
فهرست مطالب

پیشگفتار مترجمین.....	۷
فصل بیست و دوم: چالش های موجود در توسعه ابزارهای ایزوله سازی ایمنی.....	۹
بخش ششم: سلول های بنیادی	۳۰
فصل بیست و سوم: سلول های بنیادی رویانی.....	۳۱
فصل بیست و چهارم: فناوری سلول های بنیادی پرتوان القایی: ورود به دهه دوم.....	۴۹
فصل بیست و پنجم: کاربردهای سلول های بنیادی	۶۱
فصل بیست و ششم: سلول های بنیادی نوزادان در مهندسی بافت.....	۷۷
فصل بیست و هفتم: سلول های بنیادی رویانی به عنوان منبع سلولی در مهندسی بافت.....	۸۹
بخش هفتم: ژن درمانی	۱۲۰
فصل بیست و هشتم: ژن درمانی.....	۱۲۱
فصل بیست و نهم: انتقال ژن به سلول و بافت.....	۱۵۵
بخش هشتم: پستان	۲۰۲
فصل سی ام: مهندسی بافت سینه: کاشت و کاربردهای سیستم آزمایش بافت سه بعدی.....	۲۰۳
بخش نهم: دستگاه قلب و عروق	۲۲۸
فصل سی و یکم: سلول های پیش ساز قلبی، هومئوستاز و ترمیم بافتی.....	۲۲۹
فصل سی و دوم: مهندسی بافت قلب	۲۴۷
فصل سی و سوم: عروق خونی.....	۲۸۱
فصل سی و چهارم: مهندسی بافت درچه های قلبی.....	۳۰۷
بخش دهم غدد درون ریز و متابولیسم	۳۳۲
فصل سی و پنجم: ایجاد جزایر پانکراس از سلول های بنیادی.....	۳۳۳
فصل سی و ششم: پانکراس مصنوعی زیستی: چالش ها و پیشرفت ها.....	۳۴۳
فصل سی و هفتم: ارگانوژنز تیروئید و پاراتیروئید.....	۳۶۳

بخش یازدهم: دستگاه گوارش.....	۳۹۶
فصل سی و هشتم: سلول های بنیادی و پیش ساز دستگاه گوارش: مورد استفاده برای مهندسی بافت روده.....	۳۹۷
فصل سی و نهم: سلول های بنیادی کبد.....	۴۱۵
فصل چهلم: مهندسی بافت کبد.....	۴۳۵
بخش دوازدهم: سیستم خون ساز	۴۵۱
فصل چهل و یکم: سلولهای بنیادی خون ساز.....	۴۵۹
فصل چهل و دوم: تولید فرآورده های خونی از سلول های بنیادی پرتوان.....	۴۷۱
فصل چهل و سوم: جایگزین های گلبول قرمز.....	۴۹۷
واژه یاب.....	۵۲۱

پیشگفتار مترجمین

کتاب «اصول مهندسی بافت» (چاپ ۲۰۲۰) که اکنون ویرایش پنجم آن در اختیار خوانندگان محترم قرار گرفته است، یکی از معتبرترین و جامع‌ترین منابع در حوزه مهندسی بافت و پزشکی بازساختی محسوب می‌شود. این اثر برای نخستین بار حدود ۲۵ سال پیش منتشر شد و از همان ابتدا به‌عنوان مرجعی پیشرو در این زمینه شناخته شد. امروزه با پیشرفت‌های خیره‌کننده‌ای همچون فعالیت‌های گسترده پیرامون سلول‌های بنیادی (که منجر به دو جایزه نوبل شد)، توسعه روش‌های بالینی (از ترمیم پوست و مثانه تا مهندسی غضروف، استخوان و دستگاه قلبی - عروقی) و فناوری‌های نوظهوری مانند چاپ سه‌بعدی زیستی، این کتاب بیش از هر زمان دیگری به‌روز و کاربردی است.

در این ویرایش، علاوه بر تبیین اصول پایه‌ای مهندسی بافت، بخش‌های جدیدی به فناوری‌های نوین مانند زیست ساخت و تولید گوشت آزمایشگاهی اختصاص یافته است. همچنین، مشارکت آنتونی آتالا (از پیش‌گامان مهندسی بافت) به‌عنوان ویراستار جدید، غنای محتوایی کتاب را افزایش داده است. ساختار کتاب به‌گونه‌ای طراحی شده که از مبانی علمی (مانند تمایز سلولی و رشد بافت) تا کاربردهای بالینی در اندام‌های مختلف (از دستگاه عصبی و عضلانی - اسکلتی تا چشم، پوست و اندام‌های متابولیک) را پوشش می‌دهد.

