

Zastosowania kliniczne

Wielkie kroki małych komórek



PIOTR TRZONKOWSKI

Katedra Immunologii, Gdański Uniwersytet Medyczny
ptrzon@gumed.edu.pl

Dr hab. med. Piotr Trzonkowski jest profesorem nadzwyczajnym, kierownikiem Zakładu Immunologii Klinicznej i Transplantologii. Zajmuje się m.in. terapią komórkową, nowoczesnymi metodami diagnostyki układu immunologicznego u osób po przeszczepie nerki oraz poszukiwaniem nowych leków immunosupresyjnych. W 2013 roku za pracę „Administration of CD4+ CD25high CD127 – regulatory T cells preserves cell function in type 1 diabetes in children” otrzymał wraz z zespołem nagrodę Wzrostu V Nauk Medycznych PAN.

Współczesna medycyna rozwija coraz to nowsze sposoby terapii, wspierając klasyczne leki najnowszymi zdobyczami naukowymi. Dobrym przykładem takiego podejścia jest terapia, w której lekami stały się komórki pochodzące z organizmu pacjenta lub dawcy czy też stworzone w laboratoriach

Ojcem terapii komórkowej jest E. Donall Thomas, który w 1959 roku jako pierwszy przeszczepił z sukcesem hematopoetyczne (krwiotwórcze) komórki macierzyste, dokonując przeszczepu szpiku w chorobie nowotworowej. W Polsce po raz pierwszy taką operację wykonali w 1983 roku prof. Wiesław Jędrzejczak i prof. Cezary Szczylik. Współczesne zastosowanie tej metody wykracza poza terapię onkologiczną i obejmuje kilkadziesiąt różnych jednostek chorobowych, z których wymienić można chociażby wrodzone niedobory odporności, choroby autoimmunologiczne czy metaboliczne.

Chociaż komórki macierzyste szpiku stanowią dalej obiekt intensywnej badań, wiele prowadzonych obecnie prac dotyczy komórek somatycznych. Tutaj znacznymi osiągnięciami mogą pochwalić się polskie laboratoria – profesor Moskalewski już w latach 60. XX wieku opracował metodę izolacji wysp trzustkowych, która z modyfikacjami jest dzisiaj wykorzystywana w transplantacjach u ludzi. W tym

okresie w Polsce powstały też pierwsze banki tkanek i komórek.

Spełniająca się obietnica

Komórki macierzyste są współcześnie wykorzystywane właściwie w każdym dziale medycyny, począwszy od przeszczepów skóry, poprzez regenerację chrząstki i próby odtwarzania struktury narządów wewnętrznych, po leczenie chorób neurologicznych czy immunosupresję. Terapie te wykorzystują dorosłe komórki macierzyste, czyli pobrane z organizmu po narodzeniu. Chociaż mają one zwykle ograniczony potencjał różnicowania się do jednej konkretnej tkanki (mówimy o nich „unipotencjalne”), są bezpieczniejsze dla pacjenta niż komórki uzyskane w inny sposób.

Przez pewien czas ogromny entuzjazm budziła możliwość wykorzystania embrionalnych komórek macierzystych, pobieranych od zarodka, ponieważ mogą się one rozwinąć w każdą tkankę (są „pluripotencjalne”). Badaczom nie udało się jednak pokonać bariery, jaką stanowi tendencja tych komórek do nowotworzenia – w ciągu kilku-kilkunastu miesięcy po przeszczepie przekształcają się w groźne dla życia nowotwory zarodkowe, tzw. potworniaki. Obecnie nowe nadzieje wiąże się z VSEL – małymi embrionalnymi komórkami macierzystymi (z ang. VSEL – very small embryonic-like stem cells), odkrytymi niedawno przez polskiego badacza prof. Ratajczaka. Są to – w dużym uproszczeniu – pozostałości tkanek embrionalnych rozsiane w organizmie po urodzeniu, które zachowują właściwą komórkom embrionalnym pluripotencjalność, ale nie wykazują tendencji do nowotworzenia po przeszczepie. Inny ważny nurt badań obejmuje IPS, czyli indukowalne komórki macierzyste (ang. induced pluripotent stem cells), które odkryto zaledwie 7 lat temu, a już za to osiągnięcie przyznano Nagrodę Nobla. Są to komórki somatyczne, które po wzbudzeniu czterech genów odgrywających istotną rolę w rozwoju embrionalnym przekształcają się w komórki





embrionalne i mogą dać początek dowolnej tkance. Oba te rodzaje komórek są jednak jeszcze w fazie wstępnych badań i potrzeba czasu, zanim zaczną być wykorzystywane „przy łóżku pacjenta”.

