

Magzatvíz-eredetű őssejtek: a regeneratív medicina legújabb lehetőségei

Joó József Gábor dr.

Semmelweis Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, I. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika, Budapest

A magzatvíz évtizedek óta számos veleszületett fejlődési rendellenesség (például kromoszóma-rendellenességek, ve-lőcső-záródási rendellenességek, tárolási betegségek) egyszerű, ugyanakkor hatékony szűrő- és diagnosztikus vizsgálátát teszi lehetővé. Napjainkban a magzatvíz kapcsán rendelkezésre álló, folyamatosan gyarapodó ismeretanyag alap-ján tény, hogy a benne található úgynevezett őssejtek malformatiók, illetve felnőttkori betegségek sikeres kezelésének kiindulópontját jelenthetik. A magzatvíz- (és lepény-) eredetű őssejtek, köszönhetően jó differenciációs és proliferációs potenciáljuknak, a három csiralemez bármelyik szövettípusának irányában képesek fejlődni. Fagyasztás révén évekig tárolhatók, s ez a congenitalis malformatiók mellett felnőttkori betegségek kezelését is lehetővé teszi. E sejtek a közeljövő regeneratív medicinájának nélkülözhetetlen eszközeinek ígérkeznek. A tanulmány – a legfontosabb klinikai alkalmazások áttekintése mellett – a magzatvíz-eredetű őssejtek főbb tulajdonságait tekinti át. Orv. Hetil., 2011, 152, 581–587.

Kulcsszavak: magzatvíz, magzatvíz-eredetű őssejtek, pluripotens sejtek, multipotens sejtek, autotranszplantáció

Stem cells in the amniotic fluid: the new chance of regenerative medicine

Amniotic fluid has been used in prenatal diagnosis for more than decades. It yields a simple and reliable screening and diagnostic tool for a variety of congenital malformations and genetic diseases such as chromosomal aberrations, neural tube defects or storage diseases. Nowadays the widening knowledge provides evidence that amniotic fluid is not only a screening and diagnostic tool, but it may be also the source of the effective therapy of several congenital and adult disorders. A subset of cells, the so-called stem cells were found in the amniotic fluid as well as the placenta, and they proved to be capable of maintaining prolonged undifferentiated proliferation. Stem cells are able to differentiate into multiple tissue types, originating from the three germ layers. In the near future stem cells isolated from amniotic fluid or placenta and stored by cryopreservation may play a significant role in regenerative medicine. Congenital malformations as well as certain diseases in adults might be treated by tissues coming from progenitor cells of amniotic fluid stem cell origin. This study gives a summary of the main characteristics of amniotic fluid stem cells and it also presents important examples of their possible clinical application. Orv. Hetil., 2011, 152, 581–587.

Keywords: amniotic fluid, amniotic fluid stem cells, pluripotent cells, multipotent cells, autotransplantation

(Beérkezett: 2011. február 11.; elfogadva: 2011. február 28.)

Rövidítések

AFMSC = amniotic fluid mesenchymal stem cell; AFSC = amniotic fluid stem cell; ASC = adult stem cell; BMP = bone morphogenetic protein; BMP-7 = bone morphogenetic protein 7; ESC = embryonic stem cell; IGF-1 = insulin-like growth factor 1; LPL = lipoprotein-lipáz; rAFC = rat amniotic fluid cell; TGF- β 1 = transforming growth factor β 1; TGF- β 3 = transforming growth factor β 3

A sérülések, szövethiányos állapotok kialakulását követő szöveti regeneráció elősegítése, serkentése napjainkban is a medicina egyik fontos kérdése. Az úgynevezett regeneratív medicina az orvostudomány olyan interdiszciplináris területe, amely jelenleg a kutatás és a klinikai alkalmazás határmezsgyéjén helyezkedik el; célja a bármilyen okból károsodott sejtek, szövetek vagy szervek

regenerációjának stimulálása, illetve azok pótlása [1]. E cél elérése céljából a sejtenyészet révén történő szövetpótlás, a biológiai szempontból kompatibilis mesterséges anyagok (*scaffold*) alkalmazása, illetve e két módszer kombinálása jön szóba [2]. Megjegyzendő, hogy a sejtenyészet révén történő szövetpótlás lehetőségeit a sejtek korlátozott proliferációs és differenciációs képessége behatárolja. Az elmúlt években, évtizedben jelentős tudományos eredménynek bizonyult az őssejtek felfedezése, amelyek biológiai adottságaik révén, *ex vivo* különböző irányú differenciálódásra képesek. Őssejtek kimutathatók az embrionális, magzati és felnőtt szervezetből egyaránt, ezenkívül olyan extraembrionális képletekből is, mint a köldökzsinór, a méhlepény, a magzatburok, valamint a magzatvíz. Különböző eredetüknek megfelelően e különböző őssejtípusok más és más biológiai tulajdonságokkal, előnyökkel, illetve hátrányokkal rendelkeznek. A legfontosabb jellemző az úgynevezett plaszticitás, amely a regeneráció, a megújulás képességén túl, a forrásként szolgáló szövettypustól eltérő irányú morfológiai és funkcionális szöveti differenciálódás adottságára vonatkozik [3].

Az őssejtekben rejlő klinikai potenciál óriási; becslések szerint az Egyesült Államokban jelenleg közel 100 millió olyan ember él, akinek fennálló betegségét előbb-utóbb őssejtterápiával lehet gyógyítani.

