

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 modellrendszerként 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,

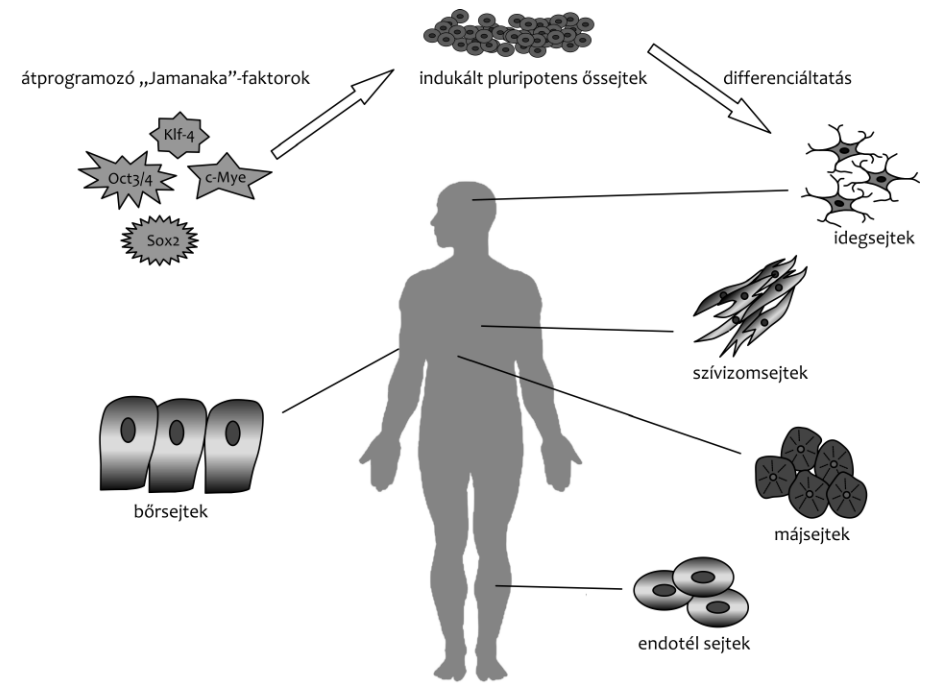
ezért a technológiának nagyon fontos szerepe lehet a személyre szabott orvoslás, illetve számos betegségmodell létrehozásában. Természetesen, mint minden eljárásnak, ennek a módszernek is megvannak a veszélyei, és a későbbi klinikai alkalmazásokat még számos előkísérletnek és ellenőrzési pontnak kell megelőznie. A legfontosabb talán a daganatképződés lehetőségének a biztonságos kizárása, hiszen az IPS-sejtek (akárcsak az embrionális őssejtek) korlátlan osztódási képességükkel fogva teratómák kialakulásában vehetnek részt, így potenciális veszélyforrást jelenthetnek. Ennek kikerülése volt talán az egyik ok, amely miatt a kutatók nemrégiben egy másik módszert, az ún. transzdzifferenciációt kezdték el vizsgálni. Az ötlet azon alapul, hogy ha lehetséges már differenciált sejteket visszaprogramozni ősi állapotú sejtekké, akkor talán képesek lehetünk közvetlen „átprogramozásra” is, vagyis hogy adott testi sejtől egy másikat állítsunk elő. A módszer előnye az lehet, hogy a megfelelő sejtípus kiválasztásával javíthatjuk a hatékonyságot, illetve a folyamatból kihagyhatók a potenciális veszélyforrást is jelentő pluripotens állapotú sejtek. A következőkben a sejtek irányított programozását, a „vissza-” és „átprogramozást” lehetővé tevő biológiai módszereket tekintjük át, szem előtt tartva ezen technológiák lehetséges jövőbeli orvosi biológiai alkalmazhatóságát is.

