

---

# Köldökzsinór eredetű mesenchymális őssejtek jellemzése, várható terápiás felhasználása

SZÁRAZ L., KOCSIS A., FÜRÉSZ K., VÉGH G., KALAPOS M., BRINDZÁNÉ MOLNÁR M., SZÉNÁSI D., HEGEDŰS E., TAKÁCS A., ALADICS Á., ZSIGRI V., IMRE E., BALOGH I.

KRIO Intézet Zrt., Budapest, Hungary

Levelezési cím: KRIO Intézet Zrt., 1026 Budapest, Kelemen László u. 12.

Tel.: +36-1/416-7453

E-mail: szaraz.leonora@krio.hu

---

A mesenchymális őssejtek (MSC) terápiás megítélése az utóbbi években óriási fejlődésen ment keresztül annak köszönhetően, hogy számos állat- és klinikai kísérlet eredménye alapján bebizonyosodott, hogy ezek az őssejtek önmagukban is hatékonyak egyes betegségek kezelésében. Bár korábban – inherens differenciálódási jellegükből fakadóan – elsősorban a regeneratív orvoslás ígéretes eszközeként jellemezték őket, napjainkban – hipoimmunogén és immunszuppresszív hatásukból adódóan – egyes autoimmun kórképek, illetve az allogén csontvelő-transzplantációt követően kialakuló súlyos immunválasz kezelésében jelennek meg hatékony terápiás eszközként.

## MESENCHYMÁLIS ŐSSEJTEK ELŐFORDULÁSA ÉS AZONOSÍTÁSA

Az MSC-k olyan multipotens szöveti őssejtek, amelyek legnagyobb mennyiségben a hematopoetikus őssejtek (HSC) működéséhez nélkülözhetetlen mikrokozmoszt adó, ún. „stroma őssejtek”-ként (BM-MSC) a csontvelőben található meg. Annak ellenére, hogy az első leírásuk óta közel negyven év telt el és számos más helyről is izoláltak már ilyen sejteket, változatlanul a BM-MSC-k a viszonyítási pontok az egyéb forrásokból – pl. köldökzsinór (KZS), köldökzsinórvér (KZSV), placenta, zsírszövet, perifériás vér – nyerhető egyéb MSC-k minősítésében, feltehetően azért, mert terápiás szempontból ezek a sejtformák tűntek anno a legígéretesebbnek.

Az MSC-k általános jellemzője, hogy könnyen izolálhatók, *in vitro* körülmények között jól szaporíthatók, elsődlegesen porc-, csont-, zsírszövet irányban differenciálhatóak, de sikeresen alakították már őket – a csíralemezek által deter-

minált korlátokat is átlépve (*in vitro* plasztikusság) – ideg-, szívizom-, harántcsíkkoltizom-, máj- és vesesejtekké, valamint inzulintermelő béta-sejtekké. Közös tulajdonságuk az adherencia (kitapadás) képessége műanyag felületekhez, így a laboratóriumi gyakorlatban jól elkülöníthetők, valamint kifejeznek (CD105+, CD73+, CD90+), ill. nem fejeznek ki (CD45–, CD34–, CD14–, CD19–) immuncitokémiai azonosításra alkalmas felületi markereket.<sup>1</sup>

Differenciálódási potenciáljuk azonban függ az izolálásuk helyétől: pl. zsírszövet ill. csontvelő eredetű MSC-k felületi markerei ugyan nagyon hasonlítanak egymásra, a zsír eredetű MSC-knek mégis nagyobb az angiogén potenciáljuk.<sup>2</sup>

