

Susanna Miettinen

Elimen kasvattaminen kantasoluista – science fictionia vai tulevaisuutta?

Kantasolujen kasvua ja erilaistumista useiksi eri solutyypeiksi pystytään ohjaamaan laboratorio-olosuhteissa, mutta laboratoriossa kasvavista soluista on vielä pitkä matka siirtokelpoiseksi elimeksi tai kudokseksi. Ihmiselimiä suunnitellaankin kasvatettaviksi riittävän suurissa tuotantoeläimissä alkiorakkulan täydennystekniikan ja genomien muokkauksen avulla. Toinen tutkimuslinja on kudosteknologia, jossa kantasolujen kehitystä ohjataan fysikaalisten ja kemiallisten tekijöiden avulla laboratoriossa. Suurista odotuksista huolimatta kantasoluihin pohjautuvien siirteiden kehitystyö on ollut hidasta. Tästä huolimatta tulevaisuudessa todennäköisesti näemme kantasolujen avulla valmistettuja siirteitä.

Laboratorion ilmanvaihto humisee vaihteisesti, kun automaattinen tarkkailujärjestelmä pitää huolen huoneen olosuhteista. Takaseinältä kuuluu hyrinää ja naksahduksia, jotka päättyvät mikroaaltouunista tuttuun piippaukseen. On vuosi 2060 ja viikon ensimmäinen elinerä – 25 maksaa – on valmistunut 3D-tulostimista. Huomenna laitteet ohjelmoidaan tekemään munuaisia. Tiistai on tavanomaisesti munuaispäivä. Tähän kehitykseen johtivat kantasolututkimuksen harppaukset 2000-luvun taitteessa, jolloin ensin opittiin johtamaan ihmisen pluripotentteja eli erittäin monikykyisiä kantasoluja alkioista (1) ja myöhemmin ohjelmoimaan uudelleen ihmisen somaattisia soluja, kuten ihon sidekudossoluja pluripotentteiksi kantasoluiksi (2–4) (KUVA 1). Vuosikymmeniä sitten koettiin lyhyeksi jäänyt välivaihe, jolloin ihmiselimiä tuotettiin alkiorakkulan täydennystekniikan ja genomien muokkauksen avulla eläimissä (KUVA 2). Tämän tuotantomuodon lainsäädännölliset ja eettiset ongelmat aiheuttivat paineen kudosteknologian (KUVA 3), kuten kudosten tulostuksen kehitykselle ja lopulliselle läpimurrolle.

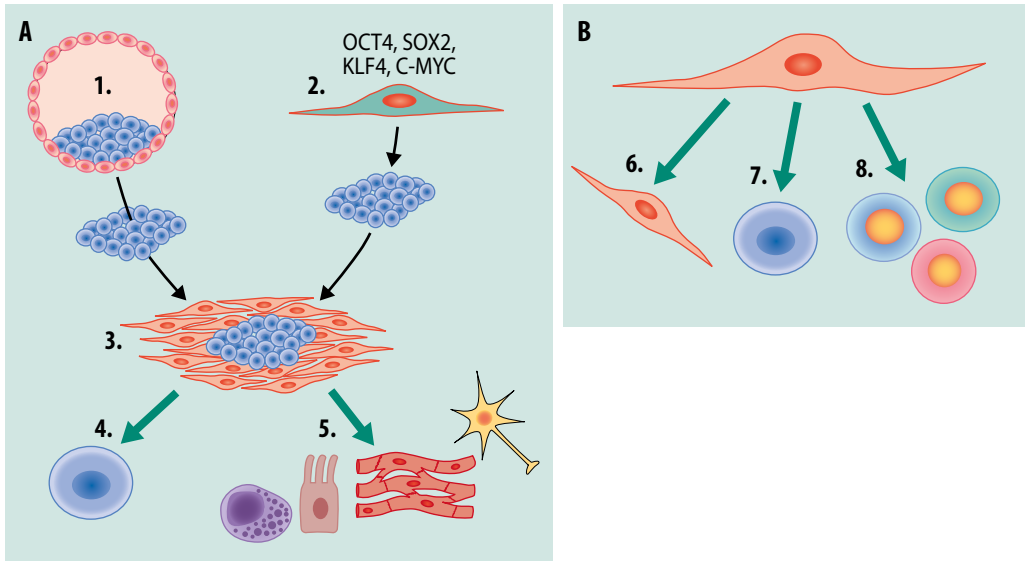
Science fictionista todellisuuteen

Kantasolubuumi koettiin 2000-luvun taitteessa, jolloin kantasolujen uskottiin ratkaisevan elin-

