

Magyar Tudomány

ŐSSEJTEK

Vendégszerkesztő: Sarkadi Balázs

2004•3

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA FOLYÓIRATA. ALAPÍTÁS ÉVE: 1840
CX. kötet – Új folyam, XLX. kötet, 2004/3. szám

Főszerkesztő:

CSÁNYI VILMOS

Vezető szerkesztő:

ELEK LÁSZLÓ

Olvasószerkesztő:

MAJOROS KLÁRA

Szerkesztőbizottság:

ÁDÁM GYÖRGY, BENCZE GYULA, CZELNAI RUDOLF, CSÁSZÁR ÁKOS, ENYEDI GYÖRGY,
KOVÁCS FERENC, KÖPECSI BÉLA, LUDASSY MÁRIA, NIEDERHAUSER EMIL,
SOLYMOSSI FRIGYES, SPÁT ANDRÁS, SZENTES TAMÁS, VÁMOS TIBOR

A lapot készítették:

CSAPÓ MÁRIA, GAZDAG KÁLMÁNNÉ, HALMOS TAMÁS, JÉKI LÁSZLÓ, MATSKÁSI ISTVÁN,
PERECZ LÁSZLÓ, SIPOS JÚLIA, SPERLÁGH SÁNDOR, SZABADOS LÁSZLÓ, F. TÓTH TIBOR

Lapterv, tipográfia:

MAKOVECZ BENJAMIN

Szerkesztőség:

1051 Budapest, Nádor utca 7. • Telefon/fax: 3179-524

matud@helka.iif.hu • www.matud.iif.hu

Kiadja az Akaprint Kft. • 1115 Bp., Bártfai u. 65.

Tel.: 2067-975 • akaprint@matavnet.hu

Előfizethető a FOK-TA Bt. címén (1134 Budapest, Gidófalvy L. u. 21.);

a Posta hírlapüzleteiben, az MP Rt. Hírlapelőfizetési és Elektronikus

Posta Igazgatóságánál (HELP) 1846 Budapest, Pf. 863,

valamint a folyóirat kiadójánál: Akaprint Kft. 1115 Bp., Bártfai u. 65.

Előfizetési díj egy évre: 6048 Ft

Terjeszti a Magyar Posta és alternatív terjesztők

Kapható az ország igényes könyvesboltjaiban

Nyomdai munkák: Akaprint Kft. 25845

Felelős vezető: Freier László

Megjelent: 15,35 (A/5) ív terjedelemben

HU ISSN 0025 0325

TARTALOM

Össejtek

Sarkadi Balázs: Előszó	274
Kemény Annamária – Duda Ernő: Az össejtek különleges tulajdonságai: pluripotencia és sajátos sejtciklus-szabályozás	276
Gócza Elen: Embrionális össejtek és össejt-vonalak	285
Dinnyés András: Össejtek és a klónozás lehetőségei	292
Uher Ferenc: A felnőtt össejtek – vérképző és egyéb szöveti sejtek	298
Rajnavölgyi Éva: Az össejtek és az immunrendszer	306
Kopper László – Hajdú Melinda: Tumorössejtek	319
Mezey Éva: Össejtek: csodatévők vagy csak csodák?	326
Boros Péter: Össejtek alkalmazása a klinikumban – mítosz vagy valóra váltható remények?	331
Pálóczi Katalin – Barta Anikó – Poros Anna: Véreképző össejtek a gyógyításban	337
Gidáli Júlia – Eckschmiedt Mónika – Bakács Tibor: A köldökzsinórvér mint össejt-forrás – telek a Holdon, vagy kincs a trezorban?	344
Madarász Emília: Az idegi össejtek és lehetséges orvosi alkalmazásuk	351
Bata Zsuzsanna: A hámképzés össejtjei	364
Kobolák Julianna: Izomszövet össejtek és alkalmazási lehetőségeik a transzplantációs terápiában	369
Német Katalin: Az össejtek, mint a génterápia fegyverhordozói	377
Szebik Imre: Az össejtkutatás etikai kérdéseiről	385
Sarkadi Balázs: Glosszárium – minilexikon	391

Megemlékezés

Julesz Béla (<i>Kovács Ilona</i>)	399
---	-----

<i>Kitekintés (Jéki László – Gimes Júlia)</i>	401
---	-----

Könyvszemle

Szabó Tibor: Megkezdett öröklét (<i>Mátyus Norbert</i>)	406
Fogalmi rend és nyelvi történet (<i>Mártonffy Marcell</i>)	408
Áldozat és szenvedély – tudósportrék (<i>Berényi Dénes</i>)	410
A külső szakértő szemével némely égető orvosi kérdésekről – Bárdos György tankönyvnek álcázott hasznos vademecumja a testi bajok lelki összefüggéseiről (<i>Ádám György</i>)	411
Sipos Lajos: Babits Mihály (<i>Csokonai-Illés Sándor</i>)	413

Őssejtek

ELŐSZÓ

Sarkadi Balázs

a biológiai tudomány doktora, Országos Gyógyintézeti Központ, Haematológiai és Immunológiai Intézet, Budapest – sarkadi@biomembrane.hu

Orvosok és laikusok fantáziáját egyaránt régóta izgatja az életfontosságú szervek megújításának lehetősége, az ún. *helyreállító* vagy *regeneratív orvoslás*. A klinikai tevékenységet megalapozó kísérletes kutatások, biotechnológiai eljárások, genetikai felismerések és gyógyszerkutatási eredmények lehetővé tették, hogy a korábban gyakran halálos kimenetelű betegségek esetében is ma már a gyógyulás reményével avatkozhat be az orvos. A molekuláris genetika és a génszbészet előretörése, a sejtek jellemző tulajdonságainak, fejlődésének és funkcióinak jobb megismerése újabb reményeket kelt ezen a téren. Ezeknek a reményeknek egyik legfontosabb tényezője a szervezetünket megújítani képes *őssejtek* egyre jobb megismerése. A saját *őssejtek* genetikai módosítása különösen értékes gyógyászati eszközt jelenthet, mintegy forradalmi áttörést ígérve az orvoslásban.

Ugyanakkor, az 1990-es évek elején a *génterápia* lehetőségéhez kapcsolódó kezdeti nagy lelkesedés erősen lelohadt, amikor bebizonyosodott, hogy a *szöveti*

őssejtek közvetlen, *in vivo* genetikai módosítása gyakran sikertelen, vagy csak rövidtávú javulást eredményez. Jelenleg a sikeresnek ígérkező génterápiás eljárások elsősorban az emberi *őssejtek ex vivo*, azaz az emberi szervezeten kívül végrehajtott módosításához, majd a módosított sejtek beültetéséhez kapcsolódnak. Ezek az eredmények és az utóbbi évek azon felismerése, hogy a szövetek regenerálására képes *őssejtek* univerzálisak, azaz egymást igen széles körben helyettesíteni tudják, világszerte hatalmas lendületet adtak a *csontvelőátültetéshez*, illetve az *őssejtek* specifikus alkalmazásához kapcsolódó módszereknek. Ezzel a fejlődéssel párhuzamosan természetesen számos új tudományos, gyakorlati és etikai probléma is előtérbe került. Megjelennek a *klónozás*, az immunvédekezés, de a tumorképződés kapcsolódó kérdései is, amelyek mind alapvetően motíválják vágyainkat és lehetőségeinket.

Ebben a tanulmánykötetben a szakma neves képviselőinek közreműködésével ezeket a lehetőségeket és gondokat igyekszünk bemutatni mind a szakmában laikusok, mind

a hozzáértők számára. Az alapkutatástól a klinikai alkalmazásokig igyekszünk minél átfogóbb és ugyanakkor szakszerű, időszzerű tájékoztatást nyújtani. Ez természetesen valójában elvégezhetetlen feladat, és így lesznek olyan fejezetrészek, amelyek az adott olvasó számára túl részletesen és elmélyülten foglalkoznak egy-egy kérdéssel, míg a szakember olvasó esetleg nyugodtan átugorhat egy-egy általánosabb bemutatást. Ugyanakkor a téma újdonsága, népszerűsége és fontossága miatt biztosra vehető, hogy ez a kötet figyelemre készíti valamennyi olvasót.

Valamennyi írás önálló tanulmány, és a kötet szerkesztése során nem igyekeztünk erővel összehangolni az egyes fejezeteket, amelyek így átfedő, újra és újra megjelenő bemutatásokat és gondolatokat is tartalmaznak. A rendkívül gyorsan változó szakmai környezetben és tudományos álláspontok között ugyanakkor éppen a szerzők egyéni felfogása az, ami a legérdekesebbé teszi ezt a kötetet. A nem szakember tájékozódását a szerzők konszenzusán alapuló szakkifejezés-magyarázattal, mini-lexikonnal igyekszünk elősegíteni. Az egyes fejezetek írói hazai és külföldi kutatók, akik rendszeresen, nemzetközi színvonalon publikálnak ebben a témakörben. Mint szerkesztő elmondhatom, hogy rengeteget tanultam a tanulmányok olvasása közben, és igazán élvezetesnek, jó stílusú bemutatásnak tartom az egyes írásokat.

A tanulmánykötet több szerzője 2002 óta aktívan részt vesz a *Széchenyi NKF* projekt

által támogatott kutatásban, amely a betegségek gyógyítása érdekében az őssejtek felhasználását és a géntechnológiai módszereket kívánja összekapcsolni. A projekt egyik fő célja a szövet- és szervátültetéseket előkészítő klinikai kezelések megfelelő megválasztása, az immunológiai toleranciát biztosító új eljárások kidolgozása, és modern biotechnológiai módszerek kifejlesztése a sejterápia és a génterápia alkalmazására a veleszületett rendellenességek, az immunhiányos állapotok és a daganatos betegségek gyógyításában. Ehhez fontos lépés az őssejtek elkülönítésére, feldúsítására, szövet-helyreállító felhasználására, így például a köldökzsinórvér őssejtek alkalmazására szolgáló módszerek bevezetése, valamint a génterápiát szolgáló speciális készítmények kifejlesztése.