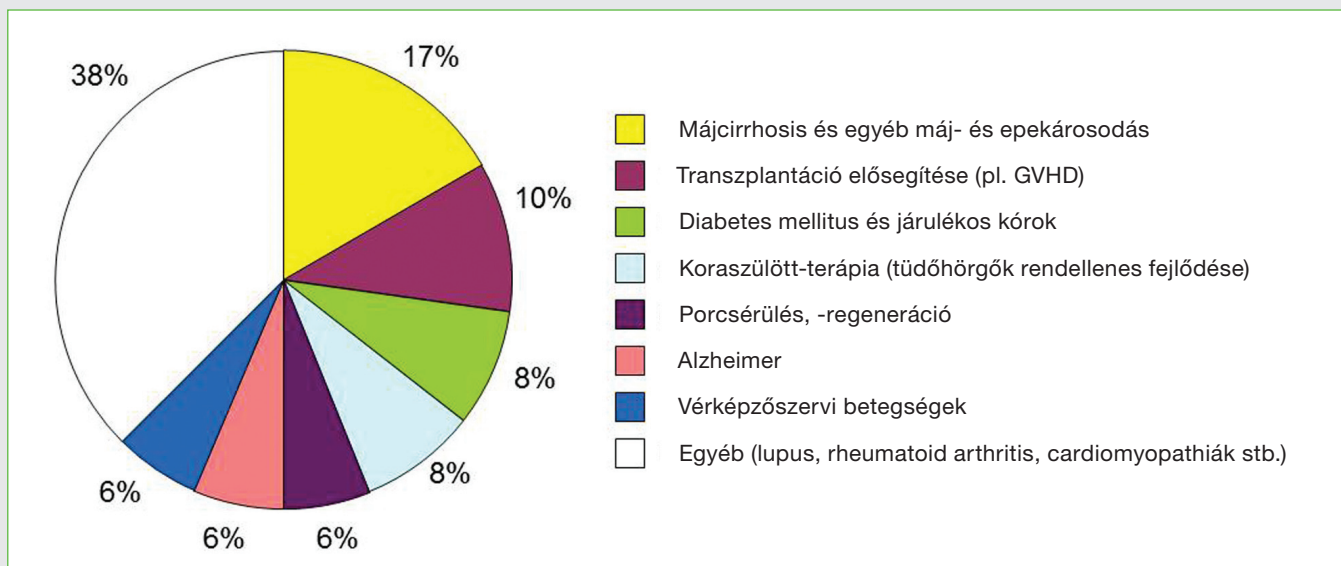
## A KÖLDÖKZSINÓR MINT WJ-MSC-FORRÁS

A Wharton-kocsonya (WJ) mátrixában fellelhető MSC-k feltételezhetően az embriogenezis korai szakaszában „csapdába ejtett” sejtformák. Különleges tulajdonságuk, hogy felületükön embrionális markereket (Tra-1-60, Tra-1-81, SSEA-1, SSEA-4, Oct-4, Sox-2, Nanog) is megjelenítenek, így valójában átmenetet képeznek a pluripotens embrionális őssejtek és a multipotens szöveti őssejtek között.<sup>3</sup> A csontvelő ill. zsírszövet eredetű MSC-k nem fejeznek ki embrionális markereket, vagyis azok egy későbbi fejlődési fokot reprezentálnak, hosszabb generációs idővel, rövidebb telomerrel és kisebb telomeráz enzimaktivitással.<sup>4-5</sup> A köldökzsinórból izolált MSC-k jobban szaporíthatók laboratóriumi körülmények között (akár 10<sup>15</sup> sejtszám is elérhető kromoszómaaberráció nélkül), immunszuppresszív (ld. később) hatásuk jobban érvényesül, HLA-identitásuk még kevésbé kialakult, valamint plasztikusabb sejtformák, mint a BM-MSC-k.<sup>6-7</sup>

---

A közlemény megjelenését a KRIO Intézet Zrt. tette lehetővé.

---



1. ábra. A [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov) oldalon regisztrált, WJ-MSCs-hez kötődő klinikai kísérletek megoszlása kezelési területek szerint.<sup>14</sup>

### WJ-MSCs-K IZOLÁLÁSA<sup>8</sup>

A köldökzsínór eredetű MSC-k terápiás felhasználását jelentősen hátráltatja, hogy jelenleg nincs egységes módszer a kinyerésükre és jellemzésükre sincs általánosan elfogadott szempontrendszer. Terápiás céllal izolált sejtek esetén azonban minimum elvárás-ként kell megfogalmazódnia a sejtek morfológiai és funkcionális sértetlenségének, így a jövőben – feltételezhetően – azon izolálási módszerek élveznek majd előnyt, amelyek enzimek használata nélkül, a sejtek természetes környezetét megtartó módon kerülnek kivitelezésre, hiszen ebben az esetben a sejtek felületi markerei nem sérülnek, nem kell számolni a túlemésztés lehetőségével és a sejtek az izolálás folyamata alatt is hozzájutnak mindazon faktorokhoz, amelyekre szükségük van a megfelelő fenotípus kialakításához. Ezen szempontok figyelembevételével dolgoztuk ki izolálási technikánkat és jelentettük be szabadalmi igényünket ebben az évben.<sup>9</sup>

### AZ MSC-K HIPOIMMUNOGÉN ÉS IMMUNSZUPPRESSZÍV TULAJDONSÁGAI<sup>10</sup>

Az MSC-k hipoimmunogén tulajdonsága – amely allogén (sőt xenogén) transzplantációk esetén elmaradó immunválaszt jelent – alapvetően azzal magyarázható, hogy a sejtek csak kis mennyiségben fejeznek ki a felületükön MHC-I-, ill. egyáltalán nem fejeznek ki MHC-II. antigéneket. Ebből adódóan a betegek kezelése nem igényel autológ MSC-eket, és elvileg bármely egészséges donor MSC-je felhasználható terápiák indítására.

