

# A PLURIPOTENS ŐSSEJTEK KÜLÖNLEGES BIOLÓGIAI PROGRAMJA, EMBRIONÁLIS ÉS INDUKÁLT PLURIPOTENS ŐSSEJTEK

Szatmári István

PhD, Debreceni Egyetem  
szatmari@med.unideb.hu

Az embrionális, illetve az indukált pluripotens őssejtek szinte korlátlan fejlődési képességgel rendelkező sejtformák. Nem véletlen, hogy többféle betegség sejterápián alapuló gyógyítását e sejtekből kiindulva próbálják kidolgozni. E közlemény röviden ismerteti a pluripotens őssejtek legfontosabb tulajdonságait, és megpróbál választ adni arra, mi teszi ezeket a sejteket oly különlegessé és plasztikussá.

## Az embrionális őssejtek eredete és létrehozása

Ahhoz, hogy a pluripotens őssejtek biológiai programját megismerjük, fontos felvázolni, hogy e sejtek honnan erednek, milyen forrásból hozhatók létre. A többsejtű élőlények egyetlen sejt, a megtermékenyített petesejt osztódása révén indulnak fejlődésnek. A megtermékenyített petesejt (*zigóta*) a kiindulási alapja a későbbi élőlénynek, tehát olyan totipotens alapítósejt, amiből az egész szervezet létrejön. Emlősöknél ebből alakul ki az embrió, továbbá e sejt leszármazottai hozzák létre az extraembrionális képleteket, így a méhlepény magzati eredetű részét is. A zigóta, fejlődése során több átalakuláson megy keresztül, osztódás révén elsőként a néhány sejtből álló szedericsra (*blasztula*) jön létre. A

blasztula állapot korai fázisában (négysejtes állapot) az individuális sejtek még megőrzik totipotens jellegüket, egymástól elkülönítve is képesek létrehozni az egész élőlényt. Ehhez hasonló természetes folyamat vezethet a többetű ikrek kialakulásához.

Az embriogenezis következő fázisában, a hólyagcsíra (*blasztociszta*) állapotban a sejtek elvesztik totipotens jellegüket, azaz az individuális sejtekből már nem képes kialakulni a teljes szervezet, viszont az egyes sejtek még mindig széles fejlődési potenciállal rendelkeznek. Korai blasztociszta állapotban (egérnél 3,5 nappal a megtermékenyítés után) az embriókezdemény körülbelül húsz-negyven sejtből áll. A külső sejtréteget *trofektodermának* nevezzük; e sejtek nem vesznek részt a későbbi magzat kialakításában, viszont ebből alakul ki a méhlepény nem anyai eredetű rétege. A blasztociszta belsejében található az úgynevezett belső sejtörmeg (*inner cell mass*), amit *embriócsomónak* is neveznek. A korai blasztociszta állapotban az egér embriócsomó többé-kevésbé homogén sejtcsoportnak tekinthető. Ezzel szemben az embrió implantációja során, tehát a késői blasztociszta állapotban (egérnél 4,5 nappal a megtermékenyítés

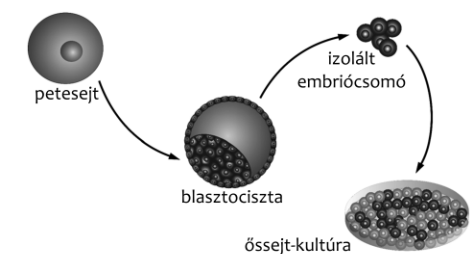
után), az embriócsomó sejtjei már egyértelműen elkülönülnek epiblaszt és hipoblaszt sejtekre. A belül elhelyezkedő epiblaszt sejtekből jön létre az embrió összes sejt- és szöveteffésége. A hipoblaszt sejtek az extraembrionális szikhólyag endodermális részének kialakításában vesznek részt, a későbbi embrió felépítésében nem. Az embriogenezis következő fázisában (*gasztruláció*) az embriócsomó elkülönült epiblaszt sejtjei egyrétegű struktúrát hoznak létre, majd e sejtréteg szakaszosan átalakul ektodermális, endodermális és mezodermális sejtréteggé. A fejlődés ezen fázisában kezdenek specializálódni a sejtek, ezekből az átalakult sejtformákból jönnek létre a különféle szervkezdemények.