Az őssejtek forrásai

A differenciálódás különböző képessége alapján az őssejtek lehetnek *pluri-* és *multipotensek*. Előbbi esetben a sejt mindhárom csíralemezből származó szöveti irányban képes differenciálódni, míg multipotens állapot esetén egy bizonyos csíralemez-eredetű szövet különböző típusú sejtjei irányában mehet végbe az őssejtől kiinduló sejtosztódás [4]. Egyes klasszifikációk szerint beszélhetünk úgynevezett *unipotens* őssejtekről is, amikor a differenciálódás csak egy bizonyos sejtvonalnak megfelelően következhet be [5].

Az őssejtek más felosztás alapján lehetnek embrionális (*embryonic stem cell; ESC*), illetve felnőtt eredetűek (*adult stem cell; ASC*). Az embrionális őssejtek a blastocysta belső sejtmasszájából származó pluripotens sejtek [6, 7]; nagyfokú plaszticitásuk és szinte korlátlan regenerációs képességük miatt számos súlyos betegség, így a diabetes mellitus, valamint a Parkinson-kór nagy perspektívájú kezelési lehetőségeként tartják őket számon [8]. E reményeket némileg beárnyékolják azok az aggályok, amelyek az őssejtkezelés esetleges daganatkeltő hatásaira [9, 10], a recipiensszervezet nem megfelelő immunválaszára [11], illetve az embrionális sejtek terápiás alkalmazása kapcsán megfogalmazott etikai fenntartásokra vonatkoznak [12].

Az adult típusú őssejteket markánsan jellemzik azok a szövetek, amelyekből származnak, hiszen ebben a környezetben képesek multipotens állapotukat megőrizni. Biológiai szerepüknek megfelelően szöveti sérülés ese-

tén, a károsodásnak megfelelő területen osztódva képesek a laesiót kiküszöbölni [13]. ASC-őssejteket csaknem minden szervben és szövetben azonosítottak, beleértve a gonadokat is. Differenciációs képességük és proliferációs kapacitásuk az embrionális őssejtekhez képest korlátozott; terápiás szempontból elhanyagolható potenciállal rendelkeznek.

Néhány éve rendelkezésre áll olyan eljárás, amelynek révén felnőtt szomatikus sejtekből egyénspecifikus, pluripotens őssejteket lehet létrehozni. A módszer lényege, hogy az adott testi sejtbe retrovírusok révén olyan transzkripciós faktorokat (Oct4, Sox2, Klf-4, c-myc) juttatnak, amelyek az adott sejt dedifferenciálódását hozzák létre [14]. Az így létrejövő pluripotens őssejtek morfológiai és növekedési tulajdonságaik tekintetében nem különböztethetők meg az ESC-sejtektől. Jelenleg is folyamatban vannak vizsgálatok, amelyek az ilyen módon létrehozott őssejtek terápiás alkalmazási lehetőségeit hivatottak felmérni.

Évekkel ezelőtt felfedezték, hogy a magzati szövetekben is található úgynevezett magzati eredetű őssejtek. Jellemzőjük az ASC-sejtekénél nagyobb proliferációs és differenciációs kapacitásukon túl az is, hogy – multipotens jellegükből adódóan – egy adott sejtvonalnak megfelelő osztódásra képesek. Jelenleg magzati szövetekből haemopoeticus, mesenchymalis, idegszöveti, tüdőszöveti és pancreaszöveti progenitor sejtek nyerhetők [15, 16, 17, 18, 19, 20]. Fontos megjegyezni, hogy a terhesség alatt magzati szövet nyérése mind magzati, mind anyai szempontból a morbiditás és mortalitás számottevő emelkedésével jár [21].

Az extraembrionális szövetek közül a kutatók figyelmé először a köldökzsinór felé irányult, amelyről igazolódott, hogy nagy proliferációs kapacitással rendelkező, alacsony immunogenitású őssejtek forrása [22, 23]. Azt is kimutatták, hogy a köldökzsinórvérben mesenchymalis és multipotens őssejtek találhatóak, ráadásul e sejtek sajátosságai tekintetében közel állnak az ESC-sejtek tulajdonságaihoz. Az elmúlt 10 évben az őssejtkutatás homlokterébe egyre inkább a placenta, az amnion és chorion, illetve a magzatvíz került, mint lehetséges őssejtforrások [24]. A magzatburok, illetve köldökzsinór közvetlenül szülés után hozzáférhető; a köldökzsinórvér levétele őssejtizolálás céljából mind elterjedtebb a napi szülészeti gyakorlatban; jelentőségével egyre inkább tisztában van mind a civil, mind a szakmai közvélemény. A magzatvíz – ellentétben az előbbiekkal – viszonylag nagy mennyiségben már terhesség alatt is hozzáférhető, ezenkívül bizonyos mennyiségű lepenyszövet chorionboholy-biopszia révén is nyerhető a terhesség alatt. A magzatvízből az őssejtek két típusát azonosították: a magzatvíz-eredetű mesenchymalis őssejteket (*amniotic fluid mesenchymal stem cell; AFMSC*), valamint a magzatvíz-eredetű őssejteket (*amniotic fluid stem cell; AFSC*).

