

Embryonale stamceller og terapeutisk kloning

I de seneste årene har vi sett en sterkt økende interesse for terapeutisk bruk av humane stamceller. Dette skyldes vesentlige forskningsfremskritt som nylig er gjort. Kloningen av sauen Dolly, isolering av humane embryologiske stamceller og oppdagelsen av at stamceller fra voksne sannsynligvis kan reprogrammeres, har ført til et berettiget håp om utvikling av nye behandlingsprinsipper for en rekke alvorlige sykdommer og lidelser hos mennesker.

Fra preembryo på blastocyststadiet er det mulig å isolere embryologiske stamceller som kan gi opphav til alle celler og vev i kroppen. Transplantert inn i et voksent individ, har man i dyremodeller vist at embryologiske stamceller kan differensiere og utvikle seg til celler og vev som kan brukes til behandling av blant annet parkinsonisme, multipel sklerose, ryggmargsskader, hjerteinfarkt og kreft.

Transplanterte embryologiske stamceller utsettes for samme type immunreaksjon som andre transplantater og resipienten må normalt immunsupprimeres. Det er imidlertid mulig å generere pasientens genetisk sett egne embryologiske stamceller ved såkalt terapeutisk kloningsteknikk. Ved denne teknikken føres en somatisk cellekjerne inn i et egg der eggets eget arvemateriale er fjernet. Under gitte betingelser vil egget bruke genetisk informasjon i den somatiske cellekjernen til å organisere danning av en blastocyst som så kan gi opphav til embryologiske stamceller. Disse cellene vil genetisk sett være lik pasientens egne og er godt egnet til stamcelleterapi.

I løpet av de siste få år har vi sett avgjørende gjennombrudd innenfor flere grener av forskningen som til sammen gir grunn til stor optimisme når det gjelder nye terapeutiske anvendelser av humane stamceller. For første gang har det lyktes å isolere og dyrke humane embryologiske stamceller, celler som i prinsippet kan regenerere alle celler og vev i kroppen. Det er vist at stamceller fra voksne individer kan endre karakter langt utover det man kunne drømme om. Stamceller fra beinmargen kan kanskje brukes til å

Arne Sunde
arne.sunde@medisin.ntnu.no
Kvinneklivnikken

Ingrid Eftedal
Avdeling for medisinsk genetik

Regionsykehuset i Trondheim
7006 Trondheim

Sunde A, Eftedal I.

Embryonic stem cells and therapeutic cloning.

Tidsskr Nor Lægeforen 2001; 121: 2407–12.

Increased interest in the therapeutic use of human stem cells has emerged following significant progress in ongoing research. The cloning of a sheep, the isolation of human embryonic stem cells, and the discovery that adult stem cells may be reprogrammed taken together give substance to hopes that novel principles of treatment may be developed for a variety of serious conditions.

Embryonic stem cells are derived from pre-embryos at the blastocyst stage and may give rise to all bodily tissues and cells. Animal models have demonstrated that embryonic stem cells when transplanted into adult hosts may differentiate and develop into cells and tissues applicable for treatment of a variety of conditions, including Parkinson's disease, multiple sclerosis, spinal injuries, cardiac stroke and cancer.

Transplanted embryonic stem cells are exposed to immune reactions similar to those acting on organ transplants, hence immunosuppression of the recipient is generally required. It is, however, possible to obtain embryonic stem cells that are genetically identical to the patient's own cells by means of therapeutic cloning techniques. The nucleus from a somatic cell is transferred into an egg after removal of the egg's own genetic material. Under specific condition the egg will use genetic information from the somatic cell in organising the formation of a blastocyst which in turn generates embryonic stem cells. These cells have a genetic composition identical to that of the patient and are suitable for stem cell therapy.

☞ Se også side 2359

regenerere hjernevev eller levervev. Kloningen av sauen Dolly fra en somatisk celle var ikke bare en stor mediesak, den innebar også et fundamentalt skifte i synet på basale mekanismer innenfor differensiering av celler. Disse nye funnene har bidratt til dagens store forventninger til fremtidig celleterapi basert på stamceller, enten pasientens egne omprogrammerte celler eller stamceller generert fra kulturer av embryologiske celler. Her beskrives status i deler av dette nye fagfeltet, med hovedvekt på mulig bruk av embryologiske stamceller.

Hva er en stamcelle?

En stamcelle er en celle som når den deler seg, gir opphav til to ulike datterceller. Den ene forblir en stamcelle, mens den andre begynner å differensiere. En enkelt stamcelle har et stort potensial for vekst og utvikling. Hos mus er det vist at en hematopoetisk stamcelle kan gi opphav til alle typer blodceller når den blir plassert inn i beinmargen til et individ der alle hematopoetiske stamceller på forhånd er drept ved stråling. Når vi nå forsøker å utvikle nye terapeutiske metoder basert på stamceller, vil det være nødvendig i det minste å sannsynliggjøre at de cellene vi ønsker å bruke, har de basale egenskapene til en stamcelle: De skal kunne dele seg hurtig nok og lenge nok til å gi et tilstrekkelig cellevolum i individets resterende liv og de skal kunne utvikle seg presist til de celler og vev vi forsøker å erstatte.