A szövettanyészetben tartott MSC-k gátolják az immunválaszban fontos szerepet betöltő sejtek (T-, B-, NK-sejtek,

antigénprezentáló sejtek) aktivitását, egyes T-helper sejtek apoptózisát idézik elő, így csökkentik a gyulladásos citokinek mennyiségét és fokozzák az immunválaszt gátló regulátor T-sejtek osztódását. A jelenlegi tapasztalatok szerint a WJ-MSCs-k immunszuppresszív hatása sokkal erőteljesebben érvényesül a BM-MSCs-khez képest<sup>2</sup>: már a folyamatban részt vevő oldható faktorok és az NK-sejtek esetén kialakuló sejt-sejt kontaktus is részletes leírásra került, valamint állatkísérletek révén a szervtranszplantációk sikerességét növelő lokális immunszuppresszív milió komplex leírása is megtörtént.

### MSC-K SZEREPE A GVHD KEZELÉSÉBEN, ILLETVE MEGELŐZÉSÉBEN<sup>11-12</sup>

Bár a BM-MSCs-k immunszuppresszív hatása és azon természetes funkciójuk alapján, hogy segítik a vérképző őssejtek szaporodását ill. differenciálódását, számos kutatás indult az együtt történő transzplantáció részleteinek kidolgozására, azonban átütő siker csak az allogén csontvelő-transzplantációk után gyakran kialakuló GvHD kezelésében van. A beültetett szerv/szövet gyakran szteroidrezisztens immunválaszának klasszikus kezelése legtöbbször kortikoszteroidokkal történik, amelynek kimenetele 70%-ban halálos. 2004-ben Le Blanc és mtsai első alkalommal számoltak be az MSC-k *in vivo* gyulladásgátló és immunszuppresszív hatásán alapuló sikeres terápiás beavatkozásról. Egy 9 éves – lymphoid leukaemia miatt allogén csontvelő-transzplantáción átesett – kisfiú akut GvHD-ját kezelték édesanyjától származó csontvelő eredetű MSC-ekkel.<sup>13</sup> Azóta mind az akut, mind a krónikus GvHD kezelésében számos siker született, és a BM-MSCs-k mellett a

A közlemény megjelenését a KRIO Intézet Zrt. tette lehetővé.

WJ-MSK-k vonatkozó terápiás felhasználása is több esetben sikeresnek bizonyult. Intézetünk 2011–2013 között 5 alkalommal működött közre allogén csontvelő-transzplantációt követően kialakult GvHD kezelésében köldökzsinór eredetű MSC-k biztosításával.<sup>9</sup> A betegek életkora 5–20 év között változott, a csontvelő-transzplantációk alapjául myelodysplasiás szindróma, akut lymphoid leukaemia, akut myeloid leukaemia szolgáltak, és a kezeléseket általában két alkalommal kellett elvégezni.

### MSC ALKALMAZÁSA EX VIVO HSC SZAPORÍTÁSHOZ

A köldökzsinórvér legerjedtebb felhasználását (nemzetközi átlagban jelenleg kb. 30%-át) a vérképző őssejt transzplantációk jelentik, ezt azonban a gyűjtött vér mennyisége és ezáltal a benne található vérképző őssejtek száma korlátozza. A HSC sejtek szaporítása azonban egy olyan folyamatosan kutatott terület, ahol a legnagyobb áttörést a BM-MSK tápláló rétegen történő HSC-szaporítás adta, amely az MSC-k természetes viszonyok között is megvalósuló dajkasejt funkciójára épít. Bár a folyamat részletei még nem teljesen ismertek, de sikerült azonosítani azokat a szignál vegyületeket, ill. megfigyelni olyan közvetlen sejt-sejt kapcsolatokat, amelyek a HSC sejtek túléléséhez, primitív sejtformaként történő szaporodásához, késleltetett differenciálódásához szükségesek. Az előzetes eredmények azt mutatják, hogy a csontvelő eredetű MSC-k helyett alkalmazott KZS eredetű MSC-k szignifikánsan nagyobb mennyiségben választanak ki olyan hatóanyagokat, amelyek a HSC differenciálódását gátolják, és szaporodásukat fenntartják.<sup>12</sup>

### MSC-K SAJÁTOS TÖBBSEJTVONALAS DIFFERENCIÁLÓDÁSI KÉPESSÉGE ÉS SZEREPE A REGENERATÍV ORVOSLÁSBAN

Inherens differenciálódási potenciáljuknak és tenyésztethetőségüknek köszönhetően az MSC-k terápiás felhasználását a regeneratív orvoslás valósította meg porcokopások, súlyos csonttörések, roncsolásos sérülések kezelésében. Szervek regenerálásán (pl. szív, máj) több munkacsoport dolgozik: a kezelés hatására nőtt a kapillárisok sűrűsége, fokozódott az angiogenezis, erősödött a sejtek regenerációs képessége és csökkent az apoptózis intenzitása.