در ترجمه‌ی این اثر، تلاش کرده‌ایم تا علاوه بر حفظ دقت علمی و انتقال صحیح مفاهیم تخصصی، به روانی و رسایی متن نیز توجه ویژه‌ای داشته باشیم. معادل‌های فارسی استاندارد برای اصطلاحات فنی به‌کاررفته و در موارد لازم، توضیحات تکمیلی افزوده شده است تا برای طیف گسترده‌ای از خوانندگان، دانشجویان و پژوهشگران رشته‌های مهندسی پزشکی، زیست‌فناوری و پزشکی، تا متخصصان بالینی و فعالان صنعتی، قابل استفاده باشد.

امیدواریم این اثر بتواند گامی مؤثر در پیشرفت علم مهندسی بافت در ایران باشد و زمینه‌ساز پژوهش‌ها و کاربردهای نوین در حوزه‌های درمانی، زیست‌مواد و فناوری‌های مرتبط شود. از تمامی اساتید، همکاران و خوانندگانی که ما را با نظرات ارزشمند خود یاری خواهند داد، پیشاپیش سپاسگزاریم.

مترجمین

بهار ۱۴۰۴

چالش‌های موجود در توسعه ابزارهای ایزوله‌سازی ایمنی

دکتر ملیحه غریب شاهیان، دکتری تخصصی مهندسی بافت، استادیار دانشگاه علوم پزشکی سمنان
سحر ملزمی، دانشجوی دکتری تخصصی مهندسی بافت، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

مقدمه

از درمان‌های مبتنی بر سلول می‌توان برای درمان انواع بیماری‌های انسانی استفاده کرد. یکی از دسته‌های مهم درمان‌های مبتنی بر سلول شامل دستگاه‌هایی است که برای حمل سلول‌ها جهت تحویل پروتئین‌های درمانی استفاده می‌شوند [۱،۲]. این دستگاه‌ها به ویژه در بیمارانی که قادر به تولید پروتئین نیستند، مفید هستند و می‌توان از آنها به عنوان جایگزینی برای تجویز مکرر پروتئین‌ها استفاده کرد. به عنوان مثال، بسیاری از بیماران مبتلا به دیابت نوع I دوزهای روزانه هورمون پروتئینی انسولین را جهت عادی‌سازی سطح قند خون تزریق می‌کنند. متأسفانه، انسولین درمانی کار بسیار فشرده‌ای است و نیاز به اندازه‌گیری‌ها و مداخلات متعدد در روز دارد [۴]. علاوه بر این، حتی بهترین دستگاه‌های رهایش دارو نیز کنترل کامل قند خون را فراهم نمی‌کنند [۵]. در مقابل، جزایر پیوندی می‌توانند به صورت پویا و وابسته به گلوکز انسولین تولید کنند و کنترل طولانی مدت قند خون را فراهم کنند [۶-۸]. درمان‌های مبتنی بر سلول با منابع سلولی اهداکننده اتولوگ، آلوگراف یا زئوگرافت توسعه یافته‌اند. در مواردی که سلول‌های اهداکننده خارجی به میزبان پیوند می‌شوند، سرکوب دستگاه ایمنی برای جلوگیری از رد ایمنی سلول‌های پیوندی ضروری است [۹-۱۱]. با این حال، این داروها با خطراتی مانند لنفوم و عفونت همراه هستند که بیمارانی را که برای دریافت این درمان‌ها مناسب هستند محدود می‌کند.