Den pluripotente embryonale stamcellen (ES-celler) har en klar fordel fremfor somatiske stamceller, idet den kan dyrkes uendelig i laboratoriet (1). Denne egenskapen har også transformerte celler, men ES-cellene er stabilt diploide, de viser kontakthinhibisjon in vitro og vil, til tross for sin immortaliserte natur, oppføre seg som normale celler når de differensierer in vivo (ramme).

Hvordan isolerer vi embryonale stamceller?

Før en beskrivelse av hvordan man etablerer en kultur av ES-celler, er det nødvendig å gå kort inn på tidlig embryoutvikling hos mennesket (fig 1). Det første døgnet etter at en sædcelle har trengt inn i et egg brukes til å forberede sammensmeltingen av arvemateriale fra spermie og egg. Denne prosessen kan observeres ved danning av to forkjerner (pronuklei) som inneholder arvemateriale fra henholdsvis egg og spermie (fig 1). De to prokjernene fusjonerer 20–22 timer etter befruktning, og den første celledelingen skjer to til tre timer senere. Cellene i det befruktete egget (preembryoet) deler seg deretter én gang i døgnet. Frem til åttecellestadiet er cellene i det humane preembryoet totipotente, dvs. hver enkelt celle kan gi opphav til en vellykket graviditet og fødsel dersom de blir overført til en livmor. Dette potensialet utnyttet bevisst innenfor avl av storfe, og er også grunnlaget for eneggede flerlinger. Hos mennesker vil det på åttecellestadiet inntre en ny fase. Nå starter syntesen av nye proteiner basert på den genetiske informasjonen som finnes i de enkelte cellene, samtidig som det skjer en viss spesi-

sering hos enkeltceller og cellene begynner å uttrykke molekyler på overflaten som fører til at de fester seg tett inntil hverandre og danner en fast morula. Inne i morula dannes et væskefylt ekspanderende hulrom. På dag 5 vil man normalt finne en blastocyst; en væskefylt blære bestående av celler som vil ha ulikt utviklingspotensial. Noen av cellene i indre cellemasse (ICM) gir opphav til det fremtidige fosteret, mens cellene i trofoektodermen gir opphav til morkake og fosterhinner. Frem til blastocyststadiet er preembryoet omgitt av en beskyttende zona pellucida bygd opp av glykoproteiner. Under klekkingen på dag 5–6 vil blastocysten trenge gjennom denne hinnen og være klar for implantering i livmor. In vivo implanterer blastocysten normalt på dag 6–7. Det humane preembryo skiller seg fra de fleste andre arter som er studert, ved at store genetiske avvik på dette tidspunktet er fysiologiske. Omtrent 30% av eggene, 10% av sædcellene og 40% av zygotene er aneuploide, dvs. de inneholder feil antall kromosomer. De første celledelingene foregår dessuten relativt upresist, slik at det hyppig oppstår celler med avvikende kromosomtall. Det er ennå ikke påvist en human blastocyst der alle cellene har et normalt kromosomtall, og som art ser det ut til at vi har den vesentligste biologiske kvalitetskontroll ved implanteringsstadiet. Man antar, basert på studier av friske, frivillige unge par, at ca. 60% av alle blastocyster fra in vivo-befruktninger blir forkastet nettopp ved implanteringen.

I den første uken etter implanteringen deler cellene i den indre cellemassen seg hurtig og danner den embryoniske platen som på dag 14 vil være ca. 0,5 mm i diameter og inneholde rundt 2 000 celler. De tre kimlagene ektoderm, mesoderm og endoderm dannes og organiseres til selve embryoet. I løpet av tredje uke vil embryoet nå en størrelse på 2,3 mm og inneholde forløperne til de viktigste organsystemene. I embryologisk terminologi snakker vi om et foster etter uke 7/8.

Blastocyster som dyrkes in vitro lenger enn til dag 6–7, vil hurtig degenerere. Cellene i den indre cellemassen vil ikke dele seg i nærvær av trofoektodermceller. Det er mulig ved hjelp av mikromanipulatorer å isolere indre cellemasse fra resten av blastocysten (fig 2). De isolerte ICM-cellene kan dyrkes videre under gitte betingelser og gir opphav til en cellekultur bestående av udifferensierte celler som i prinsippet kan dyrkes uendelig. Dette kalles en kultur av embryonale stamceller (ES-celler). Disse cellene vil, gitt de riktige signaler, differensiere til alle cel-

Ramme

Egenskaper til embryonale stamceller

Utgått fra en pluripotent cellepopulasjon (for eksempel indre cellemasse i en blastocyst)

Skal ha normal diploid karyotype

Kan dyrkes in vitro i udifferensiert form

I udifferensiert form er cellene immortaliserte, dvs. de kan i prinsippet dyrkes uendelig

Klonale kulturer skal kunne differensiere til alle celletyper utgått fra de tre embryoniske kimlagene mesoderm, ektoderm og endoderm

ler og vev i kroppen. Dette kan demonstreres for eksempel gjennom kimære dyr som lages ved injisering av isolerte ES-celler inn i en blastocyst som deretter føres inn i livmoren på en rugemor. De injiserte cellenes etterkommere skal kunne påvises i alle deler av dyret som fødes (2, 3).

