS im Genom der Patienten verantwortlich ist (Laugsch et al., 2019).

Mit dem Ziel der Herstellung von humanen Endothelzellen wurde in einem weiteren Projekt ein robuster Ansatz für die effiziente endotheliale Differenzierung von hiPS-Zellen in skalierbarer Suspensionskultur entwickelt. Das etablierte Protokoll führt zu einer relevanten Anzahl von Endothelzellen für regenerative Ansätze und industrielle Anwendungen, die eine *In-vitro*-Proliferationskapazität und einen hohen Grad an chromosomaler Stabilität aufweisen (Olmer et al., 2018).

2.7.5 Stammzellen und Alterung

Eine Reihe von Veröffentlichungen im Berichtszeitraum beschäftigen sich mit der Alterung von Stammzellen. In diesem Zusammenhang ist die Regulation der zirkadianen Tagesrhythmen durch die so genannte zirkadiane Uhr intensiv erforscht worden. Es ist gezeigt worden, wie zirkadiane Rhythmen die Funktionen adulter Stammzellen regulieren und synchronisieren und wie Veränderungen der Uhrenfunktion während des Alterns die extrinsischen und intrinsischen Mechanismen modulieren, die die Homöostase adulter Stammzellen bestimmen (zusammengefasst in Benitah und Welz, 2020). Publierte Studien schlagen ein zweigeteiltes Modell für die tägliche Synchronisierung von Geweben vor: - einen autonomen Reaktionszweig der unabhängig vom rhythmischen Transkriptionsfaktor BMAL1 ist, bei dem Licht zirkadiane Uhren ohne Bindung anderer BMAL1-abhängiger Uhren kontrolliert; - und einen intrinsischen Reaktionsweg, der den rhythmischen Takt speichert und andere BMAL1-abhängige Uhren verwendet, um die Zeit in Abwesenheit von externen Hinweisen zu takten (Welz et al., 2019). In Leberzellen ist gezeigt worden, dass die gesamte zirkadiane Funktion in der Leber von Signalen abhängt, die von Uhren in anderen Geweben ausgehen, und dass Lichtimpulse zur gewebeautonomen Uhrenfunktion beitragen (Koronowski et al., 2019).

Die molekulare Grundlage für den Übergang von der Ruhe zur Aktivierung neuraler Stammzellen ist zu einem wichtigen Schwerpunkt in der Erforschung der adulten Neurogenese geworden. Kalamakis et al. haben kürzlich gezeigt, dass gealterte neurale Stammzellen größeren Barrieren beim Übergang von der Nische zur Ruhe ausgesetzt sind, die durch Entzündung und veränderte Wnt-Signale der Stammzellalterung ausgelöst werden (Kalamakis et al., 2019). Das Forscherteam von Carolina Florian wiederum hat funktionelle Veränderungen der gealterten Nische für hämatopoetische Stammzellen beschrieben und gezeigt, dass perisinusoidale Nischen auch im Alter erhalten bleiben und dadurch HS-Zellen vor Alterung schützen (Saçma et al., 2019).

2.7.6 Bedeutung der Stammzellnische

Eine zentrale Funktion in der Erhaltung des Zustands der Stammzellpotenz in allen Stammzellpopulationen nimmt die Stammzellnische mit speziellen Nischenzellen ein, die selbst keine Stammzellen sind. In der Erforschung von Stammzellen und ihren Differenzierungsmöglichkeiten sollte auch immer die Funktion der Nische und die Faktoren, welche die Nischenzellen an die Stammzellen abgeben, betrachtet werden (diskutiert in Villeda et al., 2019). Neue wegweisende Daten wurden für die Nische von Zellen des Haarfollikels beschrieben. Wenn die Lymphgefäße im Haarfollikel geschädigt sind oder die korrekte Sezernierung von Faktoren durch Lymphgefäße in der Nische gestört ist, zeigen die Haarfollikel einen verfrühten Reifungszyklus und die Geweberegeneration wird asynchron. Die Signale aus den Lymphgefäßen erlauben auch eine Kommunikation der Stammzellkompartimente über Gewebegrenzen hinweg (Gur-Cohen et al., 2019).

Viele Arbeiten beschäftigen sich mit der Nische für hämatopoetische Stammzellen im Knochenmark, die Stammzellnische, die bisher am besten untersucht und verstanden wurde. Eine Studie klärt die zelluläre und räumliche Organisation von Knochenmarksnischen auf und entwickelt so einen systematischen Ansatz, um die komplexe Organisation ganzer Organe zu analysieren. Eine Kombination aus Einzelzellanalyse und räumlicher Auflösung der Genexpression enthüllt die molekulare, zelluläre und räumliche Nischenorganisation des Knochenmarks (Baccin et al., 2020). Weiterhin konnte die unterschiedlichen Nischenzell-Populationen prospektiv aus Wildtyp-tieren isoliert und molekulare Interaktionsfaktoren mit HS-Zellen bestimmt werden (Mende et al., 2019). Die Untersuchung von Mechanismen der Reprogrammierung zeigte die kritische Funktion des Myozyten-Enhancerfaktors 2c (MEF2c) bei der Revitalisierung von mesenchymalen Stromazellen auf. Veröffentlichte Ergebnisse

geben einen Einblick in die transkriptionelle Regulation der Nische für hämatopoetische Stammzellen im Knochenmark und die Funktion der Revitalisierung mesenchymaler Stromazellen. Nach neuesten Erkenntnissen ist es auch zu erwarten, dass Zellen embryonalen Ursprungs einen Einfluss auf die Generation und den Erhalt blutbildender Stammzellen haben werden (Percin et al., 2018; Mariani et al., 2019). Die Ergebnisse haben Auswirkungen auf die Weiterentwicklung von stammzellbasierten Therapien (Nakahara et al., 2019).

2.7.7 Bioengineering und Anwendung von Stammzellen

Obwohl derzeit nur wenige stammzellbasierte Therapien für Patientinnen und Patienten zur Verfügung stehen, besitzen Stammzellen ein enormes regeneratives Potenzial, und es zeichnen sich klinische Anwendungen ab. Biomaterialien mit abstimmbaren mechanischen und biochemischen Eigenschaften können die Stammzellenfunktion in Kultur erhalten, das Überleben transplanteder Zellen verbessern und die Geweberegeneration steuern. Der rasche Fortschritt mit dreidimensionalen Hydrogel-Kulturplattformen bietet die Möglichkeit, patientenspezifische Organoiden zu züchten, und hat zur Entdeckung von Medikamenten geführt, die körpereigene gewebespezifische Stammzellen stimulieren und Screens für Medikamente zur Behandlung von Krankheiten ermöglichen. Daher sind die Bioengineering-Technologien auf dem besten Weg, die derzeitigen Engpässe zu überwinden und den Bereich der regenerativen Medizin zu revolutionieren (zusammengefasst in Madl et al., 2018). Dabei spielen auch aktuell an der Schnittstelle zwischen Stammzellforschung und Ingenieurwissenschaften entwickelte automatisierte Verfahren z. B. für die Zellreprogrammierung eine zunehmende Rolle (Elanzew et al., 2020). Neue Experimente zeigen, dass die inhärente Fähigkeit von Stammzellen zur Selbstorganisation durch den Einsatz künstlich hergestellter und kontrollierter Signalzentren von außen gesteuert werden kann (Manfrin et al., 2019). Eine Zusammenfassung beschreibt, wie technische Anstrengungen zur Steuerung stammzellbasierter Entwicklungen in mehreren Stadien die Grundlage für den Aufbau hochkomplexer und rational gestalteter selbstorganisierender multizellulärer Systeme mit erhöhter Robustheit und physiologischer Relevanz bilden können (zusammengefasst in Brassard und Lutolf, 2019). Der Aufbau komplexer Gewebe erfordert die Entwicklung innovativer interdisziplinärer technischer Lösungen. In einem Forumsartikel erörtern die Autorinnen und Autoren experimentelle Überlegungen und Herausforderungen für die Erzeugung eines gewebetchnischen Darms zur Behandlung des Kurzdarmsyndroms unter Berücksichtigung der Zellquelle, der Wahl des Gerüsts und der Designstrategie für den ordnungsgemäßen Aufbau und die Funktion (Clevers et al., 2019).

2.8 Stammzellen zu Erforschung von Infektionskrankheiten: COVID-19

Aufgrund der aktuellen Situation der COVID-19-Pandemie wird hier kurz erläutert, welche Möglichkeiten stammzellbasierte Anwendungen bieten können, insbesondere im Hinblick darauf, welche Erkenntnisse sich im Berichtszeitraum für die Zukunft andeuten. Die Gemeinde der Stammzellforscherinnen und Stammzellforscher stellt sich die Frage, ob und wie stammzellbasierte Ansätze zum besseren Verständnis der Mechanismen der Infektion von SARS-CoV-2 und/oder zur Behandlung von COVID-19 beitragen können. Insbesondere an Organoiden unterschiedlicher Gewebe kann schnell getestet werden, ob sie für eine Infektion mit SARS-CoV-2 empfänglich sind (Chari et al., 2020). Huang et al. zeigen, dass menschliche von iPS-Zellen abgeleitete alveoläre Typ-2-Zellen (iAT2s) der Lunge zur Modellierung von COVID-19 verwendet werden können. Es wird gezeigt, dass iAT2s in Luft-Flüssigkeits-Grenzflächenkulturen für eine SARS-CoV-2-Infektion permissiv sind, und dass SARS-CoV-2 einen schnellen Entzündungsphänotyp induziert, der durch Signale des NF- κ B-Signalweges dominiert wird (Huang et al., 2020). SARS-CoV-2 verursacht bei einem signifikanten Teil der Patienten mit COVID-19 neurologische Symptome. In einer Publikation wurde der SARS-CoV-2-Neurotropismus unter Verwendung von kultivierten neuronalen Zellen und Hirnorganoiden, die aus menschlichen pluripotenten Stammzellen erzeugt wurden, getestet. Die Ergebnisse zeigten nur eine minimale Neuronen- und Astrozyteninfektion, aber eine signifikante Infektion des Plexus choroideus, die zum Zelltod und zu Funktionsdefiziten führt (Jacob et al., 2020). Eine weitere Studie zeigt, dass von hPS-Zellen abgeleitete Zellen und Organoiden exzellente Modelle zur Untersuchung des SARS-CoV-2-Tropismus und zur Modellierung von COVID-19 liefern. Es wurde beschrieben, dass von hPS-Zellen abgeleitete endokrine Pankreaszellen und humane adulte Hepatozyten- und Cholangiozyten-Organoide für eine SARS-CoV-2-Infektion permissiv sind (Yang et al., 2020). Ein Übersichtsartikel fasst die Ansätze für die Verwendung von Organoiden zum Verständnis der COVID-19 Erkrankung zusammen (Clevers, 2020).

In jüngster Zeit wurden zahlreiche klinische Studien mit mesenchymalen Stroma-/Stammzellen (MS-Zellen) als neue Behandlung der durch Coronaviren induzierten Krankheit COVID-19 registriert; die meisten davon führen eine intravenöse Infusion mit MS-Zellen durch. MS-Zelltherapien haben im Zusammenhang mit der Behandlung von COVID-19 erste vielversprechende Ergebnisse bei der Behandlung von Lungenentzündung, anderen Entzündungen und Sepsis des akuten Atemnotsyndroms gezeigt, die zu den häufigsten Todesursachen bei COVID-19-

Patienten gehören (zusammengefasst in Moll et al., 2020). Allerdings gibt es auch kritische Stimmen, die eindringlich vor einem verfrühten Einsatz von MS-Zellen bei COVID-19 warnen und auf die korrekte Durchführung von klinischen Studien mit einem positiven Effekt der Behandlung warten, bevor eine Therapie diskutiert werden kann, die auf MS-Zellbehandlung basiert (zusammengefasst in Turner, 2020).

2.9 Neue Entwicklung von Therapien mit Stammzellen

Die diversen Ansätze zu stammzellbasierten Therapien sind im 8. Erfahrungsbericht eingehend dargestellt worden. In diesem wird ein Überblick über die Fortschritte in der Stammzellforschung gegeben, und es werden die Zelltypen beschrieben, die gegenwärtig in der Klinik eingesetzt werden oder kurz vor klinischen Studien stehen. Weiterhin werden die wissenschaftliche Begründung, experimentelle Ansätze, Vorbehalte und Ergebnisse analysiert, die der klinischen Verwendung solcher Stammzellen zugrunde liegen (zusammengefasst in De Luca et al., 2019; Desgres und Menasché, 2019; Stevens und Murry, 2018). Seit 2019 existiert eine europäische Initiative, das RESTORE Projekt (Volk et al., 2020), die von der Europäischen Kommission im Rahmenprogramm Horizon 2020 gefördert wurde. Die Initiative hat es sich zur Aufgabe gemacht, ein nachhaltiges europäisches Forschungsnetzwerk zu schaffen, das die transdisziplinäre Forschung, klinische Zentren, Pharma und Biotech integriert und es der technologieproduzierenden Industrie, den Regulierungsbehörden, den Patientinnen und Patienten und der Öffentlichkeit ermöglicht, technologische und regulatorische Hindernisse in Europa zu überwinden, um die breite Einführung von Arzneimitteln für neuartige Therapien (Advanced Therapy Medicinal Products, ATMPs) mit weitreichenden Auswirkungen auf Patientinnen und Patienten und Gesellschaft zu ermöglichen. Die Einführung neuartiger Therapien schließt ausdrücklich die Anwendung stammzellbasierter Ansätze ein (Volk et al., 2020). Weiterhin wurde mit Hilfe der Plattform des Registers humaner pluripotenter Stammzellen (<https://hpscereg.eu>) eine öffentlich zugängliche Datenbank geschaffen, die einen ständig aktualisierten, umfassenden Überblick über weltweit durchgeführte, auf hPS-Zellen basierte klinische Studien bietet (Kobold et al., 2020).

2.9.1 Entwicklung von Therapien mit embryonalen und induzierten pluripotenten Stammzellen

Humane pluripotente Stammzellen wie embryonale Stammzellen (ESCs) und induzierte pluripotente Stammzellen (iPSCs) bieten beispiellose Möglichkeiten für Zelltherapien gegen bisher nicht adäquat behandelbare Krankheiten und Verletzungen. Sowohl ESCs als auch iPSCs werden bereits in einer Reihe von klinischen Studien eingesetzt. Dies betrifft zum einen in vitro differenzierte Retinalpigmentepithelzellen (RPE-Zellen), die für die Behandlung der altersbedingten Makuladegeneration eingesetzt werden. Neuere Entwicklungen gehen dahin, die Zellen nicht als Suspension, sondern in Form eines „Patches“ zu transplantieren (da Cruz et al., 2018). Zum anderen erreichen die seit Jahren vorbereiteten Studien zur Transplantation dopaminergener Neurone in Parkinsonpatienten nunmehr die klinische Phase (zusammengefasst in Barker et al., 2017; Parmar et al., 2020); eine erste klinische Studie zur Transplantation iPS-Zell-abgeleiteter dopaminergener Neurone wurde aus Japan berichtet (Cyranoski, 2018).

Es gibt jedoch nach wie vor praktische Herausforderungen, die mit der klinischen Verwendung pluripotenter Stammzellen verbunden sind. Dazu zählen potentielle Tumorigenität, Immunogenität und Heterogenität. Ein Übersichtsartikel gibt einen Rückblick auf zwei Jahrzehnte Forschung zur Überwindung dieser drei Schwierigkeiten (Yamanaka, 2020). Weiterhin wurde gezeigt, dass autologe iPS-Zellen und daraus abgeleitete Zelltypen für eine autologe Transplantation aufgrund von Mutationen in der mitochondrialen DNA (mtDNA) nicht von Natur aus immunologisch inert sind. Diese Ergebnisse legen nahe, dass von iPS-Zellen abgeleitete Produkte auf mtDNA-Mutationen untersucht werden sollten (Deuse et al., 2019).

Die In-vitro-Induktion von Hornhautepithelzellen aus hiPS-Zellen stellt eine neue Strategie zur Gewinnung von Zelltypen für die chirurgische Rekonstruktion einer erkrankten oder verletzten Augenoberfläche dar. Das Zelloberflächenmolekül CD200 stellt einen robusten negativen Marker für die Reinigung von Zellen der induzierten Hornhautepithelzellen dar, der von undifferenzierten iPS-Zellen und anderen Zelltypen, einschließlich der von iPS-Zellen abgeleiteten neuralen und retinalen Zellen, exprimiert wird. Somit können über eine CD200-negative Sortierung aufgereinigte Hornhautepithelzellen isoliert werden (Hayashi et al., 2018). Neue Ergebnisse deuten auf eine potenziell vielversprechende Rolle von Selbstmordgenen wie beispielsweise das Thymidinkinase Gen des Herpes simplex Virus Typ 1 (HSVtk) bei der Bekämpfung der Tumorentstehung während der Stammzelltherapie hin. Ein publiziertes System ermöglicht sowohl die Prävention als auch die Behandlung der Tumorigenese nach einer Transplantation mit von hiPS-Zellen abgeleiteten neuralen Stammzellen und Vorläufer-Zellen in immundefiziente Mäuse, ohne die verbesserte motorische Funktion aufgrund der neuralen Zellen zu beeinträchtigen

(Kojima et al., 2019). Ein weiterer Weg, um ungewollte tumorigene undifferenzierte iP-S-Zellen bei Zelltransplantationen auszuschließen, wurde 2018 publiziert. Es wurde gezeigt, dass eine In-vitro-Behandlung mit Brentuximab-Vedotin, ein Reagenz, das auf die CD30-positive iP-S-Zellfraktion abzielt und Apoptose in diesen Zellen auslöst, die Tumorigenität bei menschlichen von iP-S-Zellen abgeleiteten Kardiomyozyten verringert und möglicherweise die Sicherheit der auf iP-S-Zellen basierten Therapie zur Kardiomyogenese und anderen Ansätzen in klinischen Szenarien erhöht (Sougawa et al., 2018; zusammengefasst in Sato et al., 2019).

Mit den Möglichkeiten pluripotenter Stammzellen in Kombination mit CRISPR/Cas9 und anderen Technologien zur Gen-Editierung, hat der Wettlauf um die Schaffung von Spenderzellen „von der Stange“, die für das Immunsystem unsichtbar sind („universelle Spenderzellen“), begonnen. Verschiedene akademische Gruppen sowie Biotechnologie- und Pharmaunternehmen stehen kurz davor, diese Therapien in die Klinik zu bringen (Lanza et al., 2019). Es wurde diskutiert, dass 12 Linien von iP-S-Zellen, die eine gezielte Mutation in den HLA-A und -B Allelen haben und diese nicht exprimieren, in Kombination mit HLA-Klasse-II-Knockout mit >90 Prozent der Weltbevölkerung immunologisch kompatibel sind, Anwendungen von auf iP-S-Zellen basierter regenerativer Medizin erheblich erleichtert. Die gezielte Unterbrechung der HLA-Gene durch CRISPR/Cas9 erzeugt iPSCs mit verbesserter Immunkompatibilität (Xu et al., 2019a). Die Verwendung von CRISPR/Cas9-Ansätzen in Zellen für die Transplantation ist Gegenstand der aktuellen Forschung. In Analysen wurden beispielsweise Läsionen im Gen distal zur Schnittstelle und auch Crossover-Ereignisse identifiziert. Die beobachteten genomischen Schäden in mitotisch aktiven Zellen, die durch das CRISPR/Cas9-Editing verursacht werden, könnten pathogene Folgen haben (Kosicki et al., 2018).