یک راهبرد جایگزین استفاده از دستگاه ایزوله‌سازی است. دستگاه‌های ایزوله‌سازی، که در ابتدا توسط چنگ [۱۳] توضیح داده شد، از یک مانع برای محدود کردن ورود سلول‌های ایمنی میزبان جهت جلوگیری از تخریب سلول‌های اهداکننده استفاده می‌کنند و در عین حال امکان انتشار غیرفعال پروتئین درمانی و مواد مغذی/محصولات زائد را از دستگاه فراهم می‌کنند (شکل ۱-۲۲). دستگاه‌های ایزوله‌سازی به عنوان وسیله‌ای برای محافظت از سلول‌ها جهت درمان انواع بیماری‌ها، به ویژه بیماری‌هایی که با کمبود تولید طبیعی یک پروتئین خاص مشخص می‌شوند، مورد بررسی قرار گرفته‌اند. این بیماری‌ها شامل اختلالات غدد درون ریز مانند دیابت [۱۳] و کم کاری تیروئید [۱۴]، بیماری‌های ژنتیکی مانند اختلالات ذخیره لیزوزومی [۱۵]، هموفیلی/کم خونی [۱۱]؛ اختلالات عصبی مانند بیماری پارکینسون [۱۶]، بیماری هانتینگتون [۱۷] و اختلالات در ژنراسیون شبکه [۲،۱۸] می‌باشند.

در این فصل، ما [۱] نحوه تغذیه سلول‌های داخل دستگاه، [۲] اجتناب از واکنش دستگاه ایمنی و [۳] رویکردهای مهندسی برای ارتقای زنده‌مانی و عملکرد سلول‌های محصور شده را بررسی می‌کنیم. این بررسی شامل یک مرور مختصر از سازوکارهای دفع ایمنی بافت خارجی و مقدمه‌ای بر چگونگی استفاده از این دانش در طراحی موانع جداسازی ایمنی می‌باشد. همچنین در مورد نوع سلول‌هایی که می‌توانند در دستگاه‌های ایزوله‌سازی ایمنی گنجانده شوند و چالش‌های مرتبط با تأمین تغذیه کافی برای آن سلول‌ها

بحث خواهیم کرد. پیشرفت‌های اخیر در دستگاه‌های فعلی مورد بررسی قرار خواهد گرفت و در نهایت به راهبردهای جلوگیری از رد میزبان بواسطه بیومتریال سازنده دستگاه‌های ایزوله‌سازی ایمنی (از طریق فیبروز) پرداخته خواهد شد.

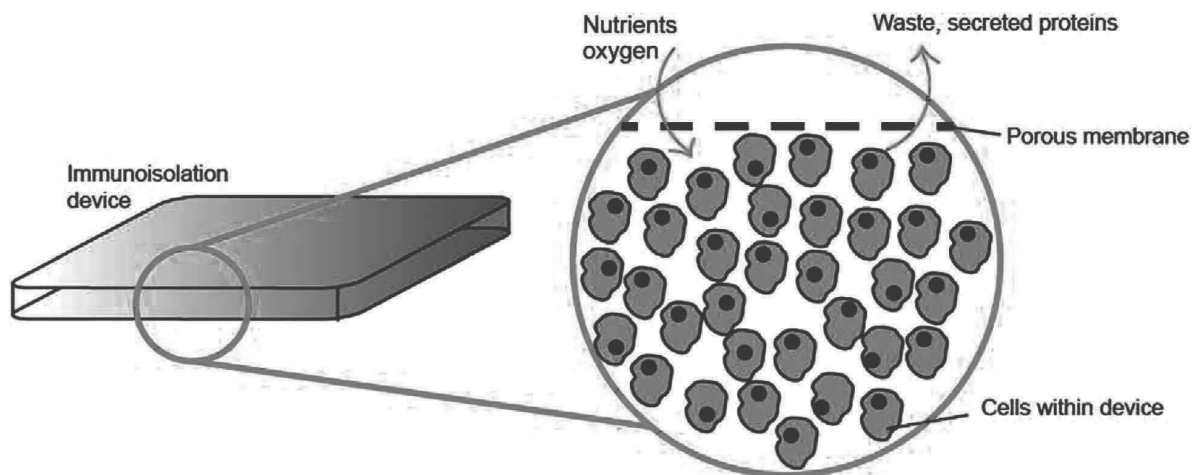
رد و حفظ سلول‌ها و مواد پیوندی

دستگاه ایمنی میزبان چندین راهبرد برای دفاع از خود در برابر مواد، سلول‌ها و پاتوژن‌های «غیرخودی» موجود در بدن دارد [۹،۱۹،۲۰]. متأسفانه، این سازوکارهای رد ایمنی به دستگاه ایمنی میزبان دستور می‌دهند تا سلول‌ها و موادی را که به‌صورت درمانی کاشته شده‌اند، شناسایی کرده و به آنها پاسخ دهند؛ بنابراین سازوکارهای ایمنی مختلفی وجود دارد که بعداً مورد بحث قرار خواهد گرفت که دستگاه‌های ایزوله‌سازی باید بر آن‌ها غلبه کنند تا از سلول‌ها و مواد اهداکننده درمانی در برابر دفع توسط دستگاه ایمنی میزبان محافظت کنند.

