فهرست مطالب

پیشگفتارمترجمین ۷

فصل ۱: سلول‌های بنیادی جنینی در توسعه و پزشکی بازساختی ۹

فصل ۲: سلول‌های بنیادی بالغ و پزشکی ۲۵

فصل ۳: سلول‌های بنیادی در قلب و عروق بازساختی ۴۵

فصل ۴: قدرت سلول‌های بنیادی پلوری پوتنت القایی در بازسازی غضروف و درمان آرتروز ۶۳

فصل ۵: پری سیت‌ها: نقش سلول‌های بنیادی مولتی پوتنت در نگهداری عروق و پزشکی بازساختی ۷۷

فصل ۶: درمان با سلول‌های بنیادی: استفاده مجدد از پزشکی بازساختی مبتنی بر سلول فراتر از جایگزینی سلول ۹۵

فصل ۷: سلول‌های بنیادی در بیماری آلزایمر: چالش‌های فعلی و آینده ۱۰۱

فصل ۸: تحولات در گسترش سلول‌های بنیادی خون‌ساز و فن آوری‌های ویرایش ژن ۱۱۳

فصل ۹: کاربردهای بالینی سلول‌های بنیادی پرتوان القایی – Stato Attuale ۱۳۹

فصل ۱۰: ایمنی و اثربخشی فیبروبلاست‌های انسانی تبدیل شده به صورت اپی ژنتیکی به سلول‌های ترشح کننده انسولین ۱۶۳

واژه‌یاب ۱۷۵

پیشگفتار مترجمین

پیامبر اکرم (ص) می‌فرمایند:

علم را، با نوشتن در بند کشید.

آرزوی ساخت اعضای بدن انسان یا ترمیم بافت‌ها و اندام‌ها، تاریخ دیرینه‌ای دارد و ردپای آن را می‌توان در انسان‌های کهن یافت. پزشکی بازساختی از دیدگاه علمی شاخه‌ای جدید از پزشکی است که با استفاده از دانش سلول‌های بنیادی و مهندسی بافت دو هدف اصلی را دنبال می‌کند. هدف اول بازسازی بافت آسیب دیده است تا این بافت بتواند به فعالیت فیزیولوژیک خود ادامه دهد. هدف دوم، تولید بافت، یا اندام‌هایی است که بتوانند به عنوان جایگزین بافت آسیب‌دیده پیوند شوند.

از آنجایی‌که استفاده از سلول‌های بنیادی و مهندسی بافت به عنوان روش‌های درمانی نوین، پنجره‌ی امیدی برای درمان بیماری‌های صعب‌العلاج یا لاعلاج باز کرده‌اند، ما کتابی را برای شما انتخاب و ترجمه کرده‌ایم که کامل‌ترین و به‌روزترین اطلاعات در رابطه با سلول‌های بنیادی از جمله جایگاه این سلول‌ها در پزشکی بازساختی را در بر داشته باشد. همچنین با خواندن این کتاب با دانش مهندسی بافت و دستاوردهای آن از گذشته تا به امروز در بازسازی بافت‌های آسیب‌دیده از جمله بافت عصبی، پوست و اورولوژی آشنا می‌شوید. از دیگر امتیازات این کتاب که باعث جلب توجه ما به آن شد، زبان روان کتاب است، بطوری‌که اگر شما خواننده محترم دانش اندکی از مهندسی بافت و سلول‌های بنیادی داشته باشید، مطالب را به طور کامل می‌توانید درک کنید.

امیدواریم خوانندگان پس از اتمام مطالعه کتاب، با دیدی وسیع‌تر و علاقه‌ای افزون‌تر پیگیر علوم پزشکی بازساختی شوند، تا گامی هرچند کوچک برای پیشرفت کشور عزیزمان ایران در زمینه درمان بوسیله‌ی روش‌های نوین برداشته باشیم.