A magzatvíz főbb jellemzői

A magzatvíz tiszta, vízszerű folyadék, amely a méhürben a magzatot körülveve biztosítja a megfelelő növekedést, mozgást, véd a külső mechanikai hatásoktól, illetve a magzati és anyai víz- és elektrolit-háztartás folyamatos kapcsolatát teszi lehetővé. A 2. terhességi héttől kezd termelődni, s mennyisége a terhesség alatt excesszív módon növekszik. Volumene a 7. terhességi héten körülbelül 20 ml, a 25. héten 600 ml, míg a 34. héten körülbelül 1000 ml. Mennyisége ezt követően mérsékelten csökken, s a terminus közelében 800 ml-nek felel meg. A magzatvíz 98–99%-ban vízből és elektrolitokból áll, ezenkívül található benne lipidek, fehérjék, hormonok, enzimek, glükóz, különböző függetlenanyagok (magzattmaz, lanugo, meconium), s végül – de nem utolsósorban – sejtek. A magzatvíz sejtjes elemei egyfelől az extraembrionális képletekből (placenta, amnion, chorion), másfelől az embrionális vagy magzati szövetekből származnak [25]. A magzatvízben található sejtek – napjaink tudományos felfogása szerint – elsősorban a magzati kültakaróról, a légző- és húgyúti rendszerből, illetve a gyomor-bél traktusból származnak. A magzatvízsejtek mind morfológiai, mind egyéb tulajdonságaik alapján a terhességi kor és a magzati fejlődés aktuális stádiuma alapján komoly változatosságot mutatnak. Magzati kórállapot vagy fejlődési rendellenesség esetén számuk jelentős ingadozást mutat. Az előbbi esetben (például méhen belüli elhalás vagy urogenitalis atresia kapcsán) a sejtszám rendkívüli módon megkevesbedik, míg malformatio (például anencephalia, spina bifida, gastroschisis, omphalokele esetén) drámai mértékben megnő. A magzatvíz sejtjeit morfológiai és növekedési sajátosságaik alapján 3 csoportba oszthatjuk: epitheliod sejtek, fibroblastsejtek és úgynevezett magzatvízsejtek. (Anencephalia vagy spina bifida esetén a magzatvízben nagyobb számú idegsejt, míg gastrischisis esetén peritonealis sejtek jelennek meg.) E sejtek túlnyomó többsége teljesen differenciált állapotú és korlátozott proliferációs kapacitással rendelkezik [26]. 1993-ban *Torricelli és munkatársai* bizonyították, hogy a 12. terhességi hét előtt a magzatvízben magas proliferációs képességgel rendelkező haemopoeticus progenitor sejtek találhatóak [27]. Három évvel később egy másik munkacsoport magzatvízsejtekből myocytákat differenciáltatott, bizonyítva ezzel, hogy a magzatvízben nem csak haemopoeticus potenciállal rendelkező progenitor sejtek vannak [28].

Magzatvíz-eredetű mesenchymalis őssejtek (AFMSC)

A magzatvíz-eredetű mesenchymalis őssejtek olyan multipotens tulajdonságú sejtek, amelyek a mesodermális eredetű szövetek (zsírszövet, izomszövet, csontszövet, porcszövet) irányában képesek differenciálódni [29]. Először felnőttcsontvelőben azonosították, később

jelenlétüket más felnőtt- (zsírszövet, izomszövet, májszövet) és magzati (csontvelő, vér, máj) szövetekben, illetve extraembrionális képletekben (méhlepény, amnion) is igazolták. E sejtek kiváló regeneratív és immunmodulátor tulajdonságaiknak köszönhetően az őssejtalapú reparatív medicina nagy reményiségei [30]. 2001-ben magzatvízből is kimutatták a mesenchymalis őssejteket, ráadásul azt is igazolták, hogy *in vitro* körülmények között sokkal gyorsabb osztódásra képesek, mint akár a magzattból, akár a felnőttből származó mesenchymalis őssejtek [31].

AFMSC-sejtek második trimeszterben nyert 4–5 milliliternyi magzatvízből már izolálhatók; az összes magzatvízben található sejt körülbelül 0,9–1,5%-át teszik ki. Gyakorlatilag egyöntetű tudományos vélekedés, hogy e sejtek csaknem 100%-os biztonsággal izolálhatók az adott magzatvízmintából. Szaporításuk meglehetősen gyors; 2 milliliter magzatvízből nyert AFMSC-őssejtek esetén a sejtszám 4 hétnyi sejtenyészést követően 180×10^6 lehet. Növekedésük kinetikáját tekintve meghaladják a felnőttcsontvelőből nyert mesenchymalis őssejtek ilyen tulajdonságát, mivel – szemben azok 40–90 órás duplázódási idejével – számukat 25–38 óra alatt kétszerezik meg. Kimagasló proliferációs képességük dacára sem rendelkeznek tumorogén hajlammal, ezt több vizsgálat is igazolta [32, 33]. Sejt felszíni antigénjeiket tekintve az úgynevezett mesenchymalis markerekre (például CD90, CD73, CD105), illetve bizonyos adhéziós molekulákra (például CD29, CD44, CD54) nézve pozitívak, ugyanakkor haemopoeticus és endothelialis markerekre (például CD45, CD34, CD14) nézve negatívak.