A kialakítandó sejtbank és sejtmnipulációs centrum háttérrel biztosítja a tudományos kutatáshoz és a gyógyító (például csontvelőátültetési) alkalmazáshoz egyaránt. A program fontos célja a kapcsolódó jogi és biztonsági feltételek részletes kidolgozása, a nemzetközi előírások hazai adaptálása, valamint a közvélemény hatékony tájékoztatása.

A jelen kötet annak bizonyítéka lehet, hogy a szoros szakmai kapcsolatok tovább motiválják a kutatási és fejlesztési lehetőségek mind jobb kiaknázását, de egyben a széleskörű szakmai tájékoztatás alapjait is megteremtik. Kellemes és hasznos időöltést kívánok a kötet olvasóinak!

AZ ÖSSEJTEK KÜLÖNLEGES TULAJDON- SÁGAI: PLURIPOTENCIA ÉS SAJÁTOS SEJTCIKLUS-SZABÁLYOZÁS

Kemény Annamária
PhD-hallgató

Duda Ernő
tudományos tanácsadó
duda@brc.hu

SZTE Orvosi Mikrobiológiai és Immunbiológiai Intézet és
MTA SZBK, Szeged

Az utóbbi egy-másfél évtizedben az élő természettudományok egyik legnagyobb érdeklődésre számot tartó területévé vált az *összejtek* biológiája. Szociális, politikai, etikai és gazdasági vonatkozások mellett számunkra a téma biológiai és orvostudományi jelentősége döntő. Az *összejtkutatás* hozzájárulhat olyan alapvető folyamatok mélyebb megértéséhez, mint a sejtosztódás és differenciálódás; az *összejtek* felhasználása pedig azzal kecsegtet, hogy sokféle, ma még gyógyíthatatlan betegség kezelésében nyílik új alternatíva. Világszerte hematológiai és neurológiai betegek, veleszületett és daganatos betegségben szenvedők, autoimmun betegek, de egészséges emberek milliói is figyelemmel követik a kutatás eredményeit.

A korai ébrényekből származó *totipotens* *összejtekre* és az egyedfejlődés későbbi szakaszaiban is fellelhető, ún. *szomatikus, testi* *összejtekre* vonatkozó ismereteink többsége egérmodellekből származik. Egyre bővül azonban tudásunk más állatok és az ember *összejteiről* is, főleg a *vérképző* *összejteken* (haematopoietic stem cells – *HSC*) végzett kísérleteknek köszönhetően. Közben egyre többféle *összejtről* beszélünk, és elképesztő, hogy milyen anatómiai képletekről bizonyosodik be, hogy *összejtek* forrásául szolgálhatnak (tejfogak, hajhagymák, haj stb.). *Vala-*

mennyi *összejttípusra* jellemző azonban, hogy *sajátos* *osztódási tulajdonságokkal* rendelkezik, és differenciálódás tekintetében *elkötelezetlen*.

A „normális” diploid sejtek, amelyekben sem celluláris, sem virális onkogének immortalizáló hatása nem mutatható ki, nem képesek hosszabb ideig szuszpenzióban fennmaradni, különösen nem osztódni (anchorage dependence). Ha a sejtek „benővik” a rendelkezésükre álló felszínt, befejezik a szaporodást, azaz a *kontakt gátlás* jelenségét mutatják. Sejtosztódáshoz igénylik a szérumban található növekedési faktorok jelenlétét, és a *telomeráz* működésének hiánya miatt öregedést, *szeneszenciát* mutatnak. Leonard Hayflick nevéhez fűződik az a megfigyelés, hogy az egészséges diploid sejtek bizonyos számú osztódás után képtelenné válnak további *proliferációra*. A lehetséges osztódások számát mutató *Hayflick-szám* annak a szervezetnek a biológiai életkorától függ, amelyből az illető sejteket izolálták. A szérumban megvonása, egyes tápanyagok hiánya a sejt-ciklus leállítását, G_0 állapotban való *stagnálást* (*quiescence*) vált ki.

A fentiekkel szemben az *embrionális* *összejtek* számos olyan tulajdonságot mutatnak, amelyek a daganatsejtekre jellemzőek. Az *összejtekben* nem figyelhető meg *szenesz-*

cencia, szérummentes tápfolyadékban korlátlanul szaporodnak, nem állnak kontaktgátlás alatt, képesek szuszpenzióban is osztódni, és telomeráz pozitívak. (Ritkán esik róla szó, de az őssejtek bizonyos körülmények között – például felnőtt állat bőre alá oltva – tumorrá alakulnak.) Nem ismerünk olyan körülményeket, amelyek között az őssejteket a sejtciklus leállítására, nyugalmi állapotra lehetne kényszeríteni. Az őssejtek vagy osztódnak, vagy *apoptózist* követnek el. Ugyanakkor – a tumorsejtekkel éles ellentétben – szigorúan megőrzik diploid *kariotípusukat* és kromoszómszámukat. Amíg a rosszindulatú, malignus sejtekben a mutációs ráta hihetetlenül magas értékeket érhet el, az őssejtekben az a fajra jellemző alapértékkel egyezik meg. Tehát a sejtosztódás szabályozását illetően az őssejtek egészen különleges sajátságokkal rendelkeznek.

Az őssejtek másik fontos sajátága az önmegújító képesség: osztódásuk eredménye két, teljesen azonos, differenciálatlan őssejt, amelyek közül, statisztikusan, majd az egyik differenciálódik valamelyik fejlődési irányba. A következőkben megpróbáljuk összefoglalni azoknak a kísérleteknek a tanulságait, amelyek az őssejtek sajátos osztódási tulajdonságait és a differenciáció gátlását eredményező jelviteli utakat és génnakívítást szabályozó mechanizmusokat vizsgálták. Megpróbálunk magyarázatot találni a sejtciklus különleges kontrolljának és az elkötelezetlenség megőrzésének összefüggéseire.

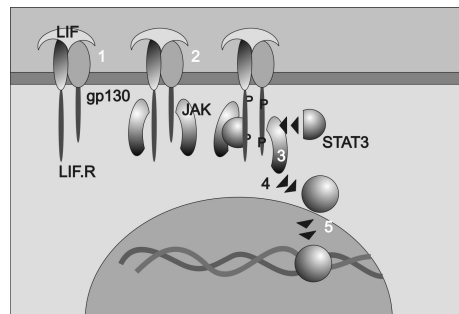
Az őssejtek önmegújulása illetve differenciálódása

A korai egérembrió *epiblaszt* sejtjeiből indított őssejtkultúrák embrionális őssejtjeinek (embryonic stem cells – ES) fennmaradása és szaporodása a leukémiagátló faktor (*leukemia inhibitory factor* – LIF) jelenlététől függ. A korai kísérletekben ezt a *citokint* az őssejtekkel együtt tenyésztett fibroblasztok (a *feeder layer* sejtjei) termelték, ma már a

rekombináns citokint használják. A LIF az interleukin-6 (IL-6) citokinnel rokon fehérje, amely – a citokinek túlnyomó többségéhez hasonlóan – *pleiotróp*, azaz a célsejt differenciációjának fokától és típusától, illetve a jelen lévő többi citokin minőségétől függően számos hatással rendelkezik.

Az ES sejtek felszínén megtaláljuk a LIF receptorát, amely több alegységből áll. Egyik lánc felelős a LIF felismeréséért, a másik a proliferációs jelfolyamat beindításáért. Az utóbbi alegység, a gp130 néven ismert fehérje számos más citokin receptorának (például IL-6, CNTF, onkostatin M, IL-11) is alkotórésze, azokban is a jelképzéséért felelős. A LIF a két alegységből álló receptor komplexhez nagy affinitással és nagy szelektivitással kötődik.

A receptor komplex és a ligand kölcsönhatása (1. ábra) specifikus fehérje-módosító enzim aktiválódását váltja ki a citoplazmában: a JAK (Janus-associated tyrosine kinase) a gp130 fehérje egyes tirozinjainak hidroxilcsoportjait foszforilálja. A foszfortirozin csoportok iránt nagy affinitást mutatnak olyan szabályozó fehérjék, amelyekben ún. *SH2 domének* találhatóak. A gp130 foszfortirozinjaihoz a *STAT3*-családba tartozó SH2 domént



1. ábra • A leukémiagátló faktor (LIF) és receptorának kölcsönhatása kiváltja a JAK aktivitását, ez az enzim foszforilálja a receptort és a foszforilált receptorhoz kapcsolódó STAT3 alegységeket. A módosított STAT3 alegységek dimerizálódva bejutnak a magba, ahol gének aktivitását képesek szabályozni.

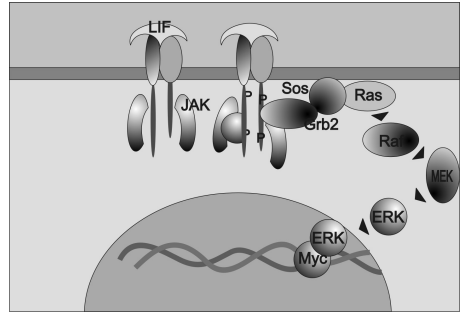
tartalmazó fehérjék kötődnek (a STAT a *signal transducer and activator of transcription* rövidítése, ES sejtekben a LIF hatására elsősorban a STAT3 molekulák kötődnek a gp130-hoz), amelyeket a gp130-on tevékenykedő JAK szintén foszforilál.

