

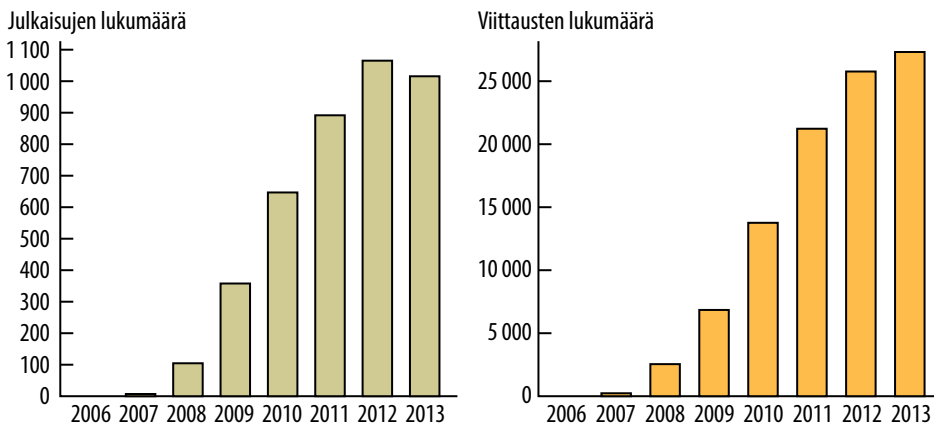
# Indusoidut pluripotentit kantasolut lääketieteellisessä tutkimuksessa

Pluripotentit eli erittäin monikykyiset kantasolut pystyvät erilaistumaan minkä tahansa kudoksen soluiksi. Ihmisen alkion kantasoluja opittiin kasvattamaan 1990-luvun lopulla ja niitä läheisesti muistuttavat indusoidut pluripotentit kantasolut eli iPS-solut kuvattiin vuonna 2007. Koska iPS-solulinjoja voidaan tuottaa muun muassa potilaan iho- tai verisolusta ja ne voidaan ohjata erilaistumaan haluttuun suuntaan, on ensimmäistä kertaa tullut mahdolliseksi tutkia esimerkiksi sydänlihaks- tai hermosoluja, joissa on sairautteen liittyvä genotyyppi. On siis mahdollista kehittää sairausmekanismien kokeellisia malleja, jotka ovat todennäköisesti parempia kuin aiemmat. Näitä solumalleja voidaan myös soveltaa lääkeaineeseulontaan, mikä voi mahdollistaa uudentyyppisten hoitojen kehittämisen. Tulevaisuudessa saattaa myös olla mahdollista korvata potilaan vaurioituneita soluja autologisilla iPS-soluperäisillä siirteillä. Solujen geneettinen turvallisuus tulee kuitenkin ensin selvittää perinpohjaisesti.

**Pluripotentit kantasolut** ovat viljeltyjä soluja, jotka pystyvät uusiutumaan rajattomasti sekä erilaistumaan kaikiksi kehittyvän alkion kudoksiksi. Alkion kantasoluja (ES-solut, embryonic stem cells) opittiin kasvattamaan ihmisen varhaisalkioista vasta 1990-luvun lopulla (1). Alkion kantasolujen mahdollisuuksiin lääketieteellisissä hoidoissa asetettiin välittömästi huomattavia toiveita ja liiallisia odotuksia. Varsinkin Yhdysvalloissa tilanne kärjistyi uskonnollisten fundamentalistien ja hoitosovelluksia vaativien tahojen väliseksi

kiistaksi, minkä vuoksi ihmisen alkiosolujen käyttöä lääketieteellisessä tutkimuksessa rajoitettiin. Useissa muissa maissa, kuten Suomessa, tutkimusta voitiin jatkaa alkiotutkimusta säätelevien lakien puitteissa. Tilanne muuttui kertaheitolla, kun Shinya Yamanaka osoitti vuonna 2006, että hiiren erilaistuneita somaattisia soluja on mahdollista ohjelmoida takaisin pluripotenttiin tilaan indusoiduiksi pluripotenteiksi kantasoluiksi (iPS-solut) (2). Vain vuotta myöhemmin iPS-soluja opittiin tuottamaan myös ihmisen viljellyistä soluista (3, 4). Vuonna 2012 John B. Gurdon ja Shinya Yamanaka jakoivat lääketieteen ja fysiologian Nobelin palkinnon näistä keksinnöistä. Gurdon osoitti vuonna 1962 tumansiirtokeillaan ensimmäisenä, että erilaistuneiden sammakon solujen tuma voidaan siirtää tumattomiin munasoluihin vaikuttamatta alkion normaaliin kehitykseen. Noin 40 vuotta myöhemmin Yamanaka tunnisti ensimmäisenä ne kriittiset tekijät, jotka mahdollistivat solujen uudelleenohjelmoinnin ilman tumansiirtoa (5).