In anderen Studien wird aufgezeigt, wie präklinische Validierungen in Tiermodellen von Nagetieren und dem Schwein wichtige Beiträge zur Entwicklung von neuen translationalen Ansätzen liefern können. Von iP-S-Zellen abgeleitete retinale Pigmentepithel-Pflaster zur Behandlung der Makuladegeneration können in präklinischen Studien in vivo getestet werden. Diese Modelle sind für die Evaluierung und Optimierung der iP-S-Zellen basierten Therapien entscheidend (Sharma et al., 2019a).

Mesenchymale Stromazellen (MS-Zellen) werden umfassend auf ihr Potenzial für Tissue Engineering und regenerative Medizin untersucht. Jüngste Erkenntnisse deuten jedoch auch darauf hin, dass sich die positiven Auswirkungen von MS-Zellen durch ihre freigesetzten extrazellulären Vesikel manifestieren können, die in der Regel keine Verabreichung von MS-Zellen erfordern. Diese vorwiegend aus präklinischen In-vitro- und In-vivo-Studien stammenden Erkenntnisse legen nahe, dass extrazelluläre Vesikel von MS-Zellen in vielen pathophysiologischen Zuständen substanzielle therapeutische Eigenschaften aufweisen und möglicherweise ein breites Spektrum von geschädigten oder erkrankten Geweben und Organen wiederherstellen können. Einige Übersichtsartikel zur Forschung mit extrazellulären Vesikel von MS-Zellen stellen dar, wie an extrazellulären Vesikel assoziierte Proteine Reparaturprozesse der Gewebe positiv beeinflussen und die Basis für neue klinisch relevante Therapien bilden können (zusammengefasst in Tsiapalis und O'Driscoll, 2020; Roefs et al., 2020).

2.9.2 Zellersatz bei neurologischen und neurodegenerativen Erkrankungen

Die Entwicklung von Zelltherapien für den Zellersatz bei neurologischen und neurodegenerativen Erkrankungen ist ein zentrales Forschungsfeld. Es werden Ansätze mit Zellpopulationen verfolgt, die auf verschiedenen Arten von Stammzellen basieren. Klinische Studien zur Transplantation von dopaminergen Stammzell-Neuronen in das Striatum bei Parkinson-Patientinnen und -Patienten stehen unmittelbar bevor und könnten bahnbrechende Ergebnisse zum neuralen Ersatz im menschlichen Gehirn liefern. Wie ein Kommentar allerdings hervorhebt, wird der Weg zu einer klinisch konkurrenzfähigen Behandlung dieser Multisystemerkrankung wahrscheinlich lang und kurvenreich sein (Lindvall, 2020). Die Nachrichten vom ersten Parkinson-Patienten, der 2018 in Japan mit einem Produkt basierend auf iP-S-Zellen transplantiert werden konnte, sind ermutigend. Allerdings gibt es hierzu noch keine weiteren positiven Berichte. Klinische Studien zur Parkinson-Krankheit, die für die USA und Europa angekündigt waren, konnten bisher noch nicht durchgeführt werden (Cyranoski, 2018). Vom Unternehmen BlueRock Therapeutics wurde berichtet, dass nach der Übernahme des gesamten Unternehmens durch die Bayer AG, die klinischen Versuche zur Zelltherapie bei Parkinson unmittelbar bevorstehen (Marques Lopes, 2019). Im kalifornischen San Diego ist ein weiteres Unternehmen, Aspen Biosciences, auf dem Weg, Stammzellenbehandlungen für die Parkinson-Krankheit zu entwickeln und klinische Tests für die entwickelte Therapie durchzuführen (Freeman, 2019).

In einer Veröffentlichung wird die Durchführbarkeit und Sicherheit der Transplantation neuraler Stammzellen aus dem menschlichen Rückenmark zur Behandlung chronischer Rückenmarksverletzungen diskutiert. Neueste Ergebnisse unterstützen die Sicherheit der Transplantation von adulten neuralen Stammzellen in diesem Bereich. Frühe Anzeichen einer potenziellen Wirksamkeit bei drei der Probanden rechtfertigen eine weitere Erforschung

von NSI-566-Zellen in Studien zur Etablierung der besten Dosis. Trotz ermutigender Daten muss festgestellt werden, dass es dieser Sicherheitsstudie an statistischer Aussagekraft mangelt und keine Kontrollgruppe inkludiert wurde, die zur Beurteilung funktioneller Veränderungen infolge der Zelltransplantation erforderlich wäre (Curtis et al., 2018).

2.9.3 Stammzell-basierte Behandlungen von Autoimmunerkrankungen

Die Einführung zielgerichteter biologischer Therapien hat die Behandlungsmöglichkeiten für Autoimmunerkrankheiten erheblich verbessert. Doch obwohl diese Therapien spezifischer sind, erfordern sie eine kontinuierliche Medikation und stellen selten die Organfunktion wieder her. In den letzten 25 Jahren wurde die Transplantation hämatopoetischer Stammzellen immer häufiger zur Behandlung von Patienten mit Autoimmunerkrankheiten wie beispielsweise Multiple Sklerose eingesetzt. Hier handelt es sich um Krankheiten, bei denen das Risiko-Nutzen-Verhältnis einer solchen Behandlung akzeptabel ist. Im Gegensatz zur chronischen Unterdrückung der Immunfunktion zielt dieses intensive, einmalige Verfahren darauf ab, durch die Wiederherstellung der Selbstverträglichkeit behandlungsfreie Remissionen zu erreichen. Jüngste Daten haben die Evidenzbasis zur Unterstützung der autologen hämatopoetischen Stammzelltransplantation (HSCT) bei Multipler Sklerose, systemischer Sklerose und Morbus Crohn sowie bei einer Vielzahl seltener Krankheitsbilder verbessert, und die autologe HSCT ist zu einem integralen Bestandteil der Behandlungsoptionen bei verschiedenen ADs geworden (Alexander et al., 2020).

Multiple Sklerose ist die häufigste demyelinisierende Erkrankung des Zentralnervensystems die mit entzündlichen Plaques, der Demyelinisierung der weißen Substanz, Zerstörung der Oligodendrozyten, reaktiver Gliose und axonaler Degeneration einhergeht. Eine HSCT kann bei Patienten mit einer aggressiven Form von MS wirksam sein, die auf medikamentöse Therapien nicht anspricht (Abi Chahine und Lu, 2020). In einer Studie an Patienten mit schubförmig-remittierender MS führte die HSCT im Vergleich zur medikamentösen Behandlung zu einer Verlangsamung des Krankheitsverlaufs. Weitere klinische Studien sind erforderlich, um diese Form der Behandlung von Multipler Sklerose und anderer Autoimmunerkrankheiten mit hämatopoetischen Stammzellen zu replizieren und die Sicherheit zu beurteilen (Burt et al., 2019).

2.9.4 Ethische und politische Diskussionen

Während Kaliforniens Stammzellen-Forschungsagentur (CIRM) die letzte ihrer drei Milliarden Dollar an staatlicher Finanzierung verbraucht, sind heikle Verhandlungen zwischen der CIRM-Führung und Robert Klein, der die 2020-Wahlinitiative entwickelte, im Gange, um sie am Leben zu erhalten (Servick, 2019). In einem Kommentar betrachtet Jeanne Loring die Entwicklung der CIRM und stellt fest, dass die Auflösung des Stammzellen-Instituts eine erhebliche Lücke hinterlassen würde (Loring, 2019). Das Netzwerk der Alpha-Stammzellen-Klinik (ASCC) der CIRM wurde 2015 ins Leben gerufen, um einen zwingenden ungedeckten medizinischen Bedarf an rigorosen, von der Zulassungsbehörde der USA (U.S. Food and Drug Administration FDA) regulierten, stammzellbezogenen klinischen Studien für Patientinnen und Patienten mit schwierigen, unheilbaren Krankheiten zu decken. Ein Positionspapier beschreibt die multizentrischen Erfahrungen mit aktuellen und zukünftigen Herausforderungen (Jamieson et al., 2018).

An der Harvard-Universität in Boston hat der Fall eines der größten wissenschaftlichen Betrugsfälle des letzten Jahrzehnts einen Wendepunkt erreicht. Mitte Oktober 2018 gaben Beamte der Harvard-Universität bekannt, dass sie die Rücknahme von 31 Arbeiten des Herzforschers Piero Anversa gefordert haben, der ein Labor der Harvard Medical School leitete, in dem das Potenzial von Stammzellen zur Reparatur des Herzens untersucht wurde. 2018 unterbrachen Bundesbeamte eine damit zusammenhängende klinische Studie und erklärten, dass die anhängigen Zurückziehungen wissenschaftlicher Publikationen auch Bedenken hinsichtlich der wissenschaftlichen Grundlagen dieser Studie aufgeworfen habe (Kaiser, 2018).

Zunehmend schließen sich Forscherinnen und Forscher aus den Bereichen der regenerativen und rehabilitativen Medizin zusammen, um ein neues, interdisziplinäres Feld der „regenerativen Rehabilitation“ zu schaffen. Regenerative Rehabilitation wurde definiert als „die Anwendung von Rehabilitationsprotokollen und -prinzipien zusammen mit Therapeutika der regenerativen Medizin mit dem Ziel, die funktionelle Erholung durch Geweberegeneration, -umbau oder -reparatur zu optimieren“ (Ambrosio und Rando, 2018). Zwei Männer aus China waren die ersten Menschen auf der Welt, die eine experimentelle Behandlung von Herzerkrankungen auf der Grundlage „reprogrammierter“ Stammzellen erhielten, und sie haben sich nach einem Jahr gut erholt, sagt der Herzchirurg, der die Eingriffe durchgeführt hat. Im Mai 2019 wurden den Männern Herzmuskelzellen injiziert, die aus iPSC-Zellen gewonnen wurden. Berichten zufolge geht es den Männern ein Jahr später gut, aber es gibt keine Möglichkeit zu bestätigen, dass die unveröffentlichte Behandlung mit „reprogrammierten“ Stammzellen funktioniert (Mallapaty, 2020).

Die Stammzellforschung weckt große Hoffnungen auf verbesserte Therapien. In der Zulassung gibt es international unterschiedliche Bewertungen der Qualität und Sicherheit der Therapien (Sipp et al., 2018). So warnen beispielsweise unabhängige Forscherinnen und Forscher, dass die Zulassung von Stammzellenbehandlung bei Rückenmarksverletzungen in Japan verfrüht sei (Cyranoski, 2019a) und Japan die Regenerationsmedizin zu einem regulatorischen Freibrief für alle gemacht habe. In der Konsequenz müssten Patientinnen und Patienten auf der ganzen Welt den Preis für die verfrühte Zulassung von Therapien zahlen (Cyranoski, 2019b). Die Antwort aus Japan auf diese Kritik ließ nicht lange auf sich warten. Die Kritik der internationalen Forschergemeinde werde allein mit dem Fehlen von Doppelblindstudien für diese Behandlung begründet. Bei dieser als Stemirac bezeichneten Therapie für Rückenmarksverletzungen werden Stammzellen aus dem Knochenmark des Patienten extern kultiviert und dann dem Patienten zurückgegeben. Eine Doppelblindstudie ist daher strukturell unmöglich, und die Durchführung einer Scheinoperation an einer Kontrollgruppe würde weitere ethische Bedenken aufwerfen (Miyamoto, 2019). Ähnliche Zweifel wie beim Einsatz von Knochenmarkszellen für Rückenmarksverletzungen wurden auch hinsichtlich des japanischen Programms zur Therapie für geschädigte Herzen geäußert, und der Druck auf japanische Forscherinnen und Forscher scheint zu wachsen (2018). Allerdings gilt auch in anderen Ländern, dass Regulatorien in den Zulassungsbehörden oftmals zweifelhaft sind, wenn es um die Beurteilung von neuartigen Therapien mit Stammzellen geht (Knoepfler, 2018).

Neben den unterschiedlichen Herangehensweisen bei der Zulassung von Stammzelltherapien sind allerdings auch weiterhin unterschiedliche ethische und politische Einschätzungen zu beobachten. Chinas Stammzellenforschungspolitik beispielsweise basiert auf einem kulturellen Verständnis, das menschlichen Embryonen besonderen Schutz gewährt, ihnen aber keinen gleichwertigen moralischen oder rechtlichen Status wie voll entwickelten Menschen zuweist. Ethische Erwägungen bei der Embryonenforschung und politische Entscheidungen sind allerdings ständigen Veränderungen unterworfen; und China steuert auf die Übernahme international anerkannter Regeln zu (Peng et al., 2020).

2.9.5 Ungeprüfte Stammzelltherapien

Als „ungeprüfte Stammzelltherapien“ werden kommerzielle Behandlungsangebote bezeichnet, die nicht im Rahmen klinischer Studien auf ihre Sicherheit und Wirksamkeit geprüft wurden und als Therapie keine behördliche Zulassung haben, aber dennoch zunehmend von Patientinnen und Patienten nachgefragt und auch über das Internet beworben werden. Seit 2016 kann man weltweit die Schließung vieler Regelungslücken, die solche Behandlungen ermöglichen, beobachten. Es gibt jedoch – beispielsweise in den USA 2018 erneut befeuert durch den Right-to-Try Act – weiterhin Ausnahmen. Der Right-to-Try Act bietet Rechtsschutz für Unternehmen, die nicht zugelassene Arzneimittel an unheilbar kranke Patienten liefern. Ähnliche Gesetze sind in 41 Bundesstaaten erlassen worden. Die Gesetze zum Versuchsrecht haben zu kritischen Beiträgen in den Medien geführt und wissenschaftliche Aufmerksamkeit erregt, aber es gibt nur wenige Beweise für ihre tatsächliche Anwendung. Befürworter von derartigen Gesetzen und Regelungen argumentieren in der Regel mit der Wahlfreiheit der Patienten, dem Mitgefühl für unheilbar Kranke und dem „Recht“, nicht zugelassene Medikamente zu verwenden. Diese Gesetze ermuntern jedoch auch Unternehmen, ungetestete biologische Arzneimittel an Sterbende zu verkaufen, da sie vor Behandlungsfehlern, gesetzlicher Haftung und Meldepflichten geschützt sind (Sipp et al., 2019). Nach Riva et al. ist es in einem Zeitalter der Zelltherapien notwendig, sich für die Unterstützung gefährdeter Patientinnen und Patienten einzusetzen und das Bewusstsein der Öffentlichkeit für das Machbare zu schärfen, das experimentelle Therapien von nicht erprobten Therapien unterscheidet. Es sollte kein "Right-to-try" geben, das unsicher ist, sondern zugelassene Behandlungen, die im Einklang mit guter klinischer Praxis stehen (Riva et al., 2019).

Auch im Zuge der SARS-CoV-2-Pandemie sind verstärkt ungeprüfte stammzellbasierte Therapieangebote zu verzeichnen. Sie zielen mit irreführenden Behauptungen auf potenzielle Kunden ab, setzen Patientinnen und Patienten potenziell riskanten stammzellbasierten Produkten aus und untergraben die Bemühungen, evidenzbasierte Behandlungen für COVID-19 zu entwickeln. (Turner, 2020). Zur Behandlung von bisher nicht oder nur ungenügend therapierbaren Erkrankungen gibt es auch in Europa derartige ungeprüfte Therapieangebote. Besonders problematisch ist dabei die große Anzahl angeblich durch solche Verfahren heilbarer Erkrankungen und damit potenzieller Patientinnen und Patienten. Häufig liegen keine näheren Informationen zu den verwendeten Stammzellen oder deren Derivaten, der Anwendungsmethode und der erstrebten Wirkungsweise vor (Besser et al., 2018). Zu stammzellbasierten Studien hat die International Society for Stem Cell Research - 2016 nach einem internationalen Abstimmungsprozess Richtlinien publiziert (International Society for Stem Cell Research, 2016). Einen wichtigen Beitrag zur Aufklärung von Patientinnen und Patienten im Zusammenhang mit ungeprüften Therapien liefert auch die Plattform EuroStemCell.org mit Informationen für Patientinnen und Patienten und Angehörige zu Stammzellbehandlungen bei verschiedenen Erkrankungen (EuroStemCell.org, 2020).

2.9.6 Auflistung der klinischen Studien mit humanen pluripotenten Stammzellen

Für die Auflistung der klinischen Studien mit pluripotenten Stammzellen, die während des Berichtszeitraums durchgeführt wurden (Tabelle 1), wurde auf Register des US-amerikanischen National Institutes of Health (NIH) clinicaltrials.gov (Studienbezeichnung NCTXXX), das japanische Clinical Trials Register des University Hospital Medical Information Network (UMIN-CTR; UMINXXX), des japanischen Medical Association Center (JMACCT, JMA-XXX), das Japan Registry of Clinical Trials (jRCT, jRCTXXX) und das chinesische Clinical Trials Register (Chi-CTR Chi-CTR-XXX) zurückgriffen. Ausgewählte klinische Studien mit anderen Zelltypen sind als Auszug aufgelistet. Im Interesse der Vollständigkeit dieser Liste wurden auch Studien aufgenommen, die im Berichtszeitraum bereits beendet oder erst danach begonnen wurden. Diese Studien sind mit Fußnoten gekennzeichnet. Tabelle 2 gibt eine Zusammenfassung, welche humanen embryonalen Stammzelllinien in den 32 registrierten klinischen Studien verwendet werden, und Tabelle 3 vergleicht die absoluten Zahlen verschiedener Stammzelltypen in klinischen Studien.

Tabelle 1

Internationale klinische Studien mit humanen pluripotenten Stammzellen und anderen Stammzellpopulationen (Auszug)

Im Interesse der Vollständigkeit dieser Liste wurden auch Studien aufgenommen, die im Berichtszeitraum bereits beendet oder erst danach begonnen wurden; Stand November 2020.