Ezután a módosítás után a STAT molekulák egyaránt rendelkeznek foszforilált tirozinokkal és foszfortirozint kötő SH2 doménnel, így kölcsönösen megköthetik egymást, dimerizálódhatnak. A STAT dimerek azután képesek bejutni a sejtmagba, ahol DNS-kötő fehérjeként gének aktivitásának szabályozására válnak képessé (transzkripciós faktorok). Kétféle kísérlet is bizonyítja, hogy a STAT3 foszforilációja, magba jutása és szabályozó aktivitása elengedhetetlen az egér ES sejtek szimmetrikus önmegújító képességéhez. A STAT3-nak előállították olyan mutánsait, amelyek gátolni képesek a fehérje génaktivitást szabályozó képességét. Az ilyen mutánsokkal *transzformált* ES sejtek azonnal differenciálódni kezdtek. A másik megközelítésben a foszforilálatlan STAT3 dimerizációját úgy váltották ki, hogy a fehérjét fuzionáltatták egy, a citoplazmában található szteroid receptorral. Ez a fehérje ösztradiol jelenlétében dimereket képez, fizikai kontaktust alakítva ki a STAT3 molekulák között. Az ilyen fúziós fehérjét temelő ES sejtek LIF távollétében is megőrzik differenciálatlan jellegüket, ha ösztradiolt kapnak.

Különös- és sajnálatos-módon, az emberi ES sejtekre nem hat a LIF. A vizsgálatok szerint ugyan valamennyi kulcsfontosságú molekula (LIF receptor, JAK, STAT3) megtalálható az emberi ES sejtekben is, a LIF jelenléte azonban nem vezet a STAT3 aktiválódásához. Valószínűleg ezért hatástalan a LIF, mert a *SOCS-1* (suppressor of cytokine signaling) fehérje magas szintje gátolja a gp130-on induló jelátviteli folyamatot, legalábbis a vizsgált emberi sejtekben. Ez még nem jelenti azt, hogy az emberi őssejtek nem tarthatók differenciálatlan állapotban. Egér

eredetű táplálósejt-réteg (feeder layer) mellett használni lehet embrionális emberi fibroblasztokat, felnőttek petevezető-eredetű sejtjeit, újabban újszülöttek fitymájából tenyésztett fibroblasztokat is azoknak az egyelőre ismeretlen faktoroknak az előállítására, amelyek megakadályozzák az emberi őssejtek differenciálódását.

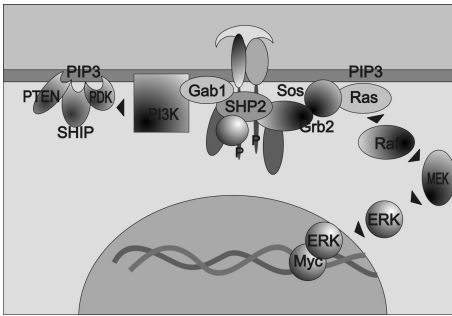
A LIF nem csak egy jelutat aktivál. A sejtosztódást kiváltó (mitogén) faktorokhoz hasonlóan kiváltja a Ras-MAPK jelátviteli út aktiválódását is (2. ábra). A MAPK (mitogén-aktivált protein kináz) család számos tagja közül különösen az ERK p42 és p44 játszik jól bizonyított szerepet a sejtosztódás és differenciáció szabályozásában részt vevő folyamatok aktiválásában. Nagyon leegyszerűsítve egy kétségbeejtően bonyolult szabályozási rendszert, azt mondhatjuk, hogy a receptorok foszforilálódott fehérjéin alakul ki az a fehérjekomplex is, amely ezt a jelutat elindítja. A STAT fehérjék mellett más fehérjék, így például a Grb2 adaptor és a Sos (guanine nucleotide-exchange factor) is kötődnek a membránba ágyazott recep-



2. ábra • A LIF kiváltja a mitogén-aktivált kináz (MAPK) jelút aktiválódását is. A foszforilálódott receptorhoz kötődő adaptor fehérjék (Grb2, Sos) a membrán belső felszínén kialakuló „szignáloszómába” vonzzák a mitogén-aktivált jelút protein kinázait, a Ras-t és a Raf-ot, lehetővé téve egy foszforilációs kaszkád megindulását. A lánc végén álló ERK aktiválódás után a magba kerül, ahol génaktivitást szabályozó fehérjék működését módosítja: új génaktivitási mintázatot alakít ki.

tor citoplazmába nyúló végén kialakuló fehérjekomplexhez. A Sos membránközeli elhelyezkedése aktiválja a Ras-t, ami egy foszforilációs kaszkádot indít el: Ras a Raf-ot, az a MEK-et, a MEK az ERK-et aktiválja. Ezek a protein kinázok számos fehérjét foszforilálnak a citoplazmában, ami hozzájárul a sejt állapotának megváltoztatásához, de a döntő lépés az aktivált ERK magba kerülése. Itt ugyanis a fehérje olyan transzaktiváló fehérjéket foszforilál, mint a Myc, az SRF vagy az Elk, amelyek aztán gének tucatjainak aktivitását változtatják meg.

A nyájas olvasó itt már reménykedhetne, hogy nem kerül sor további jelátviteli utak ismertetésére, de sajnos, hiába. Az aktivált gp130-hoz ugyanis kapcsolódik egy foszfatáz is, az SHP-2 (ami a foszfát csoportokat eltávolítva visszaalakíthatja a receptort eredeti állapotába). Persze az SHP-2 is átesik eközben a foszforiláción (tulajdonképpen ide kötődik a Grb2, nem közvetlenül a gp130-hoz), ezáltal kölcsönhatásba tud lépni a *Gab-1*-en keresztül a PI3K lipid-kinázzal (3. ábra).



3. ábra • Az aktivált LIF receptorhoz még egy foszfatáz is kapcsolódik (SHP-2, ez képes a receptort visszaalakítani eredeti, inaktív formájába). A Gab-1 fehérjén keresztül ez teszi membránkötötté és aktiválja a foszfolipid-kinázt (PI3K). Az utóbbi működése nyomán a membrán foszfatidil-inozitoljaiból PIP_3 keletkezik, ami „kapaszkodót” biztosít a jelút enzimei számára, stabilizálja a szignálszómát, és sejtosztódást kiváltó, anti-apoptotikus jelek kialakulását segíti elő.

A receptor-aktiválódást követően így a PI3K is membrán-kötötté válik, és a membránalkotó foszfolipidek egyikét, a foszfatidil-inozitolt (PI) foszforilálja. A keletkező PIP_3 mitogén hatású: számos protein kinázt (PDK, Akt/PKB, szerin-treonin kinázok) membrán-kötötté alakít és/vagy aktivál. Ezek az aktivált kinázok fontos szabályozó szerepet játszanak olyan életfontosságú folyamatokban, mint a sejtciklus szabályozása, az apoptózisra való hajlam meghatározása, de hatással vannak az egész anyagcserére. (A PI3K nagyon hatásos termékét több enzim is próbálja „eltakarítani”. A PTEN és a SHIP nevű foszfatázok (eltérő helyekről) lehasítanak egy-egy foszfátcsoportot a PIP_3 -ról. Mivel a PI3K féktelen aktivitása gyakran megfigyelhető tumoros sejtekben, a PTEN enzimet joggal tekinthetjük tumorszuppresszornak.) A PI3K működése során keletkező foszforilált lipidekhez kötődnek a fentebb említett SHP-2-Gab1-Grb2-Ras komplex pleckstrin-homológia (PH) doménnel rendelkező tagjai, ami a jelgeneráló „szignálszóma” stabilizálódásához, a jel felerősödéséhez vezet.

A LIF tehát két, ellentétes hatású folyamatot indít el, a differenciálódást gátló STAT3 aktiválódást és a differenciálódást kiváltó Ras-ERK utat. Ez általánosnak tekinthető a citokinek által kiváltott jelátviteli folyamatokban, ahol az egyes jelutak egymással ellentétes és egymást erősítő hatásokkal is rendelkeznek. A Ras-ERK jelút gátlása ES sejtekben fokozza a LIF totipotenciát őrző hatását, bár nem pótolja a STAT3 út hatását. A Ras út egyes tagjainak delécioja, az ERK-vel ellentétes hatású foszfatázok túlermelletése azonban képes megakadályozni vagy legalábbis gátolni az ES-sejtek későbbi differenciálódását. Az ES-sejtek sorsa tehát attól függ, milyen eredményre vezet a LIF-receptor gp130 alegységének aktiválódásából eredő JAK/STAT3 út vetélkedése a sejt felszíni receptorok (köztük a LIF-receptor) által kiváltott Ras-ERK út eredményességével.

Az őssejtek azonban „manipulálják” a két út eredményességét. Kizárólag az őssejtekben figyelték meg a Gab-1 egyik sajátos variánsának a termelődését. Ez a molekula nem tartalmazza a PH domént, ami a membránhoz való kapcsolódását biztosítaná. Ez a Ras komplex stabilitásának csökkenéséhez és az ERK út versenyképességének gyengüléséhez vezet az ES sejtekben. Szintén az őssejtekre jellemző a SHIP foszfatáz egyik *splice*-variánsa, amelyből hiányzik az SH2 domén, így nem tudja gátolni a PDK, majd a következő kináz, a PKB/Akt működését. Ezek, a *kizárólag őssejtekre jellemző* fehérjevariánsok eltolják az egyensúlyt a STAT3 út, az elkötelezettség irányába.

A mikrokörnyezet hatása nagyon fontos. A sztrómasejtek által termelt citokinek, növekedési faktorok mindkét irányban befolyásolhatják az őssejteket – a szervezet igényeinek megfelelően. Az egyes, STAT3 aktiválást kiváltó citokinek, például a trombopoetin (Tpo) képesek fokozni a LIF hatását vagy helyettesíteni azt. Ha azonban a jelen levő mitogén faktorok receptorainak aktiválódása következtében a Ras út „kerekedik felül” az ES sejtek megfordíthatatlanul megindulnak a differenciálódás útján.

