

## Präklinische Stammzellforschung

# Gute Modelle gefragt

*Bevor stammzellbasierte Therapien an Patienten getestet werden, müssen sie zunächst in der präklinischen Entwicklungsphase ausgiebig erforscht werden. Experimente an geeigneten Tiermodellen sind hier unverzichtbar. Denn nicht alle Vorgänge im Körper lassen sich im Reagenzglas oder auf dem Computer simulieren. Doch Stammzelltech-*

*nologien können in der Arzneimittelentwicklung auch dabei helfen, Tierversuche zu reduzieren. Zellkulturen, die mithilfe von pluripotenten Stammzellen hergestellt werden, ermöglichen frühzeitige toxikologische Tests. Mithilfe von Multi-Organ-Chips lässt sich womöglich bald der Mensch im Miniaturformat untersuchen.*

*Angefärbte  
Gesichtsmuskulatur  
der Maus*



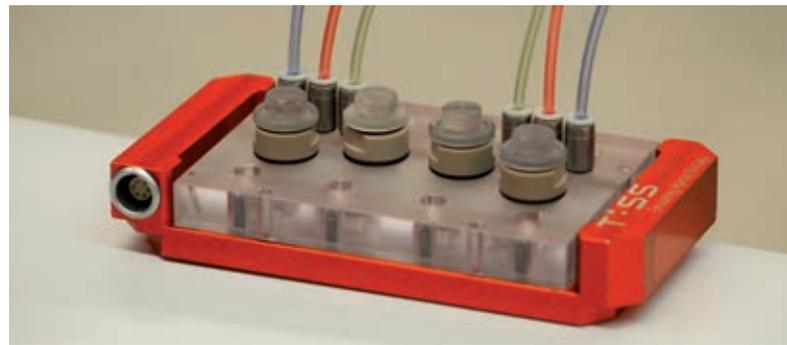
**W**er Zellen als Arzneimittel einsetzen will, hat es mit hochkomplexen, lebenden biologischen Systemen zu tun – das macht den Umgang mit ihnen zu einer besonderen Herausforderung. Auf dem Weg in eine klinische Anwendung beim Menschen müssen Sicherheitsprofil und Wirkungsmechanismus der Zellpräparate in lebenden Organismen eingehend geprüft werden. Tierversuche, auch wenn sie die gesellschaftliche Debatte polarisieren, bleiben für die biomedizinische Forschung und Anwendung auf absehbare Zeit unverzichtbar. Denn nicht alle Vorgänge im Körper lassen sich im Reagenzglas oder auf dem Computer simulieren.

Gerade für die innovativen Zelltherapeutika gilt: sie unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Pharmakologie und Toxikologie grundlegend von den konventionellen pharmazeutischen Wirkstoffen. Für die Entwickler von zellbasierten Arzneien bedeutet das, für das eigene Produkt individuelle Konzepte zu entwickeln, damit sie den Behörden überzeugende Daten liefern können.

#### Kleintiermodelle nur eingeschränkt aussagekräftig

Doch welches Tiermodell eignet sich am besten, liefert Ergebnisse mit der größten Aussagekraft? Die Zulassungsbehörden favorisieren sogenannte homologe Tiermodelle. Das heißt: Die therapeutische Wirkung von Zellen einer Spezies wird auch in einem entsprechenden Krankheitsmodell untersucht, zum Beispiel Rattenzellen in Ratten mit einem Herzinfarkt. In anderen Fällen sind auch „heterologe“ Modelle denkbar – wenn etwa humane Zelltypen in Nagetiere mit einem abgedämpften Immunsystem oder „humanisierte“ Tiere transplantiert werden, damit es nicht zu Abstoßungsreaktionen kommt.

Kleintiermodelle – vor allem Nager wie Ratte und Maus – werden insbesondere für frühe Machbarkeitsstudien eingesetzt. „In späteren Entwicklungsphasen kommt man an geeigneten Großtiermodellen wie Schafen oder Minischweinen aber nicht vorbei“, sagt Thomas Braun, Direktor am Max-Planck-Institut für Herz- und Lungenforschung in Bad Nauheim. Der Entwicklungsbiologe ist rein



Dieser Vier-Organ-Chip besteht aus einem Darm-, Leber-, Niere- und einem Haut-Modul.

in der biomedizinischen Grundlagenforschung aktiv und erforscht Muskelstammzellen und die Regeneration des Herzmuskels. Mäuse zählen zu seinen wichtigsten Studienobjekten.