Blasztociszta állapotban tehát elkülönülnek azok a sejtek (az embriócsomó sejtjei, majd ezekből az epiblaszt sejtek), amelyekből a későbbi embrió képződik. Ezek a sejtek már nem totipotens, hanem pluripotens tulajdonsággal rendelkeznek. A pluripotens jelleg azt jelenti, hogy még mindig széles fejlődési potenciállal bírnak, de mindent már nem képesek létrehozni. A pluripotens sejtekre az jellemző, hogy az extraembrionális sejtek egy részének kivételével, az összes testi sejt kialakulhat belőlük. Fontos kiemelni, hogy az embriócsomóban létrejött pluripotens őssejtek a fejlődő szervezetben csak átmenetileg léteznek, a differenciálódás folyamán fokozatosan alakulnak át specializáltabb és szűkebb fejlődési potenciállal rendelkező sejtekké. Mesterséges környezetben, az embrióból kiszakítva, megfelelő körülmények között viszont e pluripotens őssejtek korlátlanul fenntarthatók, s megőrzik az alapító sejtekre jellemző tulajdonságaikat.

Az embrionális őssejtek (*embryonic stem* – ES) tehát az epiblaszt sejtek előalakjaiból, az embriócsomó sejtjeiből hozhatók létre. Egér

ES-sejteket elsőként Martin Evans és Matthew Kaufman kutatóknak, illetve ezzel párhuzamosan Gail Martinnak sikerült létrehozni több mint harminc évvel ezelőtt (Evans, 2011). Evans és Kaufman az ES-sejteket a blasztociszta letapasztása után, az embriócsomóból kinövő sejtekből hozta létre, míg Gail Martin izolálta a belső embriócsomót, és ezekből sikerült ES-sejteket felszaporítania. A későbbiekben az egyszerűsége miatt a blasztociszta letapasztásos módszer terjedt el, de ennél az eljárásnál is az embriócsomóból származnak az ES-sejtek. Hozzávetőleg húsz évvel később, 1998-ban sikerült James Thomson munkacsoportjának létrehozni az első humán ES-sejteket, emberi petesejtek mesterséges megtermékenyítése során kapott blasztociszták felhasználásával (Thomson et al., 1998). A humán ES-sejtek létrehozása nagy publicitást kapott, sok kutató hatalmas áttörésnek tekintette ezt a felfedezést, mert itt már nem kísérleti állatokból származó sejtekről volt szó, hanem olyan emberi sejtforrásról, amit a regeneratív medicina fel tud használni. Ezzel párhuzamosan megindultak az etikai/jogi viták és korlátozások, mivel e sejtek létrehozása során a fejlődő blasztocisztát fel kellett áldozni az ES-sejtek kinyerése céljából.

A múlt század végén tehát megszülettek azok a technológiák, amelyekkel pluripotens



1. ábra • ES-sejtek alapítása az embriócsomó pluripotens sejtjeiből

őssejtek váltak létrehozhatóvá embriókezdeményből. A területen a következő nagy áttörést Jamanaka Sinja (Shinya Yamanaka) és Takahasi Kazutosi (Kazutoshi Takahashi) felfedezése jelentette, akiknek embrió felhasználása nélkül, felnőtt sejtek visszaprogramozásával sikerült előállítaniuk úgynevezett indukált pluripotens őssejteket (iPS-sejteket) (Takahashi – Yamanaka, 2006). Ez a felfedezés külön cikkben kerül ismertetésre, e közleményben inkább az ES-/iPS-sejtek különleges sajátosságait szeretnénk bemutatni és értelmezni.

#### *A pluripotens őssejtek jellegzetességei*

Az iPS-, illetve az ES-sejtek legértékesebb sajátága a pluripotencia, azaz, hogy belőlük a legkülönbözőbb sejtformák fejlődhetnek ki. Az átalakulási képesség mellett az ilyen sejtek megfelelő kondíciók esetén korlátlan önmegújuló sajátással is rendelkeznek. Ezt a jellegüket nagyszámú sejtosztódást követően is képesek megőrizni. Mi teszi a pluripotens őssejteket ilyen különlegessé; ellentétben a szöveti őssejtekkel, miért tudnak szinte minden irányba átalakulni? Erre az egyszerű válasz, hogy az őssejtek totipotens-pluripotens jellege egy szükséges tulajdonság, mivel az összes sejtünk egyetlen forrásból, a megtermékenyített petesejtől származik, amelynek közvetlenül vagy közvetetten, de minden irányba tudnia kell az átalakulást. Korábban felvázoltuk, hogy a totipotens, majd a pluripotens jelleg fokozatosan veszti el az embriókezdeményt alkotó sejtek. Úgy tűnik, az embrionális őssejtforma olyan alapállapot, amelybe vissza lehet programozni a sejteket, illetve megfelelő szignálok hatására e metastabil állapot fenn is tartható. A következőkben ismertetésre kerül, hogy milyen faktorok, illetve szignálok képesek ezt a pluripotens állapotot fenntartani, stabilizálni.