Magzatvíz-eredetű őssejtek (AFSC)

Először 2003-ban *Prusa és munkacsoportja* mutatta ki, hogy a magzatvíz pluripotens tulajdonságú őssejteket (ESC) is tartalmaz [34], amelyek az összes magzatvízsejtnél körülbelül 0,1–0,5%-át teszik ki. E sejtek expresszálják az Oct4 (octamer binding transcription factor 4) transzkripciósi faktort, amely alapvető szerepet játszik az embrionális őssejtek differenciációs kapacitásának a kialakításában [35]. Az ESC-sejteken kívül az Oct4 elsősorban a csírasejtekből expresszálódik; inaktiválódása apoptózist eredményez. Ugyancsak szerepet játszik – mint onkogén – az embrionális carcinoma-sejtek és a csírasejt-eredetű tumorsejtek szaporodásában. Magzati sejtekben az Oct4 pontos funkciója egyelőre ismeretlen.

2007-ben *de Coppi és kutatócsoportja* a magzatvízből izolált olyan pluripotens őssejteket, amelyek klonális sejt vonalat létrehozva, bármelyik csíralemezből származó szöveti irányba képesek differenciálódni [36]. Ezek az úgynevezett magzatvíz-eredetű őssejtek (AFSC), amelyek egyik jellegzetessége a *c-kit* (CD117) felszíni antigén jelenléte, ami lényegében egy III. típusú tirozinkináz-receptornak felel meg. AFSC-sejteket már

5 milliliternyi, 14–20. terhességi hét között nyert magzatvíz-mintából is megbízható módon izolálni és szaporítani lehet. Az eljárás lényege, hogy a c-kit-pozitív sejtek immunológiai szelekcióját követően a kiválasztott sejteket sejt kultúrában tenyésztik. A magzatvíz-eredetű őssejtek *ex vivo* is nagyszerűen proliferálnak, duplázódási idejük körülbelül 36 óra. Kimutatták, hogy a tumorképződésre nincs stimuláns hatásuk. Sejtfelszíni antigénprofiljuk flowcitometriás vizsgálattal meghatározásra került; az AFSC-sejtek pozitívak az ESC (például SSEA-4) és a mesenchymalis markerekre (például CD73, CD90, CD105) csakúgy, mint számos adhéziós molekulára (például CD29, CD44), ugyanakkor negatívak a haemopoeticus és endothelialis markerekre (például CD14, CD34, CD45, CD133).

Megfelelő környezetben az AFSC-sejtek a zsír-, csont-, izomszövet, illetve endothelialis sejtek molekuláris markereit (például LPL, dezmin, oszteokalcin) expresszálják. Adipogén, chondrogen vagy osteogen médiumban zsírcseppeket, glükózaminoglikánokat képesek létrehozni. Májszöveti differenciációnak megfelelő közegben az AFSC-sejtek albumint, alfa-fetoproteint, míg idegszöveti médiumban neurogén markereket expresszálnak.

Cardiomyogen sejtek előállítása magzatvíz-eredetű őssejtekből

Az őssejtvizsgálatok kezdetétől megfogalmazott törekvés a szívizomsejtek előállítása őssejtekből. A kezdeti próbálkozások sem *in vivo*, sem *in vitro* nem hozták meg a kívánt eredményt, mivel a létrejött cardiomyocyták sem mennyiségi, sem minőségi szempontból nem voltak megfelelőek. A kiváltott immunreakciókon túl az őssejteredetű szívizomsejtek beültetése kapcsán gyakran teratomaképződés volt megfigyelhető. A magzatvíz-eredetű őssejtek klinikai alkalmazása kapcsán végzett kísérletek felcsillantották e nehézségek leküzdésének a lehetőségét.

Praenatalisan diagnosztizált, magzati szívfejlődési rendellenesség esetén különösen kedvezőnek tűnik a perspektíva, amelyet a terhesség során nyert biológiai szempontból „saját” őssejtek nyerése jelent; a szülést követő időszakban a belőlük előállított szívizomsejtek beültetése bizonyos malformatiók terápiájában korszakalkotó lehetőséget kínálhat. Számos szövetben és szervben – így a magzatvízben is – található olyan őssejtek, amelyek alkalmasak lehetnek arra, hogy belőlük cardiomyocytákat hozzanak létre. Az amnionfolyadék különösen kedvező médium, hiszen a sejtnyerés már terhesség alatt, rutinbeavatkozás révén, kis anyai és magzati kockázat mellett elvégezhető. A magzatvíz-eredetű őssejtek fagyasztásos tárolása nem rontja differenciációs képességüket, így *tissue engineering* (szövettervezés) céljaira e szempontból is alkalmasak [37, 38, 39].

In vitro kísérletek igazolták, hogy c-kit+ patkány-magzatvíz-őssejtek (*rat amniotic fluid cell*; *rAFC*) új-

szülött patkánytól származó cardiomyocytákkal egy sejttenyésztésben maguk is szívizomsejtekké alakulnak [40]. *In vivo* kísérletek szintén bebizonyították, hogy az AFSC-sejtekből szívizomsejtek, kapillárisfalsejtek, illetve arteriolafal-sejtek tudnak differenciálódni. A jelenleg is folyamatban levő kísérletek – különösen a terhesség alatt nyert magzatvíz-őssejtek megfelelő differenciáltatása utáni transzplantáció tekintetében – nagyon biztatók, ugyanakkor a hatékony klinikai alkalmazás érdekében további tudományos megerősítés szükséges.