Testi sejtek „visszaprogramozása” – az indukált pluripotens őssejtek

A szervezetünkben előforduló, már differenciálódott állapotban lévő sejteink különböző szöveteket és szerveket alkotva összerendezett, szigorúan ellenőrzött és szabályozott rendszerben működnek együtt, biztosítva szervezetünk egészségét életünk során. Minden sejtünk egyetlen totipotens őssejtől, a

megtermékenyített petesejtből származik, és különböző érési útvonalakon haladva jut el végső, differenciált állapotáig. A sejtek ezen fejlődési folyamatait legegyszerűbben az ún. Waddington-féle tájképmo­dell mutatja be (lásd Uher Ferenc *1. ábráját*, 670. oldal), ahol a sejteket reprezentáló apró golyócskák a táj legmagasabb pontjáról (totipotens állapot) kiindulva adott lejtőkön és lokális csúcspontokon áthaladva legurulnak az egyik völgy legalsó pontjára (végdifferenciált unipotens állapot). Ez a modell jól jellemzi azt a korábbi elképzelést, miszerint a differenciáció folyamata normális körülmények között szigorúan egyirányú, vagyis nincs visszatérés egy korábbi vagy akár a kiindulási pontra (lásd indukált pluripotencia), és nincs átjárás a különböző mély völgyek között sem (lásd transzdzifferenciáció). Rákos sejtek vizsgálata kapcsán már korábban kiderült, hogy ilyen visszafelé irányuló folyamatok a természetben is végbemehetnek, de Jamanaka Sinja (Shinya Yamanaka) és munkatársai voltak az elsők, akik igazolták, hogy genetikai módszerekkel ez laboratóriumi körülmények között is megvalósítható (Takahashi & Yamanaka, 2006). A módszer lényege abban áll, hogy egy felnőtt testi sejtbe különböző szabályozó géneket, ún. transzkripciósfaktorokat juttatunk be, amelyek fokozott expressziójuk által ezeket a sejteket őssejteké programozzák vissza. Jamanakák felfedezésében az volt a meglepő, hogy a folyamathoz mindössze négy gén is elegendő: a KLF-4, az OCT3/4, a SOX2 és a c-MYC; ezek a már említett „Jamanaka-faktorok” (*1. ábra*).

A módszert először egereken alkalmazták, majd később differenciált emberi sejtekből is sikerült IPS-sejteket előállítani (Takahashi et al., 2007). Az eredmény óriási jelentőségű volt, hiszen ezt a technológiát felhasználva a jövő-



1. ábra • Az indukált pluripotens őssejtek létrehozásának sémája

ben bárkinek személyre szabottan lehet a sérült szövetét pótolni, hiszen például bőrsejtekből előállított IPS-sejtek differenciációja során bármilyen típusú sejtet létre lehet hozni, és az így kapott szöveti sejteket a betegbe vissza lehet ültetni. A regeneratív orvoslásban, valamint az adott szöveti modelleket használó farmakológiai és toxikológiai vizsgálatokban való potenciális felhasználásuk mellett az IPS-sejtek ráadásul kiküszöbölik a humán embriókból származó embrionális őssejtekkel kapcsolatos etikai aggályok nagy részét. Az IPS-sejtek másik fontos alkalmazási területe lehet különböző betegségmodellek létrehozása, amelyekre neurológiai, hematológiai és különböző anyagcsere-betegségek esetén bőven van példa (Maury et al., 2012). Különösen érdekes lehet IPS-vonalakat létrehozni komplex genetikai hátterű betegségek vizsgálatánál,

mint amilyen például a szkizofrénia, hiszen sejtes modellrendszereket ilyen esetekben más módszerekkel nem lehet előállítani.

Azonban mint minden új eljárásnál, az IPS-sejtek előállítása kapcsán is sok technikai buktató létezik. Az IPS-sejtek létrehozása jelenleg még egy lassú és meglehetősen alacsony hatékonysággal működő folyamat, ráadásul egy rákkeltő onkogén (c-MYC) bevitelével is jár, ami mindenképp fokozott óvatosságra int e sejtek felhasználását illetően. A módszer során hatékony génbeviteli eljárásokat kell alkalmazni, amelyek közül azonban például az integrálódó vírusokon alapuló technológiák maguk is potenciális veszélyforrást jelenthetnek, mert a transzgen beépülése során előnyben részesítik az aktív géneket tartalmazó kromoszómaregiókat, így növelik a mutagenézis esélyét. Ennek csökkentése