Embrionális őssejtekben olyan kulcsgéneket azonosítottak, melyek esszenciálisak a pluripotens állapot eléréséhez és stabilizálásához. Ezek a pluripotencia faktorok a transzkripció faktorok családjába tartoznak, melyek a gének átírását (transzkripcióját) modulálják. Pluripotens állapot fenntartásában számos transzkripció faktor vesz részt, de ezek közül három fehéjének az Oct4, a Sox2 és a Nanog nevű transzkripció faktoroknak van kitüntetett szerepük. E kulcs transzkripció faktorok további transzkripciófaktor-hálózatokat aktiválnak, melyek elősegítik a differenciálatlan állapot fenntartását. Továbbá ezen három kulcsfehéjre számos, a sejtek továbbalakulását elősegítő gént gátol. Érdekes módon nem teljes gátlásról van szó, inkább e sejtekre az jellemző, hogy génjeik egy része bivalens állapotban van, azaz készek az átalakulásra, csak egy jelre várnak (Bernstein et al., 2006). Ezt az állapotot a DNS-fehéjkomplex (kromatin) egy jellegzetes módosult formájával lehet jellemezni, ami specifikus az embrionális őssejtekre. Fontos még egyszer kihangsúlyozni, hogy a pluripotens állapot az egyedfejlődés során átmeneti jellegű, a sejtek spontán próbálnak ebből az állapotból kilépni, és elindulni egyik vagy másik fejlődési irányba. Mindezek miatt az embrionális őssejtek metastabil állapotban vannak, ami csak mesterséges körülmények között tartható fenn, megfelelő szignálok segítségével. E szolubilis és sejt felszíni molekulák által közvetített szignálok természete az utóbbi évtizedben vált ismertté.

Az ES-sejtek mesterséges körülmények közötti fenntartásának optimalizálása hosszú folyamat volt, mely során fokozatosan sikerült azonosítani azokat a kulcsszignálokat, amelyek biztosítják a pluripotens állapot stabilitását. ES-sejteket kezdetben embrionális

dajkasejtekkel (egér embrionális kötőszöveti sejtekkel) tenyésztettek együtt (Thomson et al., 1998). A dajkasejtek képesek voltak fenntartani az ES-sejtek pluripotens jellegét, amire többek között a sejtek morfológiai és funkcionális tulajdonságai alapján lehetett következtetni. Későbbiekben azonosították azokat a szolubilis faktorokat, melyeket a dajkasejtek termeltek, s kulcsfontosságúak az ES-sejtállapot megőrzéséhez. Érdekes módon a humán és az egér ES-sejtek tenyésztéséhez nem ugyanazok a faktorok szükségesek, ami elég meglepő, ha feltételezzük, hogy a korai embriogenezis hasonló lépések sorozatából áll. Egér őssejteket dajkasejtek nélkül, LIF (*leukemia inhibitory factor*) jelenlétében lehet fenntartani (Ying et al., 2008), humán ES-sejtek tenyésztéséhez viszont bFGF- (*basic fibroblast growth factor*) faktorra van szükség. Újabb vizsgálatok szerint egérből is lehet olyan pluripotens sejteket izolálni, melyek bFGF-t igényelnek (Nichols – Smith, 2009). Ezek a sejtek már fejlettebb állapotban lévő, implantáció utáni egérembrió epiblaszt sejtjeiből nyerhetők ki, ezért ezeket epiblaszt őssejteknek nevezik. Az egérből származó epiblaszt őssejtek morfológiája is hasonló a humán ES-sejtekhez: ellentétben a dóm formájú kolóniákat képező egér ES-sejtekkel, ezek a sejtek laposabb formájú telepeket képeznek, és szintén érzékenyek a tripszines emésztésre.

Ezen eredmények alapján kialakult a koncepció, mely szerint a pluripotens sejteknek legalább kétféle formája létezik. Az egér embriócsomóból izolált sejteket nevezik naiv ES-sejteknek, ezek reprezentálják az embrionális sejtek alapállapotát, melyek teljes értékű őssejteknek tekinthetők. A későbbi fázisban izolálható „aktivált” (*primed*) őssejtek reprezentálják azt a sejt populációt, amely már előrehaladottabb, úgymond készen áll a dif-

ferenciálódásra (Nichols – Smith, 2009). A humán ES-sejtek – annak ellenére, hogy a korai embriócsomóból származnak – sokkal jobban hasonlítanak az egér epiblaszt őssejtekhez, ami arra utal, hogy ezek már elkötelezettebbek. A felvázolt különbségek ellenére az emlős pluripotens őssejtek több közös morfológiai és funkcionális tulajdonsággal rendelkeznek. A korábban már említett három pluripotencia faktor kimutatható szinte minden pluripotens őssejtben, ezért a morfológiai jellegek mellett e faktorok pozitívítása alapján szokás értékelni az embrionális őssejt kolóniák minőségét. Összefoglalva, a pluripotens őssejtek olyan átmeneti állapotban vannak, melyek még nyitottak minden fejlődési irányra, csak egy külső jelre várnak, hogy beinduljon egy differenciálódási program. Persze önmagában a pluripotens alapállapot fenntartása túl sok gyakorlati haszonnal nem kecsegtet, e sejtek képességeit úgy lehet kiaknázni, ha átalakítjuk őket.