#### Erheblicher Mehraufwand durch neue Auflagen

Nach den Zahlen des Bundeslandwirtschaftsministeriums wurden 2014 2,8 Millionen Tiere in wissenschaftlichen Studien verwendet, 870.000 davon in der Grundlagenforschung, 330.000 in der translationalen Forschung. Insgesamt ist die Zahl der Versuchstiere leicht gesunken, die Zahl der transgenen Nagetiere geht jedoch weiter nach oben – dieser Trend ist dem stetig wachsenden Einsatz der Gentechnologie geschuldet.

Durch die neue EU-Richtlinie zum Schutz der für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Tiere wurde das deutsche Tierschutzgesetz angepasst. 2013 trat es in Kraft. Mit spürbaren Konsequenzen: „Der Aufwand für die Genehmigung von Tierversuchen hat sich seither drastisch erhöht“, sagt Braun. „Ob Maus oder Zebrafisch, wir müssen nun jeden einzelnen transgenen Stamm hinsichtlich einer möglichen Belastung bewerten und gegebenenfalls eine Tierversuchsgenehmigung bei den Behörden einholen“. Da auch Zuchttiere in diese Betrachtung einfließen, bedeuten die Dokumentationspflichten insgesamt einen erheblichen

## Deutsches Krebsforschungszentrum (DKFZ)

Forschen für ein Leben ohne Krebs

Das Deutsche Krebsforschungszentrum (DKFZ) in Heidelberg, eine Einrichtung der Helmholtz-Gemeinschaft, ist die größte biomedizinische Forschungseinrichtung in Deutschland.

Über 1000 Wissenschaftler erforschen, wie Krebs entsteht, erfassen Risikofaktoren und entwickeln neue Methoden für Prävention, Diagnose und Therapie von Krebserkrankungen. Mehrere Arbeitsgruppen, befassen sich mit normalen Stammzellen, Krebsstammzellen oder der Stammzellnische. Ziel ist es, die Ausgangszellen von Tumoren und Metastasen zu

identifizieren und gezielt zu vernichten. Gemeinsam mit der Dietmar Hopp Stiftung ist das DKFZ Gesellschafter des Heidelberger Stammzellinstituts HI-STEM gGmbH und richtet alle zwei Jahre das internationale Heinrich Behr-Symposium zu „Stammzellen und Krebs“ aus, das renommierte Experten aus aller Welt anzieht.

Gemeinsam mit dem Universitätsklinikum Heidelberg hat das DKFZ das Nationale Centrum für Tumorerkrankungen (NCT) eingerichtet, in dem Ergebnisse aus der Krebs- und Stammzellforschung in die Klinik übertragen werden.

**dkfz.** DEUTSCHES  
KREBSFORSCHUNGSZENTRUM  
IN DER HELMHOLTZ-GEMEINSCHAFT



Deutsches Krebsforschungszentrum  
Im Neuenheimer Feld 280, 69120 Heidelberg  
[www.dkfz.de](http://www.dkfz.de)

bürokratischen Zusatzaufwand. Dafür wurden am Max-Planck-Institut in Bad Nauheim eigens Mitarbeiter eingestellt, es entstehe eine regelrechte Papierflut, die entsprechend lange Bearbeitungszeiten bei den zuständigen Regierungspräsidien nach sich ziehe.

In der Max-Planck-Gesellschaft (MPG) macht man sich derweil auf höchster Ebene Gedanken, wie sich der verhärtete Konflikt mit Tierversuchskritikern entschärfen lässt. Auslöser waren nicht zuletzt die Vorfälle um den Tübinger Hirnforscher Nikos Logothetis, der 2015 nach monatelangen Drohungen seine Versuche mit Affen einstellte. Der Frankfurter Hirnforscher Wolf Singer leitet dazu eine international besetzte Kommission, die eigens vom Präsidenten der MPG eingesetzt wurde. „Hier wird derzeit diskutiert, welche Herangehensweisen helfen, die Polarisierungen zu überwinden“, sagt Braun.