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
ES-Zellen						
Herzerkrankungen						
Assistance Publique – Hôpitaux de Paris	Transplantation of Human Embryonic Stem Cell-derived Progenitors in Severe Heart Failure (ESCORT)	Koronare Herzerkrankung	2013-	NCT02057900	abgeschlossen (Menasché et al., 2018)	Frankreich
Stoffwechselerkrankungen (Diabetes)						
ViaCyte	A Safety, Tolerability, and Efficacy Study of VC-01™ Combination Product in Subjects With Type 1 Diabetes Mellitus	Diabetes Mellitus Typ 1	2014-	NCT02239354	Phase 1/2, aktiv, nicht rekrutierend	USA / Kanada
ViaCyte	One-Year Follow-up Safety Study in Subjects Previously Implanted With VC-01™	Diabetes Mellitus Typ 1	2016-	NCT02939118	Phase 1/2, Teilnahme nur auf Einladung	USA / Kanada
ViaCyte	A Safety and Tolerability Study of VC-02™ Combination Product in Subjects With Type 1 Diabetes Mellitus	Diabetes Mellitus Typ 1	2017-	NCT03162926	Phase 1, aktiv, nicht rekrutierend	Kanada
ViaCyte	A Safety, Tolerability, and Efficacy Study of VC-02™ Combination Product in Subjects With Type 1 Diabetes Mellitus and Hypoglycemia Unawareness	Diabetes Mellitus Typ 1	2017-	NCT03163511	Phase 1/2, rekrutierend	USA / Kanada

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
Krebserkrankungen						
Cancer Research UK/Asterias Biotherapeutics, Inc.	AST-VAC2 Vaccine in Patients with Non-small Cell Lung Cancer	Nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom (NSCLC)	2018-	NCT03371485	Phase I, noch nicht rekrutierend (Case et al., 2015)	UK
Neurologische Erkrankungen						
Asterias Biotherapeutics	Safety Study of GRNOPC1 in Spinal Cord Injury	Rückenmarksverletzungen	2010-2014	NCT01217008	Phase 1, beendet (Manley et al., 2017)	USA
Asterias Biotherapeutics	Dose Escalation Study of AST-OPC1 in Spinal Cord Injury	Rückenmarksverletzungen	2014-	NCT02302157	Phase 1/2, aktiv, nicht rekrutierend (Manley et al., 2017)	USA
Chinese Academy of Sciences/The First Affiliated Hospital of Zhengzhou Univ.	Safety and Efficacy Study of Human ESC-derived Neural Precursor Cells in the Treatment of Parkinson's Disease	Parkinson-Krankheit	2017-	NCT03119636	Phase 1/2, rekrutierend	China
Kadimastem	A Study to Evaluate Transplantation of Astrocytes Derived from Human Embryonic Stem Cells, in Patients With Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)	Amyotrophe Lateralsklerose	2018-	NCT03482050	Phase 1/2, rekrutierend	Israel
Augenerkrankungen						
Astellas Institute for Regenerative Medicine	Safety and Tolerability of Sub-retinal Transplantation of Human Embryonic Stem Cell Derived Retinal Pigmented Epithelial (hESC-RPE) Cells in Patients With	Makuladegeneration Morbus Stargardt	2011 - 2017	NCT01469832	Phase 1/2, beendet (Schwartz et al., 2015)	UK

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
	Stargardt's Macular Dystrophy (SMD)					
Astellas Institute for Regenerative Medicine	Sub-retinal Transplantation of hESC Derived RPE(MA09-hRPE)Cells in Patients With Stargardt's Macular Dystrophy	Morbus Stargardt	2011 - 2017	NCT01345006	Phase 1/2, beendet (Schwartz et al., 2015)	USA
Astellas Institute for Regenerative Medicine	Safety and Tolerability of Sub-retinal Transplantation of hESC Derived RPE (MA09-hRPE) Cells in Patients With Advanced Dry Age Related Macular Degeneration (Dry AMD)	Trockene (atrophe) altersbedingte Makuladegeneration (AMD)	2011 – 2017	NCT01344993	Phase 1/2, beendet (Schwartz et al., 2015)	USA
CHABiotech CO.	A Phase I/IIa, Open-Label, Single-Center, Prospective Study to Determine the Safety and Tolerability of Sub-retinal Transplantation of Human Embryonic Stem Cell Derived Retinal Pigmented Epithelial (MA09-hRPE) Cells in Patients With Advanced Dry Age-related Macular Degeneration (AMD)	Trockene AMD	2012-	NCT01674829	Phase 1/2, active, nicht rekrutierend (Shim et al., 2017)	Süd-korea
CHABiotech CO.	Safety and Tolerability of MA09-hRPE Cells in Patients With Stargardt's Macular Dystrophy (SMD)	Morbus Stargardt	2012-	NCT01625559	Phase 1, keine Angaben (k.A.) (Shim et al., 2017)	Süd-korea

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
Astellas Institute for Regenerative Medicine	A Follow up Study to Determine the Safety and Tolerability of Sub-retinal Transplantation of Human Embryonic Stem Cell Derived Retinal Pigmented Epithelial (hESC-RPE) Cells in Patients With Stargardt's Macular Dystrophy (SMD)	Morbus Stargardt	2013 – 2019	NCT02941991	Phase 1/2, beendet	UK
Lineage Cell Therapeutics, Inc. / Cell Cure Neuroscience Ltd.	Safety and Efficacy Study of OpRegen for Treatment of Advanced Dry-Form Age-Related Macular Degeneration	Fortgeschrittene trockene AMD	2014-	NCT02286089	Phase 1/2, rekrutierend	USA/ Israel
Eye Institute of Xiamen University	The clinical trial of human embryonic stem cell derived epithelial cells transplantation in the treatment of severe ocular surface diseases	Erkrankungen der Hornhaut	2014-	ChiCTR-OCB-15005968	k.A., prospektive Registrierung	China
Astellas Institute for Regenerative Medicine	Long Term Follow Up of Sub-retinal Transplantation of hESC Derived RPE Cells in Stargardt Macular Dystrophy Patients	Morbus Stargardt	2015 - 2019	NCT02445612	Phase 1/2, beendet (Schwartz et al., 2015)	USA
Astellas Institute for Regenerative Medicine	Long Term Follow Up of Sub-retinal Transplantation of hESC Derived RPE Cells in Patients With AMD	Fortgeschrittene trockene AMD	2015 - 2019	NCT02463344	Phase 1/2, beendet (Schwartz et al., 2015)	USA
Chinese Academy of Sciences, Institute of Zoology	Clinical study of subretinal transplantation of clinical human embryonic stem cells derived retinal pigment epitheliums in treatment of dry age-related macular degeneration diseases	Trockene AMD	2015-	ChiCTR-OCB-15007054	k.A., prospektive Registrierung	China

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
Chinese Academy of Sciences, Institute of Zoology	Clinical study of subretinal transplantation of clinical human embryo stem cell derived retinal pigment epitheliums in treatment of retinitis pigmento diseases	Retinitis pigmentosa	2015-	ChiCTR-OCB-15007055	k.A., prospektive Registrierung	China
Regenerative Patch Technologies, LLC	Study of Subretinal Implantation of Human Embryonic Stem Cell-Derived RPE Cells in Advanced Dry AMD	Trockene AMD	2015-	NCT02590692	Phase 1/2, aktiv, nicht rekrutierend (Kashani et al., 2018)	USA
Federal University of São Paulo	Stem Cell Therapy for Outer Retinal Degenerations	Trockene und feuchte AMD, Morbus Stargardt	2015 - 2019	NCT02903576	Phase 1/2, beendet	Brazi-lien
Moorfields Eye Hospital NHS Foundation Trust (transferred from Pfizer, 06/2018)	A Study Of Implantation Of Retinal Pigment Epithelium In Subjects With Acute Wet Age Related Macular Degeneration	Feuchte (exsudative) AMD	2015-	NCT01691261	Phase 1, aktiv, nicht rekrutierend (da Cruz et al., 2018)	UK
Southwest Hospital, China	Clinical Study of Subretinal Transplantation of Human Embryo Stem Cell Derived Retinal Pigment Epitheliums in Treatment of Macular Degeneration Diseases	Feuchte AMD, Morbus Stargardt	2015-	NCT02749734	Phase 1/2, nicht rekrutierend (Liu et al., 2018)	China

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
Moorfields Eye Hospital NHS Foundation Trust (transferred from Pfizer, 06/2018)	Retinal Pigment Epithelium Safety Study For Patients In B4711001	Feuchte (exsudative) AMD	2016-	NCT03102138	Phase 1, aktiv, nicht rekrutierend (da Cruz et al., 2018)	UK
Chinese Academy of Sciences/Beijing Tongren Hospital	Subretinal Transplantation of Retinal Pigment Epitheliums in Treatment of Age-related Macular Degeneration Diseases	Trockene AMD	2016-	NCT02755428	Phase 1/2, rekrutierend	China
Astellas Institute for Regenerative Medicine	A Staged Study of the Safety and Effectiveness of ASP7317 in Senior Adults Who Are Losing Their Clear, Sharp Central Vision Due to Dry Age-related Macular Degeneration	AMD bedingte Athropie	2017-	NCT03178149	Phase 1/2, noch nicht rekrutierend	USA
Astellas Institute for Regenerative Medicine	A Safety Surveillance Study in Subjects With Macular Degenerative Disease Treated With Human Embryonic Stem Cell-derived Retinal Pigment Epithelial Cell Therapy	Verschiedene Makuladegeneration s-erkrankungen	2017-	NCT03167203	Phase 1/2, Teilnahme nur auf Einladung	USA
Chinese Academy of Sciences/The First Affiliated Hospital of Zhengzhou Univ.	Treatment of Dry Age Related Macular Degeneration Disease With Retinal Pigment Epithelium Derived From Human Embryonic Stem Cells	Trockene AMD	2017-	NCT03046407	Phase 1/2, rekrutierend	China

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
Qi Zhou, Chinese Academy of Sciences/Beijing Tongren Hospital	Safety and Efficacy of Subretinal Transplantation of Clinical Human Embryonic Stem Cell Derived Retinal Pigment Epitheliums in Treatment of Retinitis Pigmentosa	Retinitis pigmentosa	2019-	NCT03944239	Phase 1, rekrutierend	China
Centre d'Etude des Cellules Souches	Interventional Study of Implantation of hESC-derived RPE in Patients With RP Due to Monogenic Mutation	Retinitis pigmentosa mit monogenetischer Mutation	2019-	NCT03963154	Phase 1/2, rekrutierend	France
Andere Erkrankungen						
Tongji Hospital / Chinese Academy of Sciences	Safety Observation on hESC Derived MSC Like Cell for the Meniscus Injury	Verletzungen des Meniskus	2019-	NCT139238	Phase 1, aktiv, nicht rekrutierend	China
Chinese Academy of Sciences / First Affiliated Hospital of Zhengzhou University	Mesenchymal Stem Cells (MSCs) – Like Cell Transplantation in Women With Primary Ovarian Insufficiency (MSCLCTWPOI)	Ovarialinsuffizienz	2019-	NCT03877471	Phase 1, rekrutierend	China
National Center for Child Health and Development	Clinical study of HAES transplantation in patients with neonatal onset urea cycle disorder	Angeborene Defekte im Harnstoffzyklus	2019-	JMA-IIA00412	Phase 1/2, rekrutierend	Japan
Qi Zhou, Chinese Academy of Sciences / Tongji Hospital	Clinical Safety Study of Human Embryonic Stem Cell Derived Mesenchymal Cells in the Treatment of Moderate and Severe	Intrauterine Synechien, Asherman-Syndrom	2020-	NCT04232592	Phase 1, aktiv, nicht rekrutierend	China

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
	Intrauterine Adhesions					
Chinese Academy of Sciences / Beijing YouAn Hospital	Safety and Efficacy of CASTem for Severe COVID-19 Associated With/Without ARDS	COVID-19, akutes Lungenversagen	2020-	NCT04331613	Phase 1, rekrutierend	China
iPS-Zellen						
Herzerkrankungen						
Beijing University of Chinese Medicine	IPS Differentiated Cardiomyocytes Vein Transplantation for Chronic Heart Failure (IDCVTCHF)	Herzerkrankungen	2018-	NCT03759405	Phase 2/3, noch nicht rekrutierend	China
Help Therapeutics	Treating Heart Failure With hPSC-CMs (HEAL-CHF)	Herzerkrankungen	2018-	NCT03763136	k.A., rekrutierend	China
Osaka University Hospital	Clinical trial of human (allogeneic) iPS cell-derived cardiomyocytes sheet for ischemic cardiomyopathy	Herzerkrankungen	2019-	jRCT2053190081	Phase 1, rekrutierend	Japan
University Medical Center Göttingen / DZHK / University Medical Center Freiburg	Safety and Efficacy of Induced Pluripotent Stem Cell-derived Engineered Human Myocardium as Biological Ventricular Assist Tissue in Terminal Heart Failure (BioVAT-HF)	Herzerkrankungen	2020-	NCT04396899	Phase 1/2, noch nicht rekrutierend	Deutsch-land

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
Stoffwechselerkrankungen (Diabetes)						
Allife Medical Science and Technology	A Study Of Autologous Induced Islet Body With Type 1 Diabetes	Type 1 Diabetes	2019-	NCT03728296	Phase 1, noch nicht rekrutierend	China
Neurologische Erkrankungen						
Kyoto University Hospital	Kyoto Trial to Evaluate the Safety and Efficacy of Tacrolimus in the iPSC-based Therapy for Parkinson's Disease	Parkinson-Krankheit	2018-	UMIN000033565	Phase 3, unterbrochen	Japan
Kyoto University Hospital	Kyoto Trial to Evaluate the Safety and Efficacy of iPSC-derived dopaminergic progenitors in the treatment of Parkinson's Disease	Parkinson-Krankheit	2018-	UMIN000033564	Phase 1/ 2, unterbrochen	Japan
Allife Medical Science and Technology	A Study on the Treatment of Parkinson's Disease With Autologous Neural Stem Cells	Parkinson-Krankheit	2019-	NCT03815071	Phase 1, noch nicht rekrutierend	China
Krebserkrankungen						
National Cancer Institute (NCI)	Generation of Cancer Antigen-Specific T-cells From Human Induced Pluripotent Stem Cells (iPSC) for Research and Potential Future Therapy	Verschiedene Krebsarten	2018 - 2020	NCT03407040	beendet	USA
Fate Therapeutics	FT500 as Monotherapy and in Combination With Immune Checkpoint Inhibitors in Subjects With Advanced Solid Tumors FT500 ist NK-Zellprodukt	Verschiedene solide Krebsarten	2019-	NCT03841110	Phase 1, rekrutierend	USA

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
	abgeleitet von iPS-Zellen					
Fate Therapeutics	Long-term, Non-interventional, Observational Study Following Treatment With Fate Therapeutics FT500 Cellular Immunotherapy	Verschiedene solide Krebsarten	2019-	NCT04106167	Follow-up zu NCT03841110	USA
Fate Therapeutics	FT516 in Subjects With Advanced Hematologic Malignancies FT516 ist NK-Zellprodukt mit aktivierten CD16 Rezeptor abgeleitet von iPS-Zellen	Myeloide Leukämie	2019-	NCT04023071	Phase 1, rekrutierend	USA
Fate Therapeutics	FT596 as a Monotherapy and in Combination With Anti-CD20 Monoclonal Antibodies FT596 ist T-Zellprodukt mit chimären Antigenrezeptor abgeleitet von iPS-Zellen	Chronische lymphatische Leukämie	2020-	NCT04245722	Phase 1, rekrutierend	USA
Chiba University Hospital ^{††}	A Phase I study of iPS-NKT cell intra-arterial infusion therapy in patients with recurrent or advanced head and neck cancer	Kopf-Hals-Karzinom	2020-	jRCT2033200116	Phase 1, rekrutierend	Japan
Transplantat gegen Wirt Reaktion (Graft versus host disease)						
Cynata Therapeutics Limited	A Study of CYP-001 for the Treatment of Steroid-Resistant Acute Graft Versus Host Disease CYP-001 Zellen sind MSC	Transplantat-gegen-Wirt-Reaktion	2016 - 2020	NCT02923375	beendet	Austra-lien

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
	Vorläuferzellen aus iPS-Zellen					
Bluterkrankungen						
Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University	Thalassemia Treatment Based on the Stem Cell Technology	β -Thalassämie	2017-	NCT03222453	k.A.	China
Allife Medical Science and Technology	iHSCs With the Gene Correction of HBB Intervent Subjests With β -thalassemia Mutations	β -Thalassämie	2018-	NCT03728322	Phase 1, noch nicht rekrutierend	China
Infektionskrankheiten						
Cynata Therapeutics Limited	The MEseNchymal covid-19 Trial: a Pilot Study to Investigate Early Efficacy of MSCs in Adults With COVID-19 (MEND) MSC Vorläuferzellen aus iPS-Zellen	COVID-19	2020-	NCT04537351	Phase 1/2, rekrutierend	Australien
Fate Therapeutics	Study of FT516 for the Treatment of COVID-19 in Hospitalized Patients With Hypoxia FT516 ist NK-Zellprodukt mit aktivierten CD16 Rezeptor abgeleitet von iPS-Zellen	COVID-19	2020-	NCT04363346	Phase 1, rekrutierend	USA

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
Augenerkrankungen						
RIKEN, Laboratory for Retinal Regeneration	A study of transplantation of autologous induced pluripotent stem cell (iPSC) derived retinal pigment epithelium (RPE) cell sheet in subjects with exudative age related macular degeneration	Feuchte (exsudative) AMD	2013-	UMIN000011929	Phase 1, nicht rekrutierend (Mandai et al., 2017)	Japan
Moorfields Eye Hospital NHS Foundation Trust, Medical Research Council	Production of iPSC Derived RPE Cells for Transplantation in AMD	AMD	2015-	NCT02464956	Status unbekannt	UK
Kobe City Medical Center General Hospital	A Study of transplantation of allogenic induced pluripotent stem cell (iPSC) derived retinal pigment epithelium (RPE) cell suspension in subjects with neovascular age related macular degeneration RPE Zellen aus allogenen iPS Zellen	Feuchte (exsudative) AMD	2017-	UMIN000026003	Phase 1, aktiv, nicht mehr rekrutierend	Japan
University of Alabama at Birmingham	Human iPSC for Repair of Vasodegenerative Vessels in Diabetic Retinopathy (iPSC)	Diabetische Retinopathie	2018-	NCT03403699	Phase 1, rekrutierend	USA
Osaka University Graduate School of Medicine	First-in-human clinical research of iPS derived corneal epithelial cell sheet transplantation for patients with limbal stem-cell deficiency	Limbale Stammzell-Defizienz	2019-	UMIN000036539	Phase 1, rekrutierend	Japan