Elég megdöbbenő, de ismereteink jelenlegi állása szerint az őssejtek toti-, illetve pluripotenciája szinte teljes egészében egyetlen transzkripciós faktor jelenlétére vezethető vissza. A fejlődő embrióban az *Oct4* faktor kifejeződése és aktivitása meggyőző párhuzamot mutat a sejtek fejlődési potenciáljával, egy idő után az *Oct4* jelenléte csak a totipoten sejtekben (inner cell mass, epiblast) mutatható ki, a *gasztruláció* után pedig aktivitása a germinális sejtekre korlátozódik, elnémul a szomatikus sejtekben. A POU transzkripciós faktor családba tartozó (POU domain, class 5, transcription factor 1) és az *octamer* transzkripciós motívumokhoz kötődő *Oct4* termelését az *anyai szervezet* kezdi meg, hogy ellássa vele a megtermékenyítetlen petesejteket, majd az embrió sejtjei veszik

át a szintézist. A fehérjét kódoló POU5F1 gén null mutánsaiban („knock out” eger) az *Oct4* hiányában az embrió nem tud a *blasztociszta* állapotnál tovább fejlődni, és az embrionális őssejtek elvesztik totipotenciájukat. Az őssejtek differenciálódása az extraembrionális *trofoblasztok* irányára korlátozódik, ugyanakkor, az *Oct4* termelő őssejtek hiányában a trofoblasztok szaporodása is korlátozódik. Ez utóbbi folyamat megfordítható, ha az *Oct4* által bekapcsolt egyik gén termékét, az FGF-4-et (fibroblast growth factor-4) a sejtek rendelkezésére bocsátjuk.

A differenciálódást kiváltó szabályozó elemek és faktorok hatását általában bináris rendszernek tekintik (kikapcsol/bekapcsol), az *Oct4* esetében azonban a fehérje szintjének pontos kontrollja szükséges. Az *Oct4* hiánya, mint tárgyaltuk, az őssejt-jelleg elvesztését okozza, viszont a normális, pluripotenciát fenntartó koncentrációjánál két-háromszor magasabb szintek a sejtek *differenciálódását* váltják ki primitív endodermális és mezodermális irányba! Szükség van tehát a fehérje szintjének precíz szabályozására, ami egyúttal az is gallingja, hogy a transzkripciós szabályozás felettébb komplex mechanizmusokat alkalmaz, ahol kritikus egyensúlyok fenntartása elengedhetetlen. Az *Oct4* mellett mostanában derült fény egy másik, őssejtekre jellemző transzkripciós faktor szerepére. A kelta mítoszok örökijainak országáról (Tir nan Og) Nanognak elnevezett fehérje túltermeltetése esetén a sejtek nem igénylik az LIF kiváltotta Stat-3 aktivációt, szinte képtelenek differenciálódni. A Nanog más jelúton keresztül hat, mint a LIF, hiánya (null mutáció) endodermális differenciálódást okoz.

A sejtciklus szabályozása

Mint korábban láttuk, vannak olyan fehérjék, mint például a STAT3 dimer, a Myc, az SRF vagy az Elk transzkripciós faktorok, amelyek a

gének szabályozó régióihoz kötődve képesek azok aktivitását meghatározni. Különböző sejtípusok jellemző transzkripciósi faktor-mintázatokat mutatnak – ez határozza meg az illető sejtekben kifejeződő fehérjék halmazát, azt, hogy a sejt milyen tulajdonságokkal rendelkezik, milyen feladatokra képes. A differenciálódási lépések során természetesen folyton változik a szabályozó faktorok mintázata is. Roppant érdekes kérdés, hogy az ES sejtek mely faktoroknak köszönhetik különleges sajátágaikat.

A sejtciklus szabályozása minden testi sejtben azonos mechanizmusokkal történik. Két meghatározó lépés áll rendkívül szoros szabályozás alatt: a DNS-szintézis megindulásának, az S fázisnak a kezdete (G^0/G^1 fázisból), majd a mitózisra való felkészülés. Az első kontroll az indokolatlan sejtosztódást előzi meg: csak akkor szabad a sejtnek szaporodnia, ha a szervezetnek szüksége van arra. A második ellenőrzési pont a szervezet genetikai egységére ügyel: a mitózisra csak akkor kerülhet sor, ha a genom hibátlanágát őrző molekuláris mechanizmusok nem mutatják ki mutációk, kromoszómaaberrációk jelenlétét.

Az S fázis megkezdésének szabályozásában a retinoblasztóma fehérjének (RB) és rokonságának (p107, p130) van meghatározó szerepe. A nyugvó fázisra jellemző, kevésbé foszforilált RB erősen köti az E2F családba tartozó faktorokat, amelyek jelenléte szükséges lenne az S fázis beindításához elengedhetetlenül fontos fehérjék szintéziséhez. A növekedési faktorok és egyéb mitogének receptoraikkal kölcsönhatva aktiválják a korábban tárgyalt MAP kináz jelutató (Ras-ERK) és kiváltják a PI3K membrán-asszociációját. E folyamatok eredményeképpen aktiválódnak a ciklinekből és ciklin-szabályozott kinázokból (cyclin dependent kinases – CDKs) álló komplexek, amelyek lépésenként foszforilálják az RB-t. A ciklin D/CDK4 vagy CDK6 aktivitása nyomán az

RB „fogságából” kezdenek kiszabadulni az E2F fehérjék, amelyek elindítják a *cyclin E* és a *cdc25A* gének működését. A *cdc25A* foszfatáz megszabadítja gátló foszfát-bilincseitől a CDK2-t, ami a ciklin E-vel összefogva befejezi az RB foszforilációját. Az E2F fehérjék teljes szabadulása az S fázisba való belépéshez szükséges valamennyi fehérje génjének kifejeződéséhez vezet.

A lépés fontosságának megfelelően, van egy sor további szabályozómechanizmus is. A korábban említett Myc, amit a mitogén-aktivált protein kinázok ERK útja aktivál, közvetlen hatást fejt ki a *cyclin E* és a *cdc25A* gének működésére. Ez az út az előbbivel párhuzamosan fut, és szinergizál azzal. Két cerberus, két tumor szuppresszor fehérje tartja szemmel a fenti pozitív szabályozómechanizmusokat: a p16^{ink4a} és a p27^{kip1}. Az előbbi gátolja a ciklin D/CDK4/6 aktivitását, az utóbbi (egy 27 kDa fehérje, amelyet korábbi kollégánk, Polyák Kornélia fedezett fel huszonhét éves korában) a ciklin E/CDK2 aktivitását képes blokkolni. A p16 és p27 aktiválódását kiváltja a kontaktgátlás, a szeneszcencia, de számos növekedésgátló faktor vagy a növekedési faktorok hirtelen megvonása is. (Ezeknek a szabályozómechanizmusoknak a mutációja vagy hiánya szinte valamennyi daganatsejtben megfigyelhető.)

Az ES sejtekben a G_1 fázis igen rövid, kb. 80-100 perc. Különös módon ez alatt a foszforilálatlan vagy alulfoszforilált RB jelenléte gyakorlatilag kimutathatatlan. Valószínűnek látszik, hogy az RB szinte a mitózis után azonnal visszafoszforilálódik, ami felveti annak a kérdését, hogy vajon az őssejtek sejtciklusában betölt-e egyáltalán szabályozó szerepet az RB (vagy a p107). Az RB kontroll kiiktatása az őssejtekben két szempontból is logikusnak tűnhet. Egyrészt az embrionális fejlődés kezdeti szakaszaiban értelmetlen lenne a proliferáció negatív szabályozása, hiszen a sejtszámnak minél előbb el kell érnie azt a kritikus értéket, ami a gasztrulá-

cióhoz szükséges. A másik érv az RB más jellegű szabályozó aktivitása miatt merül fel: a kevéssé foszforilált RB komplexet képes alkotni olyan transzkripciósfaktorokkal, mint a MEF2, az NF-IL6, a MyoD vagy a C/EBP κ , amelyek jellegzetes, differenciálódási lépéseket kiváltó „főkapcsolók”. Ha az RB nem szabályozza a sejtciklust, akkor foszforilált maradhat, és ekkor nem fenyegeti a sejtet a differenciálódás veszélye.

Az embrionális fibroblasztokban (és más nem-tumor sejtekben) ha konfluens állapotba kerülnek, vagy öregedő tenyészeteket vizsgálunk, a p27 és a foszforilálatlan RB felhalmozódását figyelhetjük meg, lecsökkent ciklin D szintek mellett. Mindezek a sejtek G fázisban való megrekedését okozzák. Az ES sejtekben nincs kontakt gátlás, a sejtek immortalizált sejtek módjában viselkednek, és nem mutatják a fent leírt változásokat. Az a tény, hogy az ES sejtekben a p16 éppúgy nem gátolja a sejtosztódást, mint azokban a tumorsejtekben, amelyekben az RB működésképtelen, az RB család ES ciklust szabályozó szerepe ellen szól. A legnyomósabb érvnek azonban az látszik, hogy amint megindul az ES sejtek differenciációja, a p16 gátló aktivitása azonnal kimutathatóvá válik. Mindezek alapján feltételezhető, hogy az ES sejtekben a pluripotens állapot időtartama alatt az RB szabályozó szerepére nincs igény.

A vérképző őssejtek esetében a napokban találták meg azt a „főkapcsolót”, amely az önmegújításért felelős. Egy korábban már leírt proto-onkogén, a (*polycomb* fehérjék családjába tartozó) Bmi-1 szabályozó fehérjéről derült ki, hogy működése elengedhetetlen a HSC-k megújulásához. A null mutáns egerek – teljesen normális kezdeti vérkép mellett – két hónap alatt elpusztulnak, ugyanis addigra valamennyi HSC-jük differenciálódik. A Bmi-1 gátolja a p16 és a p19^{Arf} (egy anti-proliferatív, apoptózist elősegítő faktor) termelődését, és fokozza a telomeráz működését. Abnormális

működése kimutatható leukémiában és az emlőkarcinómák jelentős részében.