Chondrogen sejtek előállítása magzati eredetű őssejtekből

Az ízületi porc traumát követően csak korlátozott regenerációs képességgel rendelkezik. Ennek javítására számos terápiás próbálkozás történt, a sebészi beavatkozásoktól az autológ transzplantációig, ám ezek nem nyújtották a kívánt eredményt. Körülbelül 10 évvel ezelőtt merült fel annak lehetősége, hogy *tissue engineering* révén progenitor sejtekből porcsejteket előállítva lehetőség nyílhat a roncsolódott porcszövet pótlására. Az őssejtek forrásaként a csontvelő, a zsírszövet, az izomszövet, a placenta egyaránt felmerült, ezek használata váltakozó sikert hozott; a legjobb terápiás eredményeket a csontvelő használata kínálta. Mivel azonban ebben az esetben – a donor életkorával összefüggésben – számítani kell a differenciációs képesség csökkenésére, a kutatások iránya 2007-ben a magzatvíz felé fordult [36]. Az AFSC-sejtek – köszönhetően pluripotens jellegüknek, valamint magas proliferációs kapacitásuknak – alkalmasak arra, hogy chondrocytaprogenitor-sejtekként alkalmazzák őket. 2007-ben *Kolambkar és munkatársai* az AFSC-sejtek chondrogen irányú differenciációját vizsgálták, és kimutatták, hogy a *TGF-β1* (*transforming growth factor beta 1*) és *TGF-β3* (*transforming growth factor beta 3*) növekedési faktorok hatására a magzatvíz-őssejtek nagy mennyiségben glükózaminoglikán-szulfátot termelnek [41]. E növekedési faktorok a chondrogen irányú sejt differenciáció fő induktorai [42, 43]. Feltételezték, hogy a *bone morphogenetic protein* (*BMP*) a porcszöveti mátrixállomány sejt szintű termelődését is stimulálja, ám ezt a hatást csak bizonyos sejtekben sikerült kimutatni [44]. Az AFSC-sejtek chondrogen irányú differenciációját a sejt kultúrához hozzáadott *IGF-1* (*insulin-like growth factor 1*) is elősegíti.

Diaphragma korrekciója magzatvíz-eredetű őssejtek segítségével

A congenitalis hernia diaphragmatica kezelésében a protézisbeültetéssel járó eljárások magas morbiditással járnak. Elsősorban ez ösztökélte azokat a próbálkozásokat, amelyek a szövetek magzatvíz-őssejtekből létrehozott megfelelő szöveti autológ transzplantációjának te-

rápiás lehetőségeit vizsgálták [45]. A *tissue engineering* révén előállított diaphragmaszövet legnagyobb előnye a szervetlen anyagból készült implantátumokkal szemben a szövödmények kisebb incidenciája volt. Ezen túlmenően az autológ transzplantáció során használt szövetek biomechanikai és strukturális jellemzői lényegesen kedvezőbbnek bizonyultak, mint a protézisek hasonló tulajdonságai. A biztató próbálkozások alapján remélhető, hogy a veleszületett rekeszizomsérv postnatalis műtéti kezelésében a magzatvízből nyert őssejtekből *tissue engineering* révén előállított szövetek új terápiás távlatot nyithatnak.

Osteogen szövet differenciációja magzatvíz-eredetű mesenchymalis őssejtekből

A csontszövet rendkívül dinamikus szövettípus, amely a folytonos megújulás (remodeling) révén képes homeostasisa fenntartására és az apró sérülések regenerálására. Súlyosabb traumák, veleszületett fejlődési rendellenességek, tumorok esetén e mechanizmus természetesen nem elegendő a gyógyuláshoz, általában sebészi beavatkozásra van szükség. A csontszöveti regeneráció egyik legújabb lehetőségét kínálja az őssejtkezelés, amelynek egyik forrása a magzatvíz lehet. Állatkísérletek révén már évekkel ezelőtt igazolták [46], hogy a mesenchymalis őssejtek felhasználhatók a szegmentális csontdefektusok gyógyításában, illetve a csigolyafúzió elősegítésében. Birkákon folytatott kísérletek segítségével azonosították egy csontregenerációhoz nélkülözhetetlen fehérje, a *bone morphogenetic protein 7 (BMP-7)* élettani szerepét. A mesenchymalis őssejtek terápiás hatását a csontfejlődési rendellenességek közül elsőként az osteogenesis imperfecta kezelésében vizsgálták; három 3 évesnél fiatalabb, a malformatio súlyos formájában szenvedő gyermeknél HLA-identikus, immunológiailag megfelelő donortól származó mesenchymalis őssejteket alkalmazva 3 hónappal a kezelés után a recipiensben intenzív osteoblast-aktivitás volt észlelhető. Az őssejtkezelés következő lépcsőfoka a magzatvíz-eredetű mesenchymalis őssejtek (AFMSC) terápiás alkalmazása, amely lényegében autológ transzplantációt jelent [47]. E kezelési mód elsősorban azokban az esetekben jön szóba, amelyekben az ultrahang-diagnosztika a terhesség során csontfejlődési rendellenesség jelenlétét igazolja, s amniocentesis révén mód nyílik magzatvíz-minta, s így őssejtrezervoár nyerésére.