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
National Eye Institute (NEI)	Autologous Transplantation of Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Retinal Pigment Epithelium for Geographic Atrophy Associated With Age-Related Macular Degeneration	Trockene AMD	2020-	NCT04339764	Phase 1/2, rekrutierend	USA
Kobe City Eye Hospital	Safety study using allogenic iPSC-retinal sheets for patients with retinitis pigmentosa (iRERP)	Retinitis pigmentosa	2020-	jRCTa050200027	Phase 1, rekrutierend	Japan
Andere Erkrankungen						
Allife Medical Science and Technology	A Clinical Study of iNSC Intervent Cerebral Hemorrhagic Stroke	Intrazerebrale Blutung	2018-	NCT03725865	Phase 1, noch nicht rekrutierend	China
Allife Medical Science and Technology	A Clinical Study of iEPC Intervent Subjects With Cerebral Hemorrhagic Stroke	Intrazerebrale Blutung	2018-	NCT03726814	Phase 1, noch nicht rekrutierend	China
Kyoto University Hospital	Clinical study of autologous transfusion of iPSC cell-derived platelets for thrombocytopenia (iPLAT1)	Thrombo-zytopenie	2019-	jRCTa050190117	Phase 1, nicht rekrutierend	Japan
Kyoto University Hospital	A clinical study for treatment of articular cartilage damage in knee joints with allogeneic induced pluripotent stem (iPS) cell-derived cartilage	Knorpelschaden im Knie	2020-	jRCTa050190104	Phase 1, rekrutierend	Japan
Keio University School of Medicine	Regenerative medicine for spinal cord injury at subacute stage using human induced pluripotent stem cell-derived neural stem/progenitor cells	Rückenmarksverletzungen	2020-	jRCTa031190228	Phase 1, noch nicht rekrutierend	Japan

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
Weitere Zelltypen (Auszug)						
Humane embryonal Stammzellen durch Kerntransfer aus menschlichen Gewebezellen (SCNT)						
CHA University	The Safety and Tolerability of Sub-retinal Transplantation of SCNT-hES-RPE Cells in Patients With Advanced Dry AMD	Trockene AMD	2016-	NCT03305029	Phase 1, unbekannt	China
Parthenogenetisch hergestellte Zellen						
Cyto Therapeutics Pty Limited	A Study to Evaluate the Safety of Neural Stem Cells in Patients with Parkinson's Disease, ISC-hpNSCs	Parkinson-Krankheit	2015-	NCT02452723	Phase 1, aktiv, nicht rekrutierend	Austra-lien
Fötale Zellen						
University of Cambridge	TRANSEURO Open Label Transplant Study in Parkinson's Disease (TRANSEURO)	Parkinson-Krankheit	2012-	NCT01898390	Phase 1, aktiv, nicht rekrutierend	UK, Europe
Autologe Muskelzellen						
Osaka University Graduate School of Medicine	Development of new strategy for severe heart failure using autologous myoblast sheets	Ischämische und dilatative Kardiomyo-pathie	2010-	UMIN000003273	Phase 1/2, Teilnahme nur auf Einladung, (Miyagawa et al., 2017)	Japan
Mesenchymale Stammzellen (MSC, Beispiel)						
Tigenix S.A.U.	Study to Assess Efficacy and Safety of Cx601, Adult Allogeneic Expanded Adipose-derived Stem Cells (eASC) for the Treatment of Complex Perianal Fistula(s) in Participants With Crohn's Disease (CD) (ADMIRE-CD-II)	Morbus Crohn	2017-	NCT03279081	Phase 3	Multi-center Studie

Sponsor	Studie	Erkrankung	Jahre	Kennnummer	Status (Publikation)	Land
Herstellung von iPS-Zellen von Patienten/Probanden (Beispiel aus über 80 Studien)						
Hadassah Medical Organization	Development of iPS from Donated Somatic Cells of Patients with Neurological Diseases	Herstellung von iPS-Zellen	2009-	NCT00874783	rekrutierend	Israel

Tabelle 2

**Auflistung der humanen embryonalen Stammzelllinien, die für klinische Studien verwendet werden;
Stand 31. Dezember 2019**

hES-Zelllinien, die in klinischen Studien verwendet werden (Kobold et al., 2020):		
hES-Zelllinie	Zahl der klinischen Studien	Erste Publikation
Cyt49	4	2006
H1/WA01	3	1998
H9/WA09	2	1998
HAD-C100	1	2012
HAD-C102	1	2012
I6	1	2002
MA09	6	2006
Q-CTS-hESC-3	1	2016
RC-09	1	2012
Shef1	2	2004
keine Angabe	14	

Tabelle 3

Anzahl der Stammzell- bzw. Zelltypen, die für klinische Studien verwendet werden; Stand 31.12.2019

Insgesamt existieren in clinicaltrials.gov über 8000 klinische Studien zu Stammzellen mit folgenden Zelltypen:	
Blutstammzellen	> 3500
Mesenchymale Stromazellen (MSC)	> 1200
humane ES-Zellen	36 (davon 4 bereits abgeschlossen)
SCNT-humane ES-Zellen	1
humane iPS-Zellen	22 (>80 zur Herstellung von iPS-Zellen von Patienten)
Parthenogenetisch hergestellte pluripotente Zellen	1

3 Schlussfolgerungen

In den Jahren 2018 und 2019 hat die Forschung mit und an humanen pluripotenten Stammzellen (hPS-Zellen) erneut wichtige Erkenntnisse geliefert. Die Forschung mit hPS-Zellen hat sich, basierend auf den Technologien der jüngeren Vergangenheit (Reprogrammierung, Gen-Editierung, Einzellzellanalyse, 3D-Organoid), konsequent weiterentwickelt. Die größten Neuerungen im Bereich der Forschung sind auf dem Feld der Organoid zu verzeichnen und den Möglichkeiten, die diese dreidimensionalen Organ-ähnlichen Strukturen zur Aufklärung von Krankheitsmechanismen und zur Entwicklung von neuen Medikamenten und deren Testung bieten. Die Verbindung der Organoidtechnologie mit den neusten Methoden der Einzellzellanalyse erlaubt es, die Entwicklungsschicksale von Zellen immer genauer zu beschreiben und die Interaktion verschiedener Zelltypen zu untersuchen.

Ebenso wie sich die Forschung mit hES-Zellen weiterentwickelt hat, fand im Berichtszeitraum auch eine konsequente Weiterentwicklung der Forschung mit hiPS-Zellen statt. Einerseits ermöglichen neue technische Methoden die Verbesserung der Effektivität und Reproduzierbarkeit bei der Generierung von hiPS-Zellen und andererseits lassen sich diese durch verbesserte Zellkulturtechnik effizienter in verschiedene spezialisierte Zelltypen differenzieren. Eine sehr positive Entwicklung im Berichtszeitraum ist die Anmeldung einer Reihe weiterer klinischer Studien, basierend auf Zelltypen, die von pluripotenten Stammzellen abgeleitet wurden. Die Reihe klinischer Studien zur Behandlung von Krebs mit Derivaten von hiPS-Zellen des Unternehmens Fate Therapeutics und die Studie zur Parkinson-Krankheit von BlueRock Therapeutics, die gerade anläuft, sind hier erwähnenswert. In diesem Zusammenhang ist es wichtig, dass auch in Europa weitere klinische Studien mit hPS-Zellen stattfinden und für diese Studien bzw. für die Forschung auf dem Weg zu diesen Studien, ausreichend finanzielle Unterstützung zur Verfügung steht. Die erste klinische Studie dieser Art in Deutschland, die 2020 angemeldet wurde (Safety and Efficacy of Induced Pluripotent Stem Cell-derived Engineered Human Myocardium as Biological Ventricular Assist Tissue in Terminal Heart Failure (BioVAT-HF), Universitätsmedizin Göttingen, NCT04396899 (clinicaltrials.gov)), ist ein positives Zeichen und lässt hoffen, dass die klinische Forschung auch hierzulande weiter voranschreitet und neue Therapiekonzepte für bisher nicht heilbare oder nur unzureichend behandelbare menschliche Erkrankungen entwickelt werden können.

Von Seiten der in Deutschland tätigen Stammzellforscher und Stammzellforscherinnen wurde in diesem Zusammenhang der im Stammzellgesetz enthaltene Forschungsvorbehalt, d.h. das Verbot der Nutzung von hES-Zellen außerhalb des Forschungskontextes, wiederholt im Hinblick auf seine negativen Effekte für die Entwicklung von neuartigen Therapien im deutschen Forschungsraum problematisiert; die Regelung sei daher zu überprüfen.

In der Organoidforschung werfen gerade die wissenschaftlichen Entwicklungen in Bezug auf Embryoide, d. h. Strukturen, die frühe Entwicklungsprozesse in vitro nachvollziehbar machen, weitergehende Fragen auf. Die Verbesserung der Kulturbedingungen und die sich aus den Weiterentwicklungen der Technik ergebenden Potentiale, Anwendungsmöglichkeiten und Herausforderungen sind Gegenstand aktueller Forschungsfragen. Die konkreten zukünftigen Entwicklungen auf diesem Themengebiet sind noch nicht vollständig absehbar. Im Hinblick auf die gesetzlichen Rahmenbedingungen in Deutschland wird der Diskurs um die ethisch-rechtliche Einordnung dieser Embryoide von der Wissenschaft aktiv geführt.

In Deutschland ermöglicht das Stammzellgesetz die Forschung mit humanen embryonalen Stammzellen (hES-Zellen), ohne den durch das Embryonenschutzgesetz gewährleisteten Schutz menschlicher Embryonen einzuschränken. Die wissenschaftliche Community in Deutschland leistet im Bereich der Grundlagenforschung und der Verwendung der Zellen in der Gesundheitsforschung und Gesundheitswirtschaft internationale signifikante Beiträge. Die im vorherigen Berichtszeitraum intensiviertere Zusammenarbeit mit anderen Forschungsdisziplinen besteht unvermindert fort. Bis Ende 2019 sind in Deutschland 153 Genehmigungen für die Einfuhr und/oder Verwendung von hES-Zellen erteilt worden, davon 21 im Berichtszeitraum. Dies entspricht einem leichten Rückgang gegenüber dem Berichtszeitraum 2016/17 (27 neue Genehmigungen).

Zusammenfassend lässt sich schlussfolgern, dass die Forschung mit hES-Zellen und hiPS-Zellen in Deutschland weiterhin mit sehr hoher Qualität erfolgt und die durch das Stammzellgesetz eröffneten Möglichkeiten wahrgenommen werden. hES-Zellen sind weiterhin Grundlage innovativer Forschungsvorhaben, und es besteht generell ein unvermindertes Interesse an Forschung unter Verwendung von hES-Zellen. Die Forschung mit hES-Zellen und hiPS-Zellen ergänzen sich je nach Forschungsfragestellung gegenseitig. Die Implikationen der Ergebnisse der internationalen Stammzellforschung für die bestehende Rahmensetzung in Deutschland und die deutsche Forschungslandschaft müssen weiterhin sorgfältig beobachtet werden.

4 Glossar

Adulte (somatische) Stammzellen (Gewebestammzellen): stammen von fötalen (d. h. allen vorgeburtlichen Entwicklungsstadien mit abgeschlossener Entwicklung von Organanlagen) bzw. geborenen Lebewesen ab und verfügen nur über ein eingeschränktes Differenzierungspotenzial. Sie kommen vermutlich in fast allen Organen vor und wurden beispielsweise im Knochenmark, in der Haut, aber auch im Fettgewebe, in der Nabelschnur und im Nabelschnurblut, im Gehirn und in der Bauchspeicheldrüse bereits nachgewiesen. Adulte Stammzellen haben aber im Vergleich zu embryonalen Stammzellen in Zellkulturen ein deutlich geringeres Differenzierungspotenzial.

Allel: Ein Allel bezeichnet eine mögliche Ausprägung eines Gens, das sich an einem bestimmten Ort auf einem Chromosom befindet.

Allogen: Das zu transplantierende biologische Material wird von einem Spender (Donor) auf einen genetisch nicht identischen Empfänger übertragen. Hieraus können immunologische Abwehrreaktionen resultieren.

Autolog: Das zu transplantierende biologische Material stammt vom Empfänger selbst, ist genetisch identisch, und ist daher immunologisch kompatibel.

Blastozyste: Frühes Embryonalstadium, das beim Menschen etwa den Zeitraum vom vierten bis siebten Tag nach der Befruchtung umfasst. Die Blastozyste ab dem 64-Zellstadium, ist bereits in eine innere Zellmasse (Embryoblast), aus der embryonale Stammzellen gewonnen werden können, und eine äußere Zellschicht (Trophoblast), differenziert.

COVID-19: Abkürzung für englisch: **Coronavirus disease 2019**, deutsch: **Coronavirus-Krankheit-2019**. COVID-19 ist eine meldepflichtige Infektionskrankheit, die auf eine Infektion mit dem neuartigen Coronavirus SARS-Cov-2 zurückgeht und ein breites, allerdings unspezifisches Spektrum von Symptomen zeigt.

CRISPR/Cas9: Die CRISPR/Cas-Methode (von engl. **C**lustered **R**egularly **I**nterspaced **S**hort **P**alindromic **R**epeats - gruppierte kurze palindromische Wiederholungen mit regelmäßigen Abständen und CRISPR-associated – CRISPR-assoziiertes **P**rotein **9**) ist eine molekularbiologische Methode, um DNA gezielt zu schneiden und zu verändern (Genom-Editierung).

Designernukleasen: Sammelbegriff für molekularbiologische Werkzeuge („Genschere“) zur zielgerichteten Modifikation des Genoms

Differenzierung: Prozess, bei dem durch Aktivierung genetischer Programme spezialisierte Zelltypen entstehen.

Epigenetik/Epigenese: Die Epigenetik beschäftigt sich mit der Feinregulation der Genexpression. Unter epigenetischer Vererbung wird die Weitergabe von Eigenschaften auf die Nachkommen verstanden, die nicht auf Abweichungen in der DNA-Sequenz zurückgehen, sondern auf eine vererbte Änderung der Genregulation und Genexpression. Epigenetik unterscheidet sich von der Epigenese, welche den seit langem bekannten graduellen Prozess der embryonalen Morphogenese von Organen in all ihrer Komplexität beschreibt. Jedoch basieren die essentiellen zellularen Differenzierungsprozesse der Epigenese vor allem auf epigenetischen Vererbungsmechanismen einer Zellgeneration zur nächsten.

ES-Zellen: Embryonale Stammzellen (ES) sind in vitro in der Lage, sich in Zellen aller drei Keimblätter (Entoderm, Ektoderm und Mesoderm) sowie in Zellen der Keimbahn auszudifferenzieren. Sie werden daher als pluripotent bezeichnet. Sie werden aus pluripotenten Zellen der inneren Zellmasse in der Blastozyste gewonnen, die in vivo die Zellen des gesamten Embryos hervorbringen.

Genotyp: Der Genotyp repräsentiert die exakte genetische Ausstattung eines Organismus, die sämtliche in diesem Individuum vorhandenen Erbanlagen umfasst.

Genom-Editierung: Sammelbegriff für molekularbiologische Techniken zur zielgerichteten Veränderung des Genoms.

hES-Zellen: humane (menschliche) embryonale Stammzellen

hiPS-Zellen: humane (menschliche) iPS Zellen

hNS-Zellen: humane (menschliche) neurale Stammzellen

HS-Zellen: Hämatopoetische oder Blutzellen-bildende Stammzellen, englisch: HSC

Imprinting: Epigenetischer Prozess, durch den von den beiden Allelen eines Gens nur eines, entweder das väterliche oder mütterliche, zur Geltung kommt.

Innere Zellmasse: Zellpopulation in der Blastozyste aus der der gesamte Organismus entsteht und aus der sich embryonale Stammzelllinien in der Zellkultur kultivieren lassen. Der Trophoblast wird von einer weiteren Zellpopulation in der Blastozyste gebildet, die für die Versorgung des Embryos mit Nährstoffen notwendig ist.

In vitro: (lateinisch ‚im Glas‘) Vorgänge, die außerhalb eines lebenden Organismus stattfinden, im Gegensatz zu solchen, die im lebenden Organismus (in vivo) ablaufen

In vivo: (lateinisch ‚im Lebendigen‘) bezeichnet Prozesse, die im lebendigen Organismus ablaufen

iPS-Zellen, induzierte pluripotente Stammzellen: Zellen, die durch Dedifferenzierung (Reprogrammierung) somatischer Zellen entstanden sind und Eigenschaften pluripotenter Stammzellen aufweisen. In differenzierte Körperzellen werden hierbei z.B. Gene eingeschleust, die das embryonale Programm in der Zelle wieder anschalten und so Stammzeleigenschaften induzieren.

Keimblätter: Dreidimensionale Zellkonglomerate (oder Zellschichten) in der frühen Embryonalentwicklung, die den Ursprung für definierte, in späteren Entwicklungsphasen gebildete Gewebe und Organsysteme darstellen, unterschieden nach:

- **Ektoderm** (Außenschicht): Keimblatt, aus dem sich Haut und Nervensystem entwickeln.
- **Entoderm (auch: Endoderm)** (Innenschicht): Zellen, aus denen neben dem Verdauungstrakt auch Leber und Bauchspeicheldrüse entstehen.
- **Mesoderm** (Mittelschicht): Aus dieser Zellschicht entstehen unter anderem Blut, Herz, Muskulatur und Skelett.

MS-Zellen: Mesenchymale Stromazellen (manchmal auch Stammzelle), englisch: MSC

Murine ES-Zellen (mES-Zellen): Embryonale Stammzellen der Maus

Organoide sind in vitro erzeugte organähnliche Zellaggregate. Sie stellen eine miniaturisierte und vereinfachte Version eines Organs dar.

Plastizität: Bezeichnet die Fähigkeit von Zellen, sich auch in Zellen anderer Gewebe entwickeln zu können.

Potenzial: Entwicklungsmöglichkeiten einer Zelle, unterschieden nach: totipotent (oder omnipotent): Aus der Zelle kann sich ein vollständiges Lebewesen entwickeln (bei menschlichen Embryonen nach derzeitigem Kenntnisstand jede Zelle bis längstens zum Achtzellstadium). **pluripotent:** Aus der Zelle kann sich jeder Zelltyp des Organismus entwickeln, jedoch kein vollständiges Lebewesen. Embryonale Stammzellen können die dafür erforderliche Plazenta, die aus dem Trophoblast der Blastozyste entsteht, nicht bilden und sind daher pluripotent. **multipotent:** Das Entwicklungspotenzial der Zelle beschränkt sich z. B. auf nur einige Zelltypen, die z. B. aus einem der Keimblätter hervorgehen.

Proliferation: Zellproliferation bezeichnet die Vermehrung (Neubildung) von Zellen durch Zellteilung.

hPS-Zellen: humane pluripotente Stammzellen, umfassen sowohl embryonale Stammzellen (ES-Zellen) als auch induzierte pluripotente Stammzellen (iPS-Zellen)

Reprogrammierung: Oberbegriff für die Umwandlung einer Zelle in einen anderen Zelltyp durch Änderung der Genexpression. Als Reprogrammierung im Zusammenhang mit der Gewinnung von Stammzellen wird vor allem die Rückversetzung somatischer Zellen in einen frühembryonalen, pluripotenten Zustand bezeichnet.

