

Ewa Bartnik

IPS – indukowalne pluripotencjalne komórki macierzyste – przyszłość medycyny?

Słowa kluczowe: zarodkowe komórki macierzyste, indukowane komórki macierzyste, klonowanie terapeutyczne, transformacja białka, terapia genetyczna

Wizja leczenia chorób za pomocą dopasowanych do nich nowoczesnych terapii jest z nami od końca 20. wieku w dwóch postaciach – terapii genowej i terapii za pomocą komórek macierzystych. O ile ta pierwsza metoda dotyczy wprowadzania brakujących genów do różnych rodzajów komórek – i miałyby być stosowana do leczenia różnych chorób genetycznych, wykorzystanie komórek macierzystych najczęściej jest przewidywane dla chorób takich jak choroba Parkinsona czy cukrzyca.

Komórki macierzyste w odróżnieniu od większości komórek ssaków mają duże możliwości. Zwykła komórka ma bardzo konkretne przeznaczenie – jest komórką skóry, krwi czy mięśni. Komórki macierzyste dzieląc się i różnicując, mogą dawać początek wielu (pluripotencjalne) lub wszystkim (totipotencjalne) typom komórek.

Komórki macierzyste można podzielić z pewnym uproszczeniem na dwa rodzaje – zarodkowe komórki macierzyste i tzw. dorosłe komórki macierzyste. Te pierwsze pochodzą z zarodków, u myszy uzyskano je wiele lat temu i wiadomo, że może z nich powstać każda tkanka. Te drugie (ang. *Adult stem cells*, co można tłumaczyć jako „dorosłe” lub pochodzące z dorosłych organizmów komórki macierzyste) mają bardziej ograniczone możliwości; jakie one są w istocie, trudno jest stwierdzić, ponieważ ze względów metodycznych sporo spektakularnych wyników uzyskanych dla nich parę lat temu jest obecnie kwestionowanych.

Ludzkie komórki macierzyste uzyskano po raz pierwszy pod koniec 1997 r. W tym samym roku, nieco wcześniej, świat dowiedział się o sklonowaniu ssaka – owcy Dolly. Te dwa osiągnięcia są podawane razem z bardzo ważnego powodu.

Załóżmy, że za pomocą komórek macierzystych będzie można leczyć jakieś choroby ludzkie, na przykład chorobę Parkinsona. Mamy osobę chorą i chcemy poddać ją terapii. Ale skąd wziąć odpowiednie komórki? Na świecie istnieje szereg linii komórek macierzystych uzyskanych przede wszystkim z nadmiarowych zarodków przy zapłodnieniach *in vitro*. Jednak żadna z tych linii nie jest identyczna pod względem genetycznym z genomem osoby, która ma być leczona. W przypadku zastosowania obcych komórek konieczne będzie poddawanie pacjenta leczeniu za pomocą leków powodujących immunosupresję. To nie byłoby konieczne, gdyby można było uzyskać komórki macierzyste o DNA takim jak DNA pacjenta. Pewną nadzieję pokładano w dorosłych komórkach macierzystych, ale ich potencjał terapeutyczny nie jest do końca pewny, nie jest jasne, jakie z nich mogą powstać typy komórek, i wydaje się, że dla wielu typów „dorosłych” komórek ich potencjał jest dość ograniczony.

Powstało więc pojęcie klonowania terapeutycznego. Do komórki jajowej od dawczyni miał być wprowadzany materiał genetyczny dawcy (w tym przypadku chorego). Z rozwijającego się zarodka miano pobrać komórki macierzyste.

Owca Dolly powstała w taki sposób, że do komórki jajowej pozbawionej własnego DNA wprowadzono jądro komórkowe z komórki dorosłej owcy (i to tak 277 razy do 277 różnych komórek jajowych). Po hodowli w laboratorium część komórek podzieliła się, te wprowadzono do owiec-matek zastępczych i w efekcie jedna ciąża zakończyła się powrotem. Po Dolly sklonowano wiele różnych ssaków, m.in. koty, konia, myszy, psa i ostatnio wielbłąda.

Do leczenia chorego nie trzeba było iść aż tak daleko – trzeba by było wziąć materiał genetyczny z jego komórki i wprowadzić do komórki jajowej, hodować w laboratorium i uzyskać komórki macierzyste. Dotychczas nikomu się to nie udało, choć było wiele prób. Doniesienia Koreańczyka Hwang Woo Suk okazały się oszustwem, choć przeszły przez sieć recenzji jednego z najlepszych czasopism w dziedzinie biologii. Żadna z prób nie skończyła się uzyskaniem stadium rozwoju, z którego można było uzyskać komórki macierzyste. Wydaje się, że coś, co wychodzi rzadko u zwierząt, zupełnie nie chce wychodzić u człowieka, choć przypuszczalnie sam problem techniczny będzie kiedyś pokonany. Pozostanie jednak problem prawny – w wielu krajach klonowanie terapeutyczne jest zakazane (w Europie dozwolone jest w Wielkiej Brytanii), i problem etyczny, ponieważ klonowanie terapeutyczne wywołuje wiele kontrowersji.