Kiinnostus iPS-soluja kohtaan on lisääntynyt jatkuvasti. iPS-solut mainittiin ensimmäisen kerran Takahashin ja Yamanakan pioneiritutkimuksen otsikossa elokuussa 2006, ja sen jälkeen asiaa koskevien artikkelien määrä on lisääntynyt eksponentiaalisesti niin, että marraskuussa 2013 artikkeleita oli jo noin 4 000 (KUVA 1). Tämä kuvastaa osaltaan sitä, että kyseessä on toimiva ja merkittävä uusi teknologia, jonka sovellukset ovat kauaskantoisia. iPS-teknologia on ensimmäistä kertaa tehnyt mahdolliseksi tutkia ihmisen solulinjojen varhaiskehitystä ja tuottaa tutkittavaksi solutyyppejä, joita ei aiemmin ole pystytty ihmisestä kasvattamaan.



**KUVA 1.** Kirjallisuushaku Web of Science -tietokannasta 11.11.2013 hakusanalla "induced pluripotent stem". Termi esiintyi ensimmäisen kerran vuonna 2006 Takahashin ja Yamanakan artikkelissa, johon on nyt viitattu yli 5 400 kertaa. iPS-soluja käsitteleviä artikkeleita on ilmestynyt lähes 4 000, ja niihin on viitattu 94 000 kertaa.

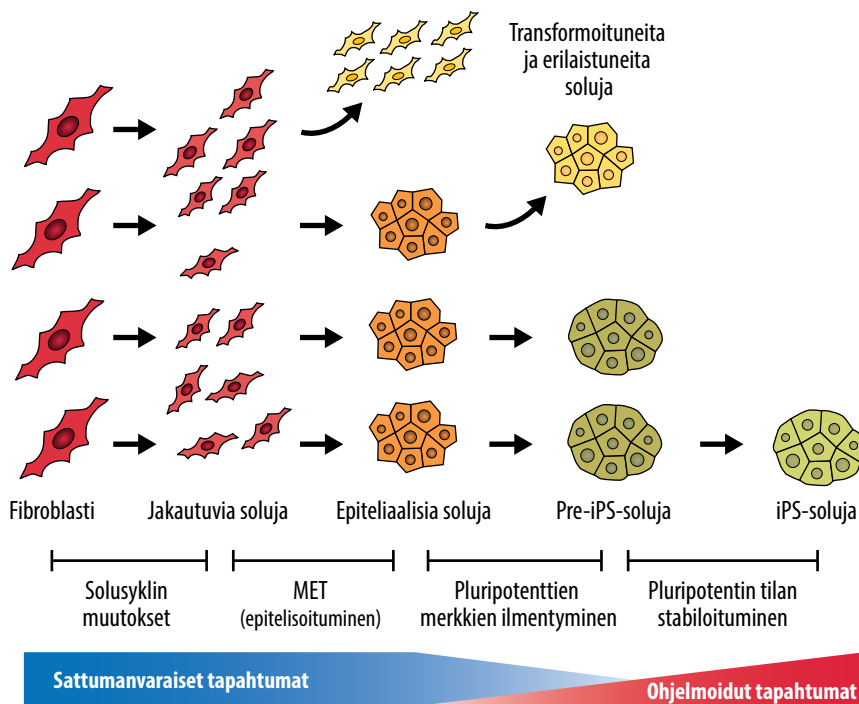
## Tuman uudelleenohjelmoituminen

Yamanakan pioneeritutkimuksessa päädyttiin käyttämään neljää geeninsäätelyproteiinia koodaavaa geeniä, joiden samanaikainen ilmentäminen johtaa tuman uudelleenohjelmoitumiseen. Nämä tekijät ovat OCT4, KLF4, SOX2 ja c-Myc, jotka nykyisin tunnetaan yleisesti nimellä "Yamanakan faktorit". Myöhemmin monien muidenkin tekijöiden on osoitettu mahdollistavan tai tehostavan tuman uudelleenohjelmoitumista. Näihin kuuluu muun muassa muita pluripotenteille soluille tyypillisiä transkriptiotekijöitä, kromatiinin muokkaukseen vaikuttavia entsyymejä, solusykliin vaikuttavia tekijöitä, soluadheesio-molekyylejä ja mikro-RNA-molekyylejä. Tämän lisäksi tietämys solubiologisista solujen uudelleenohjelmoitumista säätelevistä mekanismeista on tarkentunut.

Pluripotentti uudelleenohjelmoituminen on monivaiheinen prosessi, jonka aikana solujen transkriptioverkostot ja epigeneettinen tila muokkautuvat uudelleen pluripotenttia tilaa vastaaviksi. Prosessin alussa keskeistä on solusyklin aktivaatio, solujen aktiivinen jakautuminen. Samanaikaisesti solut muuttuvat enemmän epiteelisolun kaltaisiksi (mesenchymal-epithelial transition, MET). Etenkin KLF4 ja c-MYC ohjaavat näitä alkuvaiheen muutoksia. Monien solusykliä estävien kas-

vunrajoitegeenien, kuten *p21:n* ja *p53:n* eston on osoitettu lisäävän induktion tehokkuutta. Tämän jälkeen solut alkavat vähitellen ilmentää pluripotentille tilalle tyypillisiä geenejä, ja prosessi johtaa lopulta pluripotentin tilan vakiintumiseen. Uudelleenohjelmoitumisen alkuvaihe vaikuttaisi perustuvan enimmäkseen satunnaisiin tapahtumiin eri soluissa. Kun riittävä määrä pluripotenttia tilaa kontrolloivia endogeenisiä tekijöitä on aktivoitunut, kantasolun tilan vakiintuminen alkaa edetä järjestelmällisesti. Tämän perusteella voidaan puhua uudelleenohjelmoitumisen satunnaisesta (stokastisesta) ja ohjelmoidusta (deterministisestä) vaiheesta (KUVA 2) (6).

