

Kritische Überlegungen zum Klonen

Caroline HUTTER

Zusammenfassung

Durch die Methode des Kerntransfers wurden in den letzten Jahren die Möglichkeiten des biologischen Klonierens revolutioniert. Der Kerntransfer ermöglicht die Herstellung eines Klons aus jeder beliebigen Zelle eines Organismus, also auch aus einer somatischen Zelle eines Erwachsenen. Sie basiert auf der Reprogrammierung der genetischen Information einer differenzierten Körperzelle in das Embryonalstadium. Dieser Vorgang ist allerdings ein fehleranfälliger und ineffizienter Prozess. Die meisten klonierten Tiere sterben schon während der frühesten Entwicklungsphasen und auch jene Tiere, die überleben, haben ein abnormales Genexpressionsmuster, das zu mehr oder weniger schweren Defekten führt. Das reproduktive Klonieren von Menschen ist daher schon aus rein naturwissenschaftlichen Gründen strikt abzulehnen. Von dem reproduktiven wird das sogenannte therapeutischen Klonieren unterschieden, bei dem der Klon mit dem Ziel Stammzellen für therapeutische Zwecke (Transplantation autologer Zellen) zu isolieren im frühesten Embryonalstadium zerstört wird.

Schlüsselwörter: Reproduktives Klonen, Therapeutisches Klonen

Abstract

Cloning was revolutionised in the last couple of years by the development new technique called cell nuclear transfer (CNR). By using this method it is possible to derive a clone from any cell of an organism including adult somatic cells. The method is based on the reprogramming of the genetic information of a differentiated cell to the one of an embryonic state. This process is inefficient and error-prone. Most cloned animals die during the earliest stages of development, and also those animals that survive, exhibit an aberrant pattern of gene expression which leads to more or less severe defects. The reproductive cloning of humans therefore has to be refused even form a purely scientific point of view. Form reproductive cloning the so-called 'therapeutic' cloning is distinguished, during which the clone is destroyed at a very early stage of embryonic development to isolate stem cells for therapeutic purposes (transplantation of autologous cells).

Keywords: Reproductive Cloning, Therapeutic Cloning

Anschrift der Autorin: DDr. Caroline HUTTER,
Krankenhaus der Barmherzigen Brüder,
Große Mohrengasse 9, A-1020 Wien

Was ist Klonieren?

Biologisches Klonieren ist ein Überbegriff für verschiedene Methoden, mit denen genetisch idente Individuen hergestellt werden.¹ Klone gibt es auch in der Natur: In einzelligen Organismen wie Hefe und Bakterien entstehen Klone durch einfache Zellteilung. Durch die asexuelle Reproduktion vieler Pflanzen entsteht auch eine Gruppe genetisch identer Individuen. Eineiige Zwillinge entstehen durch Trennung des Embryos im Zweizellenstadium, in abgewandelter Form wird dieses „embryo splitting“ seit Jahren im Labor beim Klonieren von Rindern angewendet: Embryos im 4- und 8-Zellstadium werden in Einzelzellen geteilt und diese werden in verschiedene Muttertiere implantiert. Eine weitere Methode, mit der man im Labor genetisch idente Tiere herstellen kann, ist der sogenannte Kerntransfer: Durch den Transfer des Kernes einer beliebigen Zelle des Körpers in eine Eizelle, der vorher der eigene Kern entfernt wurde, können Klone hergestellt werden (siehe Abbildung I). Diese Methode revolutionierte in den letzten Jahren die Möglichkeiten des Klonierens. Auch das berühmte Schaf DOLLY wurde mit dieser Methode hergestellt.^{2,3}

Wie funktioniert Klonieren mittels Kerntransfer?

Klonieren mittels Kerntransfer basiert auf dem Auswechseln der genetischen Information einer Eizelle. Der Kern einer beliebigen Zelle des Organismus, den man klonieren möchte, wird isoliert und mit einer Eizelle fusioniert, deren Kern vorher entfernt wurde. Anschließend wird diese Zelle – die jetzt einem Embryo entspricht – zu Wachstum und Differenzierung stimuliert.