Neurogén szövet differenciációja magzatvíz-eredetű mesenchymalis őssejtekből

Az elmúlt 15–20 évben a perifériás idegek helyreállító sebészetében komoly fejlődés mutatkozott. A legprogresszívebb eljárások közé tartozik az idegsejt-progenitor

sejtek alkalmazása, amelyek az idegszövet regenerációját segíthetik elő. A magzatvíz AFMSC-típusú sejtjei – egyéb irányok mellett – képesek idegszöveti irányú differenciációra; idegsejt-progenitor sejteken túl Schwann-sejtek is fejlődhetnek belőlük [48]. *Pan és munkatársai* 2006-ban publikálták először kísérleti eredményeiket, amelyek a nervus ischiadicus sérülését követően AFMSC-őssejtekből képzett neuronprogenitor-sejtek alkalmazásával történő kezelés tapasztalatait foglalták össze [49]. Az ilyen irányú próbálkozások biztatónak bizonyultak, hiszen a magzatvíz-eredetű őssejteket előnyös tulajdonságaik (könnyű hozzáférhetőség, jó differenciációs potenciál, stabil kromoszómaszerkezet) alkalmassá tehetik a legnehezebben regenerálódó humán szövet, az idegszövet helyreállítására is. Természetesen a rutinszerű klinikai alkalmazásig vezető út még további vizsgálatokkal van kikövezeve.

Következtetések

Napjainkban a tudomány az őssejtek olyan különböző típusait (például embrionális őssejtek, magzati eredetű őssejtek, adult őssejtek) ismeri, amelyek alkalmasak arra, hogy belőlük pluripotens sejteket állítsanak elő. Az őssejtterápia szempontjából mindegyik sejtípus rendelkezik előnyökkel és hátrányokkal egyaránt, s egyelőre nem jelenthető ki, melyik alkalmazható leghatékonyabban a klinikumban. A magzatvíz-eredetű őssejtek könnyű hozzáférhetőségük, illetve a nyerésüket nem „nehéztő” etikai aggályok híján új dimenziót nyithatnak az őssejtkezelésekben. Az amniocentesis, amelynek révén magzatvíz-eredetű őssejtekhez lehet jutni, klinikai szempontból alacsony kockázatú rutinmódszernek számít; alapvető célját, a megfelelő javallat alapján végzendő karyotipizálást az őssejtnyerés semmilyen tekintetben nem hátráltatja, arra befolyást nem gyakorol. Mindkét, magzatvízből nyert őssejtípus, az AFMSC-, illetve AFS-sejtek egyaránt alkalmasak a klinikai felhasználásra. Az AFMSC-sejtek mesenchymasejtekre jellemző karakterrel rendelkeznek: fibroblastszerű morfológia, klonogénkapacitás, többirányú differenciációra alkalmas potenciál, mesenchymalis gének expressziója jellemzi őket. Izolálásuk egyszerű, proliferációjuk könnyen stimulálható. Az AFS-sejtek ugyanakkor a pluripotens őssejtek egy másik, jellemzőit tekintve az embrionális (ESC) és felnőtt-típusú (ASC) őssejtek tulajdonságait egyesítő csoportját képviselik. Belőlük mindhárom csíralemeznek megfelelő szövetek fejleszthetők, ráadásul *in vivo* beültetés esetén nem kell daganatképződésre sem számítani.

Noha biológiai tulajdonságaik részletes megismerése még számos vizsgálatot igényel, a magzatvíz-eredetű őssejtekről kijelenthetjük, hogy a terápiás potenciáljuk alapján a regeneratív medicina, ezen belül az őssejtkezelés, illetve a *tissue engineering* sokat ígérő lehetőségét kínálják. Alkalmazásuk a perinatalisan kialakuló rendellenességek, a congenitalis malformatiók, valamint a szer-

zett neonatalis betegségek (például nekrotizáló enterocolitis) kezelésében reális alternatívát jelenthet. A nem is távoli jövőben, a terhesség második trimeszterében végzett amniocentesis során nyert őssejtek, megfelelő módon tárolva, a postnatalis időszakban autológ transzplantáció során lesznek felhasználhatók, amely számos betegség, rendellenesség kezelésében áttörést jelenthet.