Satunnaisen vaiheen ilmiöt perustuvat tuman epigeneettisen tilan ohjelmointiin ja sen aiheuttamiin esteisiin. Esimerkiksi OCT4:n sitoutuminen säätelemiensä kohdegeenien säätelyalueille riippuu kyseisten alueiden kromatiinirakenteista. Mikäli alueella sijaitsee repressiivisiä kromatiinirakenteita, OCT4:n sitoutuminen on mahdollista vasta, kun kyseiset alueet on epigeneettisesti uudelleenohjelmoitu. Näitä muutoksia edesauttaa aktiivinen solunjakautuminen, joka mahdollistaa estävien kromatiinirakenteiden ohimenevän heikkenemisen DNA:n kahdentumisen yhteydessä. Uudelleenohjelmointitekijät voivat tällöin sitoutua muutoin hiljennetyille alueille, mikä mahdollistaa geenien aktivoitumisen.



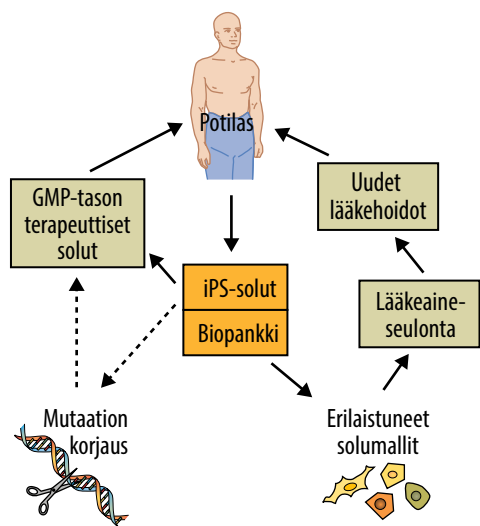
**KUVA 2.** iPS-solujen muodostuminen solujen pluripotentin uudelleenohjelmoitumisen kautta. Prosessi voidaan jakaa eri vaiheisiin, joita alkuvaiheessa ohjaa enemmän sattuma. Prosessi etenee loppuun asti vain pienessä osassa kaikista soluista. MET = mesenchymal-epithelial transition

Useiden kromatiinin rakenteeseen vaikuttavien entsyymien ja estäjien on näytetty vaikuttavan uudelleenohjelmoinnin tehokkuuteen (7).

Uudelleenohjelmoinnin myöhemmässä vaiheessa solut muodostavat uusiutumiskykyisen linjan. Tässä vaiheessa solut muokkaavat geeniverkostonsa ja epigeneettisen tilansa pääosin pluripotenttia tilaa vastaavaksi ja muun muassa hiljentävät siirtogeeniset uudelleenohjelmointitekijät. Ohjelmoitumisen loppuvaiheen muutoksia ohjaavat ennen kaikkea alkion kantasolulle tyypilliset tekijät, kuten OCT4 ja SOX2. Solujen kasvuolosuhteita säätämällä niitä voidaan tässä prosessin loppuvaiheessa ohjata vaihtoehtoisin tiloihin, joko hyvin alkeellisiksi kantasoluiksi tai tiettyihin erilaistumissuuntiin muuntautumiskykyisiksi soluiksi (8). Tuman uudelleenohjelmoituminen on siis kokonaisuutena hidas tapahtuma, ja prosessi etenee loppuun asti vain pienessä osassa soluista, joissa se käynnistyy.

## Uudelleenohjelmoinnin riskit

Tuman uudelleenohjelmointi on perustavanlaatuisesti keinotekoisesti käynnistetty tapahtuma, johon voisi olettaa liittyvän riskejä. Nämä liittyvät lähinnä ohjelmoitumisprosessin epätäydellisyyteen ja sen aikana ilmaantuviin geneettisiin ja epigeneettisiin muutoksiin. Monet solut vakiintuvat prosessin aikana epätäydellisesti ohjelmoituneeseen tilaan, niin kutsutuiksi pre-iPS-soluiksi. Tällaiset solut voivat muodostaa uusiutuvia solulinjoja, jotka eivät kuitenkaan edusta täysin monikykyisiä kantasoluja. Tämän vuoksi solujen karakterisointiin tulisi kuulua myös erilaistumiskyvyn analysointi kaikkiin eri pääsuuntiin. Yleensä tähän on käytetty hiirissä tuotettujen teratoomien analyysia. Vaihtoehtoksi tälle aikaa viiväälle ja eettisesti ongelmalliselle menetelmälle on kehitetty geenien ilmentymiseen perustuvia algoritmeja, jotka vaikuttavat lupaavilta (9). Näennäisesti täysin ohjelmoituneissa kantasolulinjoissa saattaa olla epätäydellisistä