céljából a kutatók használnak nem integráló vírusokat (pl. adenovírusokat), vagy episzómális (pl. plazmid alapú) rendszereket, ám ezek alacsony hatásfoka csak tovább rontotta a visszaprogramozás egyébként is alacsony hatékonyságát. Az elmúlt években kezdtek elterjedni olyan, genetikai integrációval járó, de kevésbé invazív technikák, mint például a transzpozonokon („ugráló genetikai elemeken”) alapuló génbeviteli eljárások. Ezek közül a leghíresebb a magyar kutatók által kifejlesztett „Csipkerózsika” (*Sleeping Beauty*) transzpozonos rendszer (Ivics et al., 1997), de léteznek olyan transzpozonos rendszerek is, amelyek az átprogramozást követően képesek nyom nélkül eltávolítani az átprogramozó genetikai kazettákat, így végeredményben teljesen érintetlen állapotban hagyják a fogadó sejt genetikai állományát (Woltjen et al., 2009). A későbbi kutatások során kiderült, hogy léteznek olyan kismolekulák, amelyek adagolásával az átprogramozás hatékonysága növelhető, sőt bizonyos esetekben az ilyen anyagokkal történő kombinált kezelés ki is válthatja a genetikai alapú átprogramozást (Silva et al., 2008). Ezek a vegyületek jellemzően a sejtek jelátviteli útvonalaiiba szólnak bele, és ilyen módon szabályozzák a differenciációs és osztódási folyamatokat.

A létrejött IPS-sejtek pluripotens tulajdonságúak, ami azt jelenti, hogy az extraembriális szövetek kivételével a testi sejtjeink létrehozására elvileg képesek. Ennek egyik ellenőrzését az ún. pluripotencia markerek kifejeződésének vizsgálatával végzik: ezek közé tartoznak az OCT3/4-, a NANOG-, vagy a PODXL-gének ugyanúgy, mint bizonyos sejt felszíni lipopoliszacharidok, mint például az SSEA4-marker is. A pluripotencia másik fontos ellenőrzési módszere az *in vitro* differenciáltatás, hiszen az igazi IPS-sejtek mind-

három csíralemez, vagyis az ektoderma, az endoderma és a mezoderma irányokba egyforma hatékonysággal kell, hogy differenciálódjanak. Ez utóbbi vizsgálathoz kapcsolódóan az IPS-sejteket gyakran immunhiányos egerekbe oltják, ahol teratóma (mindhárom csíralemez képviselőit tartalmazó rákos sejtburjánzás) képződése esetén a beültetett sejtek pluripotenciáját bizonyítottan veszik.

Az IPS-technológia elterjedését követő kezdeti eufória után azonban az így létrehozott sejtekkel kapcsolatban komoly tudományos aggályok is felmerültek. Az első alapvető probléma a visszaprogramozáshoz használt genetikai kazetták tartós integrációja a fogadósejt genetikai állományába. Az integrációs technológiák (vírusok, transzpozonok) alkalmazása kétségkívül növeli az IPS-sejtek képződési hatékonyságát, ám a későbbi differenciációs folyamatok során a bevitt gének újbóli megszólalásával újbóli visszaprogramozási folyamat indulhat el, amely korlátlan osztódásra képes sejtek megjelenésével, így daganatképződés kialakulásával járhat. Sajnos a rákkeltő hatás veszélyével akkor is számolni kell, ha a bejuttatott „Jamanaka-faktorokat” (átprogramozó géneket) az eljárás során eltávolítják a genomból (lásd fent). Ilyenkor is előfordulhat, hogy a differenciált sejtek között megmarad egy kisszámú, differenciálatlan őssejtcsoport, s mivel az esetleges beültetés során ezek is bekerülnek a beteg szervezetébe, ott nem kívánt burjánzást, daganatos góccok kialakulását okozzák. Mindenképp fontos tehát az IPS-sejtek ilyen szempontból történő nagyon alapos vizsgálata, amelyre jelenleg még nem létezik gyors és hatékony módszer, és amelyet a jövőbeli technológiai fejlesztések során mindenképpen ki kell dolgozni.