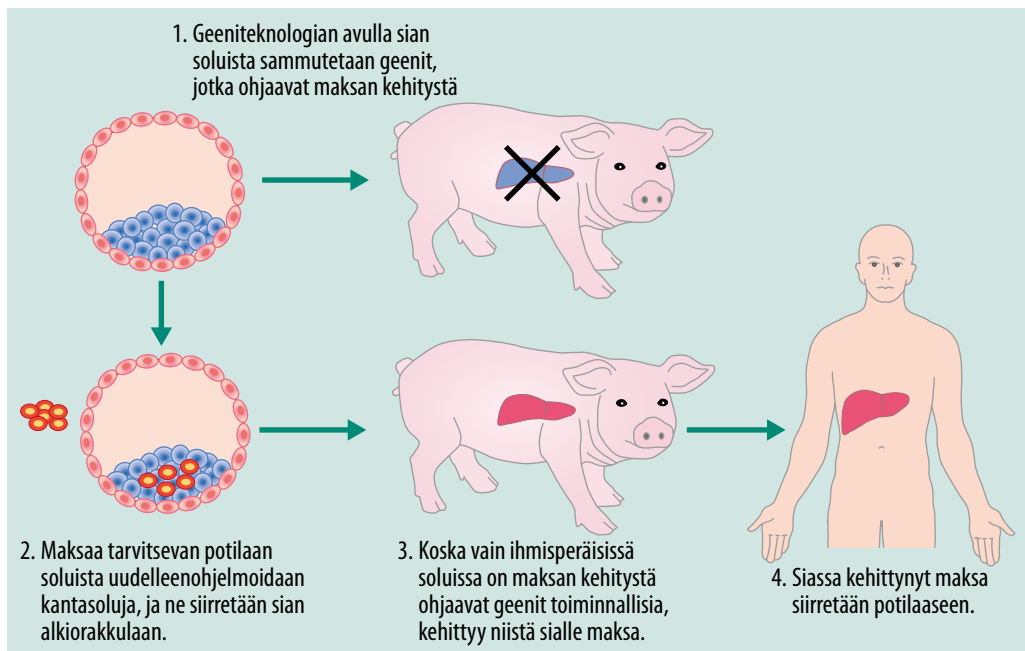
siirtojen ongelmat. Todellisuus on kuitenkin ollut toinen, ja vasta yksi kantasolupohjainen tuote, Holoclar vaurioituneen sarveiskalvon korjaamiseen, on Euroopassa saanut myyntiluvan.

Kantasolujen kasvua ja erilaistumista useiksi eri solutyypeiksi pystytään ohjaamaan varsin hyvin laboratorio-olosuhteissa. Pluripotentteista kantasoluista voidaan erilaistaa esimerkiksi sykkiviä sydänlihassoluja, haiman saarekesoluja tai hermosoluja. Tästä on kuitenkin pitkä matka elinten kasvatukseen, sillä ne muodostuvat useasta eri solutyypistä, joiden yhteispeli on avainasemassa elinten kehityksessä. Lisäksi fysiologiset ja kemialliset tekijät, kuten sähköiset impulssit, mekaaninen rasitus ja kasvutekijäkoktailit ohjaavat elinten muodostusta, eikä kaikkia näitä tekijöitä vielä tunneta tarkasti, saati pystytä laboratorio-olosuhteissa matkimaan.