Erfaringer fra dyremodeller

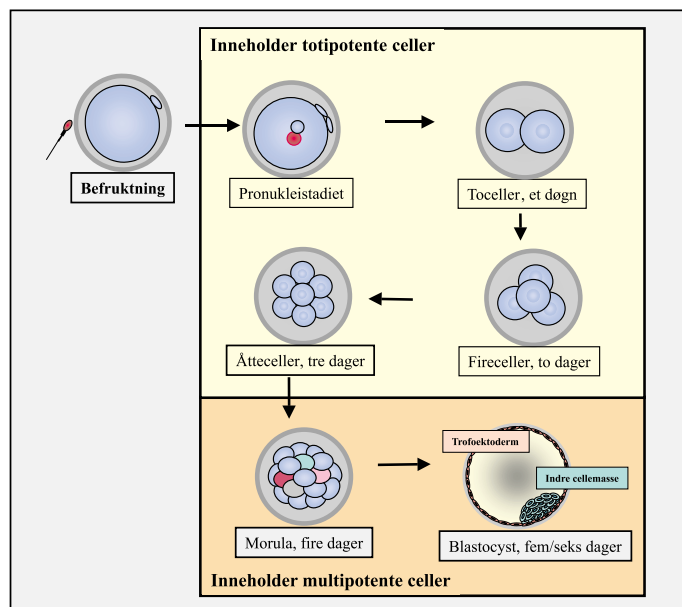
Vi kan lære mye om mulighetene som ligger i terapeutisk anvendelse av ES-celler gjennom studier av dyremodeller. Murine ES-celler har vært tilgjengelige lenge, og ved hjelp av disse er det utviklet flere modeller

av relevans for human medisin. Hos mus er det vist at ES-celler kan transplanteres inn i voksne immunosupprimerte dyr og gi opphav til en mengde ulike celler av terapeutisk interesse, så som kardiomyocytter (4), nevronale stamceller (5) oligodendrocytter (6) nevroner som kan brukes ved behandling av parkinsonisme (7) til vaskulære progenitorceller (8) og hematopoetiske stamceller (9). To spesifikke eksempler illustrerer hvilket potensial som kan ligge i terapeutisk anvendelse av ES-celler differensiert til nevronale stamceller:

McDonald og medarbeidere (10) har studert effekten av transplantasjon av nevronale stamceller i forbindelse med ryggmargsskader. Hos rotter induserte de en ryggmargsskade ved T9–10 som gav nedsatt bevegelighet i underekstremitetene. Rottenes bevegelseevne i ukene etter skaden ble evaluert. Rotter som fikk embryonale stamceller transplantert inn i det aktuelle området åtte dager etter skade, gjenvant førligheten hurtigere og hadde bedre muskelstyrke enn kontrolldyrene.

Et annet eksempel viser hvordan stamcellebehandling og genterapi kan kombineres. Nevronale stamceller har svært gode migrerende egenskaper. Injisert i halevenen vil de vandre fra blodbanen gjennom blod-hjernebarrieren og inn i selve hjernevevet (11–16). I november 2000 publiserte Aboody og medarbeidere (17) et arbeid basert på en murin nevronal stamcellelinje som til fulle viser hvilket terapeutisk potensial som kan ligge i

bruk av embryologiske stamceller. Denne cellelinjen viser stor tropisme for neoplastiske nerveceller. Murine og humane gliomceller ble transplantert inn i hjernen på mus, hvorpå Aboody og medarbeidere viste at embryonale stamcellene genetisk manipulert slik at de utskiller cytosin deaminase. Dette enzymet kan omdanne det ikke-toksiske 5-fluorocytosin til cytotoxisk 5-fluorouracil. Dyr med gliomer fikk en betraktelig reduksjon av tumorvolumet når de samtidig ble behandlet med 5-fluorocytosin og cytosin deaminase-produkerende stamceller. Gliomer hos mennesker er vanskelige å behandle, og det vil være stor interesse for å forsøke å utvikle liknende behandlingsprinsipper hos mennesker (18, 19). Dette eksemplet viser også at kombinasjonen genterapi og stamceller er meget aktuell. Stamcellene blir brukt på grunn av sine egenskapene til å migrere i kroppen og oppsøke spesifikke celler og vev, noe som



Figur 1 Tidlig utvikling av humane preembryer. 18–20 timer etter befruktning er zygoten dannet med to forkjerner (pronuklei) inneholdende arvematerialet fra sperm og egg. Første celledeling skjer 24–26 timer etter befruktning. Ved åttecellestadiet (dag 3 etter befruktning) begynner cellenes spesialisering. Frem til da kan alle celler i prinsippet hver for seg initiere et svangerskap (totipotente celler). På blastocyststadiet (dag 5–6) er det dannet ulike celletyper: Den indre cellemassen som gir opphav til celler og vev i kroppen (multipotente celler) og trofoektodermen som genererer morkake og fosterhinner

gjør dem ypperlig egnet til å frakte et aktivt molekyl til et ønsket sted i terapiøemed. En stamcelle har i tillegg den egenskapen at den kan bidra til å reparere de skadene som tumoren har forårsaket (19).