مسیرهای رد ایمنی

پس‌زدن سلول پیوندی ممکن است به دنبال تماس سلولی مستقیم بین بافت میزبان و اهداکننده، یا از طریق دیگر سازوکارهای

آغاز غیرتماسی (فعال‌سازی غیرمستقیم) رخ دهد (شکل ۲-۲۲) [۹]. در رد مستقیم، تماس سلول-سلول بین سلول‌های ایمنی دستگاه ایمنی میزبان و سلول‌های اهداکننده پیوندی (بیان‌کننده نشانگرهای سطح سلولی غیرخودی) رخ می‌دهد [۲۷، ۱۹، ۲۱]. این تماس منجر به فعال‌شدن مستقیم سلول‌های T با مارکر CD4+ و CD8+ دستگاه ایمنی میزبان می‌شود [۲۶]. پس از فعال‌شدن، سلول‌های T سیتوتوکسیک با مارکر CD8+، یک پاسخ سلولی را علیه سلول‌های اهداکننده آغاز می‌کنند و مولکول‌های محلول ترشح می‌کنند که سلول‌های هدف را لیز می‌کنند و ممکن است باعث التهاب شوند. علاوه بر این، سلول‌های T کمکی CD4+ تعدادی از عوامل دیگر (سیتوکین‌ها و کموکاین‌ها) را ترشح می‌کنند که سلول‌های دیگر دستگاه ایمنی میزبان را تحریک می‌کنند و به شروع پاسخ هومورال کمک می‌کنند [۲۸، ۲۹]. ماکروفاژهای فعال نیز ممکن است انواع سلول‌های بیشتری را جذب کنند و مولکول‌های کوچکی ترشح کنند که می‌توانند برای سلول‌های اهداکننده سمی باشند. فعال‌شدن سلول‌های B منجر به تولید آنتی‌بادی‌هایی می‌شود که می‌توانند سلول‌های دهنده را هدف قرار دهند.



شکل ۲-۲۲ یک نمای کلی از یک دستگاه ایزوله‌سازی ایمنی: سلول‌ها یا خوشه‌هایی از سلول‌ها در یک ماتریکس پشتیبانی می‌شوند و در دستگاهی محبوس می‌شوند که توسط یک غشای متخلخل نیمه تراوا از بدن جدا شده است. تخلخل غشاء را می‌توان برای جلوگیری از ورود سلول‌های ایمنی تنظیم کرد و انتقال مولکول‌ها را به داخل و خارج از دستگاه کنترل کرد.

تماس اولیه سلولی که مسیر رد مستقیم را هدایت می‌کند، جلوگیری کند. با این حال، ممکن است محافظتی در برابر عوامل فعال‌کننده دستگاه ایمنی که می‌توانند از مانع عبور کنند، ارائه نکند (همان‌طور

این بخشی از پاسخ هومورال است که شامل فعال‌شدن کمپلمان و آبشار انعقادی نیز می‌شود [۱۹، ۳۰، ۳۱]. استفاده از یک سد ایزوله‌سازی ایمنی با اندازه مناسب می‌تواند از

تخلخل سد نیمه‌تراوا، ذخایر تغذیه‌ای محل پیوند، تراکم سلول‌های درون دستگاه و الزامات متابولیکی خاص سلول‌های درمانی مورد استفاده است.