#### *A pluripotens őssejtek in vivo és in vitro átalakulási képessége*

Az egér ES-/iPS-sejtek pluripotens jellege azt is jelenti, hogy korai embriókezdeménybe visszajuttatva őket, néhány extraembrionális képlet kivételével, képesek az egész szervezet létrehozására. Az ES- vagy iPS-sejtek, tehát képesek beintegrálódni az embriókezdeménybe, és ugyanazt a fejlődési programot hajtják végre, mint a barázdálódás révén keletkező embriócsomó sejtjei. Ez a fejlődési program több intermedier állapoton keresztül valósul meg, a sejtek átalakulását hormonszerű szolubilis és sejt felszíni molekulák irányítják, melyek kulcsgének be- és kikapcsolásával szabályozzák a fejlődést.

Nyilvánvaló, hogy ilyen jellegű *in vivo* vizsgálatok csak állatokon végezhetők el,

etikai, illetve praktikus szempontok miatt ilyen tesztek emberi ES-sejtekkel, humán embriókon nem lehet végrehajtani. Humán mintáknál az ES-sejtek *in vitro* differenciálására törekszünk, ami a kutatásban és a klinikumban is hasznosulhat. Fontos célkitűzés és egyben nagy kihívás funkcionális formáká alakítani át az őssejtállapotból e sejteket, melyek kísérleti vagy esetleg terápiás célra is felhasználhatók. A pluripotens sejtek legfőbb előnye a szöveti multipotens őssejtekhez képest, hogy belőlük a szervezetet alkotó összes sejttípus kifejlődhet. Így elvileg segítségükkel minden hiányzó vagy működésképtelen sejtet újra lehet gyártani. A pluripotens őssejtekből létre lehet hozni többek között az ideg-, az emésztő-, az ér- és a vázizomrendszer sejtjeit és szöveteit.

Annak ellenére, hogy egér ES-sejtek *in vivo* tökéletesen át tudnak alakulni az embrió összes sejttípusává, mesterséges körülmények között még mindig nagy kihívás hatékonyan irányítani a sejtek fejlődését. A legtöbb sejtátalakítási protokoll az *in vivo* folyamatokat próbálja utánozni, mesterségesen biztosítva

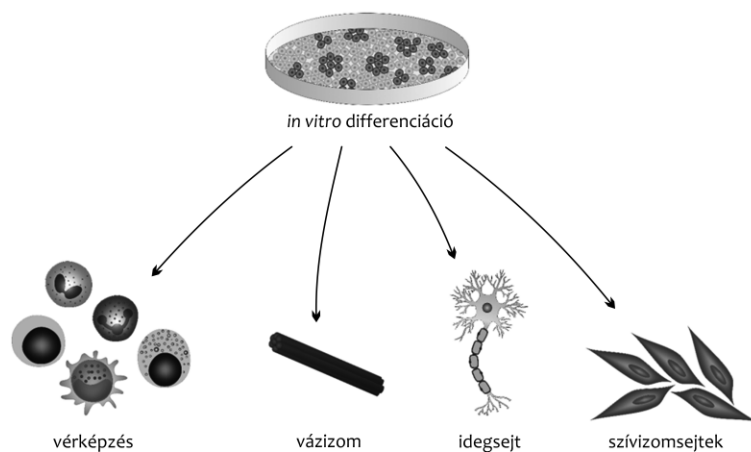
azokat a faktorokat, melyek az embriogenezis során termelődnek (Keller, 2005). Ugyanakkor az igazsághoz hozzátartozik, hogy a kutatók sok esetben próbálgatás útján dolgozták ki azokat a differenciálási eljárásokat, melyekkel egy-egy specifikus sejttípus létrejön. Hasonlóan a normál embrionális fejlődéshez, a pluripotens sejtek mesterséges átalakulása is hosszadalmas folyamat része: az őssejtek elsőként multipotens sejtekké alakulnak át, majd ezek formálódnak tovább egy vagy több lépésen keresztül terminálisan differenciálódott sejtekké. Mind az embrionális fejlődés során, mind az őssejtek mesterséges átalakításakor nehéz definiálni, mikor veszíti el a sejt pluripotens jellegét, illetve mely pillanattól köteleződik el az adott fejlődési irányba. Az ES-sejtek átalakítása alapvetően háromféle technikával valósítható meg (Keller, 2005). ES-sejtek összetapadásával háromdimenziós aggregátumok, úgynevezett embrioid testek képződhetnek, melyek képesek növekedni, és az őket alkotó sejtek képesek fokozatosan átalakulni. A másik lehetőség tápláló dajksejteken növeszteni az őssejteket, ekkor a