Der Kerntransfer ist keine neue Technik. In den 50er Jahren wurden mittels Kerntransplantation die ersten Klone von Fröschen hergestellt, und bereits in den 80er-Jahren wurde diese Methode dazu verwendet, um Rinder und Schafe zu klonieren. Damals verwendete man Zellen, die direkt aus einem Frühstadium eines Embryos isoliert wurden. 1995 gelang es Ian WILMUT und seinen Kollegen, Schafe (ihre Namen waren MEGAN und MORAG) aus embryonalen Zellen, die zuvor für mehrere Wochen im Labor kultiviert wurden, zu klonieren. Zwei Jahre später wurde das Schaf DOLLY geboren.⁴ DOLLY war insofern besonders, als dass sie das erste Tier war, das aus einer Zelle stammt, die aus einem erwach-

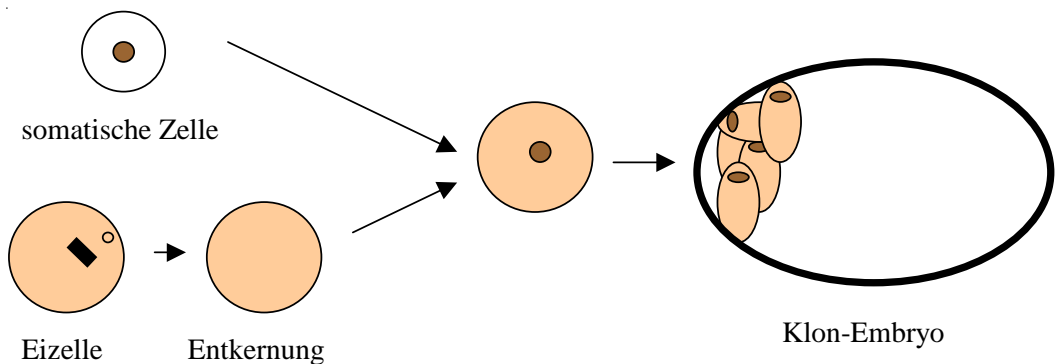


Abbildung I: Technik des somatischen Kerntransfers

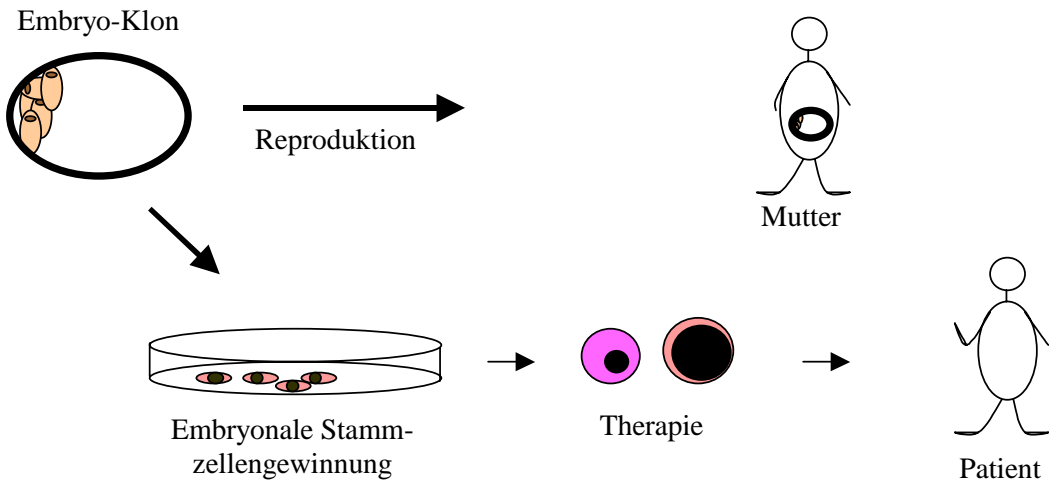


Abbildung II: Reproduktives und therapeutisches Klonen

senen Tier isoliert wurde. Revolutionär daran war, dass erstmals gezeigt werden konnte, dass man eine Zelle „umprogrammieren“ kann, d. h. dass aus einer Zelle eines Erwachsenen ein Lebewesen kloniert werden kann.

In der Literatur wird zwischen „therapeutischem“ und „reproduktivem“ Klonen unterschieden, obwohl zwischen diesen beiden Vorgängen grundsätzlich nur der Unterschied in der Zielsetzung besteht: nämlich, dass beim „reproduktiven“ Klonen der Klon, der im Labor erzeugt wird, durch Implantation in den Uterus zu einem Individuum heranwachsen soll, während beim „therapeutischen“ Klonieren der Embryo (der via Kerntransfer aus einer somatischen Zelle kloniert wurde) im Frühstadium (bis zum Tag 14 der humanen Embryonalentwicklung) nur erzeugt wird, um ES-Zellen zu gewinnen. Der Embryo muss dabei zerstört werden (siehe Abbildung II).⁵

Therapeutisches Klonieren

Ziel des therapeutischen Klonens ist es, Zellen herzustellen, mittels derer es möglich ist,

Organdefekte eines Patienten durch gesunde Zellen zu heilen. Die hypothetischen Vorstellungen sehen wie folgt aus: Zuerst wird durch Kerntransplantation eine dem Patienten genetisch idente embryonale Stammzelllinie (ES-Zelllinie) hergestellt. Diese autologen ES-Zellen sollen in Kultur zu gewebsspezifischen Stammzellen oder reifen Zellen eines Gewebes differenzieren, und anschließend transplantiert werden.