Irodalom

- [1] Daar, S., Greenwood, H. L.: A proposed definition of regenerative medicine. *J. Tissue Eng. Regen. Med.*, 2007, 1, 179–184.
- [2] Hipp, J., Atala, A.: Sources of stem cells for regenerative medicine. *Stem Cell. Rev.*, 2008, 4, 3–11.
- [3] Gucciardo, L., Lories, R., Ochsnein-Kölbl, N. és mtsai: Fetal mesenchymal stem cells: isolation, properties and potential use in perinatology and regenerative medicine. *BJOG*, 2009, 116, 166–172.
- [4] Solter, D.: From teratocarcinomas to embryonic stem cells and beyond: a history of embryonic stem cell research. *Nat. Rev. Genet.*, 2006, 7, 319–327.
- [5] Blanpain, C., Horsley, V., Fuchs, E.: Epithelial stem cells: turning over new leaves. *Cell*, 2007, 128, 445–458.
- [6] Cole, R. J., Edwards, R. G., Paul, J.: Cytodifferentiation and embryogenesis in cell colonies and tissue cultures derived from ova and blastocysts of the rabbit. *Dev. Biol.*, 1966, 13, 385–407.
- [7] Martin, G. R.: Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1981, 78, 7634–7638.
- [8] Ying, Q. L., Wray, J., Nichols, J. és mtsai: The ground state of embryonic stem cell self-renewal. *Nature*, 2008, 453, 519–523.
- [9] Kolosov, E., Bostani, T., Roell, W. és mtsai: Engraftment of engineered ES cell-derived cardiomyocytes but not BM cells restores contractile function to the infarcted myocardium. *J. Exp. Med.*, 2006, 203, 2315–2327.
- [10] Hentze, H., Graichen, R., Colman, A.: Cell therapy and the safety of embryonic stem cell-derived grafts. *Trends Biotechnol.*, 2007, 25, 24–32.
- [11] Sarić, T., Frenzel, L. P., Hescheler, J.: Immunological barriers to embryonic stem cell-derived therapies. *Cells Tissues Organs*, 2008, 188, 78–90.
- [12] Green, R. M.: Can we develop ethically universal embryonic stem-cell lines? *Nat. Rev. Genet.*, 2007, 8, 480–485.
- [13] Yamashita, Y. M., Mahowald, A. P., Perlín, J. R. és mtsai: Asymmetric inheritance of mother versus daughter centrosome in stem cell division. *Science*, 2007, 315, 518–521.
- [14] Yamanaka, S.: Induction of pluripotent stem cells from mouse fibroblasts by four transcription factors. *Cell Prolif.*, 2008, 41, 51–56.
- [15] Rollini, P., Kaiser, S., Faes-van't Hull, E. és mtsai: Long-term expansion of transplantable human fetal liver hematopoietic stem cells. *Blood*, 2004, 103, 1166–1170.
- [16] Gao, J., Coggeshall, R. E., Chung, J. M. és mtsai: Functional motoneurons develop from human neural stem cell transplants in adult rats. *Neuroreport*, 2007, 18, 565–569.
- [17] Kenzaki, K., Sakiyama, S., Kondo, K. és mtsai: Lung regeneration: implantation of fetal rat lung fragments into adult rat lung parenchyma. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, 2006, 131, 1148–1153.
- [18] Chan, J., Waddington, S. N., O'Donoghue, K. és mtsai: Wide-spread distribution and muscle differentiation of human fetal mesenchymal stem cells after intrauterine transplantation in dystrophic mdx mouse. *Stem Cells*, 2007, 25, 875–884.
- [19] Brands, K., Colvin, E., Williams, L. J. és mtsai: Reduced immunogenicity of first-trimester human fetal pancreas. *Diabetes*, 2008, 57, 627–634.
- [20] Guillot, P. V., Abass, O., Bassett, J. H. és mtsai: Intrauterine transplantation of human fetal mesenchymal stem cells from first-trimester blood repairs bone and reduces fractures in osteogenesis imperfecta mice. *Blood*, 2008, 111, 1717–1725.
- [21] Deprest, J. A., Done, E., Van Mieghem, T. és mtsai: Fetal surgery for anesthesiologists. *Curr. Opin. Anaesthesiol.*, 2008, 21, 298–307.
- [22] Broxmeyer, H. E., Douglas, G. W., Hangoc, G. és mtsai: Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86, 3828–3832.
- [23] Yu, L. C., Wall, D. A., Sandler, E. és mtsai: Unrelated cord blood transplant experience by the pediatric blood and marrow transplant consortium. *Pediatr. Hematol. Oncol.*, 2001, 18, 235–245.
- [24] In't Anker, P. S., Noort, W. A., Scherjon, S. A. és mtsai: Mesenchymal stem cells in human second-trimester bone marrow, liver, lung, and spleen exhibit a similar immunophenotype but a heterogeneous multilineage differentiation potential. *Haematologica*, 2003, 88, 845–852.
- [25] Gosden, C. M.: Amniotic fluid cell types and culture. *Br. Med. Bull.*, 1983, 39, 348–354.
- [26] Siegel, N., Rosner, M., Hanneder, M. és mtsai: Stem cells in amniotic fluid as new tools to study human genetic diseases. *Stem Cell. Rev.*, 2007, 3, 256–264.
- [27] Torricelli, F., Brizzi, L., Bernabei, P. A. és mtsai: Identification of hematopoietic progenitor cells in human amniotic fluid before the 12th week of gestation. *Ital. J. Anat. Embryol.*, 1993, 98, 119–126.
- [28] Streubel, B., Martucci-Ivessa, G., Fleck, T. és mtsai: In vitro transformation of amniotic cells to muscle cells – background and outlook. *Wien. Med. Wochenschr.*, 1996, 146, 216–217.
- [29] Pittenger, M. F., Mackay, A. M., Beck, S. C. és mtsai: Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 1999, 284, 143–147.
- [30] Le Blanc, K., Frassoni, F., Ball, L. és mtsai: Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study. *Lancet*, 2008, 371, 1579–1586.
- [31] Kaviani, A., Perry, T. E., Dzakovic, A. és mtsai: The amniotic fluid as a source of cells for fetal tissue engineering. *J. Pediatr. Surg.*, 2001, 36, 1662–1665.
- [32] Roubelakis, M. G., Pappa, K. I., Bitsika, V. és mtsai: Molecular and proteomic characterization of human mesenchymal stem cells derived from amniotic fluid: comparison to bone marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev.*, 2007, 16, 931–952.
- [33] Sesarog, N., Parodi, A., Podestà, M. és mtsai: Multipotent mesenchymal stromal cells from amniotic fluid: solid perspectives for clinical application. *Haematologica*, 2008, 93, 339–346.
- [34] Prusa, A. R., Marton, E., Rosner, M. és mtsai: Oct-4-expressing cells in human amniotic fluid: a new source for stem cell research? *Hum. Reprod.*, 2003, 18, 1489–1493.
- [35] Niwa, H., Miyazaki, J., Smith, A. G.: Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells. *Nat. Genet.*, 2000, 24, 372–376.
- [36] De Coppi, P., Bartsch, G. Jr., Siddiqui, M. M. és mtsai: Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nat. Biotechnol.*, 2007, 25, 100–106.
- [37] Simantov, R.: Amniotic stem cell international. *Reprod. Biomed. Online*, 2008, 16, 597–598.
- [38] Delo, D. M., Olson, J., Baptista, P. M. és mtsai: Non-invasive longitudinal tracking of human amniotic fluid stem cells in the mouse heart. *Stem Cells Dev.*, 2008, 17, 1185–1194.
- [39] Bollini, S., Pozzobon, M., Nobles, M. és mtsai: In vitro and in vivo cardiomyogenic differentiation of amniotic fluid stem cells. *Stem Cell Rev.*, 2010 Dec 1. Epub ahead of print.