Humane embryonale stamceller

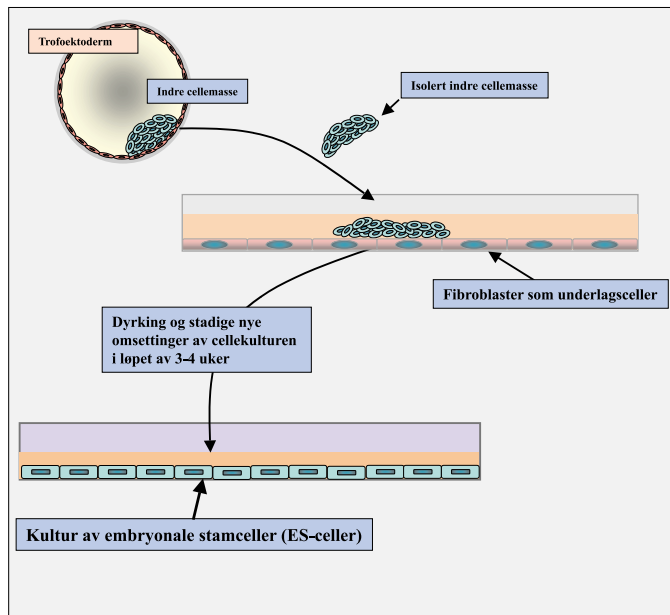
I 1998 lyktes det John Gearharts gruppe å isolere embryonale germinale celler (EG-celler) fra den primitive gonaden til et abortert foster (20). EG-celler har mange egenskaper til felles med ES-celler. James Thompsons gruppe etablerte samme år en ES-cellelinje fra en human blastocyst generert ved in vitro-fertilisering (21). Senere har flere grupper fremstilt humane ES-celler (22–24). På «First Nordic Meeting on Embryonic Stem Cells» avholdt på Røros 16.–18. mars 2001, ble det opplyst at det var forskningsaktivitet på humane ES-celler i de fleste nordiske land, med unntak av Norge.

Lengst er de kommet på Kvinnokliniken, Huddinge ved Stockholm, der de nå har etablert flere ulike ES-cellelinjer (O. Hovatta, personlig meddelelse). Gruppen på Huddinge samarbeider med flere kliniske miljøer med tanke på terapeutisk anvendelse innenfor en rekke kliniske områder. Metodene som brukes av disse forskningsgruppene er svært lik dem som tidligere ble anvendt for å isolere ES-celler fra mus.

Man har ennå ikke vært i stand til å etablere klonale ES-cellekulturer fra mennesker. De kulturene som eksisterer inneholder celler som uttrykker en blanding av fenotypiske markører, noe som antas å være uttrykk for spontan differensiering. Ingen har ennå lyktes med å indusere spesifikk differensiering til en bestemt stamcelletype (23). Det er uklart om det vil være best å differensiere ES-celler fullstendig in vitro, eller om det i mange tilfeller er bedre å utnytte de differensieringssignaler som in vivo finnes lokalt i vev det kan være aktuelt å transplantere ES-celler inn i.

Vevsforlikelighet

Stamceller utviklet fra ES-celler uttrykker de vevsforlikelighetsantigener de er genetisk programmert til å gjøre. Transplanterte celler og vev utgått fra ES-celler vil derfor kunne avstøtes på lik linje med andre transplantater. En mulig løsning på dette vil være å etablere en cellebank med en mengde ES-cellelinjer slik at man har mulighet til å velge celler mest mulig lik resipienten. Dette vil kreve et omfattende internasjonalt samarbeid og koordinering på tvers av landegrensener. En annen mulighet er, ved molekylarbiologiske teknikker, å etablere ES-celle-



Figur 2 Fremstilling av embryonale stamceller. Den indre cellemassen fra en blastocyst blir dissekert ut mikrokirurgisk og dyrket på toppen av en kultur av ikke-prolifererende fibroblastceller, som fungerer som næringsceller i de første ukene. Cellekulturene blir satt om flere ganger inntil man har en ren kultur av embryonale stamceller

linjer som ikke uttrykker vevsforlikelighetsantigener. Dette er teoretisk mulig, men det gjenstår et omfattende forskningsarbeid for det eventuelt kan bli en klinisk realitet. En tredje mulighet, som har fått stor oppmerksomhet, er å lage stamceller genetisk lik pasientens egne celler ved å føre somatiske cellekjerne inn i egg (25–27). Denne teknikken blir bruk ved reprodutiv kloning av dyr, men kan også brukes til å generere ES-celler.

Generering av ES-celler ved overføring av somatiske cellekjerne

Egget inneholder alle de faktorer som er nødvendig for å starte organiseringen av et preembryo ut fra tilgjengelig genetisk informasjon. Eggets eget DNA kan fjernes mikrokirurgisk, eller inaktiveres ved bestråling. Nytt DNA kan så introduseres mikrokirurgisk eller ved elektrofusjon med en cellekjerne (fig 3). Man har i mange år forsøkt å klonere ulike dyrearter på denne måten uten særlig hell (28). Lenge ble det antatt at DNA fra differensierte celler hadde mer eller mindre irreversible forandringer som hindret avlesning av en del av den genetiske informasjonen i DNA fra disse cellene. Disse modifikasjonene av DNA, bl.a. metylering av cytosin, ble sett på som fundamentale, irreversible prosesser som styrte utvikling og differensiering ved permanent å dirigere hvilke gener som var tilgjengelig for avlesning i en gitt celle. Det var derfor en sensasjon da Roslin-instituttet i Skottland klarte å klonere sauen Dolly fra en kultur av jurceller (25). Kloningen av Dolly viste at mange av de forestillingene vi tidligere hadde om celledifferensiering, stamceller og tidlig utvik-