Egy másik sarkalatos kérdés, hogy vajon az IPS-sejtek mennyiben feleltethetők meg

az embrionális őssejti állapotnak akár genetikai, akár epigenetikai (a DNS bázissorrendjét nem érintő szabályozási) szempontból. Erre nem könnyű válaszolni, hiszen a sejtek genetikai szabályozásának összetettsége miatt ennek a kérdésnek az eldöntése nagyon sokféle, egyenként is meglehetősen bonyolult és költségigényes vizsgálatot igényel. Több rangos nemzetközi folyóiratban megjelent tanulmány próbált már választ adni erre a kérdésre az IPS-sejtek és az embrionális őssejtek teljes genomra kiterjedő génexpressziós mintázatának összehasonlításával vagy akár a teljes genomra kiterjedő metilációs mintázatok analízisével (Robinton – Daley, 2012). Az eredmények sokszor cseppet sem biztatóak: a visszaprogramozás hatékonysága erősen függhet az IPS-sejtek létrehozásának módszerétől, vagy akár a sejt kultúráként való fenntartás idejétől is. Megfigyelték azt is, hogy az IPS-sejtekből történő differenciáció során könnyebben jöhetnek létre olyan sejtek, amelyek fenotípusa megegyezik a visszaprogramozáshoz használt kiindulási sejtekével, vagyis például a kötőszöveti sejtekével. Valószínűleg ennek az lehet az oka, hogy nem sikerült teljesen eltüntetni („nullázni”) a sejtek genetikai és epigenetikai mintázatát, és ez erősen befolyásolhatja a későbbi differenciációs potenciált és irányokat (Robinton – Daley, 2012).

Végül, de nem utolsósorban, a genetikai szabályozás vizsgálatának új eredményei az IPS-technológia területén is új tudományos kérdéseket vetnek fel. A modern molekuláris technikák használatával fény derült arra, hogy a testi sejtjeink genetikai szempontból is sokkal „mozaikosabbak” lehetnek, mint azt eddig gondoltuk. Régóta ismert volt például, hogy az emberi genom rengeteg mobilis genetikai elemet (transzpozont) tartalmaz, ám ezekre sokáig mint többségükben nem aktív

genetikai parazitákra gondoltunk. Kiderült azonban, hogy bizonyos retrotranszpozonok az ősvasejteken (a „csírvonal” sejtjein) kívül adott szöveti sejtek korai előalakjaiban, így például idegi előalakokban (neuronális progenitor sejtekben) is aktívak lehetnek. Márpedig így a fejlődés során heterogén sejtpopulációk jöhetnek létre, ami végső soron szomatikus mozaicizmushoz, vagyis a hasonló típusú testi sejtek genetikai állományának apró különbségeihez vezet (Singer et al., 2010). Nem tudjuk, hogy ez a folyamat mennyire érinti például az IPS-sejtek előállításához gyakran használt kötőszöveti sejteket, de az biztos, hogy az IPS-sejtekből differenciációval létrehozott testi sejtek akár emiatt is különbözhetnek a kiindulási „gazdaszervezet” hasonló testi sejtjeitől (Abyzov et al., 2012). Hasonló problémát jelentenek a testi sejtjeinkben az évek során spontán felhalmozódó mutációk is, hiszen egy idősebb ember kötőszöveti sejtjei statisztikailag is jóval több genetikai eltérést tartalmazhatnak, mint egy fiatalé, így egy esetleges szervpótlás céljából az IPS-sejtek előállításához kinyert sejtek genetikai szempontból nem feltétlenül jelentik az „ideális” forrást. Ezek a megfigyelések természetesen nem kérdőjelezik meg az IPS-technológia létjogosultságát, de felhívják a figyelmet olyan új vizsgálati szempontokra, amelyekkel akár az így létrehozott betegséggmodellek reprezentatív voltát, akár a szövetspótlás során visszaültetendő sejtek „minőségét” is fontos lesz majd a jövőben ellenőrizni.