- [40] *Shintani, Y., Fukushima, S., Varela-Carver, A. és mtsai*: Donor cell-type specific paracrine effects of cell transplantation for post-infarction heart failure. *J. Mol. Cell. Cardiol.*, 2009, *47*, 288–295.
- [41] *Kolambkar, Y. M., Peister, A., Soker, S. és mtsai*: Chondrogenic differentiation of amniotic fluid-derived stem cells. *J. Mol. Histol.*, 2007, *38*, 405–413.
- [42] *Baksh, D., Yao, R., Tuan, R. S.*: Comparison of proliferative and multilineage differentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from umbilical cord and bone marrow. *Stem Cells*, 2007, *25*, 1384–1392.
- [43] *Zheng, B., Cao, B., Li, G. és mtsai*: Mouse adipose-derived stem cells undergo multilineage differentiation in vitro but primarily osteogenic and chondrogenic differentiation in vivo. *Tissue Eng.*, 2006, *12*, 1891–901.
- [44] *Hwang, N. S., Kim, M. S., Sampattavanich, S. és mtsai*: Effects of three-dimensional culture and growth factors on the chondrogenic differentiation of murine embryonic stem cells. *Stem Cells*, 2006, *24*, 284–291.
- [45] *Kunisaki, S. M., Fuchs, J. R., Kaviani, A. és mtsai*: Diaphragmatic repair through fetal tissue engineering: a comparison between mesenchymal amniocyte- and myoblast-based constructs. *J. Pediatr. Surg.*, 2006, *41*, 34–39.
- [46] *Muschler, G. F., Nitto, H., Matsukura, Y. és mtsai*: Spine fusion using cell matrix composites enriched in bone marrow-derived cells. *Clin. Orthop. Relat. Res.*, 2003, *407*, 102–118.
- [47] *Waese, E. Y. L., Kandel, R. R., Stanford, W. L.*: Application of stem cells in bone repair. *Skeletal Radiol.*, 2008, *37*, 601–608.
- [48] *Bitshell, A., Williams, B. P.*: Neural stem cells and cell replacement therapy: making the right cells. *Clin. Sci. (London)*, 2005, *108*, 13–22.
- [49] *Pan, H. C., Yang, D. Y., Chiu, Y. T. és mtsai*: Enhanced regeneration in injured sciatic nerve by human amniotic mesenchymal stem cell. *J. Clin. Neurosc.*, 2006, *13*, 570–575.

(Joó József Gábor dr.,
Budapest, Baross utca 27., 1088
e-mail: joogabor@hotmail.com)

PÁLYÁZATI FELHÍVÁS

A Magyar Pathológusok Társasága és a Magyar Onkológusok Társasága

KROMPECHER ÖDÖN

2011. évi pályamunka díjazására 150 000 Ft pályadíjat tűz ki orvostanhallgatók és fogorvostan-hallgatók számára.

A pályamunka címe: „**A vezérelt cytologiai mintavételek helye a betegellátásban**”

A pályamunka terjedelme az irodalommal és a dokumentációval együtt maximum 80 oldal lehet.

A munkán csak a **jelige** szerepelhet, melyhez mellékelni kell egy borítékot, rajta a jeligével. A lezárt borítékban a nevet, az évfolyamot, a pontos laci címet, a telefonszámot és az e-mail címet kell megadni.

A pályamunka beadási határidje: 2011. november 30.

A dolgozat leadásának helye: Semmelweis Egyetem – Általános Orvostudományi Kar, II. Patológiai Intézet
1091 Budapest, Üllői út 93.

Díjazást elért pályázat esetén a Társaságok javaslatot tesznek a pályamunka *szakdolgozatként* való elfogadására.

Budapest, 2011. március

Magyar Pathológusok Társasága
és
Magyar Onkológusok Társasága
vezetősége