SARS-CoV-2: Das Virus SARS-CoV-2 (Abk. für englisch: **S**evere **A**cute **R**espiratory **S**yndrome **C**orona**V**irus type 2), auch als Schweres akutes Atemwegssyndrom-Coronavirus-Typ 2 bezeichnet ist ein dem SARS-Erreger ähnliches Coronavirus mit wahrscheinlich zoonotischem Ursprung. Das Virus wurde Anfang 2020 als Auslöser der COVID-19 Krankheit identifiziert.

Stammzelle: Zelle, die sich selbst über Zellteilung immer wieder erneuern und in mehrere Zelltypen ausdifferenzieren kann. Stammzellen werden nach ihrer Herkunft und ihrem Differenzierungspotential unterschieden: Embryonale Stammzellen bilden die innere Zellmasse (Embryoblast) der Blastozyste und sind pluripotent; So-

matische / adulte Stammzellen (Gewebestammzellen) stammen von fötalen (d. h. allen vorgeburtlichen Entwicklungsstadien mit abgeschlossener Entwicklung von Organanlagen) bzw. geborenen Lebewesen und verfügen nur über ein eingeschränktes Differenzierungspotenzial.

Trophoblast: Der Trophoblast ist die äußere Zellschicht einer Blastozyste und verbindet diesen mit der Gebärmutterwand. Zusammen mit der Plazenta, die teilweise auch vom Trophoblasten gebildet wird, ist der Trophoblast (extraembryonales Gewebe) für die Versorgung des Embryos mit Nährstoffen notwendig.

Umprogrammierung (auch Transprogrammierung): Künstlich hervorgerufene, direkte Umwandlung eines ausdifferenzierten Zelltyps in einen anderen (Transdifferenzierung), z.B. durch Einführen spezifischer Steuerungsgene.

Zerebral: Gehirn oder Großhirn betreffend

5 Zitierte Literatur

- Abi Chahine, N., and Lu, P. (2020). Stem Cells Therapy for Multiple Sclerosis. *Adv Exp Med Biol* 1266, 99–115.
- Abu-Dawud, R., Graffmann, N., Ferber, S., Wruck, W., and Adjaye, J. (2018). Pluripotent stem cells: induction and self-renewal. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 373, 20170213.
- Ackermann, M., Kempf, H., Hetzel, M., Hesse, C., Hashtchin, A.R., Brinkert, K., Schott, J.W., Haake, K., Kühnel, M.P., Glage, S., et al. (2018). Bioreactor-based mass production of human iPSC-derived macrophages enables immunotherapies against bacterial airway infections. *Nature Communications* 2016 7 9, 5088–13.
- Adachi, K., Kopp, W., Wu, G., Heising, S., Greber, B., Stehling, M., Araúzo-Bravo, M.J., Boerno, S.T., Timmermann, B., Vingron, M., et al. (2018). Esrrb Unlocks Silenced Enhancers for Reprogramming to Naive Pluripotency. *Cell Stem Cell* 23, 266–275.e266.
- Adam, R.C., Yang, H., Ge, Y., Lien, W.-H., Wang, P., Zhao, Y., Polak, L., Levorse, J., Baksh, S.C., Zheng, D., et al. (2018). Temporal Layering of Signaling Effectors Drives Chromatin Remodeling during Hair Follicle Stem Cell Lineage Progression. *Cell Stem Cell* 22, 398–413.e7.
- Aizarani, N., Saviano, A., Sagar, M., Maily, L., Durand, S., Herman, J.S., Pessaux, P., Baumert, T.F., and Grün, D. (2019). A human liver cell atlas reveals heterogeneity and epithelial progenitors. *Nature* 572, 199–204.
- Alexander, T., Greco, R., and Snowden, J.A. (2020). Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Autoimmune Disease. *Annu Rev Med* 72, annurev-med-070119-115617.
- Aloia, L., McKie, M.A., Vernaz, G., Cordero-Espinoza, L., Aleksieva, N., van den Ameele, J., Antonica, F., Font-Cunill, B., Raven, A., Aiese Cigliano, R., et al. (2019). Epigenetic remodelling licences adult cholangiocytes for organoid formation and liver regeneration. *Nature Cell Biology* 21, 1321–1333.
- Ambrosio, F., and Rando, T.A. (2018). The regenerative rehabilitation collection: a forum for an emerging field. *NPJ Regen Med* 3, 20–22.
- Arndt, K., Kranz, A., Fohgrub, J., Jolly, A., Bledau, A. S., Di Virgilio, M., et al. (2018). SETD1A protects HSCs from activation-induced functional decline in vivo. *Blood*, 131, 1311–1324.
- Aron Badin, R., Bugi, A., Williams, S., Vadori, M., Michael, M., Jan, C., Nassi, A., Lecourtois, S., Blancher, A., Cozzi, E., et al. (2019). MHC matching fails to prevent long-term rejection of iPSC-derived neurons in non-human primates. *Nature Communications* 2016 7 10, 4357–12.
- Avior, Y., Eggen, K., and Benvenisty, N. (2019). Cancer-Related Mutations Identified in Primed and Naive Human Pluripotent Stem Cells. *Cell Stem Cell* 25, 456–461.
- Ayyaz, A., Kumar, S., Sangiorgi, B., Ghoshal, B., Gosio, J., Ouladan, S., Fink, M., Barutcu, S., Treka, D., Shen, J., et al. (2019). Single-cell transcriptomes of the regenerating intestine reveal a revival stem cell. *Nature* 569, 121–125.
- Baccin, C., Al-Sabah, J., Velten, L., Helbling, P.M., Grünschlager, F., Hernández-Malmierca, P., Nombela-Arrieta, C., Steinmetz, L.M., Trumpp, A., and Haas, S. (2020). Combined single-cell and spatial transcriptomics reveal the molecular, cellular and spatial bone marrow niche organization. *Nature Cell Biology* 22, 38–48.
- Baghdadi, M.B., and Tajbakhsh, S. (2018). Regulation and phylogeny of skeletal muscle regeneration. *Developmental Biology* 433, 200–209.
- Baghdadi, M.B., Castel, D., Machado, L., Fukada, S.-I., Birk, D.E., Relaix, F., Tajbakhsh, S., and Mourikis, P. (2018). Reciprocal signalling by Notch-Collagen V-CALCR retains muscle stem cells in their niche. *Nature* 557, 714–718.
- Bahr, C., Paleske, von, L., Uslu, V.V., Remeseiro, S., Takayama, N., Ng, S.W., Murison, A., Langenfeld, K., Petretich, M., Scognamiglio, R., et al. (2018). A Myc enhancer cluster regulates normal and leukaemic haematopoietic stem cell hierarchies. *Nature* 553, 515–520.

- Bak, R.O., Dever, D.P., and Porteus, M.H. (2018). CRISPR/Cas9 genome editing in human hematopoietic stem cells. *Nat Protoc* 13, 358–376.
- Bartfeld, S., Schickl, H., Alev, C., Koo, B.-K., Pichl, A., Osterheider, A., Marx-Stölting, L., Bamford, A.-D., Batista-Rocha, A.S., Brivanlou, A.H., et al. (2020). *Organoide* (Baden-Baden: Nomos Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG).
- Barker, R. A., Parmar, M., Studer, L., & Takahashi, J. (2017). Human Trials of Stem Cell-Derived Dopamine Neurons for Parkinson's Disease: Dawn of a New Era. *Cell Stem Cell*, 21, 569–573.
- Baser, A., Skabkin, M., Kleber, S., Dang, Y., Gülcüler Balta, G.S., Kalamakis, G., Göpferich, M., Ibañez, D.C., Schefzik, R., Lopez, A.S., et al. (2019). Onset of differentiation is post-transcriptionally controlled in adult neural stem cells. *Nature* 566, 100–104.
- Bast, L., Calzolari, F., Strasser, M.K., Hasenauer, J., Theis, F.J., Ninkovic, J., and Marr, C. (2018). Increasing Neural Stem Cell Division Asymmetry and Quiescence are Predicted to Contribute to the Age-Related Decline in Neurogenesis. *Cell Rep* 25, 3231–3240.e3238.
- Beccari, L., Moris, N., Girgin, M., Turner, D.A., Baillie-Johnson, P., Cossy, A.-C., Lutolf, M.P., Duboule, D., and Arias, A.M. (2018). Multi-axial self-organization properties of mouse embryonic stem cells into gastruloids. *Nature* 562, 272–276.
- Beerman, I. (2018). Set (d1a)-ing novel links between HSC regulators., *Blood* 131, 1267–1269.
- Benitah, S.A., and Welz, P.-S. (2020). Circadian Regulation of Adult Stem Cell Homeostasis and Aging. *Cell Stem Cell* 26, 817–831.
- Besser, D., Herrmann, I., and Heyer, M. (2018). Ungeprüfte Stammzelltherapieangebote. In *Stammzellforschung*, M. Zenke, L. Marx-Stölting, and H. Schickl, eds. (Baden-Baden: Nomos Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG), pp. 139–152.
- Brassard, J.A., and Lutolf, M.P. (2019). Engineering Stem Cell Self-organization to Build Better Organoids. *Cell Stem Cell* 24, 860–876.
- Bredenkamp, N., Yang, J., Clarke, J., Stirparo, G.G., Meyenn, von, F., Dietmann, S., Baker, D., Drummond, R., Ren, Y., Li, D., et al. (2019). Wnt Inhibition Facilitates RNA-Mediated Reprogramming of Human Somatic Cells to Naive Pluripotency. *Stem Cell Reports* 13, 1083–1098.
- Burt, R.K., Balabanov, R., Burman, J., Sharrack, B., Snowden, J.A., Oliveira, M.C., Fagius, J., Rose, J., Nelson, F., Barreira, A.A., et al. (2019). Effect of Nonmyeloablative Hematopoietic Stem Cell Transplantation vs Continued Disease-Modifying Therapy on Disease Progression in Patients With Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis: A Randomized Clinical Trial. *Jama* 321, 165–174.
- Callaway, E. (2016). Second Chinese team reports gene editing in human embryos. *Nature*.
- Callaway, E. (2017). Doubts raised about CRISPR gene-editing study in human embryos. *Nature News* 548, 413.
- Camargo Ortega, G., Falk, S., Johansson, P.A., Peyre, E., Broix, L., Sahu, S.K., Hirst, W., Schlichthaerle, T., De Juan Romero, C., Draganova, K., et al. (2019). The centrosome protein AKNA regulates neurogenesis via microtubule organization. *Nature* 567, 113–117.
- Cannon, P.M. (2019). Gene Editing Expands the Donor Pool for CCR5-Negative Stem Cell Transplants. *Cell Stem Cell* 25, 735–736.
- Cardenas-Diaz, F.L., Osorio-Quintero, C., Diaz-Miranda, M.A., Kishore, S., Leavens, K., Jobaliya, C., Stanescu, D., Ortiz-Gonzalez, X., Yoon, C., Chen, C.S., et al. (2019). Modeling Monogenic Diabetes using Human ESCs Reveals Developmental and Metabolic Deficiencies Caused by Mutations in HNF1A. *Cell Stem Cell* 25, 273–289.e275.
- Case, C., Nishimoto, K., Whiteley, E., Srivastava, R., and Lebkowski, J. (2015). 222. AST-VAC2: An Embryonic Stem Cell-Derived Dendritic Cell Cancer Immunotherapy. *Molecular Therapy* 23, S87.

- Chan, C.K.F., Gulati, G.S., Sinha, R., Tompkins, J.V., Lopez, M., Carter, A.C., Ransom, R.C., Reinisch, A., Wearda, T., Murphy, M., et al. (2018). Identification of the Human Skeletal Stem Cell. *Cell* 175, 43–56.e21.
- Chari, S., Rajan, P., Saxe, J., and Wang, Q. (2020). What Is Cell Stem Cell Doing to Support the Global Stem Cell Community during the COVID-19 Pandemic? *Cell Stem Cell* 26, 795–796.
- Chen, A.F., Liu, A.J., Krishnakumar, R., Freimer, J.W., DeVealet, B., and Belloch, R. (2018). GRHL2-Dependent Enhancer Switching Maintains a Pluripotent Stem Cell Transcriptional Subnetwork after Exit from Naive Pluripotency. *Cell Stem Cell* 23, 226–238.e4.
- Clevers, H. (2020). COVID-19: organoids go viral. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 21, 355–356.
- Clevers, H., Conder, R.K., Li, V.S.W., Lutolf, M.P., Vallier, L., Chan, S., Grikscheit, T.C., Jensen, K.B., and de Coppi, P. (2019). Tissue-Engineering the Intestine: The Trials before the Trials. *Cell Stem Cell* 24, 855–859.
- Cornacchia, D., Zhang, C., Zimmer, B., Chung, S.Y., Fan, Y., Soliman, M.A., Tchieu, J., Chambers, S.M., Shah, H., Paull, D., et al. (2019). Lipid Deprivation Induces a Stable, Naive-to-Primed Intermediate State of Pluripotency in Human PSCs. *Cell Stem Cell* 25, 120–136.e10.
- Corsini, N.S., and Knoblich, J.A. (2018). Tracing Stem Cell Division in Adult Neurogenesis. *Cell Stem Cell* 22, 143–145.
- Corsini, N.S., Peer, A.M., Moeseneder, P., Roiuk, M., Burkard, T.R., Theussl, H.-C., Moll, I., and Knoblich, J.A. (2018). Coordinated Control of mRNA and rRNA Processing Controls Embryonic Stem Cell Pluripotency and Differentiation. *Cell Stem Cell* 22, 543–558.e12.
- Curtis, E., Martin, J.R., Gabel, B., Sidhu, N., Rzesiewicz, T.K., Mandeville, R., Van Gorp, S., Leerink, M., Tadokoro, T., Marsala, S., et al. (2018). A First-in-Human, Phase I Study of Neural Stem Cell Transplantation for Chronic Spinal Cord Injury. *Cell Stem Cell* 22, 941–950.e946.
- Cyranoski, D. (2018). “Reprogrammed” stem cells implanted into patient with Parkinson’s disease. *Nature News*. (<https://doi.org/10.1038/d41586-018-07407-9>) [22.01.2021]
- Cyranoski, D. (2019a). Japan's approval of stem-cell treatment for spinal-cord injury concerns scientists. *Nature* 565, 544–545.
- Cyranoski, D. (2019b). The potent effects of Japan's stem-cell policies. *Nature* 573, 482–485.
- da Cruz, L., Fynes, K., Georgiadis, O., Kerby, J., Luo, Y.H., Ahmado, A., Vernon, A., Daniels, J.T., Nommiste, B., Hasan, S.M., et al. (2018). Phase 1 clinical study of an embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium patch in age-related macular degeneration. *Nat Biotechnol* 36, 328–337.
- De Luca, M., Aiuti, A., Cossu, G., Parmar, M., Pellegrini, G., and Robey, P.G. (2019). Advances in stem cell research and therapeutic development. *Nature Cell Biology* 21, 801–811.
- Dekoninck, S., and Blanpain, C. (2019). Stem cell dynamics, migration and plasticity during wound healing. *Nature Cell Biology* 21, 18–24.
- Desgres, M., and Menasché, P. (2019). Clinical Translation of Pluripotent Stem Cell Therapies: Challenges and Considerations. *Cell Stem Cell* 25, 594–606.
- Deuse, T., Hu, X., Agbor-Enoh, S., Koch, M., Spitzer, M.H., Gravina, A., Alawi, M., Marishta, A., Peters, B., Kosaloglu-Yalcin, Z., et al. (2019). De novo mutations in mitochondrial DNA of iPSCs produce immunogenic neoepitopes in mice and humans. *Nat Biotechnol* 37, 1137–1144.
- Dever, D.P., Scharenberg, S.G., Camarena, J., Kildebeck, E.J., Clark, J.T., Martin, R.M., Bak, R.O., Tang, Y., Dohse, M., Birgmeier, J.A., et al. (2019). CRISPR/Cas9 Genome Engineering in Engraftable Human Brain-Derived Neural Stem Cells. *iScience* 15, 524–535.
- Di Stefano, B., Ueda, M., Sabri, S., Brumbaugh, J., Huebner, A.J., Sahakyan, A., Clement, K., Clowers, K.J., Erickson, A.R., Shioda, K., et al. (2018). Reduced MEK inhibition preserves genomic stability in naive human embryonic stem cells. *Nat. Methods* 15, 732–740.

- Diekämper, J., Fangerau, H., Fehse, B., Hampel, J., Hucho, F., Köchy, K., Könninger, S., Korte, M., Marx-Stölting, L., Müller-Röber, B., et al. *Vierter Gentechnologiebericht*.
- Dileep, V., and Gilbert, D.M. (2018). Single-cell replication profiling to measure stochastic variation in mammalian replication timing. *Nature Communications* 2016 7 9, 427–428.
- Dong, C., Fischer, L.A., and Theunissen, T.W. (2019). Recent insights into the naïve state of human pluripotency and its applications. *Exp Cell Res* 385, 111645.
- Dorsheimer, L., Assmus, B., Rasper, T., Ortmann, C.A., Ecke, A., Abou-El-Ardat, K., Schmid, T., Brüne, B., Wagner, S., Serve, H., et al. (2019). Association of Mutations Contributing to Clonal Hematopoiesis with Prognosis in Chronic Ischemic Heart Failure. *JAMA Cardiol* 4, 25–33.
- Eich, M., Trumpp, A., and Schmitt, S. (2019). OMIP-059: Identification of Mouse Hematopoietic Stem and Progenitor Cells with Simultaneous Detection of CD45.1/2 and Controllable Green Fluorescent Protein Expression by a Single Staining Panel. *Cytometry A* 95, 1049–1052.
- Eiraku, M., Watanabe, K., Matsuo-Takasaki, M., Kawada, M., Yonemura, S., Matsumura, M., Wataya, T., Nishiyama, A., Muguruma, K., and Sasai, Y. (2008). Self-organized formation of polarized cortical tissues from ESCs and its active manipulation by extrinsic signals. *Cell Stem Cell* 3, 519–532.
- Elanzew, A., Niessing, B., Langendoerfer, D., Rippel, O., Piotrowski, T., Schenk, F., et al. (2020). The StemCellFactory: A Modular System Integration for Automated Generation and Expansion of Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8.
- Engels, L., Olmer, R., la Roche, de, J., Göhring, G., Ulrich, S., Haller, R., Martin, U., and Merkert, S. (2019). Generation of a CFTR knock-in reporter cell line (MHHi006-A-1) from a human induced pluripotent stem cell line. *Stem Cell Res* 40, 101542.
- EuroStemCell.org (2020). eurostemcell.org. Eurostemcell.org.
- Fayomi, A.P., Peters, K., Sukhwani, M., Valli-Pulaski, H., Shetty, G., Meistrich, M.L., Houser, L., Robertson, N., Roberts, V., Ramsey, C., et al. (2019). Autologous grafting of cryopreserved prepubertal rhesus testis produces sperm and offspring. *Science* 363, 1314.
- Flitsch, L. J., & Brüstle, O. (2019). Evolving principles underlying neural lineage conversion and their relevance for biomedical translation. *F1000Research*, 8, 1548.
- Flitsch, L. J., Laupman, K. E., & Bruestle, O. (2020). Transcription Factor-Based Fate Specification and Forward Programming for Neural Regeneration. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 14.
- Fogarty, N.M.E., McCarthy, A., Snijders, K.E., Powell, B.E., Kubikova, N., Blakeley, P., Lea, R., Elder, K., Wamaitha, S.E., Kim, D., et al. (2017). Genome editing reveals a role for OCT4 in human embryogenesis. *Nature* 550, 67–73.
- Frank, S., Ahuja, G., Bartsch, D., Russ, N., Yao, W., Kuo, J.C.-C., Derks, J.-P., Akhade, V.S., Kargapolova, Y., Georgomanolis, T., et al. (2019). *yylncT* Defines a Class of Divergently Transcribed lncRNAs and Safeguards the T-mediated Mesodermal Commitment of Human PSCs. *Cell Stem Cell* 24, 318–327.e318.
- Freeman, M. (2019). Aspen Neuroscience gets funding to pursue personalized cell therapy for Parkinson's disease. *The San Diego Union-Tribune*.
- Fu, T., Coulter, S., Yoshihara, E., Oh, T.G., Fang, S., Cayabyab, F., Zhu, Q., Zhang, T., Leblanc, M., Liu, S., et al. (2019). FXR Regulates Intestinal Cancer Stem Cell Proliferation. *Cell* 176, 1098–1112.e18.
- Gaertner, B., Carrano, A.C., and Sander, M. (2019). Human stem cell models: lessons for pancreatic development and disease. *Genes Dev.* 33, 1475–1490.
- Gao, X., Nowak-Imialek, M., Chen, X., Chen, D., Herrmann, D., Ruan, D., Chen, A.C.H., Eckersley-Maslin, M.A., Ahmad, S., Lee, Y.L., et al. (2019). Establishment of porcine and human expanded potential stem cells. *Nature Cell Biology* 21, 687–699.
- Garita-Hernandez, M., Lampič, M., Chaffiol, A., Guibbal, L., Routet, F., Santos-Ferreira, T., Gasparini, S., Borsch, O., Gagliardi, G., Reichman, S., et al. (2019). Restoration of visual function by transplantation of optogenetically engineered photoreceptors. *Nature Communications* 2016 7 10, 4524–13.