*Szöveti sejtek egymást közt –
a transzdifferenciáció folyamata*

A Jamanaka Sinja munkacsoportja által először elírt IPS-technológia kétségkívül forradalmasította a sejtek differenciációjáról alkotott képünket, és a korábban irreverzibilisnek

gondolt folyamatokról kiderült, hogy bizonyos körülmények között igenis van lehetőség a testi sejtek egy korábbi állapotba történő visszaállítására. Mindezek kapcsán azonban felmerült az a gondolat is, hogy genetikai szempontból hátha van közvetlenebb „átjárás” a testi sejtek között, vagyis lehet-e horizontális irányban is átszeli a magaslatokat a korábban már említett Waddington-tájképen. A modern sejt differenciációs kísérletek pedig igazolni látszanak ezeket a feltételezéseket, ugyanis egyre több esetben képesek a kutatók a transz differenciáció segítségével adott testi sejtekből más típusúakat előállítani. Sikerteljes például kötőszövetek közvetlen átprogramozásával szívizomsejteket előállítani (Qian et al., 2012; Song et al., 2012), vagy akár embri vizeletről származó sejtekből idegsejt előalakokat létrehozni (Wang et al., 2012). A módszer minden esetben azon alapul, hogy a legtöbb testi sejt egyedi génexpressziós mintázattal rendelkezik, de sok esetben egy jól definiálható kisebb számú géncsoport (jellemzően transzkripciós faktorok) erőteljes kifejeződése alakítja ki az adott sejtre jellemző fenotípust, vagyis határozza meg a sejtek identitását. Innen származik az ötlet, hogy akkor ezen meghatározott faktorok kívülről történő „erőltetett” expressziójával a sejtek identitását esetleg meg lehet változtatni. Természetesen vannak olyan speciális alakú és működésű végdifferenciált sejtek (akár bizonyos csontsejtek vagy idegsejtek), amelyek esetében kevésbé várható egy ilyen gyors átalakulás, a sokkal plasztikusabb kötőszöveti sejtek azonban akár erre is alkalmasak lehetnek (Sancho-Martinez et al., 2012).

De miért merül fel egyáltalán az igény arra, hogy átprogramozunk adott sejteket más típusúakká, amikor embrionális őssejtekből vagy IPS-sejtekből elvileg akármilyen

sejttípus előállítható? A válasz a gyorsaságban, hatékonyságban és a potenciális veszélyek kiiktatásában rejlik. Ha ugyanis rendelkezésre áll a megfelelő forrássejt, akkor a transz differenciáció hatékonysága összemérhető az embrionális őssejtekből történő differenciációval, főleg ha figyelembe vesszük, hogy az utóbbi esetben bizonyos típusú sejtek vagy szövetek létrehozására és szelektív kiválogatására sok esetben még nincs kidolgozott és megbízható protokoll. Ha ehhez még hozzávesszük az IPS-sejtek előállítását, ellenőrzését, és az ezen sejtekből kiinduló differenciációt, akkor az átprogramozás lehetősége – amennyiben az adott helyzetben tényleg alkalmazható – mindenképpen vonzó alternatívának kínálkozik. Egy eklatáns példa erre a szívizomsejtek létrehozása a környező szövetekben található egyéb típusú sejtekből, amelyre jellemzően a szívizomsejteket ért károsodás (például infarktus) utáni helyzetben van szükség, ahol a hatékonyság és az időfaktor döntő jelentőségű lehet. Szívizomsejtekre jellemző transzkripciós faktorok (ilyenek a GATA4, a MEF2C, vagy a TBX5) túlzott expressziójával több munkacsoportnak sikerült az előbbiekben leírt módon szívizomsejteket előállítani, és több esetben bizonyították, hogy az így létrehozott sejteket állati szívbe visszautalva azok képesek voltak a megfelelő funkciót el látni (Qian et al., 2012).