Kudosten ja elinten kasvatus kantasolujen avulla voidaan karkeasti jaotella kahteen eri tutkimuslinjaan. Näistä ensimmäisessä ihmiskudoksia suunnitellaan kasvatettaviksi suurissa tuotantoeläimissä alkiorakkulan täydennystekniikan ja genomien muokkauksen avulla (KUVA 2). Toinen suuntaus on kudosteknologia (KUVA 3), jossa kantasolut yhdistetään kudoksen kasvua tukeviin materiaaleihin ja solujen kehitystä ohjataan fysikaalisten ja kemiallisten tekijöiden avulla esimerkiksi läpivirtausbioreaktoreissa.



KUVA 1. A) Pluripotentit eli erittäin monikykyiset kantasolut johdetaan joko alkiorakkulan sisäsolumassasta (1) tai geeninsiirron avulla somaattisista soluista uudelleenohjelmoimalla (2). Solujen kasvatus tapahtuu tukisolukon päällä (3). Kantasolut voivat uusiutua kantasoluina (4) tai niistä voi erilaistua elimistön kaikkia solutyyppiä (5). B) Aikuisen kantasolut voivat myös uusiutua kantasoluina (6). Unipotentit kanta- tai progenitorisolut voivat erilaistua vain yhdeksi solutypiksi (7), kun taas monikykyiset kantasolut voivat erilaistua useiksi eri solutyypeiksi (8). Esimerkiksi luuytimen ja rasvakudoksen kantasolut voivat erilaistua luuksi, rustoksi ja rasvaksi.



KUVA 2. Geeniteknologian ja alkiorakkulan täydennystekniikan hyödyntäminen ihmiselinten aikaansaamiseksi tuotantoeläimissä, kuten siassa. Tällä tekniikalla potilas saisi teoriassa omista kantasoluistaan muodostuneen elimen, jolloin kudoshyljinnän riski voitaisiin välttää.

Ihmiselinten kasvatusta eläimissä alkiorakkulan täydennyksen ja genomin muokkauksen avulla

Vaikka joitain eläinperäisiä kudoksia hyödynnetäänkin kudossiirteissä, eläinten elimet eivät ole soveliaita siirteiksi ihmisille. Tutkimus ihmiselinten kasvatuksesta tuotantoeläimissä kohdistuukin erityisesti genomin muokkaukseen, alkiorakkulan manipulointiin ja lajien välisiin kantasolusiirtoihin (5–8).

Rotassa kasvatettu hiiren haima. Läpimurtona voidaan pitää tänä vuonna julkaistua hiiren haiman kasvattamista rotassa (8). Tutkimuksessa rotalta poistettiin haiman muodostumisen kannalta avainasemassa oleva geeni, jonka jälkeen rotan alkiorakkulaan ruiskutettiin normaaleja hiiren alkion kantasoluja. Alkiorakkuloista kehittyi rottia, joilla oli hiiren kantasoluista muodostuneet haimat, eli hiiren kantasolut täydensivät geenimunnellulta rotalta puuttuvan haiman kehittymisen. Tekniikan edellytyksenä on, että elimen muodostusta ohjaavat geenit tunnetaan tarkasti, jotta niiden ilmenemistä voitaisiin manipuloida. Rotan haiman kehitys pystyttiin pysäyttämään yhden geenin poistolla, mutta yleensä elinten kehitystä ohjaavat useat eri geenit, joiden yhtäaikaista muokkaus on vaativaa. Uusien genomin muokaustekniikoiden, kuten geenisaksiksi kutsutun CRISPR/Cas9-menetelmän kehittymisen myötä tämä on kuitenkin jo saavutettavissa.