ling av zygoter/preembryoer ikke var korrekte. Disse erkjennelsene, og det dette innebærer, vil nok i ettertid bli sett på som mye viktigere enn de mer sensasjonspregede presseopplagene om mulig reprodutiv kloning av mennesker. De tekniske håndgrepene som Wilmut og medarbeidere gjorde for å få klonet Dolly, var relativt enkle. Det som viste seg avgjørende var at donorcellens kromatin (DNA) og akseptorcellens (eggets) cytoplasma var i samme fase i cellyklus. Et modent eggs cytoplasma skal normalt vente på et signal om at det er befruktet før det gjenopptar den siste meiotiske deling. Det vil da også forvente å finne et kromatin som har en struktur forenlig med en tilsvarende hvilefase. Dette oppnådde Wilmut og medarbeidere enkelt ved å sulte de jurcellene de hadde i kultur, dvs. dyrke cellene uten serum til stede. Siden Dolly ble født, er det blitt klonet mange forskjellige dyr (26–28). Et fellestrekk ved alle studiene som er gjort, er at

kloningsmetodene ikke er effektive. De fleste preembryoer som genereres på denne måten implanterer ikke. De som implanterer, aborterer hyppigere enn normalt, og de dyrene som fødes, har ofte større sykkelighet enn normale dyr. Ved siden av de mer fundamentale etiske innvendingene man kan ha mot reprodutiv kloning av mennesker, er det på det nåværende tidspunkt fullstendig uansvarlig med tanke på medisinsk risiko å forsøke reprodutiv kloning av mennesker.

Metodene brukt til generering av humane preembryoer ved hjelp av overføring av somatiske cellekjerne kan få store implikasjoner for terapeutisk anvendelse av embryonale stamceller. Den store fordelen er at dette muliggjør generering av stamceller som genetisk sett er lik pasientens egne celler. Det vil da ikke være nødvendig med immunosupprimerende behandling etter transplantasjon. Tilgang på pasientens genetisk sett egne stamceller gir i teorien en utømmelig kilde for terapeutiske celler.

Denne formen for behandling krever tilgang på ubefruktede humane egg. I de nærmeste 5–10 årene hvor dette vil være ren forskning, vil nettopp tilgangen på egg fra friske frivillige donorer være en begrensning. Det arbeides imidlertid intenst for å utvikle metoder for modning av egg in vitro. Dette kan skje ved å høste egg fra umodne follikler eller ved å dyrke eggstokkbiopsier i kultur. Utvikling av teknikker for modning av egg in vitro skjer primært med tanke på behandling av infertilitet, men de samme metodene kan anvendes til å fremskaffe egg som kan brukes til å generere ES-celler. En noen kubikkmillimeter stor biopsi av cortex inneholder bokstavelig talt tusenvis av pri-

mordialfollikler som kan utvikle seg til egg gode nok til å generere embryonale stamceller.

Foreløpig har man intet realistisk alternativ til å bruke humane egg for å reprogrammere en somatisk cellekjerne med tanke på å lage ES-celler. Et alternativ som diskuteres seriøst, er å utvikle en cellelinje der cellen har noen av de samme egenskapene som et egg til å reprogrammere en somatisk cellekjerne. Disse reprogrammerte cellene vil da sannsynligvis være multipotente i motsetning til totipotente.

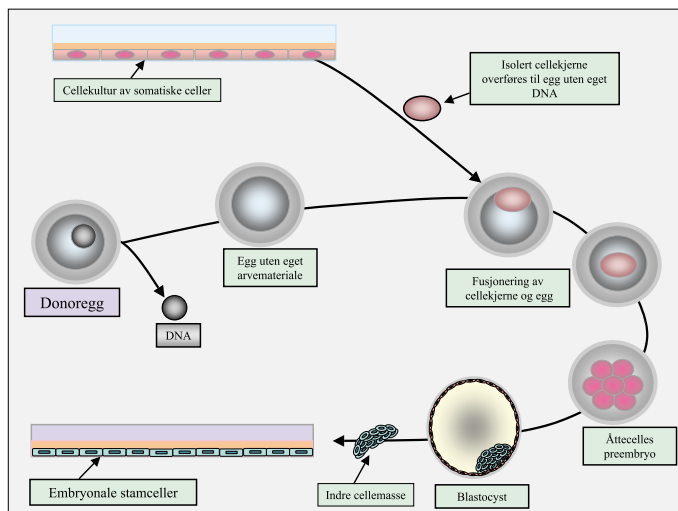
Stamceller fra voksne

Tidligere trodde man at stamceller under fosterlivet irreversibelt differensierte fra multipotente stamceller til spesifikke stamceller for hvert sitt vev. Hjerne-stamceller kunne bare lage visse hjerneceller, leverstamceller bare levervev, muskelstamceller bare muskelvev osv. I løpet av de siste to årene er det blitt vist at stamceller hos voksne har mye større plastisitet enn tidligere antatt. Stamceller fra beinmarfag kan utvikle seg til celler som uttrykker fenotypiske trekk lik stamceller fra hjerne eller muskler (1, 29–31). Hvis man kan vise at hematopoetiske stamceller kan utvikles til genuine stamceller for eksempel hjernevev, levervev eller muskelvev, kan dette lede til store terapeutiske gevinster. Disse observasjonene har gitt opphav til spekulasjoner om at de viktigste signaler til stamcellen kommer fra det lokale miljøet den er i og ikke er irreversibelt programmet inn i dens arvemateriale.