- Gassner, U.M., and Spranger, T.M. (2020). Stammzellen in Forschung und Therapie (Nomos Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG).
- Gell, J.J., and Clark, A.T. (2018). Restoring Fertility with Human Induced Pluripotent Stem Cells: Are We There Yet? *Cell Stem Cell* 23, 777–779.
- Geng, T., Zhang, D., and Jiang, W. (2019). Epigenetic Regulation of Transition Among Different Pluripotent States: Concise Review. *Stem Cells* 37, 1372–1380.
- Gerke, S., Taupitz, J., Wiesemann, C., Kopetzki, C., & Zimmermann, H. (Eds.). (2020). Die klinische Anwendung von humanen induzierten pluripotenten Stammzellen (Vol. 48). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. <http://doi.org/10.1007/978-3-662-59052-2>
- Ghaedi, M., Le, A.V., Hatachi, G., Beloiartsev, A., Rocco, K., Sivaratna, A., Mendez, J.J., Baevova, P., Dyal, R.N., Leiby, K.L., et al. (2018). Bioengineered lungs generated from human iPSCs-derived epithelial cells on native extracellular matrix. *J Tissue Eng Regen Med* 12, e1623–e1635.
- Gill, M.E., and Peters, A.H.F.M. (2018). Toward human egg-like cells in vitro. *Science* 362, 291–292.
- Graf, P., Besser, D., Schickl, H., Mahler, S., Bartfeld, S., Clemens, S., Erb, T., Fangerau, H., Fehse, B., Hampel, J., et al. (2020). White Paper: Organoide – von der Stammzelle zur zukunftsweisenden Technologie (Berlin).
- Greely, H.T. (2019). CRISPR'd babies: human germline genome editing in the 'He Jiankui affair'. *J Law Biosci* 6, 111–183.
- Gu, Q., Yang, X., Lv, J., Zhang, J., Xia, B., Kim, J.-D., Wang, R., Xiong, F., Meng, S., Clements, T.P., et al. (2019). AIBP-mediated cholesterol efflux instructs hematopoietic stem and progenitor cell fate. *Science* 363, 1085–1088.
- Guhr, A., Kobold, S., Seltmann, S., Seiler Wulczyn, A.E.M., Kurtz, A., and Löser, P. (2018). Recent Trends in Research with Human Pluripotent Stem Cells: Impact of Research and Use of Cell Lines in Experimental Research and Clinical Trials. *Stem Cell Reports* 11, 485–496.
- Gupta, N., Dilmen, E., and Morizane, R. (2020). 3.6 3-D-Nierenorganoide für die Translation neuen Wissens vom Labor in die Klinik („bench to bedside“). In *Organoide*, S. Bartfeld, H. Schickl, C. Alev, B.-K. Koo, A. Pichl, A. Osterheider, and L. Marx-Stöltzing, eds. (Baden-Baden: Nomos Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG), pp. 126–130.
- Gupta, R.K., Abdul-Jawad, S., McCoy, L.E., Mok, H.P., Peppas, D., Salgado, M., Martinez-Picado, J., Nijhuis, M., Wensing, A.M.J., Lee, H., et al. (2019). HIV-1 remission following CCR5 Δ 32/ Δ 32 haematopoietic stem-cell transplantation. *Nature* 568, 244–248.
- Gur-Cohen, S., Yang, H., Baksh, S.C., Miao, Y., Levorse, J., Kataru, R.P., Liu, X., la Cruz-Racelis, de, J., Mehrara, B.J., and Fuchs, E. (2019). Stem cell-driven lymphatic remodeling coordinates tissue regeneration. *Science* 366, 1218–1225.
- Güneş, C., Paszkowski-Rogacz, M., Rahmig, S., Khattak, S., Camgöz, A., Wermke, M., Dahl, A., Bornhäuser, M., Waskow, C., and Buchholz, F. (2019). Comparative RNAi Screens in Isogenic Human Stem Cells Reveal SMARCA4 as a Differential Regulator. *Stem Cell Reports* 12, 1084–1098.
- Haas, S., Trumpp, A., and Milsom, M.D. (2018). Causes and Consequences of Hematopoietic Stem Cell Heterogeneity. *Cell Stem Cell* 22, 627–638.
- Hainer, S.J., Bošković, A., McCannell, K.N., Rando, O.J., and Fazzio, T.G. (2019). Profiling of Pluripotency Factors in Single Cells and Early Embryos. *Cell* 177, 1319–1329.e11.
- Halloin, C., Schwanke, K., Löbel, W., Franke, A., Szepes, M., Biswanath, S., Wunderlich, S., Merkert, S., Weber, N., Osten, F., et al. (2019). Continuous WNT Control Enables Advanced hPSC Cardiac Processing and Prognostic Surface Marker Identification in Chemically Defined Suspension Culture. *Stem Cell Reports* 13, 366–379.
- Harnack, C., Berger, H., Antanaviciute, A., Vidal, R., Sauer, S., Simmons, A., Meyer, T.F., and Sigal, M. (2019). R-spondin 3 promotes stem cell recovery and epithelial regeneration in the colon. *Nature Communications* 2016 7 10, 4368–15.

- Hastreiter, S., Skylaki, S., Loeffler, D., Reimann, A., Hilsenbeck, O., Hoppe, P.S., Coutu, D.L., Kokkaliaris, K.D., Schwarzfischer, M., Anastassiadis, K., et al. (2018). Inductive and Selective Effects of GSK3 and MEK Inhibition on Nanog Heterogeneity in Embryonic Stem Cells. *Stem Cell Reports* 11, 58–69.
- Hayashi, R., Ishikawa, Y., Katayama, T., Quantock, A.J., and Nishida, K. (2018). CD200 facilitates the isolation of corneal epithelial cells derived from human pluripotent stem cells. *Sci Rep* 8, 16550–11.
- Henrich, T.J. (2019). Second example reported of a stem-cell transplant in the clinic leading to HIV remission. *Nature* 568, 175–176.
- Hildebrandt, T.B., Hermes, R., Colleoni, S., Diecke, S., Holtze, S., Renfree, M.B., Stejskal, J., Hayashi, K., Drukker, M., Loi, P., et al. (2018). Embryos and embryonic stem cells from the white rhinoceros. *Nature Communications* 2016 7 9, 2589–2589.
- Hodder, M.C., Flanagan, D.J., and Sansom, O.J. (2018). Intestinal Stem Cell Dynamics: A Story of Mice and Humans. *Cell Stem Cell* 22, 785–787.
- hPSC Registry (2020). Human Pluripotency Stem Cell Registry. [Hpsc.org](https://www.hpsc.org).
- Hu, H., Gehart, H., Artegiani, B., López-Iglesias, C., Dekkers, F., Basak, O., van Es, J., Chuva de Sousa Lopes, S.M., Begthel, H., Korving, J., et al. (2018). Long-Term Expansion of Functional Mouse and Human Hepatocytes as 3D Organoids. *Cell* 175, 1591–1606.e19.
- Huang, J., Hume, A.J., Abo, K.M., Werder, R.B., Villacorta-Martin, C., Alysandratos, K.-D., Beermann, M.L., Simone-Roach, C., Lindstrom-Vautrin, J., Olejnik, J., et al. (2020). SARS-CoV-2 Infection of Pluripotent Stem Cell-Derived Human Lung Alveolar Type 2 Cells Elicits a Rapid Epithelial-Intrinsic Inflammatory Response. *Cell Stem Cell*.
- Hütter, G., Nowak, D., Mossner, M., Ganepola, S., Müssig, A., Allers, K., Schneider, T., Hofmann, J., Kücherer, C., Blau, O., et al. (2009). Long-term control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation. *N. Engl. J. Med.* 360, 692–698.
- International Society for Stem Cell Research (2016). Guidelines for Stem Cell Research and Clinical Translation ([isscr.org](https://www.isscr.org)).
- Jacob, F., Pather, S.R., Huang, W.-K., Zhang, F., Wong, S.Z.H., Zhou, H., Cubitt, B., Fan, W., Chen, C.Z., Xu, M., et al. (2020). Human Pluripotent Stem Cell-Derived Neural Cells and Brain Organoids Reveal SARS-CoV-2 Neurotropism Predominates in Choroid Plexus Epithelium. *Cell Stem Cell*.
- Jacome-Galarza, C.E., Percin, G.I., Muller, J.T., Mass, E., Lazarov, T., Eitler, J., Rauner, M., Yadav, V.K., Crozet, L., Bohm, M., et al. (2019). Developmental origin, functional maintenance and genetic rescue of osteoclasts. *Nature* 568, 541–545.
- Jamieson, C.H.M., Millan, M.T., Creasey, A.A., Lomax, G., Donohoe, M.E., Walters, M.C., Abedi, M., Bota, D.A., Zaia, J.A., and Adams, J.S. (2018). CIRN Alpha Stem Cell Clinics: Collaboratively Addressing Regenerative Medicine Challenges. *Cell Stem Cell* 22, 801–805.
- Jia, G., Preussner, J., Chen, X., Guenther, S., Yuan, X., Yekelchik, M., Kuenne, C., Looso, M., Zhou, Y., Teichmann, S., et al. (2018). Single cell RNA-seq and ATAC-seq analysis of cardiac progenitor cell transition states and lineage settlement. *Nature Communications* 2016 7 9, 4877–17.
- Kaiser, J. (2018). Suspect science leads to pause in stem cell trial. *Science* 362, 513–513.
- Kalamakis, G., Brüne, D., Ravichandran, S., Bolz, J., Fan, W., Ziebell, F., Stiehl, T., Catalá-Martinez, F., Kupke, J., Zhao, S., et al. (2019). Quiescence Modulates Stem Cell Maintenance and Regenerative Capacity in the Aging Brain. *Cell* 176, 1407–1419.e1414.
- Kashani, A.H., Lebkowski, J.S., Rahhal, F.M., Avery, R.L., Salehi-Had, H., Dang, W., Lin, C.-M., Mitra, D., Zhu, D., Thomas, B.B., et al. (2018). A bioengineered retinal pigment epithelial monolayer for advanced, dry age-related macular degeneration. *Sci Transl Med* 10, eaao4097.
- Kayisoglu, Ö., Schlegel, N., and Bartfeld, S. (2020). 3.8 Die zelluläre Grenzschicht im Magen-Darm-Trakt und ihre Funktion in der Immunabwehr: Organoide als Modell des gastrointestinalen Epithels. In *Organoide*, S. Bartfeld, H. Schickl, C. Alev, B.-K. Koo, A. Pichl, A. Osterheider, and L. Marx-Stölting, eds. (Baden-Baden: Nomos Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG), pp. 138–148.

- Kilens, S., Meistermann, D., Moreno, D., Chariou, C., Gaignerie, A., Reignier, A., Lelièvre, Y., Casanova, M., Vallot, C., Nedellec, S., et al. (2018). Parallel derivation of isogenic human primed and naive induced pluripotent stem cells. *Nature Communications* 2016 7 9, 360.
- Kim, J., Koo, B.-K., and Knoblich, J.A. (2020). Human organoids: model systems for human biology and medicine. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 21, 571–584.
- Knoepfler, P.S. (2018). Too Much Carrot and Not Enough Stick in New Stem Cell Oversight Trends. *Cell Stem Cell* 23, 18–20.
- Kobold, S., Guhr, A., Mah, N., Bultjer, N., Seltmann, S., Seiler Wulczyn, A.E.M., Stacey, G., Jie, H., Liu, W., Löser, P., et al. (2020). A Manually Curated Database on Clinical Studies Involving Cell Products Derived from Human Pluripotent Stem Cells. *Stem Cell Reports* 15, 546–555.
- Koike, H., Iwasawa, K., Ouchi, R., Maezawa, M., Giesbrecht, K., Saiki, N., Ferguson, A., Kimura, M., Thompson, W.L., Wells, J.M., et al. (2019). Modelling human hepato-biliary-pancreatic organogenesis from the foregut-midgut boundary. *Nature* 574, 112–116.
- Kojima, K., Miyoshi, H., Nagoshi, N., Kohyama, J., Itakura, G., Kawabata, S., Ozaki, M., Iida, T., Sugai, K., Ito, S., et al. (2019). Selective Ablation of Tumorigenic Cells Following Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Neural Stem/Progenitor Cell Transplantation in Spinal Cord Injury. *Stem Cells Transl Med* 8, 260–270.
- Kolundzic, E., Ofenbauer, A., Bulut, S.I., Uyar, B., Baytek, G., Sommermeier, A., Seelk, S., He, M., Hirsekorn, A., Vucicevic, D., et al. (2018). FACT Sets a Barrier for Cell Fate Reprogramming in *Caenorhabditis elegans* and Human Cells. *Developmental Cell* 46, 611–626.e612.
- Koronowski, K.B., Kinouchi, K., Welz, P.-S., Smith, J.G., Zinna, V.M., Shi, J., Samad, M., Chen, S., Magnan, C.N., Kinchen, J.M., et al. (2019). Defining the Independence of the Liver Circadian Clock. *Cell* 177, 1448–1462.e14.
- Kosicki, M., Tomberg, K., and Bradley, A. (2018). Repair of double-strand breaks induced by CRISPR-Cas9 leads to large deletions and complex rearrangements. *Nat Biotechnol* 36, 765–771.
- Krimsky, S. (2019). Ten ways in which He Jiankui violated ethics. *Nat Biotechnol* 37, 19–20.
- Kruger, R.P. (2019). Appreciating What's Unique about Every Stem Cell. *Cell* 177, 1663–1665.
- Lancaster, M.A., and Huch, M. (2019). Disease modelling in human organoids. *Dis Model Mech* 12, dmm039347.
- Lancaster, M.A., Renner, M., Martin, C.-A., Wenzel, D., Bicknell, L.S., Hurles, M.E., Homfray, T., Penninger, J.M., Jackson, A.P., and Knoblich, J.A. (2013). Cerebral organoids model human brain development and microcephaly. *Nature* 501, 373–379.
- Lanza, R., Russell, D.W., and Nagy, A. (2019). Engineering universal cells that evade immune detection. *Nat Rev Immunol* 19, 723–733.
- Laugsch, M., Bartusel, M., Rehim, R., Alirzayeva, H., Karaolidou, A., Crispatsu, G., Zentis, P., Nikolic, M., Bleckwehl, T., Kolovos, P., et al. (2019). Modeling the Pathological Long-Range Regulatory Effects of Human Structural Variation with Patient-Specific hiPSCs. *Cell Stem Cell* 24, 736–752.e12.
- Ledford, H., and Callaway, E. (2020). Pioneers of revolutionary CRISPR gene editing win chemistry Nobel. *Nature* 586, 346–347.
- Lee-Six, H., Øbro, N.F., Shepherd, M.S., Grossmann, S., Dawson, K., Belmonte, M., Osborne, R.J., Huntly, B.J.P., Martincorena, I., Anderson, E., et al. (2018). Population dynamics of normal human blood inferred from somatic mutations. *Nature* 561, 473–478.
- Leeman, D.S., Hebestreit, K., Ruetz, T., Webb, A.E., McKay, A., Pollina, E.A., Dulken, B.W., Zhao, X., Yeo, R.W., Ho, T.T., et al. (2018). Lysosome activation clears aggregates and enhances quiescent neural stem cell activation during aging. *Science* 359, 1277–1283.
- Leins, H., Mulaw, M., Eiwen, K., Sakk, V., Liang, Y., Denking, M., Geiger, H., and Schirmbeck, R. (2018). Aged murine hematopoietic stem cells drive aging-associated immune remodeling. *Blood* 132, 565–576.