A sejtosztódás második ellenőrzési pontja a mitózis előtti kontroll. A sejt nem osztódhat sérült genommal, a mutációkat, kromoszómarendellenességeket ki kell javítani (ha ez nem lehetséges, beindul egy önpusztító program). Logikusnak látszik, hogy ennek az ellenőrzési pontnak őssejtekben is működni kell, hiszen itt nem a szaporodás szabályzásáról, hanem a genom potenciális károsodásáról van szó. Valóban, a DNS meghibásodása minden további nélkül képes leállítani az ES sejteket a G2/M határon, a p53 fehérje működésével jellemzett genomminőségellenőrzési pont az ES sejtekben is kifogástalanul funkcionál.

„Plaszticitás”, transzdzifferenciáció, „lopakodó őssejtek”

A szomatikus őssejtekkel kapcsolatos egyik legizgalmasabb jelenség az, hogy egy adott őssejtípus nemcsak egyetlen szövetféleség sejtjeit képes pótolni, hanem számos irányban differenciálódhat. Ezt nevezik az őssejtek *plaszticitásának* (pejoratívabban *lineage infidelity*-nek). Még mehökkentőbb az a feltételezés, mely szerint az őssejtek képesek *transzdzifferenciálódni*, átlépni a „csíralemez-barriert”, azaz megoldótni látszik a fejlődésbiológiának az adott szövetek kizárólagos csíralemez-eredetére vonatkozó dogmája. Így például a mezoderális HSC-kkel történő transzplantáció után graft eredetű endoderális májsejteket, valamint ektoderális laphám-, és egyes központi idegrendszeri sejtípusokat tudtak kimutatni, illetve leírtak központi idegrendszeri és harántcsíktolt izom eredetű őssejtekből kiinduló vérképzést is.

Bár a fenti megfigyelések többsége állatkísérletekből származik, úgy tűnik, a jelenség emberben is létezik. *Allogén* HSC-átültetést követően kimutattak donor eredetű, nem vérképzőszervrendszeri elemeket, például Y kromoszómát egy csontvelő-recipient hölgy szív-

izmából infarktus után, máj és vese-epítél sejtekké differenciálódott donor HSC-ket. A jelenleg természetes körülmények között is folyhat: működő májsejtekké differenciálódtak leukémiasejtek, a leukémiára jellemző kromoszómaátrendeződés árulkodó jeleivel (egyes leukémiasejtek őssejtekként viselkednek).

Ismerve azokat a szekvenciális változásokat, amelyek a differenciálódás során bekövetkeznek a DNS és hisztonok módosításaiban, illetve a transzkripció faktorok mintázatában, nehéz elképzelni a differenciálódás megfordulását vagy irányváltoztatását. Ezért más magyarázatok is születtek: a *nem HSC-eredetű* vérképzés esetében lehetséges, hogy a vérképzésért a beültetett izom-, illetve központi idegrendszeri őssejtekkel *együtt* bevitt HSC-k a felelősek, tekintve, hogy a vérképző szervrendszeri őssejtek elvileg minden szövetben előfordulhatnak. Hasonló átszeny-nyezés más esetben is előfordulhat, hisz nem ismerjük a szöveti őssejtek mobilitását, és igen keveset tudunk titkos „búvóhelyeikről” is.

Más hipotézis szerint a szomatikus őssejteknel megfigyelhető plaszticitás az adott szomatikus progenitor sejt és egy, a pluripotenciát kölcsönző embrionális *őssejt fiziójával* magyarázható. Sejtek fúziója valóban kimutatható, számos tumorsejt típus kimondottan hajlamos a fúzióra, azonban számos kísérleti tény ellene mond ennek a teóriának.

Még egy hipotézist tárgyalunk, a *chiaroscuro* modellt, ami az őssejtek és *progenitor sejtek* hierarchiáján alapul. Az éretlen őssejtől az érett, differenciált sejtig számos közbeiktatott alakon, *progenitor* és *prekurzor* sejteken át vezet az út. A szomatikus őssejtek meglepően ritkán osztódnak (így őrzik meg

genomjuk épségét); a differenciálódás előrehaladtával a sejt szám növekedése az intermedier alakok nagyszámú osztódása révén valósul meg (*augmentáció*). A hipotézis szerint az őssejt és az egyes progenitor sejtek átalakulása, egyre fokozódó *elköteleződése* nem szigorúan egyirányú, irreverzibilis lépés, hanem ezen sejtek egy egységes populációnak tekintendők, ahol a sejtek fenotípusa a sejt ciklustól és a környezeti hatásoktól függően, a szervezet igényeinek megfelelően a „valódi” őssejt és az „egyre elkötelezettebb” progenitor állapotok között *fluktuálhat*, fenotípusa a mikrokörnyezettől függően, fényárnyék módjára változhat. Az elméletből következik, hogy a nem-szinkronizált sejt populációban a potenciális őssejtek egy része „lopakodó”, azaz nem kimutatható őssejt (*masked* vagy *stealth stem cell concept*).

Bámi is álljon is a jelenség hátterében, annyi bizonyos, hogy ha valóban létezik az őssejt-plaszticitás, akkor az az őssejt genetikai programjának hihetetlenül rugalmas, pontos és gyors áthangolását feltételezi, gének garmadáinak szigorúan koreografált ki- és bekapcsolásával. A plaszticitás elképzhető távlatokat nyitna meg az őssejtek terápiás felhasználása terén, ezért kicsit félő, hogy a reménykedés, a *wishful thinking* néha árnyalni tudja a kutatók objektivitását. Szerencsére az őssejtkutatás óriási iramban fejlődik, napjaink ellentmondó megfigyelései rövidesen letisztulnak, és bele fognak illeni egy izgalmas új tudományterület egészébe.

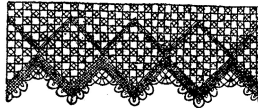
Kulcsszavak: *őssejtek, sejt ciklus, differenciáció, plaszticitás, STAT-3, jelátvitel, Oct-4, Nanog, Bmi-1, Rb (retinoblasztoma fehérje)*

IRODALOM

- Marshak, Daniel R. et al. (2001): *Stem Cell Biology*. Cold Spring Harbor Laboratory Press
- Liu, Ying – Rao, Mahendra S. (2003): Transdifferentiation – Fact or Artifact? *Journal of Cellular Biochemistry*. 88, 29-40

- Mayani, Hector (2003): A Glance into Somatic Stem Cell Biology: Basic Principles, New Concepts and Clinical Relevance. *Archives of Medical Research*. 34, 3-15
- Tsai, Robert Y. – Kittappa, Raja – McKay, Ronald D. (2002): Plasticity, Niches, and the Use of Stem Cells.

- Developmental Cell. 2, 707-712
- Zhu, Jiang – Emerson, Stephen G. (2002): Hematopoietic Cytokines, Transcription Factors and Lineage Commitment. *Oncogene*. 21, 3295-3313
- Burdon, Tom – Smith, Austin – Savatier, Pierre (2002): Signalling, Cell Cycle and Pluripotency in ES Cells. *Trends in Cell Biology*. 12, 432-438
- Nichols, Jennifer (2001): Introducing Embryonic Stem Cells. *Current Biology*. 11, R503-R505
- Burdon, Tom – Chambers, I. – Stracey, C. – Niwa, H. – Smith, A. (1999): Signaling Mechanisms Regulating Self-Renewal and Differentiation of Pluripotent Embryonic Stem Cells. *Cells Tissues Organs*. 165, 131-43
- Metcalf, Donald (1999): Stem Cells, Pre-Progenitor Cells and Lineage-Committed Cells: Are Our Dogmas Correct? *Annals of the New York Academy of Sciences*. 872, 289-303



EMBRIONÁLIS ŐSSEJTEK ÉS ŐSSEJT-VONALAK

Gócza Elen

PhD, tudományos munkatárs, csoportvezető; Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont Állatbiológiai Intézet, Embriológiai Laboratórium, Gödöllő – elen@abc.hu

Bevezetés

Az embrionális *őssejt-vonalak* az embrióban található *pluripotens* sejtpopulációból származnak. Az embrionális őssejtek fontos sajátossága, hogy megfelelő tenyésztési körülmények között folyamatosan osztódnak, és az osztódások során is megtartják *pluripotenciájukat*, önmegújuló képességüket. Másik jellemző tulajdonságuk az, hogy ha az optimális tenyésztési feltételek megváltoznak, a sejtek *differenciálódni* kezdenek, és a sejtek *differenciálódni* kezdenek, és a legkülönbözőbb specializálódott sejtípusok képződnek belőlük.

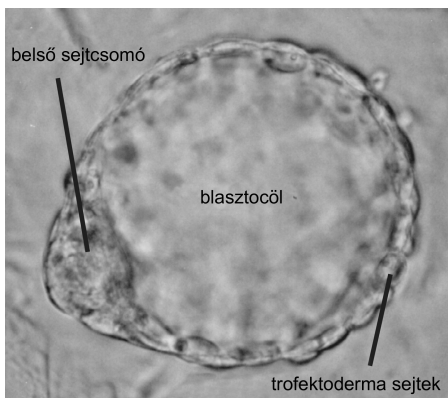
Az *embrionális eredetű őssejteket (ES sejtek)* az embriológiai, sejtbiológiai kutatások számos területén alkalmazzák. Az ES sejteket az embrionális környezetbe visszajuttatva *kiméra* egereket lehet létrehozni, amelyek minden szövetében megtalálhatók lesznek az ES sejtek utódsejtjei, még az ivarsejtek között is, így az ES sejteken végzett genetikai módosítások az ivarsejteken keresztül az utód nemzedékekbe is átadódhatnak. Genetikailag módosított, *transzgénikus* ES sejtek segítségével lehetségessé vált számos, az önmegújulásban, sejt-sejt kölcsönhatásban, sejt-elköteleződésben és a differenciálódásban szerepet játszó gén működésének megértése.