Man kan tenke seg at visse stamceller har den generelle egenskap at de kan fungere som stamceller. Hvilken spesifikk stamcelletype de utvikler seg til (nerve-, muskel-, leverstamcelle), avhenger av de biologiske signaler de får i det vevet de befinner seg i. De ulike vevstyper skiller med andre ord ut signalstoff som forteller stamcellen hvilken spesifikk funksjon den skal utføre i vevet. Hvis denne hypotesen er riktig, kan dette også gjelde for embryologiske stamceller, slik at de in vivo vil differensiere til de riktige stamcellene når de plasseres i det riktige lokale miljø.

Forskning på humane embryologiske stamceller i Norge?

Forskning på humane embryologiske stamceller startes nå opp i mange land, også i Norden. Forsøk med etablering av ES-cellelinjer generert fra blastocyster etter somatisk kjerneoverføring inn i egg, er planlagt startet i løpet av 2001 i Sverige og Finland. Danske forskningsgrupper har en tilsvarende søknad inne til vurdering hos danske myndigheter. Norske forskningsmiljøer er interessert i å



Figur 3 Generering av embryonale stamceller ved overføring av en somatisk cellekjerne inn i et ubefruktet egg. Eggets eget arvemateriale fjernes eller inaktiveres før overføring. En isolert cellekjerne fra en kultur av kroppsceller plasseres så under zona pellucida. Eggcelle og cellekjerne fusjoneres ved hjelp av en elektrisk puls. Egget vil organisere utviklingen av en preembryo basert på den genetiske informasjonen gitt av den somatiske cellekjernen. Som ellers ved fremstilling av embryonale stamceller, isoleres den indre cellemassen i blastocysten som oppstår, og cellene dyrkes videre for å få stamceller

delta i denne utviklingen. Det vil imidlertid være nødvendig med en endring av lov om medisinsk bruk av bioteknologi før dette kan skje. I Norge har vi et forbud mot å drive såkalt forbrukende forskning på befruktede egg. Uten en lovendring vil norske forskere være henvist til å utføre slikt arbeid for eksempel i et av de andre nordiske land. Hvis vi velger å si nei til denne type forskning, burde vi av moralske årsaker også si nei til behandlinger som kan bli resultatet av forskningen. Innenfor fagområdet assistert befruktning har Norge lenge inntatt en holdning som i praksis har medført at all forskning på utvikling av nye metoder har foregått utenfor landets grenser. Nye metoder er så blitt ført tilbake til Norge når de er ferdig utviklet i utlandet. Slike holdninger blir oppfattet som dypt umoralsk utenfor landets grenser. Ved introduksjonen av intracytoplasmisk sæd-injeksjon (intracytoplasmic sperm injection, ICSI) ble det forlangt at nordmenn skulle dokumentere erfaring med ICSI-metoden før de tok den i bruk innenfor landets grenser. Denne erfaring kunne man ikke få i Norge, siden den kom inn under forbudet mot forskning på befruktede egg. Norske fagfolk drog derfor til Sverige og Belgia og fikk opplæring ved å forbruke svenske og belgiske kvinners egg.

Etikk

Det er to typer hovedspørsmål i debatten rundt terapeutisk bruk av humane embryologiske stamceller: Det ene er hvilken moralsk status man tillegger det befruktede egg. Hvis man mener at zygoten etter sammensmelting av de to forkjernene etisk sett er å betrakte som et individ med samme krav på be-

skyttelse som et født individ, blir utfallet av analysen relativt enkel. Terapeutisk anvendelse av stamceller isolert fra befruktede egg, embryo eller aborterte fostre vil ikke være etisk forsvarlig.

Det kan hevdes at moralsk status, i betydningen krav på beskyttelse, øker med utviklingsnivået. Humane preembryoer har et potensial til å bli et født individ og er derfor forskjellig fra somatiske celler, men dette gir ikke automatisk en status som gjør det uetisk å anvende dem til spesielle forskningsformål eller til behandling av alvorlige sykdommer hos fødte individer.

Det andre hovedspørsmålet er om man skal tillate seg å generere totipotente celler (preembryoer) i ren nyttehensikt. Mange som kan akseptere å bruke celler fra såkalte overtallige befruktede egg eller aborterte fostre, vil hevde at en praksis der man bevisst befrukter egg og dermed skaper potensielt totipotente celler, for senere å avbryte utviklingen, kan bidra til at

vårt menneskesyn generelt blir skadelidende. Starten på livet blir redusert til en nyttegjensstand. Det avgjørende spørsmål blir dermed ikke om man genererer de totipotente cellene in vivo, in vitro eller ved overføring av somatiske cellekjerne inn i egg, men om man aksepterer at man bevisst genererer totipotente celler i ren nyttehensikt. Dette spørsmålet bør sees i sammenheng med moralsk status på det tidspunkt utviklingen blir stanset. Med et slikt syn vil bevisst initierte svangerskap med tanke på å abortere fostret bli uakseptabelt, mens forskningsmessig eller terapeutisk bruk av bevisst kreerte, men ikke transfererte humane preembryoer blir akseptabelt.