در حالت ایده‌آل، سد باید تا حد امکان متخلخل باشد تا امکان انتشار حداکثری تغذیه به سلول‌ها را فراهم کند. با این حال، این تخلخل زیاد می‌تواند ظرفیت محافظتی دستگاه را نیز به خطر بیندازد. تنظیم اندازه منافذ مورد استفاده برای دستگاه‌های ایزوله‌سازی ایمنی می‌تواند برای بهینه‌سازی تغذیه سلول در عین جلوگیری از فعال‌سازی مستقیم و دفع دستگاه ایمنی میزبان استفاده شود. سلول‌های پستانداران معمولاً در حدود ۵-۱۵ میکرومتر قطر دارند. بنابراین بسیاری از دستگاه‌های ایزوله‌سازی از هیدروژل‌های اتصال عرضی شده یا غشاهای متخلخل با اندازه‌های کوچک‌تر تشکیل شده‌اند تا اطمینان حاصل شود که سلول‌های ایمنی میزبان نمی‌توانند به داخل دستگاه نفوذ کنند و رد سلول پیوندی را از طریق مسیر مستقیم آغاز کنند. با این حال، برخی از سلول‌های ایمنی و سلول‌های سرطانی می‌توانند از طریق شکاف‌های نسبتاً کوچک از رگ‌های خونی خارج شوند [۳۶]. در واقع نشان داده شده است که هم سلول‌های T و هم ماکروفاژها از طریق روزنه‌های کوچک در حد میکرومتر و کوچکتر از قطر معمولی یک سلول می‌خزند یا فشرده می‌شوند [۱۹]. این امر نشان می‌دهد که اندازه منافذ در موانع ایمونوایزولاسیون باید در محدوده زیر میکرومتر باشد تا از نفوذ سلول‌های ایمنی میزبان و فرار احتمالی سلول‌های اهداکننده جلوگیری شود.

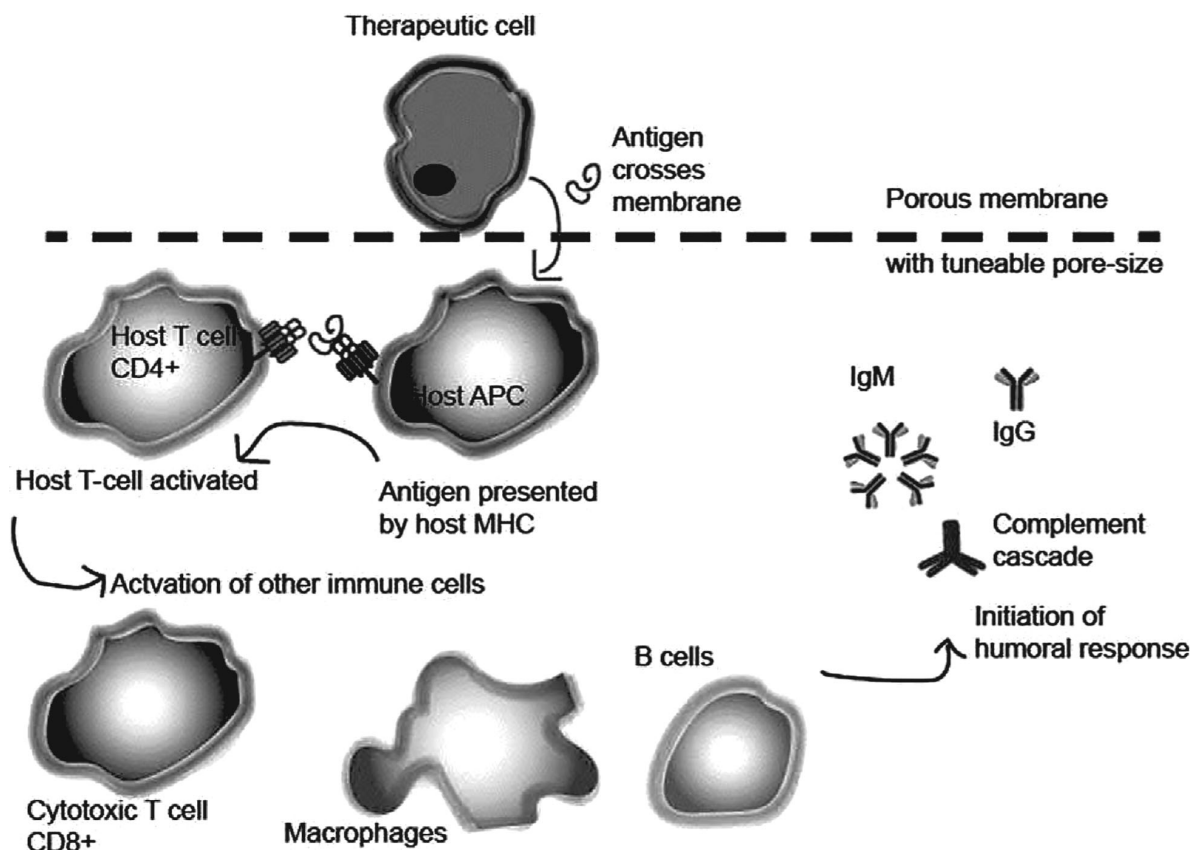
با فرض اینکه بتوان از تماس مستقیم سلولی جلوگیری کرد، تعدادی از مولکول‌های کوچک ایمونولوژیک باقی می‌مانند که ممکن است به سد ایزوله‌سازی نفوذ کنند [۲۷]. میکروکپسول‌های آلژینات برای تحویل پروتئین‌ها [۳۷،۳۸]، مولکول‌های کوچک [۳۹،۴۰] و آنتی‌ژن‌های درمانی از سلول‌های کپسوله‌شده به عنوان راهبرد واکسیناسیون استفاده شده‌اند [۳۴].