Wyspy sukcesu

Terapia komórkowa posługuje się również z sukcesem komórkami somatycznymi czyli zróżnicowanymi komórkami organizmu. Najlepszym przykładem tego typu leczenia są przeszczepy wysp trzustkowych. W skomplikowanej logistycznie operacji wyspy trzustkowe są izolowane od martwego dawcy i podawane do żyły wrotnej biorcy, po czym niezbędna jest umiejętna terapia immunosupresyjna zapewniająca z jednej strony przeżycie przeszczepionych wysepek, a z drugiej uniknięcie niepożądanych efektów polekowych takich jak insulinooporność. Przeszczepy komórek trzustki pokazują, że terapia komórkowa łącząca różne specjalności biomedyczne pozwala stworzyć zupełnie nową jakość w medycynie. Do sukcesu operacji nie wystarczy bowiem praca standardowego zespołu transplantacyjnego, który dba o pobranie i wszczepienie tkanki. Konieczna jest także nowoczesna diagnostyka immunologiczna, pomagająca dobrać dawkę zgodnego z biorcą, a także utrzymanie specyficznych warunków (tzw. pracowni czystej) oraz praca zespołu izolującego wyspy.

Powodzenie przeszczepów wysp trzustkowych spowodowało, że także inne komórki somatyczne przyciągnęły uwagę lekarzy i naukowców. Alternatywą dla przeszczepów całych narządów mogą więc już wkrótce stać się przeszczepy alogenicznych hepatocytów czy komórek przytarczyc.

Czerniak przeciw czerniakowi

Ważnym działem medycyny komórkowej jest immunoterapia nowotworów. Wykorzystuje ona komórki układu odpornościowego zdolne do zlokalizowania i zabicia komórek guza, co jest stosowane np. w przeszczepach szpiku w ramach terapii białaczki. Początkowo w immunoterapii nowotworów używano komórek NK, których zadaniem w organizmie jest wykrywanie i niszczenie komórek nowotworowych, jednak skuteczność takich zabiegów była niska. Kolejnym krokiem było więc zastosowanie komórek dendrytycznych (DC), które potrafią aktywować układ od-

Zastosowania kliniczne

pornościowy i skierować go do walki przeciw konkretnym strukturom, w tym nowotworom. Rozpoznanie komórek nowotworowych opiera się na antygenach, czyli specyficznych białkach obecnych na powierzchni komórek. W laboratorium można sztucznie „nafaszerować” komórki DC antygenami charakterystycznymi dla danego nowotworu, tworząc przeciwnowotworową szczepionkę komórkową (pierwsza tego typu szczepionka przeciw rakowi prostaty jest już w obrocie w USA i Europie).

Skuteczna niedojrzałość

Jest to kolejny rodzaj terapii komórkowej wykorzystującej kilka rodzajów komórek, w tym głównie komórki DC, limfocyty T regulatorowe (Tregs) oraz mezenchymalne komórki macierzyste. Stosuje się ją przede wszystkim w leczeniu chorób autoimmunologicznych oraz w zapobieganiu odrzuceniu przeszczepów.

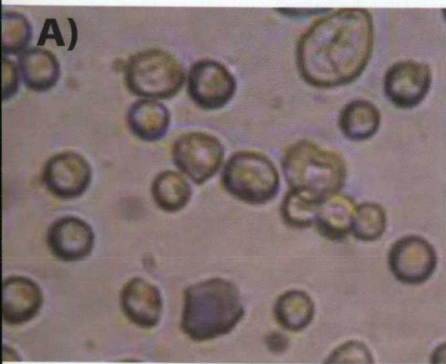
Terapia immunosupresyjna, podobnie jak immunoterapia nowotworów, wykorzystuje zdolność komórek DC do rozpoznawania antygenów i regulowania na tej podstawie działania innych komórek układu odpornościowego. Jednak w przeciwieństwie do szczepionek przeciw nowotworom, gdzie istotne jest pobudzenie odpowiedzi immunologicznej, w immunosupresji chodzi o coś zupełnie przeciwnego. Dlatego wykorzystuje się w niej niedojrzałe komórki DC, które prezentują antygeny autoagresywnym limfocytom, ale nie potrafią ich zaktywować. W rezultacie aktywność tych limfocytów znacznie maleje lub wręcz one giną, co zmniejsza ryzyko reakcji odpornościowej przeciw własnym komórkom organizmu, czyli autoagresji. Poprzez sztuczną manipulację antygenami na powierzchni komórek DC możliwe jest precyzyjne hamowanie odpowiedzi immunologicznej, np. dotyczącej tylko przeszczepionego narządu.