Ihmiselinten kasvatusta eläimissä. Teoriansa potilasspesifisten kantasolujen avulla eläimessä siirteeksi kasvatetulla elimellä kudoshyljinnän riski voitaisiin välttää, jolloin potilas saisi omista kantasoluistaan muodostuneen elimen (KUVA 2). Tämän vuoden alussa tutkijaryhmä raportoi onnistuneensa tuottamaan ihmis-sika- ja ihmis-nauta-alkiorakkulavaiheen kimeereja (7). Onnistumisprosentti tutkimuksessa oli erittäin pieni. Kaikkiaan 1 466 siirretystä alkioista kehittyi näytteiden keräysvaiheeseen 186 alkioita, joissa vain noin yksi sadastatuhannesta solusta oli ihmisperäisiä. Lisäksi ihmissoluja sisältävät sikiöt olivat kooltaan pienempiä kuin sikiöt, joista ihmissoluja ei löydetty. Ihmis-eläinkimeerien pienen onnistumisprosentin ja eettisten kysymysten takia lähempänä toteutu-

Ydinasiat

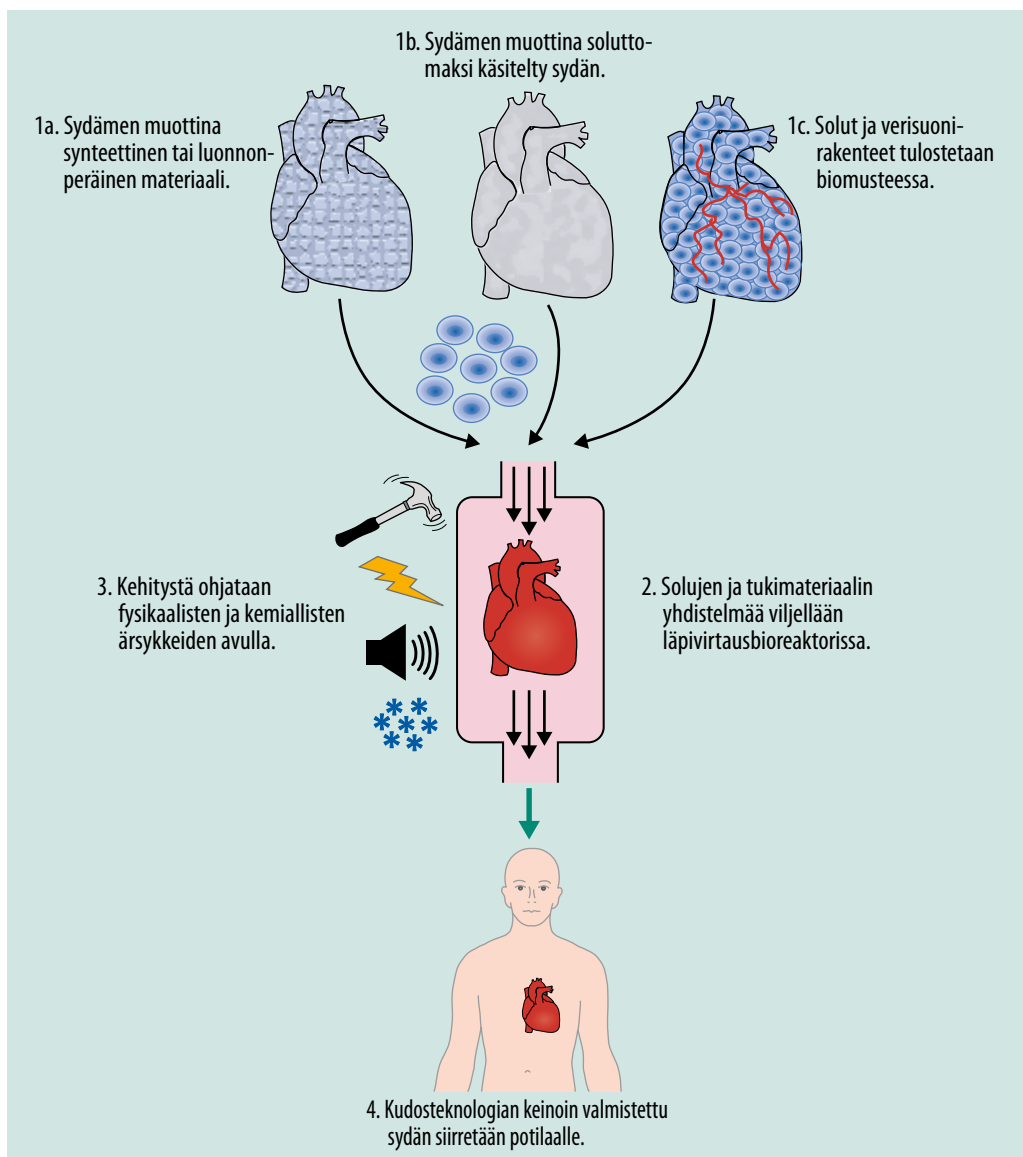
- ▶ Jakaantumis- ja erilaistumiskykyä vuoksi kantasoluista toivotaan ratkaisua elinpuolaan.
- ▶ Alkiorakkulan täydennystä ja genomin muokkausta tutkitaan ihmiselinten kasvatamiseksi tuotantoeläimissä.
- ▶ Kudosteknologiassa elimiä pyritään kasvattamaan yhdistämällä kantasolut kudoksen kasvuun tukeviin tukimateriaaleihin ja solujen kehitystä ohjataan fysikaalisten ja kemiallisten tekijöiden avulla esimerkiksi läpivirtausbioreaktoreissa.
- ▶ Useita biologisia, teknisiä, eettisiä ja taloudellisia kysymyksiä on ratkaistava, ennen kuin kantasolupohjaiset kudokset ja elimet saadaan potilaskäyttöön.