که بعداً به تفصیل مورد بحث قرار خواهد گرفت). در واقع ممکن است آنتی‌ژن‌هایی به دلیل مرگ سلولی، ترشح سلولی یا ریزش سلولی از سلول‌های اهداکننده آزاد شوند و به اندازه کافی کوچک باشند تا از غشای متخلخل محافظت کننده سلول‌های پیوندی عبور کنند [۳۲-۳۴]. این آنتی‌ژن‌ها می‌توانند توسط سلول‌های ارائه دهنده آنتی‌ژن میزبان (APCs) ^۱ پردازش شوند و روی سطح سلول‌های APC به عنوان بخشی از مجموعه اصلی سازگاری بافتی نمایش داده شوند [۲۵،۳۵]. سپس سلول‌های عامل دستگاه ایمنی میزبان مانند سلول‌های CD4+ می‌توانند آنتی‌ژن خارجی را تشخیص دهند و پاسخ ایمنی سلولی و هومورال را همانطور که قبلاً توضیح داده شد، فعال کنند [۲۵]. به طور کلی، دستگاه‌های ایزوله‌سازی باید مانعی برای جلوگیری از تماس سلول‌های خارجی با دستگاه ایمنی میزبان و جلوگیری از فعال شدن مسیر مستقیم ایجاد کنند. با این حال، حتی بدون تماس مستقیم سلولی، مولکول‌های کوچک ایمونولوژیک ترشح شده توسط سلول‌های کپسوله‌شده ممکن است قادر به فعال کردن دستگاه ایمنی باشند [۳۲-۳۴]. بنابراین تخلخل سد ایمونوایزولاسیون نقش مهمی در کنترل کپسوله‌سازی سلولی و تغذیه ایفا می‌کند و همچنین ممکن است بر بار آنتی‌ژنی که از دستگاه فرار می‌کند تأثیر بگذارد.

تغذیه سلولی

سلول‌های داخل دستگاه‌های ایزوله‌سازی به مواد مغذی برای تولید و ترشح پروتئین‌های درمانی نیاز دارند. مواد مغذی شامل ساختارهای مولکولی ضروری، مانند اسیدهای آمینه، نوکلئوتیدها، پیش‌سازهای لیپیدی و مولکول‌های مهم برای تولید انرژی مانند گلوکز و اکسیژن هستند. علاوه بر این، مواد زائد باید حذف شوند، زیرا تجمع محصولات جانبی ناشی از متابولیسم (اسید لاکتیک، دی‌اکسید کربن و محصولات نیتروژن دار) می‌تواند بر روی زنده ماندن سلول‌ها تأثیر منفی بگذارد [۱۳].

مبادله مواد مغذی و مواد زائد در یک دستگاه کپسوله‌سازی نمونه اولیه از طریق انتشار رخ می‌دهد. مواد مغذی باید از رگ‌های خونی به داخل مایع بینابینی منتشر شوند و سپس از طریق سد دستگاه نیمه‌تراوا منتشر شوند تا به سلول‌های هسته دستگاه برسند. برعکس این مسیر نیز در مورد مواد زائد صادق است. سرعت انتشار یا انتقال انبوه مواد مغذی می‌تواند تحت تأثیر عوامل مختلفی قرار گیرد. این عوامل شامل معماری /ویژگی‌های هندسی دستگاه،



شکل ۲۲-۲ مروری بر مسیر رد غیر مستقیم که در آن دستگاه ایمنی میزبان می تواند سلول های محصور شده خارجی را بدون تماس مستقیم سلول - سلول تشخیص دهد.