Od paru lat wiele laboratoriów pracuje nad rozwiązaniem tego problemu. Przełom nastąpił pod koniec 2006 r., kiedy udało się uzyskać komórki mysie, które pochodziły ze skóry dorosłych myszy, a po wprowadzeniu do nich czterech genów, których produkty są ważnymi regulatorami działania komórek macierzystych (o nazwach OCT4, SOX2, KLF4 i c-MYC), uzyskały zdolność do różnicowania się do wszystkich tkanek mysich. Rok później dzięki tej samej metodzie uzyskano ludzkie komórki o analogicznych właściwościach. Komórki takie nazwano

IPS – *inducible pluripotent stem cells* – indukowalne pluripotencjalne komórki macierzyste. Wykazano, że mogą z nich powstawać wszystkie rodzaje tkanek.

Niestety, nie można jeszcze leczyć chorych za pomocą IPS – te komórki uzyskano przez wprowadzenie czterech różnych genów wnoszonych przez odpowiednio przygotowane retrowirusy. Słowo retrowirus budzi obawy wśród biologów – retrowirusy wbudowują się do DNA w sposób, którym nie daje się sterować, i na pewno nikt nie poda pacjentowi komórek, dla których nie do końca jest jasne, jakie są efekty wbudowania tych wirusów do genomu. (Retrowirusem jest też HIV i wirus powodujący bardzo rzadki rodzaj białaczki). Komórki powstają też z bardzo niską wydajnością, co sugeruje, że chodzi nie tylko o te cztery geny, ale o właściwe ich wbudowanie do DNA komórki.

Zaczęto poszukiwać sposobów uzyskania komórek IPS bez stosowania retrowirusów. Najpierw udało się zrezygnować z jednego z 4 genów (c-MYC) i prowadzone są próby uzyskania komórek, które będą miały wprowadzone do swojego DNA geny dające im możliwość stawania się w odpowiednich warunkach dowolnym typem komórki ludzkiej, ale bez wbudowanego DNA retrowirusa. Myśli się też o systemach, w których wprowadzone geny można aktywować i inaktywować, by można było je wyłączyć, jeśli np. – czego obawia się wiele osób – zaczną się nadmiernie dzielić i spowodują powstanie nowotworu.

Ostatnio udało się przeprogramować komórki krwi na komórki macierzyste, uzyskano też komórki macierzyste od osób chorych na różne choroby i w różnym wieku. Stwierdzono, że komórki skóry wydajniej stają się IPS niż częściej stosowane fibroblasty. Co chwila pojawiają się nowe doniesienia przybliżające moment zastosowania tych komórek w praktyce – zamiast wprowadzania genów, które przeprogramowują normalne komórki na IPS, czyni się próby zastąpienia ich związkami chemicznymi. Udało się uzyskać ludzkie IPS, stosując tylko dwa geny (OCT4 i SOX2) i kwas walproinowy (jest to lek, który działa na chromatynę, stosowany w leczeniu padaczki i choroby dwubiegunowej). Ostatnio doniesiono (kwiecień 2009), że komórki, którym podawano nie geny, tylko gotowe białka – też stały się IPS. Do momentu, kiedy będą mogły one być stosowane w terapii, upłynie na pewno jeszcze sporo czasu, ale już w tym momencie jest jasne, że dużo łatwiej będzie dopracować właściwe do terapii komórki IPS niż rozwiązać problem klonowania terapeutycznego.

Bibliografia

(Wybrane pozycje przeglądowe)

- Colman A., „Induced pluripotent stem cells and human disease”. „Cell Stem Cell” 3 (2008), 236–237.
- Gadue P., Cotsarelis G., „Epidermal cells rev up reprogramming”. „Nature Biotechnology” 26 (2008), 1243–1244.
- Hochedlinger K., Jaenisch R., „Nuclear reprogramming and pluripotency”. „Nature” 441 (2006), 1061–1067.
- Lowry W.E., Plath K., „The many ways to make an IPS cell”. „Nature Biotechnology” 26 (2008), 1246–1248.
- Pera M.F., Hasegawa K., „Simpler and safer cell reprogramming”. „Nature Biotechnology” 26 (2008), 59–60.
- Xu Y., Shi Y., Ding S., „A chemical approach to stem cell biology and regenerative medicine”. „Nature” 453 (2008), 338–344.

Induced Pluripotent Stem Cells (IPS) – The Future of Medicine?

Keywords: *stem cells derived from fetuses, IPS, therapeutic cloning, transformation of protein, genetic therapy*

Stem cells have great therapeutic potential. They are found in fetuses and embryos and can give rise to all or almost all types of tissues. They can also be produced by cloning, that is replacing the genetic material of an oocyte by the genetic material derived from the cell of an organism of the same species. So far this has not been possible for humans, though it has proved successful for a number of species, after the success of obtaining Dolly the sheep in 1997. The idea of human cloning to obtain stem cells for therapeutic purposes has given rise to many discussions concerning the ethical aspects of this procedure. Fortunately it seems that cloning may not be necessary. Stem cells have been obtained from normal cells from both humans and mice by introducing 4 genes into these cells. These cells, called inducible pluripotent stem cells (IPS) have been obtained from many cell types including blood. So far they are not appropriate for therapy as they contain four regulatory genes introduced using viral vectors, which raises questions as to their future safety when used in a patient. However, ongoing work in many laboratories has shown that the number of introduced genes can be decreased to only two, and moreover, they can be replaced by proteins, which are added to the medium in which cells grow and do not affect their genetic material.