**KUVA 3.** iPS-solujen käyttömahdollisuuksia lääketieteessä. Kaavion vasen puoli kuvastaa tulevaisuuden mahdollisuuksia autologisten tai biopankkiin talletettujen solulinjojen terapeuttiseen käyttöön. Oikea puoli havainnollistaa jo aktiivisesti käynnistynyttä iPS-solujen käyttöä sairauksien mallintamisessa. GMP = good manufacturing practice

ohjelmoitumisesta johtuvia pienempiä epigeneettisiä eroja, jotka saattavat vaikuttaa solujen ominaisuuksiin. Kaikkiaan iPS- ja ES-solujen erilaistumiskapasiteetti on kuitenkin hyvin samankaltainen, ja useimmat iPS-solulinjat ovat eri kriteerein arvioituina erittäin monikykyisiä, vaikka poikkeuksiakin esiintyy (10).

Uudelleenohjelmoitujen solujen jatkokäytön kannalta on oleellista pyrkiä minimoimaan soluihin kertyvien mutaatioiden määrä sekä varmistaa, että solut eivät sisällä haitallisia mutaatioita. iPS-solujen sisältämät mutaatiot voivat olla esimerkiksi siirtogeenien integroitumisesta johtuvia insertioita, yksittäisten nukleotidien vaihteluita (SNV), suurempia kopiolukuvaihteluita (CNV) tai laajoja kromosomeihin vaikuttavia inversioita, translokaatioita tai aneuploidioita (11). On kuitenkin ilmeistä, että valtaosa uudelleenohjelmoitumisen aiheuttamista geneettisistä muutoksista on kantasoluille haitallisia, jolloin näitä mutaatioita kantavat solut karsiutuvat jatkoviljelyn aikana varsin nopeasti. Noin kahden kuukauden (kymmenen solujaon) jälkeen iPS- ja ES-solujen geneettinen laatu (mutaatioiden

ja CNV:n esiintyvyys) on hyvin identtinen. Tästä huolimatta koskaan ei voida sulkea pois sitä mahdollisuutta, että uudelleenohjelmoinnin aikana satunnaisesti syntynyt mutaatio olisikin kantasolujen kasvua tukeva, jolloin se saattaisi rikastua iPS-solulinjaan. Lisäksi iPS-soluihin voi kertyä kasvatuksen aikana samantyyppisiä geneettisiä muutoksia kuin ES-soluihin, mikä johtaa pluripotenttia tilaa ylläpitävien mutaatioiden valikoitumiseen (viljelyadaptaatio). Nämä muutokset esiintyvät tyypillisesti tiettyjen kromosomialueiden monistumina, erityisesti kromosomeissa 1, 12, 17 ja 20 (12). Tällaiset muutokset ovat mahdollisesti syöväälle altistavia, minkä vuoksi hoitoihin käytettävien solujen laaduntarkkailu on tärkeää. Ongelma ei kuitenkaan ole niin merkittävä sairauksien mallintamiseen tähtäävässä kokeellisessa tutkimuksessa.

Ensimmäisen sukupolven iPS-solut tuotettiin käyttämällä genomiin integroituvia virusvektoreita (retro- ja lentivirukset). Siirtogeenit integroituvat DNA:han satunnaisesti, mikä voi johtaa sekä mutaatioihin että ei-toivottuihin vaikutuksiin geenien ilmetyksessä. Nämä ongelmat voidaan nyt välttää käyttämällä integroitumattomia menetelmiä. Sendai-virusvektori on paljon käytetty, mutta myös keinotekoisia monistuvia plasmideja käytetään yhä enemmän. Muokattua lähetti-RNA:ta voidaan myös viedä suoraan soluihin ja käynnistää näin uudelleenohjelmoituminen koskematta tuman DNA:han (13).

### iPS-solut sairauksien mallintamisessa

DNA:n analysointimenetelmien nopea kehitys on johtanut lukuisten tauteihin liittyvien geenien tunnistamiseen. Tämän hetken suuri haaste on kehittää menetelmiä näiden geenivarianttien toiminnan tutkimiseksi sopivassa mallissa. Tähän tarkoitukseen on tavanomaisesti käytetty eläinmalleja ja erilaisia viljeltyjä solulinjoja. Näillä menetelmillä on kuitenkin omat rajoituksensa. Eläinmallit ovat kalliita, aikaa vieviä ja eettisesti ongelmallisia eivätkä aina vastaa ihmisen sairauden patofysiologiaa. Useimpien erilaistuneiden solujen viljely toi-

minnallisessa muodossa on mahdotonta, eikä useimpia tärkeitä solutyyppejä voida kerätä potilaista. Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää potilaan soluista uudelleenohjelmoituja iP-soluja, jotka ovat geneettisesti identtisiä potilaan genomin kanssa. iP-soluja voidaan teoriassa kasvattaa rajattomasti, ja ne säilyttävät kykynsä erilaistua kaikiksi yksilön soluiksi ja kudoksiksi, mikä tarjoaa uuden mahdollisuuden tutkia geneettisiä sairauksia ja kehittää uusia lääkkeitä (14, 15) (KUVA 3). Kaiken lisäksi tämä mahdollistaa eläinkokeiden määrän ratkaisevan vähentämisen.