ES sejtvonalat nemcsak egér, hanem más állatfajok embrióiból kiindulva is létre lehet hozni. Humán embrióból kiindulva is sikertült pluripotens sejtvonalat alapítani. A humán ES sejtekkel végzett kutatások

nagy lendületet adtak az ES sejteket *in vitro* vizsgáló kísérleti technológiák fejlődésének. A humán ES sejtekkel folytatott kutatások mára egyre jelentősebbé váló iránya, az ES sejtek *in vitro* differenciálódási képességének tanulmányozása lett. Az *in vitro* differenciálódás során lejátszódó folyamatokat megismerve, feltérképezve az ES sejtek nélkülözhetetlen eszközzé válhatnak a gyógyszerkutatásokban, illetve a *sejttranszplantációs* kísérletekben.

Pluripotens őssejt-vonalak típusai

A hólyagcsíra (*blasztula*) állapotú embrióban már két eltérő fejlődési képességgel rendelkező sejtípus található (*1. ábra*): a belső sejtsomó sejtjei (Inner Cell Mass – ICM) illetve a *trofektoderma* sejtek.

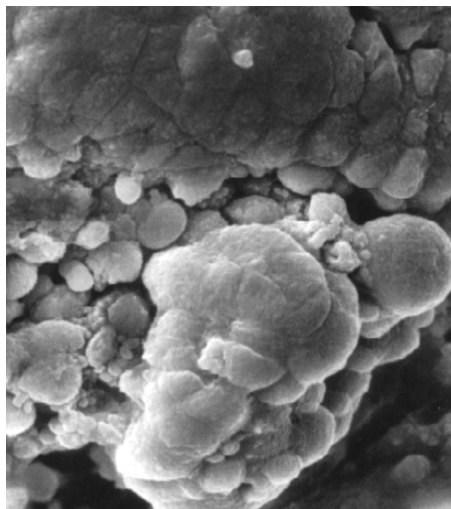


1. ábra • Hólyagcsíra (blasztula) állapotban levő egérembrío

Az ICM sejteit *pluripotens*nek tekintjük, belőlük az embrió kialakító csíralemezek (*ektoderma*, *endoderma* és *mezoderma*) mindegyike kialakulhat. A *trofektoderma* sejtek korlátozott fejlődési képességgel rendelkeznek, ezekből a sejtekből csak a külső magzatburkok és a méhlepényt alkotó sejtek jöhetnek létre. Az embrióban található *pluripotens* sejtek osztódásának eredményeként hozzájuk hasonló *pluripotens* *össejtek*, illetve bizonyos fejlődési irányba már elkötelezett sejtek: a *szöveti össejtek* alakulnak ki. A szöveti össejteket *multipotens*nek tekintik, mivel ezek nem képesek csírasejtek vagy más néven ivarsejtek (petesejtek és hímivarsejtek) kialakítására.

Az első *pluripotens* össejt-vonalak létrehozásához az egér *teratokarcinómákkal* végzett kutatások vezettek. A *teratokarcinómák* olyan tumorok, amelyek az ivarmirigyekben keletkeznek, számos differenciálódott szövetípust lehet azonosítani bennük, de megtalálható ezeken a tumorokon belül egy nem-differenciálódott sejtpopuláció is. Ezekből a *pluripotens* sejtekből lehetett az úgynevezett *embrionális karcinóma-vonalakat* (Embryonal Carcinoma – EC) létrehozni (Robertson, 1987). Az EC sejteket hólyagcsíra állapotú embrió belsejébe juttatva *kiméra* embriók és magzatok hozhatók létre. A *kimérákban* az EC eredetű sejtek minden szövetben, szövetféleségben megtalálhatók voltak. Az ES sejtek in vitro differenciáltatása során megfigyelhető változások megfeleltethetőek voltak az *in vivo* fejlődés során zajló differenciálódási lépéseknek, így az ES sejtek jó modellrendszerként szolgáltak a korai embrionális fejlődés folyamatának tanulmányozására. Az EC sejtek alkalmazásának azonban határt szabott az, hogy az EC sejtvonalak sejtei gyakran tartalmaztak kromoszómarendellenességeket.

Pluripotens sejtvonalakot hólyagcsíra állapotú embrióból kiindulva is létre lehet hozni. Gail Martin, illetve Martin Evans egy-



2. ábra • Egér ES sejtkolónia elektronmikroszkópos képe.

mástól függetlenül, 1981-ben új *pluripotens* sejtvonaltípus létrehozásáról számolt be (Martin et al., 1981; Evans et al., 1981). Az eredmény olyan *diploid embrionális eredetű sejtvonalt* (Embryonic Stem Cell – ESC, ES sejt) (2. ábra) lett, aminek sejteiből a felnőtt szervezet mindenféle szövet- és sejtípusa kialakulhatott, még ivarsejtek is létrejöttek ES sejtekből kiindulva.

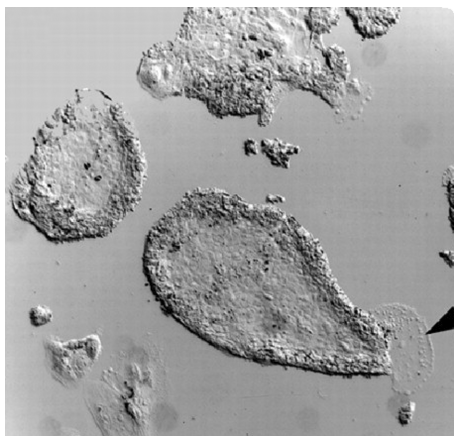
1992-ben Brigitte Hogan és kollégái az ősvarsejtekkel (csírasejtek; Primordial Germ Cell – PGC) végzett kísérletek eredményeként arról tudósítottak, hogy közvetlenül ezekből a sejtekből kiindulva is létre lehet hozni az ES sejtvonalkhoz hasonló fejlődési képességgel rendelkező sejtvonalkat: ezek az úgynevezett *ősvarsejt eredetű sejtvonalak* (Embryonic Germ – EG). Ezeknek a sejteknek a differenciálódási képessége sok tekintetben megegyezett az ES sejtekével, azonban számos, az *imprinting* által érintett gén *expressziójának* mértéke eltért a normális szinttől (Matsui et al., 1992).

Az ES sejtek tenyésztési paramétereinek módosításával sikerült az ES sejtekből kiindulva egy újabb *pluripotens* sejtpopulációt

kialakítani. Az így alapított sejtvonalat *primitív ektodermaszerű sejtvonálnak* (Early Primitive Ectoderm Like – EPL) nevezték el (Rathjen et al., 1999). Az EPL sejtek *génexpressziós* mintázata, valamint az in vitro és in vivo differenciálódási képessége alapján, az EPL sejtek *primitív ektoderma* sejtekre jellemző tulajdonságokat mutatnak. Az ES és EPL sejtvonalak összehasonlító vizsgálata lehetőséget teremt azoknak a géneknek a tanulmányozására, amelyek szerepet játszanak az ICM sejtek *primitív ektoderma* sejtekké történő alakulásában.

Még egy igen érdekes embrionális eredetű sejtvonalat szeretnék bemutatni. Az ún. *trofoblaszt eredetű sejtvonalak* (Trophoblast Stem – TS) a *trofektoderma* sejtekből hozhatók létre (3. ábra).

A TS sejtek, az ES sejtekhez hasonlóan, képesek bekapcsolódni a magzati fejlődés menetébe, ha hólyagszóra állapotú embrióba injektálják azokat. A TS sejtek azonban már elkötelezett sejtek, és a *trofoblaszt* sejtek differenciálódási mintázatának megfelelően differenciálódnak, így a belőlük származó sejtek a méhlepény kialakításában vesznek részt, nem képesek a magzat embrionális szöveteinek kialakítására (Tanaka et al., 1998).



3. ábra • Egér TS-sejt kolóniák

Az ES sejtvonalak jellemzői

Néhány kutató úgy gondolja, hogy olyan formában, ahogy a sejtenyésztésben megismertük az ES sejteket, azok nem fordulnak elő magában az embrióban. Az ES sejtek sok mindenben hasonlítanak az embrióban előforduló *pluripotens* sejtekre, de mégsem azonosak azokkal (Smith et al., 2001).

Más elméletek szerint maga az embrió is tartalmaz őssejteket. Ezeknek a sejteknek az osztódása az, amely azután minden felnőtt szöveti sejtet létrehoz. Ezek az őssejtek izolálhatók, felszaporíthatók, és ezekből megfelelő tenyésztési feltételek mellett folyamatosan osztódó sejteket tartalmazó sejtvonalatok lehet létrehozni. Ma még nem ismerjük részleteiben azt, hogy valóban mi is történik a sejtvonala alapítása folyamán az embrióban található *pluripotens* sejtekkel, azonban ahhoz, hogy egy ES sejtvonala valóban *pluripotensnek* tekinthessünk, számos, jól meghatározott feltételnek kell megfelelniük a sejtvonalaknak. Az 1. táblázatban foglaltam össze azokat az ismérveket, amelyek alapján eldönthető, hogy valóban pluripotens ES sejtvonallal rendelkezünk-e.

ES sejtek in vivo differenciálódási képessége

Ha az ES sejteket *immunodeficiens, scid* egerek bőre alá vagy vesetokjába juttatják, a beinjektált sejtek olyan *teratoma* tumorokat hoznak létre, amelyekben mindhárom embrionális csiralemezből származó differenciálódott sejtek megtalálhatóak lesznek.

Ha azonban az ES sejteket gazdaembrióba injektálják vagy nyolcsejtes gazdaembrióval *aggregáltatják*, az ES sejtek beépülnek gazdaembrió embriócsomójába. Az embrionális környezetbe visszakerülve, a valóban pluripotens ES sejtek differenciálódni kezdenek, s a normális embrionális fejlődés folyamatába bekapcsolódva a legkülönbözőbb sejtfeleségekké alakulnak. Az ES sejtvonalból származó sejtek a megszülető ES kiméra állat

minden szöveteleségében megtalálhatók lesznek, így az ivarsejtek között is.