mistaan ihmisillä on siirteen tuotantoon kelpaavien eläinten genomin muokkaus siten, että niiltä on poistettu hyljintää aiheuttavat geenit (9). Samoin esimerkiksi CRISPR-menetelmää hyödynnetään poistamaan sian genomista mahdollisesti ihmisiin tarttuvat sian endogeeniset retrovirukset (10).

Etiikka. Ihmiselinten kasvatusta eläimessä herättää mielenkiinnon ohella myös eettisiä kysymyksiä, jotka liittyvät tuotantoeläinten hyvinvointiin ja yleiseen mielipiteeseen ihmis-eläinkimeereja kohtaan (5). Oma lukunsa on kimeereista syntyneiden eläinten humanisaatio. Riskinä pidetään kehityskulkua, jossa luodaan ihmisen tavoin ajattelevia ja tuntevia eläimiä, joten ihmisolujen integraatiota eläimen hermostoon pyritään estämään geenitekniikoiden avulla. Lisäksi tutkimuksen kohteena on, miten soluista saataisiin sammutettua geenit, jotka johtavat solumuutosten kehitykseen.

Tukirangan hyödyntäminen kudosten ja elinten kasvatuksessa

Valmiin kudostukirangan hyödyntäminen on lupaavampia tekniikoita elinten kasvatuksessa (11). Siinä tarvittava kudos otetaan esimerkiksi



KUVA 3. Sydämen valmistus kudosteknologian keinoin. Kohdassa 1a solun tukiranka voidaan valmistaa esimerkiksi tulostamalla tai muottiin valamalla. Soluttomiin tukirakenteisiin (1a ja b) lisätään solut ennen bio-reaktoriin siirtoa, mutta solujen ja tukimateriaalin yhteistulostuksessa tätä välivaihetta ei tarvita. Soluina voidaan käyttää esimerkiksi potilaalta itseltään saatuja kantasoluja, jolloin kudosteknologian keinon valmistettua elintä ei hyljitä.

kuolleelta luovuttajalta ja siitä poistetaan detergenttikäsittelyjen avulla solut, lipidit ja liukoiset proteiinit siten, että jäljelle jää alkuperäisen kudoksen muotoinen solujen ulkoinen tukiranka ohjenuoraksi kudokseen istutettaville kantasoluille muodostaa uudelleen toimiva kudokseksi. Uraauurtavassa työssä soluttomiksi käsitellyt

rotan sydämet saatiin sykkiviksi solustamalla ne sydämen soluilla ja verisuonten endoteeli-soluilla ja stimuloimalla kudoksen toimintaa virtausbioreaktorissa (12). Tätä tekniikkaa hyödynnetään useiden eri elinten ja kudosten valmistuksessa (11). Sydämen ohella tutkijat ovat toiveikkaita muun muassa keuhkojen val-

mistuksen suhteen (13). Tämäkään tekniikka ei ole ongelmatonta. Suurten elinten valmistuksessa kriittistä on eri solutyypin oikea järjestäytyminen, elinkyky, sekä kypsyminen toimivaksi siirteeksi.