### ÖSSZEFOGLALÁS

Bár az alkalmazott MSC dózis mértéke és a kezelések száma még további klinikai vizsgálatok tárgyát képezi, a sikeres felhasználások háttérben az MSC-k olyan fontos tulajdonságai állhatnak, mint:

(i) inherens differenciálódási potenciáljuknak megfelelően porc, csont és zsírszöveti irányba képesek fejlődni,

(ii) kiválasztanak olyan biológiailag aktív anyagokat, amelyek révén immunmodulátor funkcióval rendelkeznek,

(iii) hipoimmunogének, de forrásuknak megfelelően jelentős különbségek lehetnek az egyes MSC csoportok között.

Számos tanulmány és jelenleg is futó klinikai kísérlet foglalkozik a gyakorlati jelentőségük megismerésével, amelyről áttekintést a [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov) oldal ad (*ld. ábra*). A jelenleg regisztrált, WJ-MSK-hez kötődő klinikai kísérletek száma 48, legnagyobb hányaduk májregenerációra és a GvHD-kezelésre irányul. Mindez és az eddig lezajlott sikeres terápiás felhasználások arra engednek következtetni, hogy az elkövetkező időben ezen felhasználási területeken várható a legnagyobb előrelépés.<sup>14</sup>

### HIVATKOZÁSOK

1. Markov V, Kusumi K, Tadesse MG, et al. Identification of cord blood-derived mesenchymal stem/stromal cell populations with distinct growth kinetics, differentiation potentials and gene expression profiles. *Stem Cells and Development*. 2007;16:53–73.
2. Batsali AK, Kastrinaki MC, Papadaki HA, et al. Mesenchymal stem cells derived from Wharton's Jelly of the umbilical cord: Biological properties and emerging clinical applications. *Current Stem Cell Research & Therapy*. 2013;8:144–155.
3. Semenov OV, Breyman C. Mesenchymal stem cells derived from Wharton's jelly and their potential for cardio-vascular tissue engineering. *The Open Tissue Engineering and Regenerative Medicine Journal*. 2011;4:64–71.
4. Taghizadeh RR, Cetrulo KJ, Cetrulo CL. Wharton's jelly stem cells: Future clinical applications. *Placenta*. 2011;32:S311–S315.
5. Guillot PV, Gotherstrom C, Chan J, et al. Human first-trimester fetal MSC express pluripotency markers and grow faster and have longer telomeres than adult MSC. *Stem Cells*. 2007;25:646–654.
6. Troyer DL, Weiss ML. Concise review: Wharton's jelly-derived cells are a primitive stromal cell population. *Stem Cells*. 2008;26:591–599.
7. Karahuseynoglu S, Cinar O, Kilic E, et al. Biology of stem cells in human umbilical cord stroma: In situ and in vitro surveys. *Stem Cells*. 2007;25:319–331.
8. Salehinejad P, Alitheen NB, Ali AM, et al. Comparison of different methods for the isolation of mesenchymal stem cells from human umbilical cord Wharton's jelly. *In Vitro Cellular and Developmental Biology – Animal*. 2012;48:75–83.
9. Boruczowski D, Sablinski J, Oldak T, et al. Examples of the use of stem cells from cord blood in Poland. *Poszterelőadás (38th/\*) EBMT Annual Meeting; Genf, Svájc, 2012.04.01-04.*
10. Mundra V, Gerling IC, Mahato RI. Mesenchymal stem cell-based therapy. *Molecular Pharmaceutics*. 2013;10:77–89.
11. Lin Y, Hogan WJ. Clinical application of mesenchymal stem cells in the treatment and prevention of Graft-versus-Host disease. *Advances in Hematology*. 2011; 1–17.
12. Bernardo ME, Pagliara D, Locatelli F. Mesenchymal stromal cell therapy: a revolution in regenerative medicine? *Bone Marrow Transplantation*. 2012;47:164–171.
13. Blanc KL, Rasmuson I, Sundberg B, et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet*. 2004;363:1439–41.
14. <http://www.clinicaltrials.gov/ct2/results?term=umbilical+cord+mesenchymal+stem+cell&Search=Search>; hozzáférés időpontja: 2013.04.26.

A közlemény megjelenését a KRIO Intézet Zrt. tette lehetővé.