Tetraploid gazdaembriók alkalmazásával lehetett igazolni, hogy az ES sejtek képesek kialakítani a magzat minden embrionális eredetű szövetét, és életképes, sejtvonal eredetű utódokat lehet létrehozni. Mivel a *tetraploid* embriókban az *extraembrionális* részek normálisan fejlődnek, de a magzat embrionális részei nem alakulnak ki, az embrió elpusztul. Megfigyelték, hogy *tetraploid* és *diploid* embriókból összeállított kiméra embriókban főleg a *diploid* sejtek vettek részt a magzat kialakításában. ES sejteket alkalmazva, a magzat embrionális részében az ES sejtek domináltak, és olyan életképes utódok születtek, amelyek minden sejtje sejtvonal eredetű volt, a *tetraploid* embrióból származó *extraembrionális szövetek* jelenléte csak segítette a normális embrionális fejlődést (Nagy et al., 1991).

Transzgenikus ES sejtvonalak létrehozása, alkalmazási lehetőségei

Az ES sejtek azon képessége, hogy fertilis ivarsejtekké tudnak alakulni, új lehetőségeket tárt fel az egér molekuláris genetikában. Az ivarsejt kimérák ES eredetű ivarsejtjein keresztül a genetikai módosítások az utód nemzedékekbe is átjutnak, így a genetikai változtatás hatásának megfigyelése generációkon át is lehetségessé válik.

A genetikai módosítás során alkalmazott *DNS-vektorokat* a legtöbb esetben *elektroporáció* segítségével juttatják be az ES sejtekbe. Az *elektroporációt* követően az ES sejtek milliói veszik fel egy időben a DNS-t. Ha a DNS-vektor *szelekciós markert* is tartalmaz, akkor *szelekciós médiumot* alkalmazva csak azok a sejtek maradnak életben, amelyekbe az *exogén* DNS beépült. A *transzformált* ES sejtek nem veszítik el *pluripotenciájukat*, továbbra is képesek a legkülönbözőbb sejtípusokká differenciálódni, s a legtöbb esetben a kiméra állatok ivarsejtjei között is meg lehet

találni azokat, így a *transzgént* örökítik az utód nemzedékre is (Joyner et al., 2002). A *transzgenikus egerek* létrehozása olyan hasznos modellrendszert ad a kezünkbe, amelynek segítségével fontos gének, illetve a génműködést szabályozó, *reguláló* elemek működése is megismerhetővé válik.

ES sejtek in vitro differenciálata

Az ES sejtek differenciálódását több módon is indukálni lehet. Általában a letapadást elősegítő anyagokkal kezelt felszínű tenyésztőedény megakadályozza az ES sejtek spontán differenciálódását. Nem kezelt felszínű tenyésztőedényben, szuszpenzióban; vagy függőcseppekben tartva az ES sejteket, azok kis *aggregátumokká*, EB csomókká állnak össze. Ezekben az *aggregátumokban* kialakuló sejt-sejt közötti kölcsönhatások révén a sejtek indukálódnak, és az indukció eredményeként differenciálódni kezdenek (Rohwedel et al., 1994).

Növekedési faktorokat juttatva a tenyésztő médiumba, speciális gének aktiválódnak a sejteken belül, ami speciális irányú in vitro differenciálódás kezdetét jelentheti. Megpróbálkoztak azzal is, hogy transzgeneket bejuttatva az ES sejtekbe, célzott irányú differenciálódást indukáljanak. Megfelelő konstrukciókat találva a *transzgen expresszióját* térben és időben pontosan lehetne szabályozni.

Néhány biztató eredményről már beszámoltak a kutatók. ES sejtekből kiindulva sikerült differenciálódott, a szervezetben is megtalálható sejtekkel azonos módon működő sejteket létrehozniuk. Az ES sejtek in vitro képesek *dopamint* és *szero-tonint* termelő idegsejtekké, szívizommá, a vérerek hámsejtjeivé (*endotel* sejtekké), a hasnyálmirigy inzulint *szekretáló* sejtjeivé differenciálódni.

Néhány hónapja Karin Hübner és munkatársai (Hübner et al., 2003) megdöbbentő eredményt tettek közzé, amellyel azt bizonyí-

tották, hogy az ES sejtek nem *pluripotensnek*, hanem *totipotenseknek* tekinthetők. Azért tartották az ES sejteket „csak” *pluripotensnek*, mert azokból az embrió *extraembriionális* részei már nem alakulhattak ki. Hübner csoportja azonban kidolgozott egy olyan *in vitro* differenciálási módszert, amelynek segítségével az egér ES sejtek *in vitro* képesek *oogóniummá* fejlődni, és belépve a *meiózis* folyamatába, a hozzájuk kapcsolódó sejtek segítségével *follikulus* (tüsző)-szerű struktúrákat alkotnak. Megfigyeltek *zona pellucidával* körülvett petesejteket és *blasztulaszerű* képződményeket is (megtermékenyülés nélkül, *partenogenezissel* képződő embriók), amik már ICM és *trofektoderma*-szerű struktúrákat is tartalmaztak. Ezzel igazolták, hogy az ES sejtek képesek *trofektoderma* sejtek létrehozására is.

Gerincesek embrióiból származó pluripotens őssejt-vonalak

Az egér embriionális eredetű őssejt-vonalakhoz hasonló ES sejtvonalak alapításáról több emlős faj esetében is beszámoltak. Hórcsőg-, szarvasmarha-, amerikai nyérc-, majomembrióból kiindulva is sikerült ES jellegű sejtvonalakat alapítani. Az így létrehozott sejtvonalak sejtei lassan osztódtak, rövid időn belül differenciálódni kezdtek, így nem voltak alkalmasak *transzgénikus* sejtvonalak, így *transzgénikus* állatok létrehozására sem.

Patkány-, nyúl- és sertésembrióból kiindulva ugyan sikerült olyan ES sejtvonalat létrehozni, amelynek sejteit gazdaembrióba injektálva ES kiméra állatokat kaptak, azonban az így megszületett *kiméra* állatok közül egyik sem volt ivarsejt *kiméra*. Hal- illetve tyúkembrióból kiindulva sikerült valóban *pluripotens*, ivarsejt *kiméra* képzésére is alkalmas sejtvonalakat létrehozni, ezek gyakorlati alkalmazása azonban még várat magára.

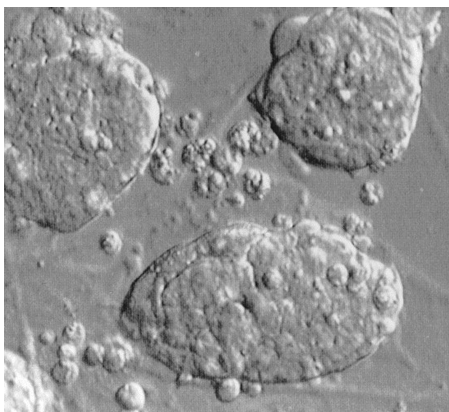
1995-ben James Thomson csoportjának sikerült rhesusmajom (*Macaca mulatta*) és selyemmajom (*Callithrix jacchus*)-embrióból

kiindulva ES sejtvonalat létrehozni. Ezek a sejtvonalak *diploidok* voltak, széles differenciálódási képességgel rendelkeztek, mindhárom embriionális csíralemez sejteit képesek voltak létrehozni.

Humán embriókból származó pluripotens őssejt-vonalak

James Thomson és munkatársai 1998-ban számoltak be arról, hogy sikerült létrehozniuk humán ES sejtvonalakat olyan fel nem használt hólyagcsíra állapotú embriókból, amelyeket az *in vitro* megtermékenyítést követően nem ültettek vissza, hanem kutatási célokra adományoztak. A humán ES sejtvonal létrehozásának módja az egér ES sejtek esetében alkalmazottakhoz nagyon hasonlított, de a létrejött ES sejtvonalak a majom ES sejtvonalakra jellemző *fenotípussal* és sejtfelszíni *markerekkel* rendelkeztek (Thomson et al., 1998). Michael Shambloott és kollégái 1998-ban *pluripotens* EG sejtvonalat hoztak létre abortált öt-kilencetves magzatok ivarmirigyekben található ősvarsejtekből (Shambloott et al.) (4. ábra).

Mind a humán ES, mind a humán EG sejtvonalak megtartják normál *kariotípusukat*. *Telomeráz* aktivitást mutatnak, ami azt jelzi, hogy ezek *immortalizált* sejtvonalak. Humán ES sejtvonalak hosszú ideje sike-



4. ábra • Humán EG-sejt kolóniák

resen tartanak fenn sejttenyészetekben, széles in vitro differenciálódási képességgel rendelkeznek, míg a humán EG sejtvonalak sejtjei lassabban osztódnak, nehezen differenciálthatók in vitro, fejlődési képességük behatárolt, így inkább a humán ES sejtvonalaknak alkalmazása terjedt el.

Humán embrionális ES sejtek fontos szerepet játszhatnak majd a szövetpótlás területén, illetve hasznos eszközt jelenthetnek a korai embrionális fejlődés tanulmányozásában is. A humán ES sejtek (HES) sok mindenben hasonlítanak az egér ES sejtekre (MES). Ma már, az egér sejtvonalakhoz hasonlóan, jó hatékonysággal tudnak új humán ES sejtvonalakat létrehozni, bár a MES sejtek pluripotenciájának megőrzését eltérő növekedési faktorok alkalmazásával érik el. A MES sejtek azonban sokkal gyorsabban osztódnak, mint a HES sejtek. Sikertült lenti-vírussal, különböző *transzformáló ágensekkel* és *homológ rekombinációval* is *transzgenikus* humán ES sejtvonalakat létrehozni (Zwaka et al., 2003), de a módszerek hatékonysága ma még nem éri el a kívánt szintet.