dajksejtek modulálják a sejtfejlődést különféle faktorok termelése révén. Például az OP9 dajksejtek elősegítik a vérképző sejtek létrejöttét. A harmadik módszer a sejtek fehérjemátrix felületen való tenyésztésén alapul; ennél a megközelítésnél hormonok, illetve növekedési faktorok adagolásával indul el a sejtek átalakulása. Mindhárom módszernek megvannak az előnyei és hátrányai. Az embrioid testek előnye, hogy a létrejövő háromdimenziós sejttaggregátum emlékeztet a korai embriókezdeményre, a különféle sejtek kölcsönösen indukálják egymás fejlődését. A módszer hátránya, hogy a folyamatot nehéz kontrollálni, mivel az embrioid testekben nemcsak a létrehozni kívánt sejttípusok keletkeznek, hanem szinte mindenféle sejtfejlődés, s ezek aránya is különböző lehet. A dajksejtek felhasználásával történő sejtátalakítás irányítottabb sejtfejlődést eredményez, mivel a dajksejtek olyan faktorokat termelnek, melyek egy adott sejttípus fejlődését és túlélését segítik elő. Ennél a megközelítésnél hátrányt jelent, hogy a sejtek átalakítását követően a sejt kultúrában ottmaradnak a dajksejtek is, melyektől sokszor nehéz elválasztani az ES-eredetű differenciált sejteket. A harmadik módszernél tudjuk legjobban kontrollálni a sejtek fejlődését, ugyanakkor a proteinmátrix természetétől függően változhat a sejtek átalakulási és túlélési képessége. Ezek az eljárások az ES-sejtek kezdeti átalakítására alkalmasak, az így létrejövő sejtek általában multipotens alakok, melyeket megfelelő faktorokkal tovább lehet alakítani adott sejttípusra.

#### Vérképző sejtek létrehozása pluripotens őssejtekből

Ezen általános összefoglaló munka kereteit meghaladja a különféle irányú ES-sejt-átalakítások ismertetése, ehelyett egyetlen irány, a

vérképző sejtek létrehozása kerül bemutatásra. Ha pluripotens őssejt eredetű hemopoetikus (vérképző) sejteket akarunk létrehozni, akkor kétféle célkitűzésről lehet szó. Az ambiciózusabb cél a teljes értékű vérképző őssejtek (*hematopoietic stem cell* – HSC) létrehozása. A másik lehetőség érett sejtek előállítására, például vörösvérsejtek, vérlemezkék vagy fehérvérsejtek gyártására. A HSC-k direkt előállításának előnye, hogy ezeket visszaültetve a szervezetbe korlátlan ideig biztosítani tudják a vérképzést. Ugyanakkor még ma is hézagosság az ismereteink a HSC-k eredetéről, ami nehezíti a pluripotens őssejtekből történő létrehozásukat. A korai embriogenezis során a hemopoetikus sejtek elsőként az extraembrionális szikzacskóban alakulnak ki, majd az embrionális aorta falában, illetve az extraembrionális artériákban is beindul a vérképző sejtek fejlődése. Az embrionális fejlődés későbbi szakaszában a vérképzés fokozatosan áttevődik a magzati májba, majd a születést követően végső helye a vörös csontvelő lesz. A képet tovább bonyolítja, hogy nem azonos a különféle anatómiai területeken létrejövő vérképző sejtek fejlődési képessége. A ma leginkább elfogadott elmélet szerint nem az extraembrionális szikzacskóban, hanem az embrió belsejében, a fejlődő aorta falában jönnek létre a HSC-k előalakjai (Orkin – Zon, 2008). Ezeket az ismereteket is figyelembe véve számos kutatócsoport próbált és próbál vérképző őssejtet létrehozni ES-, illetve iPS-sejtekből. A HSC-sajátság igazolására a leginkább elfogadott módszer a transzplantációs vizsgálat, mely teszteli, hogy a létrehozott vérképző progenitorok a kísérleti állatokba beültetve mennyi ideig, illetve milyen típusú sejteket képesek termelni. Számos ES-/iPS-sejtből származó HSC-transzplantációs vizsgálat történt, ugyanakkor sen-