Tukirankana voidaan hyödyntää myös syn- teettisiä tai luonnonperäisiä biomateriaaleja, joita jo hyödynnetään esimerkiksi pienten luuvaurioiden korjauksessa. Huokoisten, luun muodostusta tukevien biomateriaalitukiraken- teiden ja potilaan omasta rasvasta eristettyjen kantasolujen yhdistelmiä on jo käytetty esimer- kiksi leukaluiden vaurioiden korjaukseen täällä Suomessa (14), mutta laajamittaiseen käyttöön tarvitaan vielä klinisiä kokeita tuotantomene- telmien optimoinnista puhumattakaan.

Tulostusteknologia elinten kasvatuksessa

Kolmiulotteinen tulostus on kattotermi tekni- koille, joilla lähes minkä muotoisia kappaleita tahansa rakennetaan kerros kerrokselta. Sillä pystytään jo nyt tuottamaan yksilöityjä raken- teita potilaille, kuten esimerkiksi biohajoavia tai titaanista tehtyjä implantteja kasvojen lui- den korjauksessa (15).

Materiaalien ohella voidaan tulostaa eläviä soluja, mutta rajoittavana tekijänä on optimaal- listen biomusteiden, solutulostuksessa käy- tettävien tukimateriaalien, puute. Yleisimmin käytettyjä tukimateriaaleja ovat soluväliaineen proteiinit, kuten kollageenit tai merilevästä eristetty alginaatti. Solujen elin- ja erilaistumis- kyvyn tukemisen lisäksi biomusteiden tulisi säilyä juoksevin sen aikaa, että materiaali saa- daan tulostettua, mutta jähmettyä tulostuksen jälkeen nopeasti, jotta tulostettu solumateriaa- liyhdistelmä säilyttäisi muotonsa.

Yksikertaisia kudoksia, kuten rustoa, luuta ja ihoa on jo onnistuttu tulostamaan. Niistä edet- täneen onttoihin ja putkimaisiin rakenteisiin,

kuten virtsarakkoon (16). Ruston etuna on, et- tei se tarvitse verisuonitusta, mutta pysyäkseen elossa kudostekenteet yleensä vaativat suoni- tuksen jo laboratorioissa. Verisuonirakenteita, jotka varmistaisivat siirteen elinkyvyn ja inte- graation elimistöön on onnistuttu tulostamaan, mutta niiden eheydessä on vielä toivomisen va- raa. Lisäksi tulostustekniikoilla tuotettujen ra- kenteiden tulisi kyetä jatkamaan kypsymistään pitkään tulostuksen jälkeen, jotta pystyttäisiin tuottamaan monimutkaisia elimiä, kuten mak- saa tai munuaisia. Lopuksi niin tulostettujen kuin muillakin tekniikoilla tuotettujen elinten pitäisi olla kestäviä toimiakseen ihmisen koko eliniän.

Lopuksi

Vaikka kantasolutekniikoiden kehitystyö on hidasta, todennäköisesti tulevaisuudessa näem- me kantasolujen avulla valmistettuja siirteitä. Alkuvaiheessa pelkkiä kantasoluja voitaisiin käyttää parantamaan kudosten soluvaurioita tai hillitsemään kudoshyljintää elinsiirtojen yhteydessä (17,18). Jatkossa kudosteknologian keinoin voitaisiin saada aikaan elinten osia – vaikkapa sydänläppii – ennen kokonaisten elinten tuottoa. Taloudelliset seikat hidastavat kehitystyötä kantasolutekniikoiden avulla. Tur- vallisuuden ja tehokkuuden testaaminen vaatii suuria taloudellisia panostuksia, ja monimut- kaisten tuotteiden valmistusprosessit laadun- valvonta-analyyseineen tuovat lisäkustannuk- sia. Kustannuksia punnitessa voidaankin kysyä, pitäisikö kantasolututkijoiden keskittyä vain niihin elimiin, joiden valmistus on kaupallisesti kannattavaa. Laboratorioissa vain mielikuvitus on rajana. Huimimmissa visioissa kantasolutek- niikoilla pystyttäisiin tuottamaan kokonaan uu- sia elimiä nykyisten rinnalle, kuten esimerkiksi ankeriaalta tuttu sähköelin piensähkölaitteiden lataamiseksi (16). ■