زمستان ۱۴۰۱

فصل۱

سلول‌های بنیادی جنینی در توسعه و پزشکی بازساختی

A. Doğan

چکیده

پس از رشد تدریجی در زمینه سلول‌های بنیادی جنینی (ES)، مطالعات متعددی برای بررسی استفاده از سلول‌های ES در پزشکی بازساختی انجام شده است. ویژگی‌های خود تجدیدپذیری نامحدود و پلوری پوتنسی، همراه با آزمایش‌های پیش‌بالینی تشویق‌کننده، نشان می‌دهد که فناوری سلول‌های ES ممکن است برای عملکرد بالینی امیدوارکننده باشد. سلول‌های ES، که می‌توانند سه لایه زایا را در شرایط آزمایشگاهی تشکیل دهند، کاندیداهای بالقوه برای مطالعه رشد در سطح سلولی و مولکولی هستند. درک تصمیم سرنوشت سلولی و فرایندهای تمایز در طول رشد ممکن است تولید سلول‌های پیش‌ساز عملکردی را برای ترمیم بافت‌ها امکان‌پذیر کند. پیشرفت در اصلاح ژن و فناوری مهندسی بافت، اشتقاق سلول‌های مورد نظر را برای درمان تسهیل کرده است. موفقیت در پروتکل‌های تمایز و شناسایی مسیرهای نظارتی، تحقیقات را برای کاربردهای بالینی ساده می‌کند. اگرچه پروتکل‌هایی برای تمایز سلول‌ها در شرایط in vitro و مطالعات پیش بالینی امیدوار کننده در شرایط in vivo وجود دارد، اما بسیاری از چالش‌ها باید قبل از انتقال بالینی مورد بررسی قرار گیرند. در این بررسی، سلول‌های ES به عنوان یک مدل رشد در شرایط آزمایشگاهی و به عنوان یک نامزد بالقوه برای پزشکی بازساختی مورد بحث قرار گرفته است. این بررسی همچنین چالش‌های فعلی را برای درمان مبتنی بر سلول ES مورد بحث قرار می‌دهد.

واژه‌های کلیدی

سلول‌های بنیادی جنینی، تکامل، تمایز، پزشکی بازساختی، مهندسی بافت

اختصارها

ALS	اسکلروز آمیوتروفیک جنبی
ASCs	سلول‌های بنیادی بالغ
BDNF	فاکتور نوروتروفیک مشتق شده از مغز
BMP	پروتئین مورفوژنیک استخوان
EB	جسم جنینی
ECM	ماتریکس خارج سلولی
EGF	فاکتور رشد اپیدرمال
ES cells	سلول‌های بنیادی جنینی
FACS	دسته‌بندی سلول‌های فعال فلوئورسنس
FGF	فاکتور رشد فیبروبلاست
Flt3L	لیگاند تیروزین کیناز۳ شبه FMS
FoxO1	پروتئین جعبه سرچنگالی O1
G-CSF	فاکتور محرک کلنی گرانولوسیت
GDNF	فاکتور نوروتروفیک مشتق از گلیال
HSCs	سلول‌های بنیادی خون ساز
ICM	سلول‌های توده‌ای داخلی
IL	اینترلوکین
IPS	سلول‌های بنیادی پلوری پوتنت القا شده
LIF	فاکتور مهارکننده لوسمی

MACS	دسته‌بندی سلول‌های فعال مغناطیسی
MHC	کمپلکس سازگاری بافتی اصلی
MS	مولتی پل اسکلروزیس
MSCs	سلول‌های بنیادی مزاشیمی
NGF	فاکتور رشد عصبی
PODXL	پروتئین شبه پودوکالیکسین-۱
RA	رتینوئیک اسید
SCF	فاکتور سلول‌های بنیادی
SCNT	انتقال هسته‌ای سلول‌های سوماتیک
SHH	سونیک هیچ هاگ
TSCs	سلولهای بنیادی تروفوبلاست
XENCs	سلولهای اندودرم خارج جنینی