- Ledford, H. (2020). CRISPR gene editing in human embryos wreaks chromosomal mayhem. *Nature*, 583, 17–18.
- Lewis, A., Keshara, R., Kim, Y.H., and Grapin-Botton, A. (2020). 3.2 Selbstorganisation von Organoiden aus Entodermzellen. In *Organoide*, S. Bartfeld, H. Schickl, C. Alev, B.-K. Koo, A. Pichl, A. Osterheider, and L. Marx-Stölting, eds. (Baden-Baden: Nomos Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG), pp. 87–96.
- Li, R., Zhong, C., Yu, Y., Liu, H., Sakurai, M., Yu, L., Min, Z., Shi, L., Wei, Y., Takahashi, Y., et al. (2019). Generation of Blastocyst-like Structures from Mouse Embryonic and Adult Cell Cultures. *Cell* 179, 687–702.
- Lim, J.K., Louie, C.Y., Glaser, C., Jean, C., Johnson, B., Johnson, H., McDermott, D.H., and Murphy, P.M. (2008). Genetic deficiency of chemokine receptor CCR5 is a strong risk factor for symptomatic West Nile virus infection: a meta-analysis of 4 cohorts in the US epidemic. *J Infect Dis* 197, 262–265.
- Lindvall, O. (2020). Balancing Expectations for Success in Stem Cell-Based Clinical Trials for Parkinson's Disease. *Cell Stem Cell* 27, 519–522.
- Liu, L., Michowski, W., Kolodziejczyk, A., and Sicinski, P. (2019). The cell cycle in stem cell proliferation, pluripotency and differentiation. *Nature Cell Biology* 21, 1060–1067.
- Liu, Y., Xu, H.W., Wang, L., Li, S.Y., Zhao, C.J., Hao, J., Li, Q.Y., Zhao, T.T., Wu, W., Wang, Y., et al. (2018). Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium transplants as a potential treatment for wet age-related macular degeneration. *Cell Discov* 4, 50–10.
- Loeffler, D., Wehling, A., Schneiter, F., Zhang, Y., Müller-Böttcher, N., Hoppe, P.S., Hilsenbeck, O., Kokkaliaris, K.D., Ende, M., and Schroeder, T. (2019). Asymmetric lysosome inheritance predicts activation of haematopoietic stem cells. *Nature* 573, 426–429.
- Loring, J.F. (2019). Wind-down of stem-cell institute leaves a void. *Nature* 572, 155–155.
- Lorzadeh, N., and Kazemirad, N. (2018). Embryonic Stem Cells and Infertility. *Am J Perinatol* 35, 925–930.
- Ludwig, T.E., Kujak, A., Rauti, A., Andrzejewski, S., Langbehn, S., Mayfield, J., Fuller, J., Yashiro, Y., Hara, Y., and Bhattacharyya, A. (2018). 20 Years of Human Pluripotent Stem Cell Research: It All Started with Five Lines. *Cell Stem Cell* 23, 644–648.
- Ma, H., Marti-Gutierrez, N., Park, S.-W., Wu, J., Lee, Y., Suzuki, K., Koski, A., Ji, D., Hayama, T., Ahmed, R., et al. (2017). Correction of a pathogenic gene mutation in human embryos. *Nature* 548, 413–419.
- Madhusoodanan, J. (2020). A menagerie of stem-cell models. *Nature* 585, 623–624.
- Madl, C.M., Heilshorn, S.C., and Blau, H.M. (2018). Bioengineering strategies to accelerate stem cell therapeutics. *Nature* 557, 335–342.
- Mai, T., Markov, G.J., Brady, J.J., Palla, A., Zeng, H., Sebastiano, V., and Blau, H.M. (2018). NKX3-1 is required for induced pluripotent stem cell reprogramming and can replace OCT4 in mouse and human iPSC induction. *Nature Cell Biology* 20, 900–908.
- Mallapaty, S. (2020). Revealed: two men in China were first to receive pioneering stem-cell treatment for heart disease. *Nature* 581, 249–250.
- Mandai, M., Watanabe, A., Kurimoto, Y., Hirami, Y., Morinaga, C., Daimon, T., Fujihara, M., Akimaru, H., Sakai, N., Shibata, Y., et al. (2017). Autologous Induced Stem-Cell-Derived Retinal Cells for Macular Degeneration. *N. Engl. J. Med.* 376, 1038–1046.
- Manfrin, A., Tabata, Y., Paquet, E.R., Vuaridel, A.R., Rivest, F.R., Naef, F., and Lutolf, M.P. (2019). Engineered signaling centers for the spatially controlled patterning of human pluripotent stem cells. *Nat. Methods* 16, 640–648.
- Manley, N.C., Priest, C.A., Denham, J., Wirth, E.D., and Lebkowski, J.S. (2017). Human Embryonic Stem Cell-Derived Oligodendrocyte Progenitor Cells: Preclinical Efficacy and Safety in Cervical Spinal Cord Injury. *Stem Cells Transl Med* 6, 1917–1929.

- Mariani, S. A., Li, Z., Rice, S., Krieg, C., Frangkogianni, S., Robinson, M., et al. (2019). Pro-inflammatory Aorta-Associated Macrophages Are Involved in Embryonic Development of Hematopoietic Stem Cells. *Immunity* 50, 1439–1452.
- Marques Lopes, J. (2019). With BlueRock Acquisition, Bayer Plans to Open Trial of Cell Therapy for Parkinson's. *Parkinsons News Today*. (<https://parkinsonsnewstoday.com/2019/08/19/bayer-acquires-bluerock-therapeutics-cell-therapy-clinical-trial-in-parkinsons-expected-this-year/>) [22.01.2021]
- Martyn, I., Siggia, E.D., and Brivanlou, A.H. (2019). Mapping cell migrations and fates in a gastruloid model to the human primitive streak. *Development* 146.
- Mattila, J., Kokki, K., Hietakangas, V., and Boutros, M. (2018). Stem Cell Intrinsic Hexosamine Metabolism Regulates Intestinal Adaptation to Nutrient Content. *Developmental Cell* 47, 112–121.e113.
- Maxwell, J.T., and Xu, C. (2018). Stem-Cell-Derived Cardiomyocytes Grow Up: Start Young and Train Harder. *Cell Stem Cell* 22, 790–791.
- McCarthy, N., Kraiczy, J., and Shivdasani, R.A. (2020). Cellular and molecular architecture of the intestinal stem cell niche. *Nature Cell Biology* 22, 1033–1041.
- Menasché, P., Vanneaux, V., Hagège, A., Bel, A., Cholley, B., Parouchev, A., Cacciapuoti, I., Al-Daccak, R., Benhamouda, N., Blons, H., et al. (2018). Transplantation of Human Embryonic Stem Cell-Derived Cardiovascular Progenitors for Severe Ischemic Left Ventricular Dysfunction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 71, 429–438.
- Mende, N., Jolly, A., Percin, G. I., Günther, M., Rostovskaya, M., Krishnan, S. M., et al. (2019). Prospective isolation of nonhematopoietic cells of the niche and their differential molecular interactions with HSCs. *Blood*, 134, 1214–1226.
- Merkert, S., Schubert, M., Olmer, R., Engels, L., Radetzki, S., Veltman, M., Scholte, B.J., Zöllner, J., Pedemonte, N., Galletta, L.J.V., et al. (2019). High-Throughput Screening for Modulators of CFTR Activity Based on Genetically Engineered Cystic Fibrosis Disease-Specific iPSCs. *Stem Cell Reports* 12, 1389–1403.
- Mesa, K.R., Kawaguchi, K., Cockburn, K., Gonzalez, D., Boucher, J., Xin, T., Klein, A.M., and Greco, V. (2018). Homeostatic Epidermal Stem Cell Self-Renewal Is Driven by Local Differentiation. *Cell Stem Cell* 23, 677–686.e4.
- Milanovic, M., Fan, D.N.Y., Belenki, D., Däbritz, J.H.M., Zhao, Z., Yu, Y., Dörr, J.R., Dimitrova, L., Lenze, D., Monteiro Barbosa, I.A., et al. (2018). Senescence-associated reprogramming promotes cancer stemness. *Nature* 553, 96–100.
- Miyagawa, S., Domae, K., Yoshikawa, Y., Fukushima, S., Nakamura, T., Saito, A., Sakata, Y., Hamada, S., Toda, K., Pak, K., et al. (2017). Phase I Clinical Trial of Autologous Stem Cell-Sheet Transplantation Therapy for Treating Cardiomyopathy. *J Am Heart Assoc* 6, e003918.
- Miyamoto, S. (2019). Japan responds: stem-cell therapy justified. *Nature* 569, 40–40.
- Mizuhashi, K., Ono, W., Matsushita, Y., Sakagami, N., Takahashi, A., Saunders, T.L., Nagasawa, T., Kronenberg, H.M., and Ono, N. (2018). Resting zone of the growth plate houses a unique class of skeletal stem cells. *Nature* 563, 254–258.
- Modic, M., Grosch, M., Rot, G., Schirge, S., Lepko, T., Yamazaki, T., Lee, F.C.Y., Rusha, E., Shaposhnikov, D., Palo, M., et al. (2019). Cross-Regulation between TDP-43 and Paraspeckles Promotes Pluripotency-Differentiation Transition. *Mol. Cell* 74, 951–965.e13.
- Mohr, J., Dash, B.P., Schnoeder, T.M., Wolleschak, D., Herzog, C., Tubio Santamaria, N., Weinert, S., Godavarthy, S., Zanetti, C., Naumann, M., et al. (2018). The cell fate determinant Scribble is required for maintenance of hematopoietic stem cell function. *Leukemia* 32, 1211–1221.
- Moll, G., Drzeniek, N., Kamhieh-Milz, J., Geissler, S., Volk, H.-D., and Reinke, P. (2020). MSC Therapies for COVID-19: Importance of Patient Coagulopathy, Thromboprophylaxis, Cell Product Quality and Mode of Delivery for Treatment Safety and Efficacy. *Front Immunol* 11, 1091.
- Mullard, A. (2020). CRISPR pioneers win Nobel prize. *Nat Rev Drug Discov*.

- Nair, G.G., Liu, J.S., Russ, H.A., Tran, S., Saxton, M.S., Chen, R., Juang, C., Li, M.-L., Nguyen, V.Q., Giacometti, S., et al. (2019). Recapitulating endocrine cell clustering in culture promotes maturation of human stem-cell-derived β cells. *Nature Cell Biology* 21, 263–274.
- Nakahara, F., Borger, D.K., Wei, Q., Pinho, S., Maryanovich, M., Zahalka, A.H., Suzuki, M., Cruz, C.D., Wang, Z., Xu, C., et al. (2019). Engineering a haematopoietic stem cell niche by revitalizing mesenchymal stromal cells. *Nature Cell Biology* 21, 560–567.
- Nanki, K., Toshimitsu, K., Takano, A., Fujii, M., Shimokawa, M., Ohta, Y., Matano, M., Seino, T., Nishikori, S., Ishikawa, K., et al. (2018). Divergent Routes toward Wnt and R-spondin Niche Independency during Human Gastric Carcinogenesis. *Cell* 174, 856–869.e17.
- National Institutes of Health (2020). NIH Human Embryonic Stem Cell Registry. Grants.Nih.Gov.
- Neehus, A.-L., Lam, J., Haake, K., Merkert, S., Schmidt, N., Mucci, A., Ackermann, M., Schubert, M., Happle, C., Kühnel, M.P., et al. (2018). Impaired IFN γ -Signaling and Mycobacterial Clearance in IFN γ R1-Deficient Human iPSC-Derived Macrophages. *Stem Cell Reports* 10, 7–16.
- Neuhaus, N., and Schlatt, S. (2019). Stem cell-based options to preserve male fertility. *Science* 363, 1283–1284.
- Newton, P.T., Li, L., Zhou, B., Schweingruber, C., Hovorakova, M., Xie, M., Sun, X., Sandhow, L., Artemov, A.V., Ivashkin, E., et al. (2019). A radical switch in clonality reveals a stem cell niche in the epiphyseal growth plate. *Nature* 567, 234–238.
- Nicholson, A.M., Olpe, C., Hoyle, A., Thorsen, A.-S., Rus, T., Colombé, M., Brunton-Sim, R., Kemp, R., Marks, K., Quirke, P., et al. (2018). Fixation and Spread of Somatic Mutations in Adult Human Colonic Epithelium. *Cell Stem Cell* 22, 909–918.e8.
- Nicolas, P., Etoc, F., and Brivanlou, A.H. (2020). 5. Zur Ethik menschlicher Embryoidmodelle: die Schaffung einer konsistenten gesellschaftlichen Vereinbarung. In *Organoide*, S. Bartfeld, H. Schickl, C. Alev, B.-K. Koo, A. Pichl, A. Osterheider, and L. Marx-Stölting, eds. (Baden-Baden: Nomos Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG), pp. 171–189.
- Nogrady, B. (2019). Stem-cell and genetic therapies make a healthy marriage. *Nature* 569, S23–S25.
- Ntemou, E., Kadam, P., Van Saen, D., Wistuba, J., Mitchell, R.T., Schlatt, S., and Goossens, E. (2019). Complete spermatogenesis in intratesticular testis tissue xenotransplants from immature non-human primate. *Hum Reprod* 34, 403–413.
- Obernier, K., Cebrian-Silla, A., Thomson, M., Parraguez, J.I., Anderson, R., Guinto, C., Rodas Rodriguez, J., Garcia-Verdugo, J.M., and Alvarez-Buylla, A. (2018). Adult Neurogenesis Is Sustained by Symmetric Self-Renewal and Differentiation. *Cell Stem Cell* 22, 221–234.e228.
- Olmer, R., Engels, L., Usman, A., Menke, S., Malik, M.N.H., Pessler, F., Göhring, G., Bornhorst, D., Bolten, S., Abdelilah-Seyfried, S., et al. (2018). Differentiation of Human Pluripotent Stem Cells into Functional Endothelial Cells in Scalable Suspension Culture. *Stem Cell Reports* 10, 1657–1672.
- Ortmann, C.A., Dorsheimer, L., Abou-El-Ardat, K., Hoffrichter, J., Assmus, B., Bonig, H., Scholz, A., Pfeifer, H., Martin, H., Schmid, T., et al. (2019). Functional Dominance of CHIP-Mutated Hematopoietic Stem Cells in Patients Undergoing Autologous Transplantation. *Cell Rep* 27, 2022–2028.e2023.
- Ou, J., Ball, J.M., Luan, Y., Zhao, T., Miyagishima, K.J., Xu, Y., Zhou, H., Chen, J., Merriman, D.K., Xie, Z., et al. (2018). iPSCs from a Hibernator Provide a Platform for Studying Cold Adaptation and Its Potential Medical Applications. *Cell* 173, 851–863.e16.
- Paczulla, A.M., Rothfelder, K., Raffel, S., Konantz, M., Steinbacher, J., Wang, H., Tandler, C., Mbarga, M., Schaefer, T., Falcone, M., et al. (2019). Absence of NKG2D ligands defines leukaemia stem cells and mediates their immune evasion. *Nature* 572, 254–259.
- Palii, C.G., Cheng, Q., Gillespie, M.A., Shannon, P., Mazurczyk, M., Napolitani, G., Price, N.D., Ranish, J.A., Morrissey, E., Higgs, D.R., et al. (2019). Single-Cell Proteomics Reveal that Quantitative Changes in Co-expressed Lineage-Specific Transcription Factors Determine Cell Fate. *Cell Stem Cell* 24, 812–820.e815.
- Papadimitriou, C., Celikkaya, H., Cosacak, M.I., Mashkaryan, V., Bray, L., Bhattarai, P., Brandt, K., Hollak, H., Chen, X., He, S., et al. (2018). 3D Culture Method for Alzheimer's Disease Modeling Reveals

- Interleukin-4 Rescues A β 42-Induced Loss of Human Neural Stem Cell Plasticity. *Developmental Cell* 46, 85–101.e88.
- Parmar, M., Grealish, S., & Henchcliffe, C. (2020). The future of stem cell therapies for Parkinson disease. *Nature Reviews. Neuroscience* 21, 103–115.
- Peng, Y.-J., Huang, X., and Zhou, Q. (2020). Ethical and Policy Considerations for Human Embryo and Stem Cell Research in China. *Cell Stem Cell* 27, 511–514.
- Percin, G. I., Eitler, J., Kranz, A., Fu, J., Pollard, J. W., Naumann, R., & Waskow, C. (2018). CSF1R regulates the dendritic cell pool size in adult mice via embryo-derived tissue-resident macrophages. *Nature Communications* 9, 5279–12.
- Pfeiffer, M.J., Quaranta, R., Piccini, I., Fell, J., Rao, J., Röpke, A., Seebohm, G., and Greber, B. (2018). Cardiogenic programming of human pluripotent stem cells by dose-controlled activation of EOMES. *Nature Communications* 9, 440–448.
- Piragyte, I., Clapes, T., Polyzou, A., Klein Geltink, R.I., Lefkopoulos, S., Yin, N., Cauchy, P., Curtis, J.D., Klacyle, L., Langa, X., et al. (2018). A metabolic interplay coordinated by HLX regulates myeloid differentiation and AML through partly overlapping pathways. *Nature Communications* 9, 3090–17.
- Preussner, J., Zhong, J., Looso, M., Braun, T., and Kim, J. (2019). Connect-four: genomic analyses of regenerating stem cells identifies zygotic Dux factors as tumor initiators. *Mol Cell Oncol* 6, 1565469.
- Preussner, J., Zhong, J., Sreenivasan, K., Günther, S., Engleitner, T., Künne, C., Glatzel, M., Rad, R., Looso, M., Braun, T., et al. (2018). Oncogenic Amplification of Zygotic Dux Factors in Regenerating p53-Deficient Muscle Stem Cells Defines a Molecular Cancer Subtype. *Cell Stem Cell* 23, 794–805.e794.
- Rajan, V., and Berman, J.N. (2019). Fats enhance stem cell emergence. *Science* 363, 1041–1042.
- Rajewsky, N., Almouzni, G., Gorski, S.A., Aerts, S., Amit, I., Bertero, M.G., Bock, C., Bredenoord, A.L., Cavalli, G., Chiocca, S., et al. (2020). LifeTime and improving European healthcare through cell-based interceptive medicine. *Nature* 587, 377–386.
- Reardon, S. (2020). Can lab-grown brains become conscious? *Nature* 586, 658–661.
- Regalado, A. (2019a). China's CRISPR babies: Read exclusive excerpts from the unseen original research. MIT Technology Review (<https://www.technologyreview.com/2019/12/03/131752/chinas-crispr-babies-read-exclusive-excerpts-he-jiankui-paper/>) [21.01.2021]
- Regalado, A. (2019b). He Jiankui faces three years in prison for CRISPR babies. MIT Technology Review 122, 70-75
- Riesenberg, S., and Maricic, T. (2018). Targeting repair pathways with small molecules increases precise genome editing in pluripotent stem cells. *Nature Communications* 2016 7 9, 2164–2169.
- Riva, L., Campanozzi, L., Vitali, M., Ricci, G., and Tambone, V. (2019). Unproven stem cell therapies: is it my right to try? *Ann Ist Super Sanita* 55, 179–185.
- Rivron, N.C., Frias-Aldeguer, J., Vrij, E.J., Boisset, J.-C., Korving, J., Vivié, J., Truckenmüller, R.K., van Oudenaarden, A., van Blitterswijk, C.A., and Geijsen, N. (2018a). Blastocyst-like structures generated solely from stem cells. *Nature* 557, 106–111.
- Rivron, N., Pera, M., Rossant, J., Martinez Arias, A., Zernicka-Goetz, M., Fu, J., van den Brink, S., Bredenoord, A., Dondorp, W., de Wert, G., et al. (2018b). Debate ethics of embryo models from stem cells. *Nature* 564, 183–185.
- Rodriguez-Fernandez, I.A., Qi, Y., and Jasper, H. (2019). Loss of a proteostatic checkpoint in intestinal stem cells contributes to age-related epithelial dysfunction. *Nature Communications* 2016 7 10, 1050–15.
- Rodriguez-Fraticelli, A.E., Wolock, S.L., Weinreb, C.S., Panero, R., Patel, S.H., Jankovic, M., Sun, J., Calogero, R.A., Klein, A.M., and Camargo, F.D. (2018). Clonal analysis of lineage fate in native haematopoiesis. *Nature* 553, 212–216.