باشند. با وجود اینکه دستگاه ایمنی می تواند توسط این آنتی ژن های ترشح شده فعال شود [۴۴]، مشخص نیست که آیا مسیر غیرمستقیم یک مانع قابل توجه در جهت استفاده دستگاه های ایزوله سازی ایمنی ایجاد می کند یا خیر [۴۵].

سلول های درمانی

طیف وسیعی از سلول ها برای استفاده در دستگاه های ایزوله سازی بررسی شده اند و می توان آنها را به سه نوع اصلی دسته بندی کرد: سلول های اولیه^۱، رده های سلولی جاودانه^۲ و سلول های بنیادی (شکل ۲۲-۴).

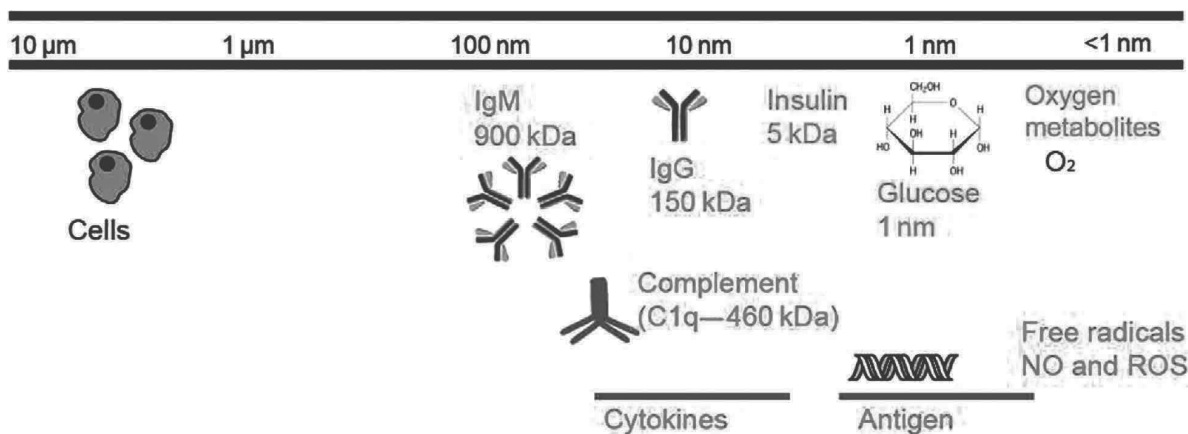
سلول های اولیه

سلول های اولیه از بافت های اهداکننده انسان یا حیوان جدا می شوند و شامل جزایر جسد یا بافت پاراتیروئید می باشند [۱۳،۱۴].