Das therapeutische Klonen stellt für viele eine der vielversprechendsten therapeutischen Ansätze der modernen Medizin dar. Mit dieser Methode könnte Gewebe für Transplantationen gewonnen werden, das zu keiner Abstoßungsreaktion führt, da Spender- und Empfängerewebe genetisch ident sind. Bei der Transplantation fremden (allogenen) Gewebes ist die Organabstoßung ein häufiges Problem. Um dies zu verhindern, müssen Transplantpatienten routinemäßig Immunsuppressiva einnehmen, die sehr schwere Nebenwirkungen haben. Die Transplantation autologer klonierter Zellen induziert keine Immunabstoßung und würde daher keine Immunsuppression benötigen.

Da ES-Zellen sehr lange in Kultur gehalten werden können, wären sie potentiell auch eine

unerschöpfliche Ressource von transplantierbarem Gewebe. d. h. eine Therapie könnte beliebig oft wiederholt werden.

Ein weiterer Vorteil des therapeutischen Klonierens wird darin gesehen, dass man therapeutisches Klonieren mit Gentherapie kombinieren kann. Bei Mäusen konnte mittels dieser Methode beispielsweise eine schwere Immundefizienz zumindest ansatzweise geheilt werden.⁶ Den Tieren wurden aus dem Schwanz Zellen entnommen, deren Kerne in enukleierte Oozyten injiziert wurden. Die resultierenden Embryos wurden bis zum Blastozystenstadium kultiviert, und aus diesen ES-Zellen isoliert. Die ES-Zellen wurden in Kultur durch homologe Rekombination (eine Methode, die das Austauschen oder Verändern von Genen ermöglicht) der Gendefekt, der dieser Immundefizienz zugrunde lag, korrigiert. Diese nun genetisch manipulierten ES-Zellen differenzierten anschließend in hämatopoetische Vorläuferzellen und wurden in die Maus transplantiert. Dadurch wurde das Immunsystem der Maus rekonstituiert und die Erkrankung geheilt.

Therapeutisches Klonieren kann aber beim Menschen derzeit nicht angewendet werden. Das hat mehrere Gründe: Einerseits ist die Technik des somatischen Kerntransfers bei Primaten nicht gelungen, wie weiter unten ausführlich beschrieben wird. Andererseits, wie bereits erwähnt, basiert das therapeutische Klonieren auf der *in vitro* Differenzierung von durch Kerntransfer hergestellten ES-Zellen. Das Ziel dieser Differenzierung ist eine homogene Population von gewebespezifischen Zellen, die anschließend transplantiert werden können. Ein großes Problem stellt eben diese *in vitro* Differenzierung dar. Es gibt bereits eine Reihe von Studien, die die Differenzierung humaner ES-Zellen in verschiedene Linien beschreiben, unter anderem in hämatopoetische Stammzellen, Insulin sezierende Zellen, und Vorläuferzellen des Nervensystems. Die bis jetzt entwickelten Protokolle sind aber noch relativ ineffizient, und es ist schwierig, eine homogene Zellpopulation herzustellen.

Therapeutisches Klonen bringt aber zudem eine Reihe ethischer Probleme mit sich, denn letztendlich bedeutet therapeutisches Klonen die Erschaffung menschlicher Embryos in einem Laboratorium, nur zum Zweck, bestimmte Zellen zu isolieren. Insofern ist auch der Ausdruck „therapeutisches“ Klonen für viele problematisch, da bei diesem Prozess *per se* Leben zerstört wird.⁷ Wegen ethischer und praktischer Einschränkungen des therapeutischen Klonens diskutieren manche Arbeitsgruppen einen neuen Ansatz, nämlich das Umprogrammieren somatischer Zellen direkt in ES-Zellen, ohne dafür Oozyten verwenden zu müssen.