#### Alternativen zum Tierversuch

Auch wenn ein vollständiger Ersatz von Tierversuchen durch Alternativmethoden für die Arzneientwicklung aus ethischer Sicht wünschenswert wäre, Experten halten das auf absehbare Zeit für kaum realisierbar. Trotzdem: In vitro-Modelle und Simulationen in silico werden immer realitätsnäher und aussagekräftiger, in einigen für die Kosmetikindustrie relevanten Tests haben sie Tierversuche bereits vollständig ersetzt. Zellkulturen ermöglichen toxikologische Studien potenzieller Wirkstoffkandidaten, besonders wenn es darum geht, deren Wirkung auf Herz- und Lebergewebe in der Petrischale zu prüfen. Kardiotoxizität und Hepatotoxizität zählen zu den häufigsten Gründen, warum vielversprechende Wirkstoffkandidaten nicht für die weitere Arzneientwicklung infrage kommen.

Wissenschaftler, die an Alternativmethoden forschen, verfolgen das bereits in den 1950er Jahren entwickelte

3R-Konzept, nach dem Tierversuche entweder vollständig ersetzt (Replacement), die Anzahl der verwendeten Versuchstiere reduziert (Reduction) oder der Belastungsgrad der Tiere im Versuch vermindert werden sollen (Refinement). 2015 wurde in Berlin das Deutsche Zentrum zum Schutz von Versuchstieren, kurz Bf3R, gegründet. Es ist am Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) angesiedelt und wird vom Bundeslandwirtschaftsministerium gefördert. Das Bf3R legt den Schwerpunkt auf Verfahren, die Tierversuche vollständig ersetzen. Dazu zählen unter anderem stammzellbasierte Zellkultur-Testsysteme, wie der embryonale Stammzelltest. Er funktioniert mit Maus-ES-Zellen, die zu Herzmuskelzellen, Nerven- oder Knochenzellen differenziert werden. An ihnen lässt sich testen, ob Stoffe möglicherweise toxisch auf die Embryoentwicklung wirken.

Auch andernorts sind Forscher dabei, stammzellbasierte Methoden für den Einsatz in der Pharma- und Toxikologieforschung weiterzuentwickeln. Pharmakologen um

Zellen des Gehirns: Astrozyten

Foto: ZEBET / Manfred Liebsch

## Max-Planck-Institut für Herz- und Lungenforschung

MPI-HLR

Das Max-Planck-Institut für Herz- und Lungenforschung in Bad Nauheim erforscht die Entwicklung der Organe des Herz-Kreislaufsystems und der Lunge im Embryo sowie die molekularen und zellulären Mechanismen bei der Entstehung von Herz-Kreislaufkrankungen. Von besonderem Interesse sind die hierbei ablaufenden Umbauprozesse, das sogenannte Remodeling. So suchen die Wissenschaftler am Institut nach Wegen, die Reparatur und Regeneration geschädigter Organe auch im Rahmen des Remodelings in die Wege zu leiten bzw. zu optimieren.

Das Institut kooperiert eng mit benachbarten Universitäten in Frankfurt, Gießen und Marburg und ist mittlerweile essentieller Bestandteil zahlreicher Exzellenzinitiativen und zweier Gesundheitsforschungszentren.

**Max-Planck-Institut für Herz- und Lungenforschung**  
**W.G. Kerckhoff-Institut**  
 Ludwigstr. 43  
 61231 Bad Nauheim  
[www.mpi-hlr.de](http://www.mpi-hlr.de)

Max-Planck-Institut  
 für Herz- und Lungenforschung  
 W.G. Kerckhoff-Institut



Thomas Eschenhagen vom Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE) ist es gelungen, iPS-Herzmuskelzellen in geordneten, hoch organisierten 3D-Verbänden wachsen zu lassen. Die Hamburger Forscher züchten Herzmuskelstreifen, an denen sich testen lässt, wie Pharmazeutika auf die Kraft des Herzens auswirken.

#### Auf dem Weg zum Zehn-Organ-Chip

Ein Team um Jürgen Hescheler vom Institut für Neurophysiologie der Universität Köln wiederum hat via iPS-Technik erzeugte Kardiomyozyten in einer toxischen Substanz gebadet und daraufhin molekulare Biomarker identifiziert, die charakteristisch für Kardiotoxizität sind. Es handelt sich um Projektergebnisse aus dem EU-Konsortium DETECTIVE, an dem sich auch die European Cosmetics Association (Colipa) beteiligt hat.