Täydellisesti uudelleenohjelmoituneet iP-solut edustavat varhaisalkion gastrulaatiota edeltävän vaiheen soluja. Niiden erilaistuminen haluttuun suuntaan edellyttää sitä, että ne kohtaavat indusoivia signaaleja samassa järjestyksessä kuin normaalin alkionkehityksen aikana. Vain harvoja solutyyppejä on toistaiseksi opittu tuottamaan puhtaina. Soluviljelyssä tapahtuvan erilaistumisen tuloksena on yleensä heterogeeninen solupopulaatio, joka vastaa kehitysasteeltaan sikiön kudoksia. Nykyisillä menetelmillä on vaikea tuottaa toiminnallisesti kypsiä solutyyppejä, mikä vaikeuttaa taudin patologian mallintamista. Epäkypsät solut voivat kuitenkin johtaa toimivan kudoksen syntyyn siirännäisessä. Hyvä esimerkki tästä on ES- tai iP-soluista erilaistettujen haiman saarekesolujen esiasteiden kypsyminen toimivaksi saarekesolukoksi immuunipuutteisissa hiirissä (16). Kolmiulotteiset solumallit ja erityyppiset soluväliaineen matriksit tarjoavat lisää mahdollisuuksia parantaa solujen kypsymistä myös viljelyoloissa.

Yksi perusuonteinen ongelma iP-solujen käytölle sairauksien mallintamisessa on se tosiseikka, että monet sairaudet ilmenevät vasta vanhalla iällä. Neurodegeneratiiviset sairaudet, kuten Parkinsonin tai Alzheimerin taudit, ovat tästä hyviä esimerkkejä. Vaikka sairauden kliiniset oireet puhkeavat myöhään, on kuitenkin todennäköistä, että geneettisesti ohjattu patogeneettinen perusmekanismi on jo paljon aikaisemmin osoitettavissa neuroneissa. Käytännössä potilaiden hermosoluja voidaan saada tutkittavaksi vasta kuoleman jälkeen, jolloin prosessi on jo ”palanut loppuun” eikä

## YDINASIAT

- ▶ Kaikenlaiset viljellyt solut voidaan uudelleenohjelmoida alkion kantasolujen kaltaisiksi monikykyiseksi kantasoluiksi eli iP-soluiksi.
- ▶ iP-solut voidaan ohjata erilaistumaan halutuksi solutyypiksi, jolloin potilaan soluista voidaan kehittää tutkimusmalleja geneettisen sairauden mekanismien tutkimukseen ja lääkineeseulontaan.
- ▶ Tällä lähestymistavalla on jo voitu tunnistaa uusia mekanismeja ja lääkine-ehdokkaita esimerkiksi hermosolujen rappeumasairauksissa.
- ▶ iP-soluista ollaan kehittämässä myös solukorvaushoitoja esimerkiksi silmänpohjarappeumaan ja tyypin 1 diabetekseen.
- ▶ Mahdollisten hoitojen teho ja turvallisuus ovat vielä epäselviä.

sairauden mekanismeista voida paljon oppia. Potilaiden iP-soluista erilaistuneilla hermosoluilla on kuitenkin voitu osoittaa selkeitä toiminnallisia muutoksia muun muassa Alzheimerin ja Parkinsonin taudeissa sekä skitsofreniassa (17, 18, 19). Eräissä tapauksissa on jo pystytty tunnistamaan molekyylejä, joilla voidaan vaikuttaa sairausmekanismeihin, mikä tarjoaa mahdollisuuksia uusien lääkkehoidosten kehitykseen (TAULUKKO). Tuore esimerkki on amyotrofisen lateraaliskleroosin (ALS) periytyvä muoto, jonka aiheuttaa C9ORF72-geenisä ilmenevä toistojakso. Liikehermojen tuhoutumiseen johtava mekanismi on kuitenkin ollut hämärän peitossa. Suomalaisista potilaista tuotettujen iP-solujen avulla osoitettiin, että iP-peräisiin hermosoluihin kertyi toksista lähetti-RNA:ta, mikä altisti solukuolemalle. Mutaatioalueelle suunnattujen antisense-oligonukleotidien avulla solukuolemaa voitiin vähentää merkittävästi, mikä avaa mahdollisuuksia kehittää spesifisiä hoitomuotoja tähän kuolemaan johtavaan sairauteen, johon ei tunneta tehokkaita hoitoja (20).

iP-solulinjojen välillä on yksilöllisiä eroja, jotka vaikuttavat niiden erilaistumiskykyyn