Gibt es Alternativen zum therapeutischen Klonen? Möglicherweise könnten in Zukunft adulte Stammzellen eine andere Quelle autologer Zellen darstellen. Das bedeutet, dass man für die Herstellung körpereigener Stammzellen nicht zuerst Embryos erzeugen müsste, um aus diesen ES-Zellen zu isolieren. Derzeit gibt es allerdings genauso Probleme bei der Verwendung von adulten Stammzellen:⁸ Das Differenzierungspotential adulter Stammzellen ist im Vergleich mit ES-Zellen geringer, außerdem sind adulte Stammzellen schwieriger in Kultur zu halten. Da die Technik der homologen Rekombination, um einen genetischen Defekt zu korrigieren, in adulten Zellen derzeit noch nicht möglich ist, wäre man auf andere, risikoreichere Methoden der Gentherapie (z. B. die Verwendung viraler Vektoren) angewiesen.

Reproduktives Klonieren

Wie bereits erwähnt beruht reproduktives Klonieren auf derselben Methode wie therapeutisches Klonieren. Nach der Herstellung des Embryos wird dieser jedoch implantiert, mit dem Ziel, eine gesunde Kopie eines bereits existierenden Lebewesens zu gebären.

Die Vorgangsweise beim reproduktiven Klonen mit adulten Zellen ist ein sehr ineffizienter und fehleranfälliger Prozess. Die meisten publizierten Daten zeigen, dass nur 1% – 3% der

klonierten Embryos bis zur Geburt überleben. Reproduktives Klonen von Säugern aus embryonalen Zellen ist etwa um den Faktor 10 effizienter.^{1,5} Während der Embryonalentwicklung dürften viele der Embryonen wegen einer Dysfunktion der Plazenta sterben. Nur eine geringe Anzahl der Embryonen, die durch Kerntransfer entstehen, überleben bis zur Geburt, und von diesen sterben viele als Neugeborene an Atemwegsstörungen oder Herz-Kreislauf-Versagen. Die wenigen Tiere, die die perinatale Periode überleben und „normal“ ausschauen, sind oft viel größer, ein Zustand, der als „large offspring syndrome“ beschrieben wird. Auch jene Tiere, die das Erwachsenenalter erreichen, sind oft krank: Sie altern schneller, leiden häufiger an degenerativen Erkrankungen, Adipositas und entwickeln häufiger Tumore.

Einige dieser Phänotypen dürften spezifisch für die Spenderzelle sein, die für den Kerntransfer verwendet wurde: Beispielsweise leiden Klone, die aus Cumuluszellen hergestellt wurden, häufiger an Adipositas, während Klone, die von Sertolizellen stammen, häufig sehr früh sterben. Diesen Phänomenen dürfte ein gemeinsames Problem zu Grunde liegen, und zwar eine fehlerhafte genetischen Reprogrammierung⁹: Das Genexpressionsmuster einer somatischen Zelle (der Spenderzelle) unterscheidet sich von dem einer embryonalen Zelle. Zwar sind beide Zellarten mit den gleichen Genen ausgestattet, aufgrund epigenetischer Modifikationen (chemischer Veränderungen der DNA) sind in embryonalen Zellen aber andere Gene aktivierbar als in differenzierten Zellen. Embryos, die aus somatischen Zellen kloniert wurden, können häufig nicht wichtige embryonale Gene reaktivieren und exprimieren stattdessen verfrüht Gene, die für die Spenderzelle spezifisch sind. Diese zwar oft nur kleinen Unterschiede in der Genregulation machen es sehr wahrscheinlich, dass es überhaupt nicht möglich ist, völlig normale Klone herzustellen. Genaue genetische Analysen zeigten, dass auch scheinbar gesunde klonierte Mäuse eine abnormale Expression mehrerer Gene haben.¹⁰

Trotz dieser Rückschläge baut die Tierzucht auf das Klonieren von Rindern und Schweinen zu verschiedenen Zwecken: Durch das Klonieren kann man eine beliebige Anzahl von Klonen der „besten“ Tiere herstellen. Zusätzlich könnte man die Klone genetisch verändern. In Polly's Genom, einem Schaf, das so wie Dolly am Roslin-Institute in Edinburgh kloniert wurde, konnte bereits ein menschliches Gen eingebaut werden. Theoretisch könnte man klonierte Tiere als Fabriken von menschlichen Proteinen verwenden. Durch Kerntransfer könnten genetisch modifizierte Schweine außerdem Organspender für Xenotransplantationen sein.

Das reproduktive Klonieren von Menschen (bzw. Versuche, dies zu tun) ist in vielen Ländern gesetzlich verboten. Trotzdem verkündete die Firma Clonaid am 27. Dezember 2002 die Geburt des ersten geklonten Menschen, von Eve. Clonaid, die mit den Raelianern (einer Sekte, die der Meinung ist, dass Menschen von Außerirdischen, die vor Jahrtausenden auf die Erde kamen, kloniert wurden) in Verbindung steht, verweigerte bis jetzt allerdings jegliche Untersuchung Eves und ihrer Mutter durch unabhängige Wissenschaftler, vermutlich nicht ohne Grund.