Az átprogramozás sikeressége nagyban függ attól, hogy találunk-e olyan „mester regulátor” géneket, amelyek a kívánt szövet expressziós profiljának meghatározott domináns elemeit jelentik, és amelyek fokozott expressziójától várható, hogy elősegítik a sejt identitásának konverzióját. A szívizomsejteken kívül eddig bizonyítottan májsejteket, illetve különböző típusú idegsejteket sikerült már ilyen módszerrel előállítani, mert ezen

sejttípusokban már korábban azonosítottak a sejtek fenotípusának kialakításában szerepet játszó domináns géneket (Sancho-Martinez et al., 2012). Természetesen akárcsak az IPS-technológia esetében, ehhez a módszerhez is jól jöhetnek olyan kis molekulák (vagy akár adott fehérjéket kódoló gének), amelyek a sejtek epigenetikai memóriájának átalakításában vagy letörlésében szerepet játszanak, befolyásolva például a DNS metilációs mintázatát, vagy a DNS köré csavarodó hisztonfehérjék kovalens módosításait. Ezek alkalmazása a hatékonyság növelése mellett azonban az őssejti állapothoz közelítve növelheti a rákos fenotípus kialakulásának veszélyét.

Kétségtelen azonban, hogy a transz differenciáció nagyon ígéretes technológiának tűnik nemcsak a regeneratív orvoslás területén, hanem adott modellsejtekre épülő gyógyszerhatástani és toxikológiai szűrővizsgálatok során is. Nem kérdés, hogy a májsejtek például nagyon kedvelt farmakológiai célpontok, hiszen használatukkal jól modellezhető például új készítmények metabolikus lebontásának a szervezeten belüli útvonala. Emiatt komoly piaci igény van arra, hogy ilyen típusú sejteket nagy mennyiségben, hatékony módon és viszonylag rövid idő alatt elő lehessen állítani, és a szöveti átprogramozás folyamata kétségkívül megoldást jelenthet erre a problémára. Az ígéretes kezdeti eredmények dacára azonban ezen technológia esetében sem szabad elfeledkezni a kötelező minőségellenőrzési pontokról és a potenciális veszélyforrások lehetőség szerinti elkerüléséről. Fontos szempont például, hogy sok transzkripciós faktor bizonyos daganatos sejtekben is kifejeződik, így az IPS-technológiához hasonlóan a transz differenciáció esetében is szem előtt kell tartani a rákkeltő hatást mint potenciális veszélyforrást. Nem elhanyagol

ható szempont ebben az esetben sem a szomatikus mozaikosság, beleértve az idők során a sejtekben felhalmozódott mutációkat, hiszen ezek is komolyan befolyásolhatják az átprogramozás során létrehozott sejtek funkcióját.

A sejtprogramozás távlatai

Köszönhetően a molekuláris biológiai vizsgálómódszerek robbanásszerű fejlődésének, az elmúlt két évtizedben a biológiai folyamatokról alkotott tudásunk eddig nem látott óriási mértékű gyarapodáson ment keresztül, amely talán a XX. század elején a fizikában bekövetkezett forradalmi változásaihoz hasonlítható. A sejtek differenciációs folyamatainak alaposabb, molekuláris genetikai szintű szabályozási folyamatainak megismerése orvosi biológiai szempontból talán az egyik legígéretesebb eredménynek számít, amit leginkább a 2012. évi orvosi és élettani Nobel-díj fémjelez, amelyet az „érett sejtek pluripotens állapotú sejtekké történő újraprogramozásának felfedezéséért” ítéltek oda. Az IPS-technológiával, illetve a transz differenciáció segítségével létrehozott sejtek felhasználása mind a regeneratív orvoslás, mind pedig a gyógyszerkutatásban használatos sejtes modellrendszerek területén valóban forradalmi újdonságnak számít. Mindezen technológiák alaposabb feltérképezése kapcsán felmerülnek olyan biológiai és orvosi problémák, amelyek az így létrehozott sejtek biztonságos felhasználóságát jelenleg még korlátozzák, ugyanakkor a sejtbiológiai és a molekuláris biológiai módszerek fejlődésével ezek az akadályok a jövőben várhatóan elháríthatóak lesznek. Fel kell azonban készülni arra, hogy ezen új biológiai megközelítések kapcsán komoly etikai problémákkal is szembe kell majd nézni, melyek a modern ember számára talán még nagyobb kihívást jelentenek, mint a hatalmas informá-