2. ábra • Pluripotens őssejtek átalakítása terminálisan differenciálódott sejtekké



kinek sem sikerült reprodukálhatóan és genetikai módosítás nélkül olyan hemopoetikus sejtet létrehozni, mely hosszú távon fenntartotta volna a vérképzést. Ugyanakkor magzati ki lehet nyerni olyan HSC-eket, melyek képesek erre, tehát már embrionális korban megjelennek az ilyen tulajdonságokkal rendelkező sejtek. Hogy miért nem tudjuk reprodukálni mesterséges körülmények között az *in vivo* bekövetkező HSC-képződést, annak több oka is lehet. Egyrészt, ahogy az előzőekben felvázoltuk, nem teljesen világos, hogy az első HSC-k *in vivo* milyen átmeneti formákból jönnek létre, illetve az is tapasztalati tény, hogy a felnőtt állatból izolált HSC-k *in vitro* nagyon hamar elvesztik az őssejt-tulajdonságukat. A HSC-k előállításának sikerelensége egy fontos tényre hívja fel a figyelmet: az elméletileg mindenre képes embrionális őssejteket mesterséges körülmények között ma még nem tudjuk akármivé átalakítani.

A vérképző őssejtek előállítása mellett a másik lehetőség az érett, kész vörösvérsejt létrehozása pluripotens őssejtekből. Ez az eljárás hatékonyabbnak bizonyult, mivel vörösvérsejteket, vérelemekket, illetve különféle fehérvérsejteket sikerült generálni pluripotens őssejtekből (Olsen et al., 2006). Ugyanakkor ezek az átalakítási kísérletek egy másik fontos aspektusra hívják fel a figyelmet. Ismert, hogy a fejlődés során a vörösvértestekben található oxigénkötő fehérje, a hemoglobin más változata fordul elő a korai embrionális, a magzati, illetve a születés utáni korban. Megkülönböztetünk embrionális és magzati hemoglobint, melyek tulajdonságai eltérőek a felnőttkorban lévő fehérjékhez képest. Az embrionális, illetve a magzati hemoglobinok nagyobb affinitással kötik az oxigént, ami elősegíti az oxigén átjutását az anyai vérből a magzati vérbe. Érdekes módon a humán

ES-sejtekből létrehozott vörösvértestek főleg embrionális és magzati hemoglobint tartalmaznak, de a felnőttekre jellemző formák csak kis mennyiségben detektálhatóak (Chang et al., 2006). Ez persze nem meglepő, hiszen a normál embriogenezis során is ezek a fehérjeformák jelennek meg elsőként a szikzacskóban kialakuló vérképzés során, s valószínűleg az ES-sejtekből is ezek a fejlődési programok tudnak legkönnyebben aktiválódni. Feltételezhető, hogy ez a jelenség nem korlátozódik a vörösvértestekre, valószínű más sejtekenél is az embrionális fejlődési programok aktiválódnak leghatékonyabban. Ez a megfigyelés rávilágít az ES-/iPS-eredetű sejtek átalakításának egy másik korlátjára. Valószínű, hogy a pluripotens sejtekből létrehozott funkcionális formáknak nincsenek a felnőtt sejtekre jellemző tulajdonságaik, ezért visszautlvetve a szervezetbe nem biztos, hogy ugyanolyan hatékonyan működnek, mint a felnőtt szervezetből származó sejtek. Mindezek a megfigyelések felhívják a figyelmet arra, hogy mesterséges körülmények között, az ES-/iPS-sejtek fejlődési potenciáljának kiaknázása céljából további intenzív kutatásokra van szükség.

#### *A pluripotens őssejt felhasználásának korlátai*

Az eddigiekben a pluripotens őssejteket úgy jellemeztük, hogy képesek önmegújulásra, illetve több-kevesebb megszorítással képesek mindenféle sejtformává átalakulni. Felmerülhet a kérdés, hogy ha ilyen kedvező sajátosságok vannak, akkor miért nem használják őket tömegesen a sejterápiás eljárások során. A pluripotens jellegnek veszélyes következménye is van, ugyanis ha visszainjektáljuk az ilyen sejteket a recipiens szervezetbe, akkor azokban speciális tumorok, teratómák fejlődnek ki. A teratómák jóindulatú daganatok, melyek az őssejtől spontán differenciálódott

sejtek tömegéből állnak. A pluripotens őssejtekre jellemző, hogy mindhárom csíralemez (ekto-, endo- és mezoderma) sejtjeit/szöveit tartalmazó tumorokat képesek létrehozni. Leegyszerűsítve: a pluripotencia és a tumorigenezis együttesen jellemző az ES-/iPS-sejtekre.