Bis jetzt gibt es noch keinen einzigen wissenschaftlich belegten Hinweis, dass das Klonieren von Menschen möglich ist. Ein Team der in Massachusetts ansässigen Firma Advanced Cell Technology publizierte im relativ unbekanntem *Journal of Regenerative Medicine* die Generierung klonierter humaner Stammzellen.¹¹ Es gab an der Qualität dieser Arbeit aber heftige Zweifel, und zwei Mitglieder des editorial boards resignierten aus Protest.

Abgesehen von einigen wenigen Ausnahmen herrscht unter Wissenschaftlern die einhellige Auffassung, die Technik des Klonens am Menschen nicht auszuprobieren. Neben streng ethischen Argumenten wird auch die Tatsache ins Treffen geführt, dass die Risiken eines derartigen Vorgehens in keinem Verhältnis zu einem möglichen, realistisch erwartbaren Nutzen stehen.

Im Frühling dieses Jahres publizierte eine Gruppe der University of Pittsburgh School of

Medicine im „Science“ eine Arbeit, die den prinzipiellen Zweifel an der Möglichkeit des Klonierens von Primaten untermauert.¹² Nach der erfolgreichen Klonierung von Dolly versuchten mehrere Gruppen weltweit, diese Methode des Kerntransfers auch an Primaten anzuwenden. Bis jetzt ist das noch niemandem gelungen, die Embryonen starben alle spätestens in der Periimplantationsphase. Experimente dieser Arbeitsgruppe an Rhesusaffen zeigen nun warum: Im Gegensatz zu den anderen Säugerzellen sind in Primatenzellen die Spindelproteine – Proteine, die für die Zellteilung essentiell sind – sehr nahe den Chromosomen der unbefruchteten Spenderzelle angeordnet. Bei der Entfernung der DNA während des Kerntransfers werden auch diese Proteine entfernt, was dazu führt, dass diese Zelle sich nicht mehr regelrecht teilen kann. Primateneizellen unterscheiden sich also biologisch von Oozyten anderer Spezies. Die Methodischen Ansätze (nuclear transfer) müssten für humane Zellen also modifiziert werden.

Selbst wenn diese Hürde irgendwann genommen werden sollte, ist es aufgrund der oben genannten fehlerhaften epigenetischen Regulation der Genexpression auszuschließen,

dass in den nächsten Jahren ein gesunder Mensch kloniert werden kann.

Referenzen

- 1 Es gibt auch den Ausdruck DNA-Klonierung, dies ist eine Methode zur Isolierung einzelner DNA Fragmente.
- 2 <http://www.roslin.ac.uk/> (Die Website des ROSLIN-Instituts, das Dolly kloniert hat.)
- 3 SOLTER D., *Mammalian cloning: advances and limitations*, Nat Rev Genet (2000); Vol 1: 1999-2007
- 4 CAMPBELL K. H. S. et al., *Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line*, Nature (1996); Vol 380, 64-66
- 5 HOCHEDLINGER K., JAENISCH R. N., *Mechanisms of Disease: Nuclear Transplantation, Embryonic Stem Cells, and the Potential for Cell Therapy*, N Engl J Med (2003); Vol 349: 275-286
- 6 RIDEOUT W. M. et al., *Correction of a genetic defect by nuclear transplantation and combined cell and gene therapy*, Cell (2002); Vol 109: 17-27
- 7 PRAT E. H., *Warum Menschen klonen?*, Imago Hominis (2000); Vol 7, 178-181
- 8 STANGL K., KENNER L., *Stammzellenforschung*, Imago Hominis (2003); Vol 10: 163-177
- 9 MERKEL O., *Von der Genetik zur Epigenetik*, Imago Hominis (2003); Vol 10: 151-155
- 10 HUMPHREYS D. et al., *Abnormal gene expression in cloned mice derived from embryonic stem cell and cumulus cell nuclei*, Proc Natl Acad Sci U S A (2002); Vol 99: 12889-12894
- 11 CIBELLI J. B. et al., *Somatic Cell Nuclear Transfer in Humans: Pronuclear and Early Embryonic Development (rapid communication)*, J Reg Med (2001); Vol 2: 25-31
- 12 SIMERLY C. et al., *Molecular Correlates of primate Nuclear Transfer Failures*, Science (2003); Vol 300: 297-297