Det vil i de nærmeste årene bli forsøkt utviklet celler som kan utføre den samme reprogrammeringen av somatiske cellekjerne som egget kan. Dermed er det ikke usannsynlig at man kan skreddersy et system der de nye cellene som oppstår ikke er totipotente, dvs. ikke kan brukes til reproduktiv kloning, men kun er multipotente og kan utnyttes til å generere ES-celler. Hvis dette blir en realitet, vil mange av de etiske innvendingene som reises mot å generere ES-celler ved hjelp av såkalt «terapeutisk kloning» ikke være gyldige. En forutsetning for å utvikle slike metoder vil imidlertid være en omfattende forskningsinnsats over mange år der man forbruker humane egg og humane zygoter/preembryoer i forskningsøyemed (32).

Et tredje poeng, som sjelden er inne i debatten, er en analyse av de ulike kliniske scenarier som man kan se for seg i fremtiden. Anta at bruk av ES-celler vil få stor klinisk betydning i fremtiden og at man ennå ikke har utviklet en metode for generering av dis-

Tabell 1 Sammenlikning av ulike stamcelletyper aktuelle for terapeutisk anvendelse

Stamcelletype	Fordeler	Ulemper	Etiske problemer	Klinisk bruk
Native stamceller fra voksne	Er i klinisk bruk	Vanskelig å isolere	Vesentlig en ren nytte-versus risikovurdering	Etablert
Reprogrammerte stamceller fra voksne	Genetisk lik pasientens celler	Problematisk å isolere og reprogrammere i store nok mengder? Mitotisk potensial?	Vesentlig en ren nytte-versus risikovurdering	I løpet av 2–5 år
Aborterte fostre	Lettere å isolere stamceller fra fostrene fra voksne	Vanskelig å skaffe nok vev Mitotisk potensial stort nok?	Konflikt mellom behov for vev og ønske om å begrense antall aborter	Har vært utført i mange år (for eksempel ved parkinsonisme)
Befruktede egg	Kan dyrkes «uendelig» i laboratoriet. Stort utviklingspotensial	Vanskelig å induisere spesifikk differensiering?	Forbruk av befruktede egg. Reelle overskudds preembryo eller spesifikt genererte preembryoer?	5–10 år
Somatisk cellekjerne-overføring («terapeutisk kloning»)	Samme som embryoniske stamceller I tillegg: Genetisk lik pasientens celler	Samme som ved embryoniske stamceller I tillegg: Kan være teknisk vanskelig å lage Krever tilgang på humane egg	Generere totipotente celler (humane preembryoer) i rent nytteøymed. Implikasjoner for menneskesyn?	7–12 år

se cellene uten å bruke humane egg/preembryoer. Hvis tilgangen ble begrenset til såkalte «overtallige befruktede egg», altså preembryoer som ikke lenger ønskes brukt av parene som var dets biologiske opphav, ville både parene til fertilitetsbehandling (IVF) og de klinikerne som utførte behandlingen, bli satt under press for å generere mange overtallige preembryoer. Dette ville kunne føre til en praksis der par i fertilitetsbehandling fikk en mindre effektiv behandling (færre preembryoer til eget bruk) og en behandling med flere bivirkninger (sterkere hormonstimulering for å få flere egg). Det ville være mer redelig å basere seg på å få donert egg fra friske frivillige kvinner enten i form av modne egg eller fra eggstokkbiopsier der man dyrket frem egg in vitro.

Valg av kilde for stamceller til terapeutisk bruk

I tabell 1 summeres noen av de viktigste elementene i diskusjonen omkring valg av stamceller. Det er ingen tvil om at man om mulig vil foretrekke å benytte stamceller fra pasienten selv. Den siste tids utvikling som antyder at stamceller fra voksne kan endre fenotype, gir store forhåpninger om at man kan komme langt ved en intelligent reprogrammering av stamceller, for eksempel fra beinmarg. Det som imidlertid er ukjent er om disse i sin tur kan omdannes til genuine nye stamceller, dvs. at de er i stand til å dele seg tilstrekkelig antall ganger og kan gi opphav til nye celler med korrekt differensiering (hjernevev i stedet for blodceller).

Det er viktig å skille mellom den forskningsfasen vi nå er i og et eventuell fremtidig scenario med mange kliniske situasjoner der man ønsker å anvende embryologiske

stamceller. I mange år fremover er det nødvendig å studere basale biologiske egenskaper hos stamcellene. Vi skal lære oss hvordan de best isoleres, dyrkes og differensieres for å kunne inngå i en forsvarlig klinisk behandling. Det er en lang vei å gå fra dagens tidlige forsøk på å dyrke humane ES-celler til en etablert klinisk praksis. I denne fasen vil man for eksempel kunne lære mye av å studere ES/EG-cellelinjer som er generert fra overtallige befruktede egg eller aborterte fostre.

Hvis vi ender i en situasjon der det blir utviklet en eller flere behandlingsmetoder basert på ES-celler, vil etterspørselen etter slike øke dramatisk. Tilgangen på overtallige befruktede egg vil ikke være stor nok. I tillegg vil man ha behov for å ha ES-celler som er så genetisk lik resipienten som mulig. De to eneste realistiske alternativer forfatterne ser for fremtiden, er enten å bruke pasientens egne stamceller der det er mulig, eller å generere pasientens genetisk sett egne ES-celler ved å reprogrammere somatiske cellekjerne ved hjelp av egg eller spesielle cellelinjer.