cióáradatból származó ismeretek tudományos szintű feldolgozása. Emiatt nagyon fontos a tudományos eredmények folyamatos és közérthető kommunikációja a társadalom felé, és remélhetőleg a jövőben sikerül majd olyan megbízható és átlátható ellenőrzési rendszereket kidolgozni, amelyek segítségével a köz-

vélemény számára is megnyugtató módon lehet ezeket a valóban ígéretes új technológiákat a gyógyítás szolgálatába állítani.

Kulcsszavak: *őssejtek, indukált pluripotens sejtek, genetikai visszaprogramozás, átprogramozás, transzkripció faktorok*

IRODALOM

- Abyzov, A. – Mariani, J. – Palejev, D. – Zhang, Y. – Haney, M. S. – Tomasini, L. – Ferrandino, A. F. – Rosenberg Belmaker, L. A. – Szekely, A. – Wilson, M. – Kocabas, A. – Calixto, N. E. – Grigorenko, E. I. – Huttner, A. – Chawarska, K. – Weissman, S. – Urban, A. E. – Gerstein, M. – Vaccarino, F. M. (2012): Somatic Copy Number Mosaicism in Human Skin Revealed by Induced Pluripotent Stem Cells. *Nature*. 492, **7429**, 438–442.
- Ivics Z. – Hackett, P. B. – Plasterk, R. H. – Izsvák Zs. (1997): Molecular Reconstruction of Sleeping Beauty, A Tc1-Like Transposon from Fish, and Its Transposition in Human Cells. *Cell*. 91, **4**, 501–510.
- Maury, Y. – Gauthier, M. – Peschanski, M. – Martinat, C. (2012): Human Pluripotent Stem Cells for Disease Modelling and Drug Screening. *Bioessays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology*. 34, **1**, 61–71.
- Qian, L. – Huang, Y. – Spencer, C. I. – Foley, A. – Vedantham, V. – Liu, L. – Conway, S. J. – Fu, J. D. – Srivastava, D. (2012): In Vivo Reprogramming of Murine Cardiac Fibroblasts into Induced Cardiomyocytes. *Nature*. 485, **7400**, 593–598.
- Robinton, D. A. – Daley, G. Q. (2012): The Promise of Induced Pluripotent Stem Cells in Research and Therapy. *Nature*. 481, **7381**, 295–305.
- Sancho-Martinez, I. – Baek, S. H. – Izpisua Belmonte, J. C. (2012): Lineage Conversion Methodologies Meet the Reprogramming Toolbox. *Nature Cell Biology*. 14, **9**, 892–899.
- Silva, J. – Barrandon, O. – Nichols, J. – Kawaguchi, J. – Theunissen, T. W. – Smith, A. (2008): Promotion of Reprogramming to Ground State Pluripotency by Signal Inhibition. *Plos Biology*. 6, **10**, E253.
- Singer, T. – McConnell, M. J. – Marchetto, M. C. – Coufal, N. G. – Gage, F. H. (2010): Line-1 Retrotransposons: Mediators of Somatic Variation in Neuronal Genomes? *Trends in Neurosciences*. 33, **8**, 345–354.
- Song, K. – Nam, Y. J. – Luo, X. – Qi, X. – Tan, W. – Huang, G. N. – Acharya, A. – Smith, C. L. – Tallquist, M. D. – Neilson, E. G. – Hill, J. A. – Bassel-Duby, R. – Olson, E. N. (2012): Heart Repair by Reprogramming Non-myocytes with Cardiac Transcription Factors. *Nature*. 485, **7400**, 599–604.
- Takahashi, K. – Tanabe, K. – Ohnuki, M. – Narita, M. – Ichisaka, T. – Tomoda, K. – Yamanaka, S. (2007): Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors. *Cell*. 131, **5**, 861–872.
- Takahashi, K. – Yamanaka, S. (2006): Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*. 126, **4**, 663–676.
- Wang, L. – Huang, W. – Su, H. – Xue, Y. – Su, Z. – Liao, B. – Wang, H. – Bao, X. – Qin, D. – He, J. – Wu, W. – So, K. F. – Pan, G. – Pei, D. (2012): Generation of Integration-free Neural Progenitor Cells from Cells in Human Urine. *Nature Methods*. 10, **1**, 84–89.
- Woltjen, K. – Michael, I. P. – Mohseni, P. – Desai, R. – Mileikovskiy, M. – Hamalainen, R. – Cowling, R. – Wang, W. – Liu, P. – Gertsenstein, M. – Kaji, K. – Sung, H. K. – Nagy, A. (2009): PiggyBac Transposition Reprograms Fibroblasts to Induced Pluripotent Stem Cells. *Nature*. 458, **7239**, 766–770.