۱ مقدمه

انواع مختلف سلول‌های بالغ انسان، ساکن در بافت‌ها و اندام‌های خاص، ظرفیت تکثیر محدودی دارند که روند بازسازی بافت را محدود می‌کند. [۳۰] با این حال، سلول‌های بنیادی دارای طول عمر نامحدود و پتانسیل تقسیم با طیف گسترده‌ای از ظرفیت تمایز هستند. سلول‌های بنیادی انسانی بر اساس منبع و پتانسیل افتراقی به دو دسته اصلی طبقه‌بندی می‌شوند: سلول‌های بنیادی جنینی (ES) و سلول‌های بنیادی بالغ (ASCs) که شامل سلول‌های بنیادی خون‌ساز (HSCs) و سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) می‌شوند. سلول‌های ES قادر به تمایز به همه رده‌های سلولی هستند که آن‌ها را به ابزارهای قابل توجهی برای فرآیندهای تکاملی و مطالعات سلول درمانی تبدیل می‌کند. سلول‌های ES مشتق شده از توده سلولی داخلی (ICM) بلاستوسیست‌ها پلوری پوتنت هستند و پتانسیل تمایز نامحدودی را برای آن‌ها فراهم می‌کند. در شرایط کشت تعریف شده، سلول‌های ES را می‌توان در حالت تمایز نیافته نگه داشت و به سایر رده‌های سلولی متمایز کرد. [۵۷] سلول‌های ES پلوری پوتنت به طور معمول کلنی‌های فشرده را در حالت تمایز نیافته تولید می‌کنند و کلنی‌های تمایز یافته احتمالاً در لبه‌هایی که مورفولوژی کلنی ساختار کروی شل دارند، پهن‌تر می‌شوند. [۸۸] سلول‌های ES پلوری پوتنت با بیان مارکرهای خاصی از جمله OCT4، cMYC، KLF44، NANOG، SOX2 مشخص می‌شود که پویایی ساقه و پتانسیل تبدیل را تعریف می‌کند. [۲] علاوه بر مکانیسم‌هایی که پلوری پوتنسی را تنظیم می‌کنند، خود تجدیدپذیری سلول‌های ES با بیان پایدار اولیه پروتوانکوژن‌ها کنترل می‌شود که باید با مطالعات بیشتر روشن شود. [۵۷]

استراتژی‌هایی برای آزمایش پلوری پوتنسی در شرایط آزمایشگاهی شامل تشکیل بدن جنین (EB) با القای تمایز سلول‌های ES در سیستم کشت غیر چسبنده بدون تغذیه کننده و به دنبال آن تحریک تبدیل جمعیت سلولی خاص مشتق از سه لایه زایای جنینی است. [۲۷] ایجاد تراتوم‌ها به عنوان ساختارهای نامنظم هنگامی که سلول‌های ES به موش‌های دارای نقص ایمنی پیوند زده می‌شوند، به خوبی تثبیت شده‌ترین تجزیه و تحلیل پلوری پوتنسی در شرایط in vivo است. [۶۵] از آنجا که سلول‌های ES دارای ظرفیت تکثیر و تغییر نامحدود در شرایط in vitro و in vivo هستند، در سال‌های اخیر به عنوان یک منبع سلولی جامع برای مطالعه توسعه و رویکردهای درمانی جدید برای پزشکی بازساختی، به هدف بسیاری از تحقیقات تبدیل شده است. علاوه بر این، اصلاح ژنتیکی پیشرفته سلول‌های ES یک گام مهم است، که اجازه می‌دهد دودمان‌های سلولی مناسبی که برای پزشکی بازساختی در درمان‌های مبتنی بر سلول مورد نظر هستند، تولید شود. در این بررسی، استراتژی‌های کنونی برای مطالعه سلول‌های ES به‌عنوان مدلی از رشد انسانی و پزشکی بازساختی و بهبود رویکردهای مبتنی بر سلول به طور مفصل توضیح داده می‌شود و چالش‌های تحقیقات تجربی و کاربردهای بالینی به طور خلاصه مورد بحث قرار می‌گیرد.

۲ سلول‌های ES در رشد و توسعه

درک سلول‌های ES از دیدگاه جنین‌شناسی برای شناسایی بیولوژی سلولی ES، توسعه سیستم‌های مدل تجربی و ایجاد پروتکل‌های مرتبط بالینی برای کاربردهای درمانی مورد نیاز است. به طور موازی، بهبود مدل‌های تمایز مبتنی بر سلول‌های ES می‌تواند منجر به غلبه بر تفاوت‌های بین رشد جنینی موش و پستانداران و ردیابی سرنوشت سلول‌های ES انسانی در شرایط کشت in vitro شود. بیشتر اطلاعات مربوط به رشد جنینی پستانداران بر اساس مطالعات موش است. با این حال، رشد جنین انسان و موش از نظر بیان و تنظیم ژن تفاوت‌های قابل توجهی دارند. [۶۱،۶۶] بنابراین، سلول‌های ES انسان و موش به دست آمده از ICM جنین دارای تفاوت‌هایی هستند. سلول‌های ES انسان و موش را می‌توان در شرایط آزمایشگاهی در حالت تمایز نیافته با حفظ کاریوتایپ طبیعی پس از چندین پاساژ نگه داشت و پتانسیل بالایی برای کاربردهای پزشکی بازساختی دارد. [۳۶] سلول‌های ES می‌توانند یک مدل مناسب برای تحقیقات توسعه و درمان بازساختی باشند زیرا آن‌ها پلوری پوتنت هستند که امکان تولید سلول‌های تمایز یافته بالغ از همه بافت‌ها در بدن بزرگسالان را فراهم می‌کند. پیشرفت‌های