**TAULUKKO.** Esimerkkejä iP5-solujen käytöstä sairauksien mallintamisessa.

Sairaus	Geeni	iP5-soluista erilaistettu solutyypin ja siinä havaittu poikkeavuus	Lääkeainetestaus soluilla	Viite
ALS	<i>C9ORF72</i>	Hermosolu: toksisen lähetti-RNA:n kertyminen ja siihen liittyvä neuro- nituho	Antisense-oligonukleotidit estävät neuronien kuolemaa	(20)
Pitkä QT -oireyhtymä	<i>KCNH2</i>	Sydänlihassolu: pidentynyt aktiopotentialaali, rytmihäiriöalttius	Sotaloli lisää rytmihäiriötä	(31)
Suvuittainen dysautonomia	<i>IKBKAP</i>	Hermosolu: <i>IKBKAP</i> -geenin silmukointihäiriö hermosoluissa, hermosolujen kehityksen ja migraation häiriö	Kinetiini normalisoi	(32)
Skitsofrenia	Moniteki- jäinen	Hermosolu: neuriittien määrä, neuronien välinen signaali ja glutamaattireseptorin ilmentyminen vähentyneet	Psykoosilääkkeet korjaavat patologiaa	(19)
MODY2- diabetes	Gluko- kinaasi ( <i>GCK</i> )	Beetasolu: hiiren siirron jälkeen insuliinin erityksessä poikkeavan suurena glukosipitoisuutena.	Toiminnan normalisointi soluissa, joissa <i>GCK</i> -mutaatio korjattu	(33)
Alfa <sub>1</sub> -anti- trypsiinin puutos	<i>A1AT</i>	Maksasolu: Alfa <sub>1</sub> -antitrypsiinin erityksen puuttuminen	Toiminnan normalisointi soluissa, joissa tautimutaatio korjattu	(22)
MELAS- oireyhtymä	<i>tRNA-Leu(UUR)</i>  (Mitokondrio-DNA)	iP5-soluista tehdyt teratoomat: solutyypispesifiset hengitysketjun defektit  Hermosolut: primaarikompleksin puutos; autofagian aktivoituminen		(34)

(21). Sairauksien mallintamisessa on erittäin tärkeää, että solulinjojen välistä vaihtelua ei sekoiteta taudista johtuvaan fenotyyppiin. Monogeenisen taudin mallintamiseen olisi parasta käyttää isogeenista soluverrokkia, jossa mutaatio on korjattu (22). Vaihtoehtoisesti voidaan siirtää tautimutaatio terveeseen monikykyiseen kantasolulinjaan. Ihmisen genomin muokkaaminen on kuitenkin erittäin hankalaa. Solujen geneettiseen manipulointiin on viime aikoina kehitetty uusia tehokkaita menetelmiä, kuten zinc finger -nukleasit (*ZFN*), *TALE*-nukleasit (transcription activator-like effector nucleases) ja RNA-ohjatut Cas9-nukleasit, jotka mahdollistavat tautigeenin korjaamisen tai tautimutaation siirtämisen iP5-soluun (23, 24). Monigeenisissä sairauksissa tilanne on luonnollisesti monimutkaisempi. Tautiin liittyvien geenivarianttien toiminnallista merkitystä voidaan kuitenkin todennäköisesti selvittää samoilla periaatteilla. Tätä varten on tärkeää kehittää riittävän kattavia solupankkeja, jotka sisältävät validoituja iP5-soluja geneettisesti ja kliinisesti karakterisoi-

duista potilaskohorteista. Tällaisia hankkeita on viime aikoina käynnistetty eri puolilla maailmaa (esimerkiksi <http://stembancc.org/>).

### Tulevaisuuden hoitokeino?

Monet sairaudet johtuvat jonkin solutyypin rappeutumisesta, jolloin looginen lähestymistapa hoitoon olisi sairaan kudoksen korvaaminen terveillä soluilla solusiirron kautta. Tämä ei ole suoraviivaista, etenkin jos siirretyt solut pitää saada asettumaan täsmälleen anatomisesti oikeaan kohteeseen, kuten esimerkiksi vaurioituneen sydänlihaksen tai hermosoluverkoston korjauksessa. Tilanne on huomattavasti helpompi, jos terapeuttiseen vaikutukseen riittää siirrettyjen solujen erityksien verenkierroon. Ensimmäinen kokeellinen esimerkki iP5-solujen käytöstä tällaisessa hoidossa julkaistiin vuonna 2007, jolloin Rudolph Jaenischin johtama tutkijaryhmä osoitti, että hiiren sirppisoluanemia voitiin korjata uudelleenohjelmoimalla ihosolut iP5-vaiheen ja tautimutaation korjauksen kautta verta muodostaviksi