A PLURIPOTENS ŐSSEJTEK KLINIKAI CÉLÚ FELHASZNÁLÁSÁNAK LEHETŐSÉGEI ÉS KORLÁTAI

Rajnavölgyi Éva

az MTA doktora, Debreceni Egyetem
evaraj@med.unideb.hu

Az embrionális őssejtek (ESC), a testi sejtekből megfelelő transzkripció faktorok segítségével vissza- vagy át-programozott indukált pluripotens őssejtek (iPSC), és a multipotens mezenhimális sztrómasejtek (MSC) a sejt- és szövetregenerációs medicina ígéretes új lehetőségeit kínálják. Bármilyen célú klinikai felhasználásuk fontos előfeltétele, hogy a beültetett sejtek és/vagy szövetek, illetve a belőlük származó utódsejtek a befogadó szervezetben kellő ideig életképesek maradjanak, és elkerüljék az immunrendszer esetleges támadásait. Bár az immunrendszer működésével kapcsolatos jelenlegi ismereteink alapján jogos feltételezni, hogy a saját szöveti sejtekből vissza- vagy átprogramozott iPSC-eket a szervezet jól tolerálja, a folyamat során olyan változások is bekövetkezhetnek, amelyek megváltoztatják a sejtek immunológiai sajátosságait, és így ezek a sejtípusok az immunológiai felismerés és az immunválasz célpontjaivá is válhatnak. Az iPSC-k *in vitro* vagy *in vivo* bevitt követő esetleges instabilitása vagy adaptációja szintén hatással lehet az immunrendszer velük szemben adott válaszára, ami a sejtek funkcionális hatékonyságát és klinikai felhasználhatóságuk lehetőségeit is jelentősen befolyásolhatja. Az átültetett sejt- vagy szö-

vettípus hosszan tartó fennmaradásának legfontosabb feltétele az immunológiai tolerancia kiváltása és fenntartása anélkül, hogy az őssejtekre általánosan jellemző immunszuppresszív hatás a transzplantációt követően hosszú távú káros mellékhatásként jelentkezzen (Pick et al., 2012). Mivel az ESC-k, iPSC-k és MSC-k klinikai felhasználásának elsődleges célja bármely sejt- vagy szövetípus előállítása úgy, hogy az funkcióját megtartva, kilökődés nélkül visszaültethető legyen a befogadó szervezetbe, a tényleges kérdés az, hogy a vissza- vagy átprogramozásból adódó módosulások hogyan és mennyire befolyásolják az ESC-k és iPSC-k célzott funkcióit és/vagy biztonságos alkalmazását. Ennek megfelelően a pluripotens őssejtek és a belőlük származó utódsejtek sejtterápiás célú felhasználása immunológiai problémákat is felvet.

A legrégebben és leggyakrabban alkalmazott sejtterápia a csontvelő-átültetés, melyet elsődlegesen bizonyos hematológiai tumorerkezelésére alkalmaznak. Ez esetben a csontvelő-átültetés sikere a legmegfelelőbb adományozó (donor) megtalálásán múlik. Ennek akkor legkedvezőbb a kimenetele, ha van a fő hisztokompatibilitási génekben (MHC) azonos testvér, akinek sejtjeit a befogadó