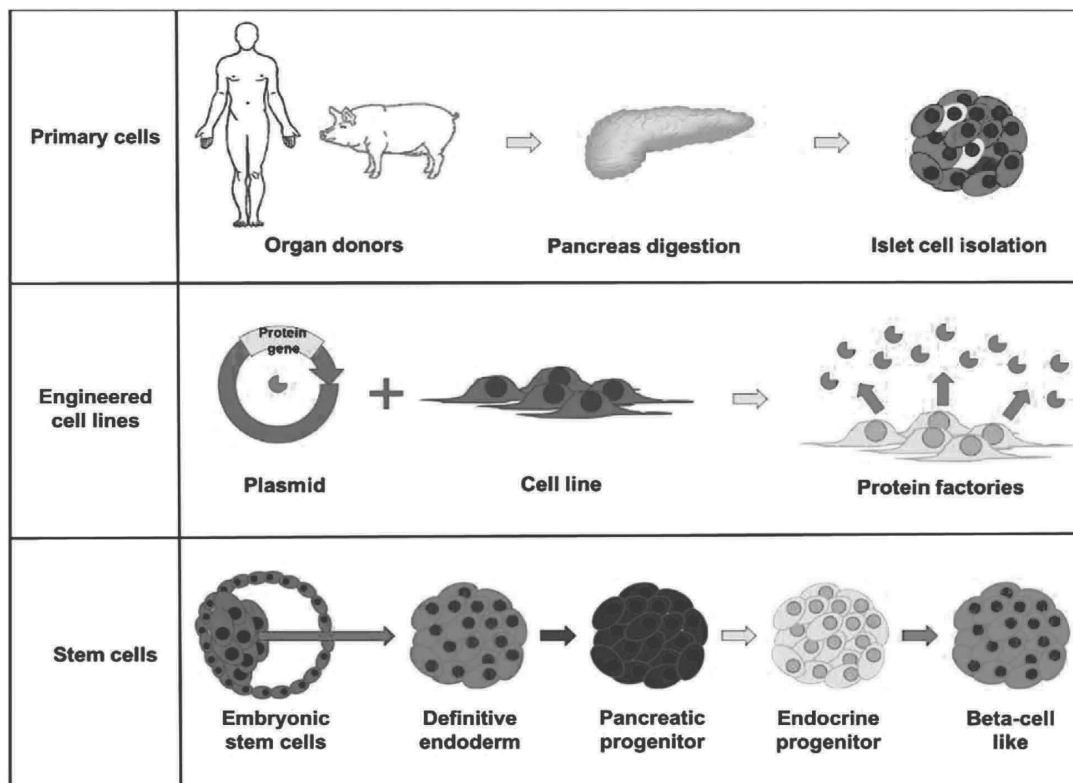
آنتی ژن های دهنده می توانند بسیار کوچک باشند و شامل توالی های پپتیدی کوتاه باشند [۴۱،۴۲]. این آنتی ژن ها بسیار کوچکتر از پروتئین های درمانی ترشح شده توسط سلول ها (مانند انسولین تقریباً ۶ kDa) هستند و ممکن است بتوانند از دستگاه ایزوله سازی خارج شوند تا پاسخ های سلول های ایمنی را آغاز کنند. تلاش های زیادی برای جلوگیری از نفوذ یا نشت قسمت های سمی و فعال کننده به داخل و خارج از دستگاه ایمونوایزولاسیون انجام شده است تا از تخریب سلول های اهداکننده جلوگیری شود (شکل ۲۲-۳). پروتئین های درمانی مانند انسولین (۶ کیلو دالتون) [۴۳] می توانند بزرگتر از آنتی ژن های ایمنی زایی باشند که ممکن است توسط سلول های کپسوله شده دفع شوند [۳۲،۳۴]. تخلخل بهینه غشاء ممکن است تحت تأثیر نوع سلول محصور شده در دستگاه قرار گیرد. احتمالاً سلول های آلوزنیک (همان گونه: انسان به انسان) نسبت به سلول های زئونژنیک (گونه های متقابل: خوک به انسان) ایمنی زایی کمتری دارند و بنابراین ممکن است به موانع محدودکننده کمتری نسبت به سلول های زئونژنیک نیاز داشته

1. Primary cells

2. Immortalized cell line



شکل ۲۲-۳ تخلخل سد ایزوله‌سازی ایمنی در مقایسه با مقیاس‌های طول بیولوژیکی. سدهای ایزوله‌سازی باید بتوانند مواد مغذی ضروری و اکسیژن را به سلول‌های محصور شده منتقل کنند و امکان انتقال پروتئین‌های ترشح شده مانند انسولین را فراهم کنند. برخی از این سدها برای به حداقل رساندن انتقال مولکول‌های زیستی ایمونوژن یا سیتوتوکسیک (قرمز) طراحی شده‌اند.



شکل ۲۲-۴ انواع سلول‌های مورد استفاده در دستگاه‌های ایزوله‌سازی برای درمان‌های مبتنی بر سلول.

بیماران کافی نیستند. برای غلبه بر تعداد محدود اهداکننده، به ویژه در فضای دیابت، راهبردهای مختلفی برای ارائه منابع سلول‌های جزیره‌ای تجدیدپذیر در حال توسعه است. این راهبردها شامل جزایر خوک (سلول‌های بتا تکثیر شده برای افزایش تعداد سلول‌های جزایر جدا شده از هر اهداکننده) و سلول‌های تولید کننده انسولین

سلول‌های اولیه منبع سلولی جذابی هستند زیرا سلول‌ها نهایتاً تمایز می‌یابند و در حال حاضر دارای ماشین‌های داخل سلولی مورد نیاز برای ترشح پروتئین درمانی هستند. آن‌ها معمولاً غیر تکثیری و از نظر ژنتیکی پایدار هستند. با این حال، اندام‌های انسانی اهدایی محدودی در دسترس هستند و برای درمان همه