kantasoluiksi (25). Insuliinipuutoksesta johdettavan tyyppin 1 diabeteksen solusiirtohoito on toinen esimerkki tilanteesta, jossa siirretyt solut voisivat toimia parantavana hoitona erittämänsä insuliinin kautta, vaikka eivät sijaitsekaan anatomisesti oikeassa paikassa (26). EST-tai iPS-solujen erilaistaminen haiman beeta-soluiksi tai ainakin niiden esiasteiksi on tullut mahdolliseksi, ja tällaisten solujen siirto parantaa hiiren diabeteksen. Erityisen lupaavaa on se, että solusiirteet toimivat hyvin myös, kun solut on ”paketoitu” kalvorakenteisiin, jotka sallivat hiussuoniverkoston kehittymisen siirrettyjen solujen lähituntumaan, mutta estävät immuunisolujen tunkeutumisen siirteeseen (27). Ensimmäinen iPS-soluilla tehtävä kliininen koe on hiljattain hyväksytty Japanissa. Oftalmologi Masayo Takahashin johtamassa hankkeessa on tarkoitus hoitaa kuuden potilaan verkkokalvon ikärappeumaa autologisilla, potilaan omista iPS-soluista erilaistetuilla verkkokalvon pigmenttisoluilla ([http://www.riken.jp/en/pr/press/2013/20130730\\_1](http://www.riken.jp/en/pr/press/2013/20130730_1)).

Koska iPS-solut ovat peräisin potilaan omista soluista, ei immuunijärjestelmän tulisi tunnistaa niitä vieraaksi kudokseksi. Autologisten iPS-solujen on kuitenkin osoitettu aiheuttavan immuunivastetta ja hyljintää (28). Kun käytettiin uudempia integroitumattomia menetelmiä iPS-solujen tuottamiseksi ja erilaistettiin hiiren autologiset iPS-solut siirteeksi sopiviksi soluiksi, merkittävää immuunivastetta ei huomattu (29). On siis syytä uskoa, että iPS-soluista voidaan todella tuottaa autologisia solusiirteitä, jotka eivät joudu hyljintäreaktion kohteeksi. On kuitenkin selvää, että

autologisten solusiirteiden tuottaminen yksilöllisesti kullekin potilaalle tulisi lähiaikoina odotettavissa olevilla menetelmillä tavattoman kalliiksi. Realistisempaa onkin ajatella, että luotaisiin sopivista kudostyypeistä koostuvia iPS-kantasolupankkeja, joista voitaisiin valita potilaalle sopivaa HLA-tyyppiä edustava solulinja. Tällaisia hankkeita onkin jo käynnistetty ainakin Japanissa (30).

## Lopuksi

Monikykyisiin kantasoluihin perustuvat soluhoidot ovat epäilemättä vähitellen tulossa klinisiin kokeisiin. Aluksi ne perustuvat alkion kantasolulinjoihin, joita pidetään iPS-soluja turvallisempina siksi, ettei niitä ole geneettisesti muokattu. Kokemuksen karttuessa on todennäköistä, että myös uudelleenohjelmoituja soluja aletaan käyttää korjaavissa hoidoissa. Toistaiseksi iPS-solujen ehdottomasti suurin merkitys lääketieteelle perustuu niiden käyttöön sairauksien mekanismien tutkimuksessa potilas- ja sairauskohtaisten solumallien avulla. ■

**JERE WELTNER, FM, tohtorikoulutettava**

**RAS TROKOVIC, FT, yliopistotutkija**

Helsingin yliopisto, molekyylineurologian tutkimusohjelma ja Biomedicumin kantasolukeskus

**TIMO OTONKOSKI, LKT, lääketieteellisen kantasolututkimuksen professori**

Helsingin yliopisto, molekyylineurologian tutkimusohjelma ja Biomedicumin kantasolukeskus  
HYKS, lastenkliniikka

**SIDONNAISUUDET**

Kirjoittajilla ei ole sidonnaisuuksia

## Summary

### Induced pluripotent stem cells (iPS) in medical research

Pluripotent stem cells are capable of differentiating into cells of any tissue. The fact that iPS cell lines can be produced from skin cells or blood cells and directed to differentiate into a desired direction makes it possible to investigate e.g. myocardial or nerve cells having a disease-associated genotype. This will enable the development of experimental models of disease mechanisms and also apply them to drug screening, which may allow the development of novel types of treatment. In the future it may become possible to replace injured cells of a patient with autologous iPS cell derived transplants.