SUSANNA MIETTINEN, FT, dosentti, solu- ja kudosteknologian apulaisprofessori, Aikuisten kantasolut -ryhmän johtaja BioMediTech ja Lääketieteen ja biotieteiden tiedekunta Tampereen yliopisto

SIDONNAISUUDET
Ei sidonnaisuuksia

KIRJALLISUUTTA

1. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, ym. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998;282:1145–7.
2. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, ym. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007;131:861–72.
3. Yamanaka S. Induced pluripotent stem cells: past, present, and future. *Cell Stem Cell* 2012;10:678–84.
4. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, ym. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 2007;318:1917–20.
5. Wu J, Greely HT, Jaenisch R, ym. Stem cells and interspecies chimaeras. *Nature* 2016;540:51–9.
6. Wu J, Izpisua Belmonte JC. Interspecies chimeric complementation for the generation of functional human tissues and organs in large animal hosts. *Transgenic Res* 2016;25:375–84.
7. Wu J, Platero-Luengo A, Sakurai M, ym. Interspecies chimerism with mammalian pluripotent stem cells *Cell* 2017;168:473–86.
8. Yamaguchi T, Sato H, Kato-Itoh M, ym. Interspecies organogenesis generates autologous functional islets. *Nature* 2017; 542:191–6.
9. Hryhorowicz M, Zeyland J, Slomski R, ym. Genetically modified pigs as organ donors for xenotransplantation. *Mol Biotechnol* 2017. DOI: 10.1007/s12033-017-0024-9.
10. Niu D, Wei HJ, Lin L, ym. Inactivation of porcine endogenous retrovirus in pigs using CRISPR-Cas9. *Science* 2017;357: 1303–7.
11. Maher B. Tissue engineering: how to build a heart. *Nature* 2013;499:20–2.
12. Ott HC, Matthiesen TS, Goh SK, ym. Perfusion-decellularized matrix: using nature's platform to engineer a bioartificial heart. *Nat Med* 2008;14:213–21.
13. Gilpin SE, Charest JM, Ren X, ym. Bioengineering lungs for transplantation. *Thoracic Surg Clin* 2016;26:163–71.
14. Seppänen R, Miettinen S. Luuta leukemia-rasvasoluista. *Duodecim* 2014;130:2009–16.
15. Mäkitie A, Paloheimo KS, Björkstrand R, ym. Teollisen pikavalmistuksen lääketieteelliset sovellukset. *Duodecim* 2010; 126:143–51.
16. Savage N. Technology: the promise of printing. *Nature* 2016;540:556–7.
17. Johnson CL, Soeder Y, Dahlke MH. Mesenchymal stromal cells for immunoregulation after liver transplantation: the scene in 2016. *Current Opin Org Transpl* 2016;21:541–9.
18. Soeder Y, Loss M, Johnson CL, ym. First-in-human case study: multipotent adult progenitor cells for immunomodulation after liver transplantation. *Stem Cells Translat Med* 2015;4:899–904.

SUMMARY

Growing of an organ from stem cells – science fiction or future?

The growth and differentiation of stem cells into several different cell types can be controlled under laboratory conditions, but cells growing in the laboratory are still far from being a transferable organ or tissue. In fact, there are plans to grow human organs in sufficiently large farm animals by means of blastocyst complementation technique and genomic modification. Another research line is tissue engineering, in which the development of stem cells is controlled by physical and chemical factors in the laboratory. Despite the high expectations, the development of grafts based on stem cells has been slow. Nevertheless, we will probably see transplants produced by using stem cells in the future.