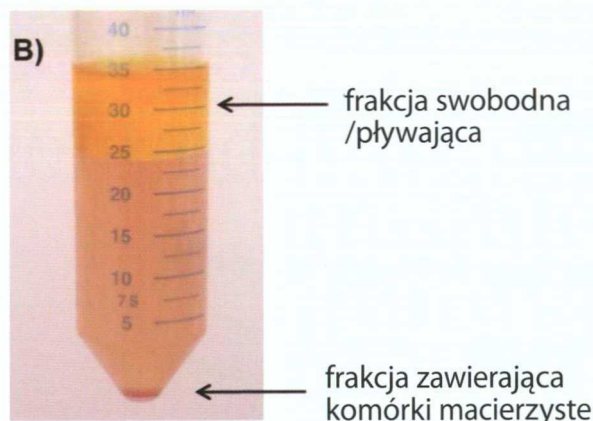
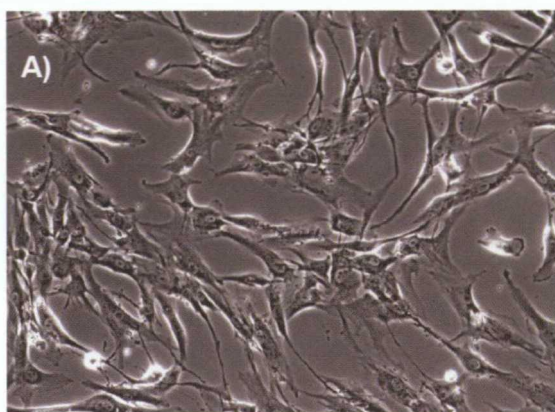
Limfocyty T regulatorowe (Tregs) to szczególny rodzaj komórek układu odpornościowego. Nie uczestniczą one aktywnie w zwalczaniu infekcji, lecz ich zadaniem jest hamowanie nadmiernej aktywacji innych komórek. Brak tych komórek lub ich poważna dysfunkcja prowadzi do ciężkich, wielonarządowych uszkodzeń na tle autoimmunologicznym, a mniejsze zaburzenia liczby czy funkcji limfocytów Tregs zostały opisane właściwie w większości chorób autoimmunologicznych i alergicznych. Działanie Tregs jest niezwykle precyzyjne dzięki temu, że komórki te działają głównie na drodze bezpośredniego kontaktu. Limfocyt Tregs i autoreaktywna komórka docelowa łączą się ze sobą za pośrednictwem receptorów błonowych. Dzięki temu reakcja jest precyzyjnie ukierunkowana i ograniczona tylko do miejsca objętego procesem zapalnym, a co za tym idzie ograniczone zostają potencjalne efekty uboczne z innych tkanek charakterystyczne dla klasycznej terapii immunosupresyjnej opartej na lekach niekomórkowych.

Po raz pierwszy wykorzystano je w leczeniu powikłania po przeszczepie „przeszczep przeciw gospodarzowi”, w którym komórki odpornościowe powstałe z przeszczepionego szpiku kostnego atakują tkanki biorcy. W Gdańskim Uniwersytecie Medycznym rozpoczęliśmy podawanie limfocytów Tregs pacjentom z tą chorobą, u których standardowa terapia nie dawała pozytywnych rezultatów. Otrzymują oni limfocyty Tregs pochodzące od tych samych dawców, od których wcześniej otrzymali przeszczep szpiku.

W naszym zespole na Gdańskim Uniwersytecie Medycznym wykorzystujemy limfocyty Tregs także w terapii cukrzycy typu I, która związana jest z niszczeniem komórek trzustki przez układ odpornościowy chorego.