اخیر در پروتکل‌های کشت سلولی برای به دست آوردن دودمان‌های مختلف سلولی نه تنها می‌تواند استراتژی‌های برنامه‌ریزی مجدد را ارائه دهد، بلکه مدل‌های منحصر به فردی را برای رشد اولیه ارائه می‌دهد یا حتی از روش‌های متعدد پزشکی بازساختی مبتنی بر سلول پشتیبانی می‌کند.

۲,۱ تمایز در کشت

تحت شرایط کشت تعریف شده که امکان خروج کنترل شده از حالت پلوری پوتنت فراهم می‌کند، سلول‌های ES به انواع سلول‌های تمایز یافته‌ی لایه‌های زایای جنین مزودرم، اندودرم و اکتودرم تبدیل می‌شوند. [۷۲] از آنجا که سیگنال‌های رشدی تنظیم کننده جنین‌زایی نیز به تمایز سلول‌های پلوری پوتنت کمک می‌کند، سلول‌های ES موش و انسان تفاوت‌هایی را در سیستم‌های کشت نشان می‌دهند. اگرچه سلول‌های ES انسان می‌توانند با القاء پروتئین مورفوژنیک استخوان (BMP) ۴ دودمان‌های مشتق از تروفواکتودرم ایجاد کنند، اما سلول‌های ES موش توانایی تمایز به دودمان‌های تروفوبلاستیک را ندارند. [۸۷] گلیکولیپیدهای و پروتئوگلیکان‌های سطح سلولاز جمله SSEA-1, -3, -4, TRA-1-60 و TRA-1-81 به طور متفاوت در رده‌های سلولی ES موش و انسان بیان می‌شوند. [۶۱] تفاوت‌های فنوتیپی مانند مورفولوژی کلونی یا سلول‌های تغذیه کننده و عوامل مهارکننده لوسمی (LIF) نیز برای هر دو رده سلولی متمایز است. [۶۲] اگرچه سلول‌های ES موش برای حفظ پلوری پوتنسی در شرایط کشت به LIF نیاز دارند، همان طور که از نظر فیزیولوژیکی برای جنین‌زایی موش نیاز دارند، اما سلول‌های ES انسانی به دلیل مسیرهای فعال متفاوت از جمله مسیرهای STAT3 و LIF پاسخ نمی‌دهند. [۱۰,۲۱,۶۷] همه این تفاوت‌ها توسط مکانیزم‌های نظارتی مختلف سازماندهی شده و بر الگوهای تمایز و رشد در شرایط کشت، مقدم است. بنابراین، سلول‌های ES به عنوان منابع سلولی پلوری پوتنت جذاب، ابزاری امیدوار کننده برای تحقیقات توسعه و محصولات سلولی برای درمان هستند. بهینه‌سازی شرایط کشت برای تمایز هدایت شده یک چالش بزرگ است که باید برای استفاده از پتانسیل سلول‌های ES برای به دست آوردن سلول‌های خاص بافت عملکردی بر آن غلبه کرد.