- Rodriguez-Terrones, D., Gaume, X., Ishiuchi, T., Weiss, A., Kopp, A., Kruse, K., Penning, A., Vaquerizas, J.M., Brino, L., and Torres-Padilla, M.-E. (2018). A molecular roadmap for the emergence of early-embryonic-like cells in culture. *Nat. Genet.* 50, 106–119.
- Roefs, M.T., Sluijter, J.P.G., and Vader, P. (2020). Extracellular Vesicle-Associated Proteins in Tissue Repair. *Trends Cell Biol.*
- Ronaldson-Bouchard, K., Ma, S.P., Yeager, K., Chen, T., Song, L., Sirabella, D., Morikawa, K., Teles, D., Yazawa, M., and Vunjak-Novakovic, G. (2018). Advanced maturation of human cardiac tissue grown from pluripotent stem cells. *Nature* 556, 239–243.
- Saçma, M., Pospiech, J., Bogeska, R., de Back, W., Mallm, J.P., Sakk, V., Soller, K., Marka, G., Vollmer, A., Karns, R., et al. (2019). Haematopoietic stem cells in perisinusoidal niches are protected from ageing. *Nature Cell Biology* 21, 1309–1320.
- Sato, T., Vries, R.G., Snippert, H.J., van de Wetering, M., Barker, N., Stange, D.E., van Es, J.H., Abo, A., Kujala, P., Peters, P.J., et al. (2009). Single Lgr5 stem cells build crypt-villus structures in vitro without a mesenchymal niche. *Nature* 459, 262–265.
- Sato, Y., Bando, H., Di Piazza, M., Gowing, G., Herberts, C., Jackman, S., Leoni, G., Libertini, S., MacLachlan, T., McBlane, J.W., et al. (2019). Tumorigenicity assessment of cell therapy products: The need for global consensus and points to consider. *Cytotherapy* 21, 1095–1111.
- Schutgens, F., and Clevers, H. (2020). Human Organoids: Tools for Understanding Biology and Treating Diseases. *Annu Rev Pathol* 15, 211–234.
- Schutgens, F., Rookmaaker, M.B., Margaritis, T., Rios, A., Ammerlaan, C., Jansen, J., Gijzen, L., Vormann, M., Vonk, A., Viveen, M., et al. (2019). Tubuloids derived from human adult kidney and urine for personalized disease modeling. *Nat Biotechnol* 37, 303–313.
- Schwartz, S.D., Regillo, C.D., Lam, B.L., Elliott, D., Rosenfeld, P.J., Gregori, N.Z., Hubschman, J.-P., Davis, J.L., Heilwell, G., Spirm, M., et al. (2015). Human embryonic stem cell-derived retinal pigment epithelium in patients with age-related macular degeneration and Stargardt's macular dystrophy: follow-up of two open-label phase 1/2 studies. *Lancet* 385, 509–516.
- Seino, T., Kawasaki, S., Shimokawa, M., Tamagawa, H., Toshimitsu, K., Fujii, M., Ohta, Y., Matano, M., Nanki, K., Kawasaki, K., et al. (2018). Human Pancreatic Tumor Organoids Reveal Loss of Stem Cell Niche Factor Dependence during Disease Progression. *Cell Stem Cell* 22, 454–467.e456.
- Seltmann, S., Lekschas, F., Müller, R., Stachelscheid, H., Bittner, M.-S., Zhang, W., Kidane, L., Seriola, A., Veiga, A., Stacey, G., et al. (2016). hPSCreg--the human pluripotent stem cell registry. *Nucleic Acids Research* 44, D757–D763.
- Servick, K. (2019). Ballot initiative takes shape to give California stem cell agency a second life. *Science*.
- Shahbazi, M.N., and Zernicka-Goetz, M. (2018). Deconstructing and reconstructing the mouse and human early embryo. *Nature Cell Biology* 20, 878–887.
- Shahbazi, M.N., Siggia, E.D., and Zernicka-Goetz, M. (2019). Self-organization of stem cells into embryos: A window on early mammalian development. *Science* 364, 948–951.
- Sharma, R., Khristov, V., Rising, A., Jha, B.S., Dejene, R., Hotaling, N., Li, Y., Stoddard, J., Stankewicz, C., Wan, Q., et al. (2019a). Clinical-grade stem cell-derived retinal pigment epithelium patch rescues retinal degeneration in rodents and pigs. *Sci Transl Med* 11, eaat5580.
- Sharma, S., Wistuba, J., Pock, T., Schlatt, S., and Neuhaus, N. (2019b). Spermatogonial stem cells: updates from specification to clinical relevance. *Hum Reprod Update* 25, 275–297.
- Sharon, N., Chawla, R., Mueller, J., Vanderhooff, J., Whitehorn, L.J., Rosenthal, B., Gürtler, M., Estambouli, R.R., Shvartsman, D., Gifford, D.K., et al. (2019). A Peninsular Structure Coordinates Asynchronous Differentiation with Morphogenesis to Generate Pancreatic Islets. *Cell* 176, 790–804.e13.
- Sheng, C., Jungverdorben, J., Wiethoff, H., Lin, Q., Flitsch, L.J., Eckert, D., Heibisch, M., Fischer, J., Kesavan, J., Weykopf, B., et al. (2018). A stably self-renewing adult blood-derived induced neural stem cell exhibiting patternability and epigenetic rejuvenation. *Nature Communications* 2016 7 9, 4047–15.

- Shim, S.H., Kim, G., Lee, D.R., Lee, J.E., Kwon, H.J., and Song, W.K. (2017). Survival of Transplanted Human Embryonic Stem Cell-Derived Retinal Pigment Epithelial Cells in a Human Recipient for 22 Months. *JAMA Ophthalmol* 135, 287–289.
- Sigal, M., Reines, M.D.M., Müllerke, S., Fischer, C., Kapalczynska, M., Berger, H., Bakker, E.R.M., Mollenkopf, H.-J., Rothenberg, M.E., Wiedenmann, B., et al. (2019). R-spondin-3 induces secretory, antimicrobial Lgr5+ cells in the stomach. *Nature Cell Biology* 21, 812–823.
- Simunovic, M., Metzger, J.J., Etoc, F., Yoney, A., Ruzo, A., Martyn, I., Croft, G., You, D.S., Brivanlou, A.H., and Siggia, E.D. (2019). A 3D model of a human epiblast reveals BMP4-driven symmetry breaking. *Nature Cell Biology* 21, 900–910.
- Sipp, D., Munsie, M., and Sugarman, J. (2018). Emerging stem cell ethics. *Science* 360, 1275–1275.
- Sipp, D., Turner, L., and Rasko, J.E.J. (2019). Stem Cell Businesses and Right to Try Laws. *Cell Stem Cell* 25, 304–305.
- Sneddon, J.B., Tang, Q., Stock, P., Bluestone, J.A., Roy, S., Desai, T., and Hebrok, M. (2018). Stem Cell Therapies for Treating Diabetes: Progress and Remaining Challenges. *Cell Stem Cell* 22, 810–823.
- Sommer, A., Marxreiter, F., Krach, F., Fadler, T., Grosch, J., Maroni, M., Graef, D., Eberhardt, E., Riemenschneider, M.J., Yeo, G.W., et al. (2018). Th17 Lymphocytes Induce Neural Cell Death in a Human iPSC-Based Model of Parkinson's Disease. *Cell Stem Cell* 23, 123–131.e126.
- Sougawa, N., Miyagawa, S., Fukushima, S., Kawamura, A., Yokoyama, J., Ito, E., Harada, A., Okimoto, K., Mochizuki-Oda, N., Saito, A., et al. (2018). Immunologic targeting of CD30 eliminates tumorigenic human pluripotent stem cells, allowing safer clinical application of hiPSC-based cell therapy. *Sci Rep* 8, 3726–12.
- Sozen, B., Amadei, G., Cox, A., Wang, R., Na, E., Czukiewska, S., Chappell, L., Voet, T., Michel, G., Jing, N., et al. (2018). Self-assembly of embryonic and two extra-embryonic stem cell types into gastrulating embryo-like structures. *Nature Cell Biology* 20, 979–989.
- Sozen, B., Cox, A.L., De Jonghe, J., Bao, M., Hollfelder, F., Glover, D.M., and Zernicka-Goetz, M. (2019). Self-Organization of Mouse Stem Cells into an Extended Potential Blastoid. *Developmental Cell* 51, 698–712.e698.
- Stevens, K.R., and Murry, C.E. (2018). Human Pluripotent Stem Cell-Derived Engineered Tissues: Clinical Considerations. *Cell Stem Cell* 22, 294–297.
- Su, Y., Zhu, J., Salman, S., and Tang, Y. (2020). The Induced Pluripotent Stem Cells from Farm Animals. *J Anim Sci*.
- Tabula Muris Consortium, Overall coordination, Logistical coordination, Organ collection and processing, Library preparation and sequencing, Computational data analysis, Cell type annotation, Writing group, Supplemental text writing group, Principal investigators (2018). Single-cell transcriptomics of 20 mouse organs creates a Tabula Muris. *Nature* 562, 367–372.
- Tachibana, C.Y. (2018). Stem-cell culture moves to the third dimension. *Nature* 558, 329–331.
- Takahashi, K., and Yamanaka, S. (2006). Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126, 663–676.
- Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., and Yamanaka, S. (2007). Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131, 861–872.
- Takahashi, S., Kobayashi, S., and Hiratani, I. (2018). Epigenetic differences between naïve and primed pluripotent stem cells. *Cell Mol Life Sci* 75, 1191–1203.
- Takahashi, S., Miura, H., Shibata, T., Nagao, K., Okumura, K., Ogata, M., Obuse, C., Takebayashi, S.-I., and Hiratani, I. (2019). Genome-wide stability of the DNA replication program in single mammalian cells. *Nat. Genet.* 51, 529–540.
- Tanaka, Y., and Park, I.-H. (2020). 3.5 Hirnorganoide vom gesamten Gehirn oder von spezifischen Hirnregionen und deren mögliche Anwendungen. In *Organoide*, S. Bartfeld, H. Schickl, C. Alev, B.-K.

- Koo, A. Pichl, A. Osterheider, and L. Marx-Stölting, eds. (Baden-Baden: Nomos Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG), pp. 116–125.
- Thier, M.C., Hommerding, O., Panten, J., Pinna, R., García-González, D., Berger, T., Wörsdörfer, P., Assenov, Y., Scognamiglio, R., Przybylla, A., et al. (2019). Identification of Embryonic Neural Plate Border Stem Cells and Their Generation by Direct Reprogramming from Adult Human Blood Cells. *Cell Stem Cell* 24, 166–182.e13.
- Thomson, J.A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S.S., Waknitz, M.A., Swiergiel, J.J., Marshall, V.S., and Jones, J.M. (1998). Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 282, 1145–1147.
- Tosic, M., Allen, A., Willmann, D., Lepper, C., Kim, J., Duteil, D., and Schüle, R. (2018). Lsd1 regulates skeletal muscle regeneration and directs the fate of satellite cells. *Nature Communications* 2016 7 9, 366–14.
- Trujillo, C.A., Gao, R., Negraes, P.D., Gu, J., Buchanan, J., Preissl, S., Wang, A., Wu, W., Haddad, G.G., Chaim, I.A., et al. (2019). Complex Oscillatory Waves Emerging from Cortical Organoids Model Early Human Brain Network Development. *Cell Stem Cell* 25, 558–569.e7.
- Tsiapalis, D., and O'Driscoll, L. (2020). Mesenchymal Stem Cell Derived Extracellular Vesicles for Tissue Engineering and Regenerative Medicine Applications. *Cells* 9, 991.
- Turner, L. (2020). Preying on Public Fears and Anxieties in a Pandemic: Businesses Selling Unproven and Unlicensed “Stem Cell Treatments” for COVID-19. *Cell Stem Cell* 26, 806–810.
- UK Stem Cell Bank/NIBSC (2020). Cell Lines Catalog. [Nibsc.org](http://nibsc.org).
- van Velthoven, C.T.J., and Rando, T.A. (2019). Stem Cell Quiescence: Dynamism, Restraint, and Cellular Idling. *Cell Stem Cell* 24, 213–225.
- Velychko, S., Adachi, K., Kim, K.-P., Hou, Y., MacCarthy, C.M., Wu, G., and Schoeler, H.R. (2019a). Excluding Oct4 from Yamanaka Cocktail Unleashes the Developmental Potential of iPSCs. *Cell Stem Cell* 25, 737–753.e4.
- Velychko, S., Kang, K., Kim, S.M., Kwak, T.H., Kim, K.-P., Park, C., Hong, K., Chung, C., Hyun, J.K., MacCarthy, C.M., et al. (2019b). Fusion of Reprogramming Factors Alters the Trajectory of Somatic Lineage Conversion. *Cell Rep* 27, 30–39.e34.
- Villeda, S., Hsu, Y.-C., Rivron, N., & Sato, T. (2019). Developing a Niche in Stem Cell Biology. *Cell*, 177, 1670–1671.
- Volk, H.-D., Reinke, P., Hoerstrup, S., Gaskell, T., Marx, U., Ofir, R., Apel, M., Bennaceur-Griscelli, A., Dessole, G., Benvenuti, S., et al. (2020). RESTORE Position Paper. (https://www.restore-horizon.eu/wp-content/uploads/2020/10/RESTORE_PP_2020.pdf) [22.01.2021]
- Walter, J., and Schickl, H. (2019). Einzelzellanalyse in Forschung und Medizin. *Gentechnologiebericht*.
- Weinreb, C., Rodriguez-Fraticelli, A., Camargo, F.D., and Klein, A.M. (2020). Lineage tracing on transcriptional landscapes links state to fate during differentiation. *Science* 367, eaaw3381.
- Welz, P.-S., Zinna, V.M., Symeonidi, A., Koronowski, K.B., Kinouchi, K., Smith, J.G., Guillén, I.M., Castellanos, A., Furrow, S., Aragón, F., et al. (2019). BMAL1-Driven Tissue Clocks Respond Independently to Light to Maintain Homeostasis. *Cell* 177, 1436–1447.e12.
- Wilkinson, A.C., Ishida, R., Kikuchi, M., Sudo, K., Morita, M., Crisostomo, R.V., Yamamoto, R., Loh, K.M., Nakamura, Y., Watanabe, M., et al. (2019). Long-term ex vivo haematopoietic-stem-cell expansion allows nonconditioned transplantation. *Nature* 571, 117–121.
- Wu, Y., Zeng, J., Roscoe, B.P., Liu, P., Yao, Q., Lazzarotto, C.R., Clement, K., Cole, M.A., Luk, K., Baricordi, C., et al. (2019). Highly efficient therapeutic gene editing of human hematopoietic stem cells. *Nat Med* 25, 776–783.
- Wuelling, M., and Vortkamp, A. (2019). A newly discovered stem cell that keeps bones growing. *Nature* 567, 178–179.

- Wüst, S., Dröse, S., Heidler, J., Wittig, I., Klockner, I., Franko, A., Bonke, E., Günther, S., Gärtner, U., Boettger, T., et al. (2018). Metabolic Maturation during Muscle Stem Cell Differentiation Is Achieved by miR-1/133a-Mediated Inhibition of the Dlk1-Dio3 Mega Gene Cluster. *Cell Metab.* 27, 1026–1039.e1026.
- Xu, H., Wang, B., Ono, M., Kagita, A., Fujii, K., Sasakawa, N., Ueda, T., Gee, P., Nishikawa, M., Nomura, M., et al. (2019a). Targeted Disruption of HLA Genes via CRISPR-Cas9 Generates iPSCs with Enhanced Immune Compatibility. *Cell Stem Cell* 24, 566–578.e567.
- Xu, L., Wang, J., Liu, Y., Xie, L., Su, B., Mou, D., Wang, L., Liu, T., Wang, X., Zhang, B., et al. (2019b). CRISPR-Edited Stem Cells in a Patient with HIV and Acute Lymphocytic Leukemia. *N. Engl. J. Med.* 381, 1240–1247.
- Yamanaka, S. (2020). Pluripotent Stem Cell-Based Cell Therapy-Promise and Challenges. *Cell Stem Cell* 27, 523–531.
- Yamashiro, C., Sasaki, K., Yabuta, Y., Kojima, Y., Nakamura, T., Okamoto, I., Yokobayashi, S., Murase, Y., Ishikura, Y., Shirane, K., et al. (2018). Generation of human oogonia from induced pluripotent stem cells in vitro. *Science* 362, 356–360.
- Yang, L., Han, Y., Nilsson-Payant, B.E., Gupta, V., Wang, P., Duan, X., Tang, X., Zhu, J., Zhao, Z., Jaffré, F., et al. (2020). A Human Pluripotent Stem Cell-based Platform to Study SARS-CoV-2 Tropism and Model Virus Infection in Human Cells and Organoids. *Cell Stem Cell* 27, 125–136.e127.
- Yu, J., Vodyanik, M.A., Smuga-Otto, K., Antosiewicz-Bourget, J., Frane, J.L., Tian, S., Nie, J., Jonsdottir, G.A., Ruotti, V., Stewart, R., et al. (2007). Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 318, 1917–1920.
- Zenke, M., and und Andere (2018). *Stammzellforschung* (Baden-Baden: Nomos Verlagsgesellschaft mbH & Co. KG).
- Zhan, T., Ambrosi, G., Wandmacher, A.M., Rauscher, B., Betge, J., Rindtorff, N., Häussler, R.S., Hinsenkamp, I., Bamberg, L., Hessling, B., et al. (2019). MEK inhibitors activate Wnt signalling and induce stem cell plasticity in colorectal cancer. *Nature Communications* 2016 7 10, 2197–17.
- Ziebell, F., Dehler, S., Martin-Villalba, A., and Marciniak-Czochra, A. (2018). Revealing age-related changes of adult hippocampal neurogenesis using mathematical models. *Development* 145, dev153544.
- Zywitzka, V., Misios, A., Bunatyan, L., Willnow, T.E., and Rajewsky, N. (2018). Single-Cell Transcriptomics Characterizes Cell Types in the Subventricular Zone and Uncover Molecular Defects Impairing Adult Neurogenesis. *Cell Rep* 25, 2457–2469.e2458.
- (2018). Stem-cell tests must show success. *Nature* 557, 611–612.