Produkowany w GUMed naskórek z dorosłych komórek macierzystych: A – komórki macierzyste naskórka tuż po pobraniu, B – komórki macierzyste naskórka różnicujące się dojrzałą tkanką, C – obraz makroskopowy naskórka gotowego do podania na ranę jako opatrunek biologiczny





Wstępne wyniki badań pokazują, że terapia taka nie niesie ze sobą poważnych efektów ubocznych, co ma szczególne znaczenie u dzieci stanowiących większość pacjentów z cukrzycą typu I. Z klinicznego punktu widzenia zaletą tej terapii jest fakt, że chorzy leczeni limfocytami Tregs przyjmują niższe dawki insuliny niż zwykle lub mogą w ogóle nie przyjmować insuliny.

Dlaczego tak drogo?

Komórki do zastosowań klinicznych muszą być przygotowywane w specyficznych warunkach w tzw. czystym laboratorium (ang. cleanroom). Panuje w nich reżim czystości zaadaptowany z fabryk układów scalonych, który w medycynie jest stosowany przede wszystkim w fabrykach farmaceutycznych. Jakość powietrza w takich laboratoriach dobrze oddaje ich amerykańska nazwa - „laboratorium 100” - co znaczy, że na metr sześcienny powietrza przypada mniej niż 100 pyłków wielkości 0,5 mikrometra (porównywalnych z najmniejszymi bakteriami lub mniejszych), a większe zanieczyszczenia nie mogą być w ogóle obecne. Dla porównania powietrze w zwykłym pomieszczeniu biurowym zawiera dziesiątki milionów do miliardów takich cząstek. Aby uzyskać odpowiedni standard, powietrze do laboratorium czystego dostarczane jest systemem filtrów, a personel musi nosić sterylne bezpyłowe ubrania. Wejście do laboratorium odbywa się przez system śluz izolujących je kompletnie od czynników zewnętrznych, a sprzęt używany wewnątrz jest zwykle specjalnie zaprojektowany, tak by można go było łatwo czyścić i sterylizować, oraz posiada specjalne certyfikaty gwarantujące, że nic nie zagro-

zi komórkom terapeutycznym wytwarzanym w tym laboratorium.

O ile reżim higieniczny i dbałość o niezawodność sprzętu nie budzą zastrzeżeń, o tyle obecnie problemem stało się „przeregulowanie” procesu rejestracji i wytwarzania komórek-leków. Zmieniające się ciągle ustawodawstwo oraz rosnące wymagania, szczególnie w zakresie prowadzenia dokumentacji, spowodowały znaczny wzrost kosztów terapii komórkowych w ostatnich latach. Odbija się to oczywiście na dostępności terapii dla pacjentów, a w dalszej perspektywie może doprowadzić do spowolnienia badań w tej dziedzinie, co w rezultacie znowu uderzy w chorych. Sytuacja taka budzi zrozumiałą sprzeciw lekarzy i pacjentów i choć nawet instytucje odpowiedzialne za wprowadzane regulacje dostrzegają problem, na razie nie podjęto żadnych działań mających na celu ułatwienie placówkom badawczym wytwarzania leków opartych na terapii komórkowej. W tej sytuacji przyszłość terapii komórkowej będzie zapewne zależna od dużych firm farmaceutycznych, które mają wystarczające budżety na prowadzenie badań w tej dziedzinie. Powstaje jednak pytanie, jakie będą tego koszty dla pacjenta oraz czy na pewno muszą być one tak wysokie. ■

Produkowane w GUMed mezenchymalne (dorośle) komórki macierzyste:
A - komórki macierzyste w hodowli, B - obraz makroskopowy tuż po izolacji z tkanki tłuszczowej

Chcesz wiedzieć więcej?

- Trzonkowski P., Pikuła M., Marek-Trzonkowska N. (2013). *Cellular therapy in medicine*. Skrypt Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii UG_GUMed.
- Trzonkowski P., Dukat-Mazurek A., Bieniaszewska M., Marek-Trzonkowska N., Dobyszuk A., Juścińska J., Dutka M., Myśliwska J., Hellmann A. (2013). Treatment of graft-versus-host disease with naturally occurring T regulatory cells. *BioDrugs. Dec; 27(6):605-14.*