۲,۲ دودمان سلول‌های تمایز یافته از سلول‌های ES

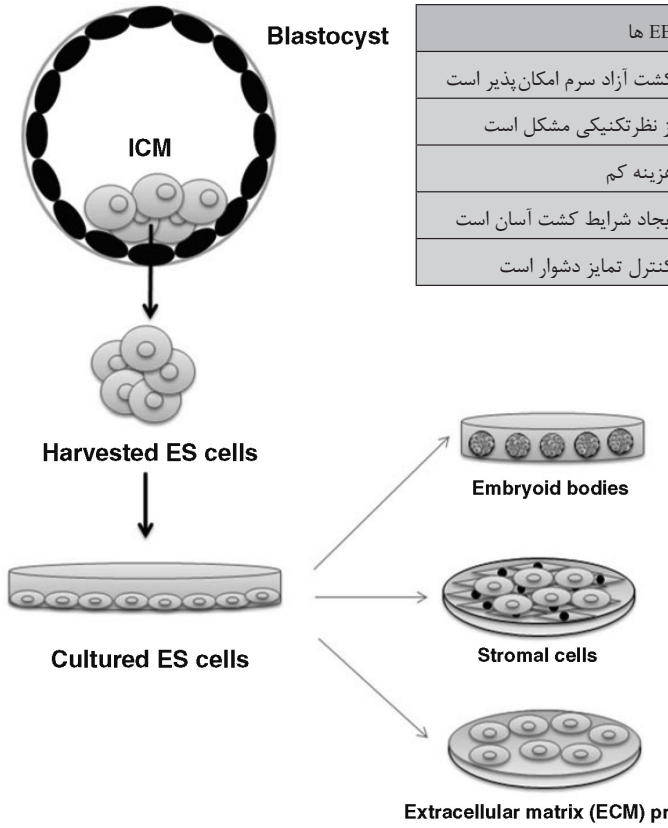
جنین توده‌ای از سلول‌ها است که در همان ابتدا دارای نسل مشترک هستند، اما بلافاصله پس از فعال شدن برنامه تکاملی و تغییر وضعیت سلول‌ها بر اساس موقعیت و سیگنال‌های القایی در طول جنین زایی، به حالت تمایز یافته می‌روند. عوامل حیاتی که آن‌ها را در حالت تمایز ناپذیر نگه می‌دارد حذف شده و شرایط کشت خاصی اعمال می‌شود. سلول ES می‌تواند به انواع سلولی منشأ گرفته از سه لایه زایای جنینی تمایز یابد. [17,72]

سه روش کلی برای تمایز سلول‌های ES وجود دارد: شکل گیری EB، روش‌های وابسته به سلول تغذیه کننده و تکنیک‌های مبتنی بر پروتئین ماتریس خارج سلولی بدون تغذیه. [۵۶] EBها به عنوان ساختارهای چند سلولی سه بعدی با تجمع سلول‌های ES در شرایط کشت غیر چسبنده ایجاد می‌شوند و رشد جنین و مشخصات لایه‌ی زایا را تقلید می‌کنند. [۱۶] به دلیل دستکاری آسان و طیف وسیعی از دودمان سلولی تولید شده از کشت EB، این پروتکل یک روش کلاسیک برای تحقیقات سلول‌های ES موش و انسان است. به غیر از روش کشت EB، رده‌های سلولی استرومایی به عنوان تامین کننده LIF به عنوان لایه‌های سلولی تغذیه کننده برای القای تمایز سلولی سلول‌های ES به دودمان خونساز یا مزودرمی استفاده می‌شود. [۱۴,۵۶] از طرف دیگر، سلول‌های ES بر روی پروتئین‌های خارج سلولی مانند ماتریژل، کلاژن یا فیبرونکتین قرار می‌گیرند تا انواع سلولی مشخص را القا کنند. این سه روش و مقایسه در شکل ۱ خلاصه شده است. چندین فاکتور رشد شامل فاکتور رشد فیبروبلاست (FGF)، اکتیوین A، فاکتور رشد عصبی (NGF) و BMP برای تعدیل تمایز سلول‌های ES و تولید سلول‌هایی که دارای مشخصات سه لایه زایا هستند، استفاده می‌شود. [۱۷]

۲,۲,۱ دودمان سلول‌های مزودرمی

دودمان‌های مزودرمی شامل کاردیومیوسیت‌ها، سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های خون‌ساز با استفاده از روش کشت مشترک یا فاکتور رشد از سلول‌های ES بدست آمده است. اساساً، به منظور ایجاد دودمان‌های خون‌ساز مانند سلول‌های اریتروئید، میلوئید و لنفوئید، سلول‌های ES با فاکتورهای رشد شامل فاکتور سلول‌های بنیادی (SCF)، لیگاند تیروزین کیناز۳ شبه fms (Flt3L)، اینترلوکین‌ها (IL3, IL6)، BMP-4 و فاکتور محرک کلونی گرانولوسیت (G CSF) القا می‌شوند. [۸۴] تعهد خونسازی در مدل‌های تمایز سلول‌های ES به خوبی مشخص شده است و انتظار می‌رود برای توسعه سلول‌های قابل پیوند در درمان مفید باشد. تولید کاردیومیوسیت‌های ضربان‌دار پس از تمایز دودمان قلبی در کشت سلول‌های ES در شرایط خود به خودی و کشت مشترک مورد مطالعه قرار گرفته است. [۵۲,۸۶] کاردیومیوسیت‌های منقبض شده در شرایط آزمایشگاهی مشابه بافت قلبی اولیه بودند و نشان می‌داد