Flere sentrale forskere som arbeider med stamceller fra voksne, understreker at det i den fasen vi nå befinner oss ikke foreligger noe valg mellom å satse på forskning på voksne eller embryonale stamceller. Det er viktig å kunne kombinere den informasjon vi kan få fra flere biologiske modeller for å kunne etablere nye behandlingsmetoder basert på stamceller, uansett om disse cellene er pasientens egne eller om de er generert ved reprogrammering av en somatisk cellekjerne. Denne utviklingen bør vi i Norge også ha anledning til aktivt å ta del i til fremtidig nytte for norske pasienter.

Litteratur

- McKay R. Stem cells – hype and hope. *Nature* 2000; 406: 361–4.
- Evans M, Kaufman M. Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos. *Nature* 1981; 292: 154–6.
- Martin G. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 7634–8.
- Klug MG, Soonpaa MH, Koh GY, Field LJ. Genetically selected cardiomyocytes from differentiating embryonic stem cells form stable intracardiac grafts. *J Clin Invest* 1996; 98: 216–24.
- Brüstle O, Spiro AC, Karram K, Choudhary K, Okabe S, McKay RD. In vitro generated neural precursors participate in mammalian brain development. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 14809–14.
- Brüstle O, Jones KN, Learish RD, Karram K, Choudhary K, Wiestler OD et al. Embryonic stem cell-derived glial precursors: a source of myelinating transplants. *Science* 1999; 285: 754–56.
- Studer L, Tabar V, McKay RD. Transplantation of expanded mesencephalic precursors leads to recovery in parkinsonian rats. *Nat Neurosci* 1998; 1: 295–98.
- Yamashita J, Itoh H, Hirashima M, Ogawa M, Nishikawa S, Yurigi T et al. Flk1-positive cells derived from embryonic stem cells serve as vascular progenitors. *Nature* 2000; 408: 92–6.
- Potocnik AJ, Kohler H, Eichmann K. Hematolymphoid in vivo reconstitution potential of subpopulations derived from in vitro differentiated embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 10295–300.
- McDonald JW, Liu X-Z, Qu Y, Mickey S, Turetsky D, Gottlieb DI et al. Transplanted embryonic stem cells survive, differentiate and promote recovery in injured rat spinal cord. *Nat Med* 1999; 5: 1410–12.
- Yandava BD, Billingham LL, Snyder EY. «Global» cell replacement is feasible via neural stem cell transplantation: Evidence from the dysmyelinated shiverer mouse brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 7029–34.
- Lynch WP, Sharpe AH, Snyder EY. Neural stem cells as engraftable packaging lines can me-

→

→

- diate gene delivery to microglia: Evidence from studying retroviral env-related neurodegeneration. *J Virol* 1999; 73: 6841–51.
13. Flax JD, Aurora S, Yang C, Simonin C, Wills AM, Billingham LL et al. Engraftable human neural stem cells respond to developmental cues, replace neurons, and express foreign genes. *Nat Biotechnol* 1998; 16: 1033–9.
 14. Gage FH. Mammalian neural stem cells. *Science* 2000; 287: 1433–38.
 15. McKay R. Stem cells in the central nervous system. *Science* 1997; 276: 66–71.
 16. Snyder EY, Taylor RM, Wolfe JH. Neural progenitor cell engraftment corrects lysosomal storage throughout the MPS VII mouse brain. *Nature* 1995; 374: 367–70.
 17. Aboody KS, Brown A, Rainov NG, Bower KA, Liu S, Yang W et al. From the cover: neural stem cells display extensive tropism for pathology in adult brain: evidence from intracranial gliomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 12846–51.
 18. Noble M. Can neural stem cells be used as therapeutic vehicles in the treatment of brain tumors? *Nat Med* 2000; 4: 369–70.
 19. Noble M. Can neural stem cells be used to track down and destroy migratory brain tumor cells while also providing a means of repairing tumor-associated damage? *Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 12393–5.
 20. Schamblo MJ, Axelman J, Wang SP, Bugg EM, Littlefield JW, Donovan PJ et al. Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 13726–31.
 21. Thompson JA, Itskovitzeldor J, Sharpiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998; 282: 1145–7.
 22. Reubinoff BE, Pera MF, Fong C-Y, Trounson A, Bongso A. Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation in vitro. *Nat Biotechnol* 2000; 18: 399–404.
 23. Pera MF, Reubinoff B, Trounson A. Human embryonic stem cells. *J Cell Sci* 2000; 113: 5–10.
 24. Keller G, Snodgrass HR. Human embryonic stem cells: the future is now. *Nat Med* 1999; 5: 151–2.
 25. Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KHS. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. *Nature* 1997; 385: 810–3.
 26. Wakayama T, Perry ACF, Zucotti M, Jonson KR, Yanagimachi R. Full term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. *Nature* 1998; 394: 369–74.
 27. Kato Y, Tani T, Sotomaru Y, Kurokawa K, Kato J, Doguchi H et al. Eight calves cloned from somatic cells of a single adult. *Science* 1998; 282: 2095–8.
 28. McLaren A. Cloning: pathways to a pluripotent future. *Science* 2000; 288: 1775–80.
 29. Björklund A, Svendsen C. Breaking the brain-blood barrier. *Nature* 1999; 397: 569–70.
 30. Alison MR, Poulsom R, Jeffert R, Dhillin AP, Quaglia A, Jacob J et al. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature* 2000; 406: 257.
 31. Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med* 2000; 6: 1229–34.
 32. McLaren A. Important differences between sources of embryonic stem cells. *Nature* 2000; 408: 513.

○

AnnONSE