Szerencsére a pluripotens sejtekből létrejövő differenciálódott formák fokozatosan elveszítik a tumorképző sajátosságukat, de ez nagyban függ a sejtátalakítás hatékonyságától, illetve az átmeneti formák tisztaságától. Például vázizom-differenciálás során azt tapasztalták, hogy ötnapos tenyésztéssel embrioid testekké differenciált, majd további 7–10 napig tenyésztett egér embrionális őssejtéből származó izom progenitorokat visszajuttatva immunhiányos egerekbe, tumorok alakultak ki. Ám ha az öt napig differenciáltot sejteket közül szortolással (áramlási citometriával) kiválogatták és tovább növesztették az izomsejtelőalakokat, akkor az állatokba injektált sejtekből nem jött létre teratóma, hanem csak izomsejtek fejlődtek ki (Darabi et al., 2008). Feltételezhető, hogy sejtválogatás nélkül, a több mint tíz napig tartó sejt differenciálás ellenére maradtak a sejtenyészetben formák, melyek megőrizték daganatképző embrionális őssejt jellegüket. Humán ES-sejteknel is megfigyelték, hogy tizenhat napig tartó differenciálást követően patkányokba transzplantált idegsejt progenitorokból tumorok fejlődtek. Igaz, a hosszabb ideig (huszonkét napig) differenciáltot sejtekből rákos sejtburjánzás már volt detektálható (Brederlau et al., 2006). Ezek az eredmények felhívják a figyelmet, hogy az ES-sejtek differenciálódásának hosszától és hatékonyságától is függ, hogy a sejteknek megmarad-e vagy sem a

daganatképző sajátosságuk. Persze adódik a kérdés, hol a határ, mikortól lehetünk teljesen biztosak abban, hogy a terápiás célból használni kívánt ES-eredetű sejtökkel nem tartalmaz daganatképző sejteket. Ezt nagyon nehéz definiálni, mindezek miatt a daganatos sejtburjánzás veszélye a legnagyobb korlátja a pluripotens őssejtek terápiás használatának.

A sejterápiás beavatkozások biztonsági kockázata ellenére a pluripotens őssejtek ma már nélkülözhetetlenek a modern sejtbiológiai és molekuláris medicina kutatásaihoz. A pluripotens őssejtek használata már napjainkban is széles körben elterjedt, feltételezhetően a jövőben mind több és több kutató – és klinikai – laboratórium fog ilyen sejteket tenyészteni. Ugyanakkor még további ismeretekre kell szert tennünk, hogy kontrollálni tudjuk e sejtek átalakítását, ami lehetővé teszi a különféle altípusú és aktivitású differenciál sejtek előállítását őssejtekből. Ehhez nagy segítséget fognak nyújtani a kifejlesztett szintetikus tápfolyadékok és adalékok, melyek lehetővé teszik, hogy a különböző laboratóriumokban egységes protokollok segítségével tudják létrehozni és átalakítani e sejteket. A standardizált procedúráknak különösen a klinikai sejterápiás vizsgálatoknál lesz fontos szerepük, hogy minden beteg hasonló tulajdonságú biológiai mintával legyen kezelve.

Köszönet jár Sári Erikának az ábrák elkészítéséért. A szerző munkáját a Bolyai János Kutatási ösztöndíj támogatása segítette.

Kulcsszavak: *Embrionális őssejtek, pluripotens őssejtek, transzkripciós faktorok, irányított sejt differenciálás, embriogenezis*

## IRODALOM

- Bernstein, B. E. – Mikkelsen, T. S. – Xie, X. – Kamal, M. – Huebert, D. J. – Cuff, J. – Fry, B. – Meissner, A. – Wernig, M. – Plath, K. et al. (2006): A Bivalent Chromatin Structure Marks Key Developmental Genes in Embryonic Stem Cells. *Cell*. 125, 315–326.
- Brederlau, A. – Correia, A. S. – Anisimov, S. V. – Elmi, M. – Paul, G. – Roybon, L. – Morizane, A. – Bergquist, F. – Riebe, I. – Nannmark, U. et al. (2006): Transplantation of Human Embryonic Stem Cell-derived Cells to a Rat Model of Parkinson's Disease: Effect of In Vitro Differentiation on Graft Survival and Teratoma Formation. *Stem Cells*. 24, 1433–1440.
- Chang, K. H. – Nelson, A. M. – Cao, H. – Wang, L. – Nakamoto, B. – Ware, C. B. – Papayannopoulou, T. (2006): Definitive-like Erythroid Cells Derived from Human Embryonic Stem Cells Coexpress High Levels of Embryonic and Fetal Globins with Little or No Adult Globin. *Blood*. 108, 1515–1523.
- Darabi, R. – Gehlbach, K. – Bachoo, R. M. – Kamath, S. – Osawa, M. – Kamm, K. E. – Kyba, M. – Perlingeiro, R. C. (2008): Functional Skeletal Muscle Regeneration from Differentiating Embryonic Stem Cells. *Nature Medicine*. 14, 134–143.
- Evans, M. (2011): Discovering Pluripotency: 30 Years of Mouse Embryonic Stem Cells. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 12, 680–686.
- Keller, G. (2005): Embryonic Stem Cell Differentiation: Emergence of a New Era in Biology and Medicine. *Genes & Development*. 19, 1129–1155.
- Nichols, J. – Smith, A. (2009): Naive and Primed Pluripotent States. *Cell Stem Cell*. 4, 487–492.
- Olsen, A. L. – Stachura, D. L. – Weiss, M. J. (2006): Designer Blood: Creating Hematopoietic Lineages from Embryonic Stem Cells. *Blood*. 107, 1265–1275.
- Orkin, S. H. – Zon, L. I. (2008): Hematopoiesis: An Evolving Paradigm for Stem Cell Biology. *Cell*. 132, 631–644.
- Takahashi, K. – Yamanaka, S. (2006): Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*. 126, 663–676.
- Thomson, J. A. – Itskovitz-Eldor, J. – Shapiro, S. S. – Waknitz, M. A. – Swiergiel, J. J. – Marshall, V. S. – Jones, J. M. (1998): Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts. *Science*. 282, 1145–1147.
- Ying, Q. L. – Wray, J. – Nichols, J. – Battle-Morera, L. – Doble, B. – Woodgett, J. – Cohen, P. – Smith, A. (2008): The Ground State of Embryonic Stem Cell Self-renewal. *Nature*. 453, 519–523.