پروتئین‌های ECM	کشت مشترک استرومال	EB ها
کشت آزاد سرم امکان‌پذیر است	کشت آزاد سرم امکان‌پذیر است	کشت آزاد سرم امکان‌پذیر است
از نظرتکنیکی آسان است	از نظرتکنیکی مشکل است	از نظرتکنیکی مشکل است
هزینه بالا	هزینه متوسط	هزینه کم
ایجاد شرایط کشت سخت است	ایجاد شرایط کشت متوسط است	ایجاد شرایط کشت آسان است
کنترل تمایز آسان است	کنترل تمایز دشوار است	کنترل تمایز دشوار است



شکل ۱ مقایسه پروتکل‌های تمایز سلولهای ES. سه روش تمایز برای تبدیل سلول ES وجود دارد: اجسام جنینی، منابع سلول‌های استرومایی به عنوان تغذیه کننده و پوشش پروتئینی ماتریکس خارج سلولی (ECM). مزایا و معایب هر روش از نظر مشکلات فنی و کارایی خلاصه شده است.

که سلول ES ممکن است باعث ایجاد کاردیومیوسیت‌های اولیه از نظر فیزیولوژیکی شود. [۷۳]

تمایز سلول‌های اندوتلیال و بیان مارکر (CD31) در سلول ES با استفاده از پروتکل EB تشخیص داده شده است. [۴۴] علاوه بر این، سلول‌های اندوتلیال مشتق از سلول‌های ES ویژگی‌های مورفولوژیکی مانند ساختارهای لوله مانند و شبکه‌ی عروقی را نشان داده‌اند.

اگرچه تعهد دودمان مزودرمی اولیه و مکانیسم‌های زمینه‌ای هنوز ناشناخته است، انواع مختلف سلول‌های مزودرمی از سلول‌های ES در کشت‌های in vitro ایجاد شده است و به نظر می‌رسد برای درمان‌های آینده امیدوار کننده است.

۲،۲،۲ دودمان سلول‌های اندودرمی

تمایز و شناسایی دودمان‌های اندودرمی از سلول‌های ES بسیار مهم است زیرا ممکن است به عنوان منبع درمانی برای بافت‌های کبد و پانکراس مورد استفاده قرار گیرد. علی رغم توسعه سلول‌های β پانکراس و هپاتوسیت‌ها برای درمان دیابت و اختلالات کبدی اشتقاق دودمان سلولی اندودرم فرآیندی کند است. مولکول‌های خاصی برای ایجاد تمایز اندودرم و شناسایی مشخصات ژن مارکر برای جمعیت‌های اندودرم تمایز یافته باید برای به دست آوردن سلول‌های اندودرمی خاص مورد توجه قرار گیرند. الگوهای بیان ژن خاص پانکراس و کبد در سیستم‌های کشت EB مشاهده شده است. تحریک سلول‌های ES انسان با سدیم بوتیرات منجر به سلول‌های شبه اپیتلیال با مشخصات مارکر هپاتوسیت می‌شود. به طور مشابه، رنگ‌آمیزی انسولین و تغییر به بیان ژن اختصاصی دودمان پانکراس در EBها گزارش شده است. [۴،۶۴]

با این حال، تولید هپاتوسیت‌های عملکردی و سلول‌های β پانکراس باید با جزئیات مورد مطالعه قرار گیرد و با شناسایی عوامل محرک و مکانیسم‌های زمینه‌ای که مشخصات لایه زایای اندودرمی را کنترل می‌کند، بهبود یابد.

۲،۲،۳ دودمان سلولی اکتودرمی

تمایز اکتودرمی از سلول‌های ES می‌تواند تحت شرایط کشت مناسب از جمله تمایز خود به خود EB، کشت تک لایه بدون سرم و قرار گرفتن در معرض اسید رتینوئیک ایجاد شود. تحقیقات گسترده‌ای بر تمایز عصبی متمرکز شده است زیرا اشتقاق انواع مختلف سلول‌های عصبی هنگام درمان با شرایط کشت کاملاً