## 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, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006;126:663–76.
3. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, ym. Induction of pluripotent stem cell lines from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 2007;131:861–72.
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. Aalto-Setälä K, Otonkoski T, Sariola H. Nobelin palkinto kantasolututkijoille Gurdonille ja Yamanakalle. *Duodecim* 2012;128:2492–3.
6. Buganim Y, Faddah DA, Jaenisch R. Mechanisms and models of somatic cell reprogramming. *Nat Rev Genet* 2013;14:427–39.
7. Papp B, Plath K. Epigenetics of reprogramming to induced pluripotency. *Cell* 2013;152:1324–43.
8. Gafni O, Weinberger L, Mansour AA, ym. Derivation of novel human ground state naive pluripotent stem cells. *Nature* 2013;504:282–6.
9. Müller FJ, Brändl B, Loring JF. Assessment of human pluripotent stem cells with PluriTest. *StemBook* [internet]. Cambridge (MA): Harvard Stem Cell Institute 2008.
10. Toivonen S, Ojala M, Hyysalo A, ym. Comparative analysis of targeted differentiation of human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) and human embryonic stem cells reveals variability associated with incomplete transgene silencing in retrovirally derived hiPSC lines. *Stem Cells Transl Med* 2013;2:83–93.
11. Hussein SM, Batada NN, Vuoristo S, ym. Copy number variation and selection during reprogramming to pluripotency. *Nature* 2011;471:58–62.
12. Amps K, Andrews PW, Anyfantis G, ym. Screening ethnically diverse human embryonic stem cells identifies a chromosome 20 minimal amplicon conferring growth advantage. *Nat Biotechnol* 2011;29:1132–44.
13. Hussein SM, Nagy AA. Progress made in the reprogramming field: new factors, new strategies and a new outlook. *Curr Opin Genet Dev* 2012;22:435–43.
14. Otonkoski T, Wartiovaara A. Uudet kantasolutekniikat sairauksien mallintamisessa. *Duodecim* 2009;125:2415–6.
15. Bellin M, Marchetto MC, Gage FH, Mummery CL. Induced pluripotent stem cells: the new patient? *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012;13:713–26.
16. Kroon E, Martinson LA, Kadoya K, ym. Pancreatic endoderm derived from human embryonic stem cells generates glucose-responsive insulin-secreting cells in vivo. *Nat Biotechnol* 2008;26:443–52.
17. Israel MA, Yuan SH, Bardy C, ym. Probing sporadic and familial Alzheimer's disease using induced pluripotent stem cells. *Nature* 2012;482:216–20.
18. Nguyen HN, Byers B, Cord B, ym. LRRK2 mutant iPSC-derived DA neurons demonstrate increased susceptibility to oxidative stress. *Cell Stem Cell* 2011;8:267–80.
19. Brennand KJ, Simone A, Jou J, ym. Modelling schizophrenia using human induced pluripotent stem cells. *Nature* 2011;473:221–5.
20. Donnelly CJ, Zhang PW, Pham JT, ym. RNA toxicity from the ALS/FTD C9ORF72 expansion is mitigated by antisense intervention. *Neuron* 2013;80:415–28.
21. Adewumi O, Aflatoonian B, Ahrlund-Richter L, ym. Characterization of human embryonic stem cell lines by the International Stem Cell Initiative. *Nat Biotechnol* 2007;25:803–16.
22. Yusa K, Rashid ST, Strick-Marchand H, ym. Targeted gene correction of  $\alpha 1$ -antitrypsin deficiency in induced pluripotent stem cells. *Nature* 2011;478:391–4.
23. Ding Q, Lee YK, Schaefer EA, ym. A TALEN genome-editing system for generating human stem cell-based disease models. *Cell Stem Cell* 2012;12:238–51.
24. Mali P, Aach J, Stranges PB, ym. specificity screening and paired nickases for cooperative genome engineering. *Nat Biotechnol* 2013;31:833–8.
25. Hanna J, Wernig M, Markoulaki S, ym. Treatment of sickle cell anemia mouse model with iP5 cells generated from autologous skin. *Science* 2007;318:1920–3.
26. Robertson RP. Islet transplantation as a treatment for diabetes – a work in progress. *N Engl J Med* 2004;350:694–705.
27. Bruin JE, Rezanian A, Xu J, ym. Maturation and function of human embryonic stem cell-derived pancreatic progenitors in macroencapsulation devices following transplant into mice. *Diabetologia* 2013;56:1987–98.
28. Zhao T, Zhang ZN, Rong Z, Xu Y. Immunogenicity of induced pluripotent stem cells. *Nature* 2011;474:212–5.
29. Araki R, Uda M, Hoki Y, ym. Negligible immunogenicity of terminally differentiated cells derived from induced pluripotent or embryonic stem cells. *Nature* 2013;494:100–4.
30. McKernan R, Watt FM. What is the point of large-scale collections of human induced pluripotent stem cells? *Nat Biotechnol* 2013;31:875–7.
31. Lahti AL, Kujala VJ, Chapman H, ym. Model for long QT syndrome type 2 using human iP5 cells demonstrates arrhythmogenic characteristics in cell culture. *Dis Model Mech* 2012;5:220–30.
32. Lee G, Papapetrou EP, Kim H, ym. Modelling pathogenesis and treatment of familial dysautonomia using patient-specific iPSCs. *Nature* 2009;461:402–6.
33. Hua H, Shang L, Martinez H, ym. iPSC-derived  $\beta$  cells model diabetes due to glucokinase deficiency. *J Clin Invest* 2013;123:3146–53.
34. Hämäläinen RH, Manninen T, Koivumäki H, Kislin M, Otonkoski T, Suomalainen A. Tissue- and cell-type-specific manifestations of heteroplasmic mtDNA 3243A>G mutation in human induced pluripotent stem cell-derived disease model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110:E3622–30.