## TESTI SEJTEK „VISSZAPROGRAMOZÁSA” ÉS A „DIREKT ÁTPROGRAMOZÁS” LEHETŐSÉGE

Orbán Tamás

Erdei Zsuzsa

PhD, MTA Természettudományi Kutatóközpont  
Molekuláris Farmakológiai Intézet  
Tamas.Orban@biomembrane.hu

biológus, MTA Természettudományi Kutatóközpont  
Molekuláris Farmakológiai Intézet  
Zsuzsa.Erdei@biomembrane.hu

Az embrionális őssejtek olyan korlátlan számú osztódásra képes sejtek, amelyek mindközben képesek megtartani pluripotens állapotukat (vagyis „őssejtmivoltukat”), ugyanakkor a differenciációs folyamatok elindításával belőlük bármilyen testi sejt létrehozható. Az embrionális őssejteken végzett kutatások emiatt hallatlan jelentőséggel bírnak a sejt- és szövetdifferenciáció folyamatainak megértéséhez, és egyben nagyon fontos modellrendszert jelentenek a gyógyszerészeti és toxikológiai kutatásokhoz. Fenntartásuk és a velük történő kísérleti munka azonban nemcsak technikai szempontból jelent kihívást, hanem komoly orvosi etikai problémákat is felvet, és ebből kifolyólag kizárólag megfelelő szaktudás, komoly felszereltségű laboratórium, és nem utolsósorban szigorú engedélyek birtokában végezhető.

További nehézséget jelent, hogy bizonyos kóros folyamatok jellemzéséhez betegségmodellként szükség lenne például adott genetikai elváltozásokat tartalmazó őssejtek és az azokból történő differenciációs folyamatok vizsgálatára, ilyen őssejtek létrehozása azonban rendkívül költséges és technikai szempontból sokszor nagyon nehezen megvalósítható.

2006-ban azonban a biológiai kutatások ezen területe óriási lendületet kapott, hiszen egy japán szerzőpáros tollából ebben az évben látott napvilágot egy olyan tudományos közlemény (Takahashi – Yamanaka, 2006), amely forradalmasította az őssejtekről alkotott képünket, és egyben új távlatokat nyitott meg az orvosi biológiai kutatások és a személyre szabott orvoslás területén. Ebben a rendkívül nagy jelentőségű cikkben igazolták először, hogy bizonyos kívülről bejuttatott gének (ún. „Yamanaka (Yamanaka)-faktorok”) segítségével bármilyen, már differenciált testi sejt „visszaprogramozható”, azaz visszajuttatható az ősi pluripotens állapotig, így potenciálisan bármilyen eredetű sejtől embrionális őssejt jellegű sejtek állíthatók elő. Az így létrehozott sejteket indukált pluripotens őssejteknek, az angol szavak (induced pluripotent stem) kezdőbetűiből röviden IPS-sejteknek nevezzük.

Az őssejtekkel való kutatás egyszerűsödése mellett ez a technológia óriási potenciált jelent a saját szervek és szövetek regenerálására/pótlására irányuló orvosi eljárások területén is. Mindemellett, mivel bármilyen személy testi sejtjeiből (például bőrből származó kötőszöveti sejtekből) IPS-sejtek állíthatók elő,