Noch haben die In-vitro-Modelle bei der Wirksamkeits- und Sicherheitsbewertung von Substanzen ihre Grenzen, sie können zum Beispiel das Zusammenspiel der Orga-

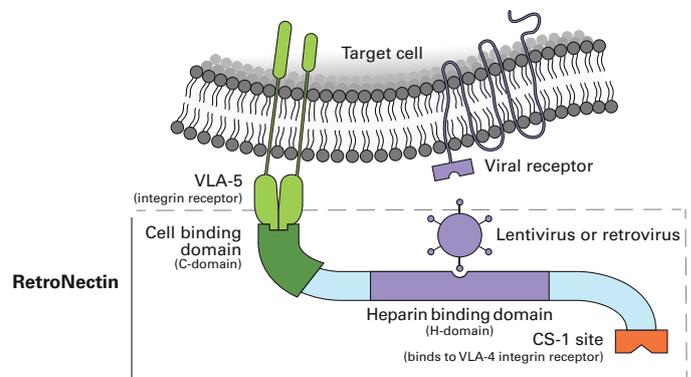
ne nicht abbilden. Ein wichtiger Trend: Wissenschaftler versuchen derzeit, die verschiedenen Organsysteme des menschlichen Körpers auf sogenannten Biochips nachzubilden und miteinander zu vernetzen. Biotechnologen um Uwe Marx und Roland Lauster von der Technischen Universität Berlin und der Firma Tissuse bedienen sich unter anderem der iPS-Technologie, um humane Organoiden herzustellen, die jeweils die kleinsten Funktionseinheiten eines Organs widerspiegeln. Auf dem Chip sind die menschlichen Organe um den Faktor 100.000 geschrumpft. Auf einer Objektträger-großen Platte gedeihen die Organoiden in kleinen Kammern. Ein mit Flüssigkeit gefülltes System aus Mikrokanälen durchzieht das Konstrukt wie ein Blutkreislauf. Die ersten dieser „Multi-Organ-Chips“ enthielten die Zweier-Kombinationen Darm-Leber oder Leber-Nervengewebe. Das avancierteste Produkt der Berliner ist derzeit ein Vier-Organ-Chip, er besteht aus einem Darm, Leber, Niere und einem Haut-Modul. 2018 wollen die Gewebeingenieure einen Multi-Organ-Chip mit mehr als zehn Organen präsentieren. Die Forschungsarbeiten werden vom BMBF im Rahmen des GO-Bio-Programmes gefördert. Dem menschlichen Testdummy im Miniaturformat wird von der Pharmaindustrie jedenfalls bereits jetzt schon großes Potenzial für die präklinische Forschung von morgen bescheinigt.

*Text: Philipp Graf*

## RetroNectin® can save your cells!

RetroNectin Reagent enhances viral transduction by promoting the co-localization of lenti- or retrovirus with target cells. It has been used with great success in sensitive and hard-to-transduce cells such as hematopoietic cells, B cells and T cells.

RetroNectin is a recombinant human fibronectin fragment containing three functional domains, two for cell binding and one for binding viral particles.



## Highly efficient in hard-to-infect cells

- Improves gene transfer efficiency in hard-to-infect cell types and stem cells
- Multivalent molecule simultaneously binds virus particles and cell surface proteins, maximizing cell-virus contact
- Low toxicity allowing a high cell survival rate



[www.clontech.com/retronectin](http://www.clontech.com/retronectin)

**TakaRa**  **Clontech**

### RetroNectin Supports High-Efficiency Gene Transfer<sup>1</sup>

Cell Type	Efficiency of Gene Transfer (%)
Human CD34 <sup>+</sup> CD38 <sup>-</sup> BMC <sup>2</sup>	95.5
Human PBMC <sup>3</sup>	91.2
TF-1	97.9
SupT1	97.3
Jurkat	80.1
K-562	90.4
HL-60	86.1
Monkey CD34 <sup>+</sup> BMC	72.0
Monkey CD4 <sup>+</sup> T-cell	85.0

<sup>1</sup> Transductions were performed using the RetroNectin-Bound Virus (RBV) Method of transduction.  
<sup>2</sup> Bone marrow cells.  
<sup>3</sup> Peripheral blood mononuclear cells.