Nagy kérdés, hogy a közeljövőben számíthatunk-e arra, hogy in vitro differenciáltással olyan jól szabályozott körülményeket tudnak létrehozni, ami lehetővé teszi azt, hogy ES sejtekből kiindulva csak az adott sejtípust tartalmazó szövetek alakuljanak ki, illetve, hogy az indukált sejtek differenciálódása térben és időben annyira rendezett módon történjen, hogy működő szerveket hozhassanak létre in vitro.

Az őssejtkutatók általában egyetértenek abban, hogy az ES sejtek legfőbb alkalmazási területe az orvosi kutatásokban nem feltétlenül a sejttranszplantációs kísérletekben lesz, hanem inkább a célzott mutációkat tartalmazó HES sejtek tanulmányozása fog előtérbe kerülni. Az ES sejtek célzott irányú in vitro differenciálódása során tanulmányozhatóvá válik a genetikai *mutációk* okozta betegségek létrejöttének, illetve gyógyításának mechanizmusa (Brivanlou et al., 2003). Mivel a HES célzott genetikai módosítása még nem működik jó hatékonysággal, új HES sejtvonalakat kellene alapítani rákos, cukorbeteg, autoimmun betegségben szenvedő, allergiás,

1. táblázat • Pluripotens embrionális őssejt-vonalakat jellemző sajátosságok összefoglalása

- Hólyagsúra állapotú embrió embriócsomójából származnak.
- Képesek folyamatosan osztódni anélkül, hogy differenciálódnának.
- Stabil, diploid kromoszómakészlettel rendelkeznek.
- Mindhárom csíralemez sejtje létrejöhet belőlük in vitro differenciálódás során.
- Képesek beépülni hólyagsúra állapotú embrió embriócsomójába, ott tovább osztódnak, differenciálódnak, bekapcsolódnak az embrionális fejlődés mentébe. Kiméra embriót, kiméra állatot képesek létrehozni.
- Utódsejtjei képesek bekerülni a kiméra állat ivarsejtjei közé is, beépülve a csírasejt-vonalba hím, illetve női ivarsejtet képesek létrehozni.
- „Klónozható”, ami ebben az esetben azt jelenti, hogy egyetlen ES sejtől kiindulva létre lehet hozni genetikailag azonos sejtek halmazát, újabb ES sejttenyészeteket.
- Oct-4 transzkripciósi faktor jelenléte mutatható ki a pluripotens sejtekben.
- Külső faktorok hozzáadásával befolyásolni lehet az ES sejtek osztódását, és indukálni lehet differenciálódásukat is.
- Az ES sejtek nagyrészt a sejtciklus S fázisában tartózkodnak, nem szükséges külön külső inicializáció ahhoz, hogy a DNS replikációja megtörténjen a sejtekben.
- Az ES sejtekben nem figyelhető meg X-kromoszóma inaktiváció.

Parkinson-kóros betegek szöveteiből. Ezeket az újonnan alapított HES sejt vonalakat lehetne aztán alkalmazni az adott betegségek tanulmányozására, illetve az ezeket a betegségeket gyógyító hatóanyagok tesztelésére. Ezek az új sejt vonalok azonban csak *terápiás célú klónozást* alkalmazva jöhetnének létre. A *terápiás klónozás* alkalmazásának szükségszerűsége azonban még a kutatók körében is igen vitatott, mivel számtalan etikai problémát vet fel.

Bár jelenleg a humán ES sejtek in vitro és in vivo differenciálódási képességét vizsgáló

kutatások támogatása került előtérbe, fontos cél, hogy egy napon sikerülhessen egy olyan módszer kidolgozása, amellyel lehetővé válik a humán sejtek átprogramozása anélkül, hogy humán embriókat kelljen elpusztítani. Ehhez mind a szöveti őssejtek fejlődési potenciáljának felderítését célzó kutatásokat, mind a nem humán embrionális sejtekkel végzett vizsgálatokat támogatni kell.

Kulcsszavak: *pluripotens sejt vonalok, őssejtek, kiméra embrió, transzgénikus állatok, in vitro differenciálódás*

IRODALOM:

- Bradley, Allan – Evans, M. J. – Kaufman, M. H. – Robertson, E. (1984): Formation of Germ-Line Chimaeras from Embryo-Derived Teratocarcinoma Cell Lines. *Nature*. 309, 255-256
- Brivanlou, Ali H. – Gage, F. H. – Jaenisch, R. – Jessell, T. – Melton, D. – Janet Rossant (2003): Setting Standards for Human Embryonic Stem Cells. *Science*. 300, 913-916
- Capecchi Mario R. (1989): Altering the Genome by Homologous Recombination. *Science*. 244, 1288-1292
- Evans, Martin J. – Kaufman, M. H. (1981): Establishment in Culture of Pluripotential Cells from Mouse Embryos. *Nature* 292, 154-156
- Hübner, Karin – Fuhmann, G. – Christenson, L. K. – Kehler, J. – Reinbold, R. – De La Fuente R. – Wood, J. – Strauss, J.F. 3rd, Boiani, M. – Scholer, H.R. (2003): Derivation of Oocytes from Mouse Embryonic Stem Cells. *Science* 300, 1251-1256
- Joyner, Alexandra L. (1991): Gene Targeting and Gene Trap Screens Using Embryonic Stem Cells: New Approaches to Mammalian Development. *Bioessays*. 13, 12, 649-656
- Martin, Gail R. (1981): Isolation of a Pluripotent Cell Line from Early Mouse Embryos Cultured in Medium Conditioned by Teratocarcinoma Stem Cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 78, 7634-7638
- Matsui, Y. – Zsebo Krisztina – Hogan, Brigid L. M. (1992): Derivation of Pluripotential Embryonic Stem Cells from Murine Primordial Germ Cells in Culture. *Cell*. 70/5, 841-7
- Nagy András – Góczy E. – Merentes, D. E. – Prideaux, V. R. – Iványi E. – Markkula, M. – Rossant, J. (1990): Embryonic Stem Cells Alone Are Able to Support Fetal Development in the Mouse. *Development*. 110, 815-821
- Rathjen, Joy – Lake, J.A. – Bettess, M.D. – Washington, J. M. – Chapman, G. – Rathjen, P.D. (1999): Formation of a Primitive Ectoderm Like Cell Population, EPL Cells, from ES Cells in Response to Biologically Derived Factors. *Journal of Cell Sci*. 112, 601-612
- Robertson, Elizabeth J. (1987): *Embryo-Derived Stem Cell Lines in Teratocarcinomas And Embryonic Stem Cells a Practical Approach*. IRL Press, Oxford, 108-112
- Rohwedel, Jürgen – Maltsev, V. – Rober, E. – Arnold, H. – Hescheler, J. – Wobus, A. (1994): Muscle Cell Differentiation of Embryonic Stem Cells Reflects Myogenesis in Vivo: Developmentally Regulated Expression of Myogenic Determination Genes and Functional Expression of Ionic Currents. *Developmental Biology*. 164, 87-101
- Shambloott, Michael J. – Axelman, J. – Wang, S. – Bugg, E. M. – Littlefield, J.W. – Donovan, P. J. – Blumenthal, P. D. – Huggins, G. R. – Gearhart, J. D. (1998): Derivation of Pluripotent Stem Cells from Cultured Human Primordial Germ Cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 95, 13726-13731
- Smith, Austin (2001): Embryonic Stem Cells. in: Marschak, Daniel R. – Gardner, Richard L. – Gottlieb, David (eds.): *Stem Cell Biology*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 205-230
- Tanaka, Satoshi – Kunath, T. – Hadjantonakis, A. K. – Nagy A. – Rossant, J. (1998): Promotion of Trophoblast Stem Cell Proliferation by FGF4. *Science*. 282, 2072-2075
- Thomson, James A. – Iskovitz-Eldor, J. – Shapiro, S.S. – Waknitz, M. A. – Swiergiel, J. – Marshall, V. S. – Jones, J. M. (1998): Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts. *Science*. 282, 1145-47
- Zwaka, Thomas P. – Thomson, James A. (2003): Homologous Recombination in Human Embryonic Stem Cells. *Nature Biotechnology*. 21, 3, 319-21

ŐSSEJTEK ÉS A KLÓNOZÁS LEHETŐSÉGEI

Dinnyés András

az MTA doktora, Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, Gödöllő, Állatbiológiai Intézet
Mikromanipulációs és Genetikai Újraprogramozási Csoport; MTA/SZIE Alkalmazott Állatgenetikai
és Biotechnológiai Kutatócsoport, Gödöllő – dinnyes@abc.hu

Mi is a klónozás?

Az elmúlt évek nagy feltűnést és reményt keltő tudományos áttörései között a biológia területén az őssejtkutatással versenyezve jelennek meg a „klónozás” sikereiről és gyakran nehézségeiről szóló hírek. A *klón* genetikailag azonos élőlények összességét jelenti. Az identikus (egypetés, monozigotikus, esetleg embriófelezéssel létrehozott) ikrek klónoknak tekinthetők, mivel genetikailag azonos egyedek. A *sejtmagátültetéses klónozás* esetében a kétélűekben elért sikerek ellenére emlősökben a kezdeti eredmények kiábrándítóak voltak. Az áttörést juhban (Wil-ladsen, 1986) érték el, ahol sejtmagdonorként nyolc-tizenhat sejtés embriók sejtjeit, recipiensként pedig DNS tartalmától megfosztott (enukleált) petesejteket használva sikerült utódokat előállítani.

Az új eredmények rendkívüli érdeklődést keltettek a tudományos közösségben. Korai (beágyazódás előtti stádiumú) embriókból az 1980-as évektől kezdődően más fajokban (egér, nyúl, kecske, sertés) is sikerrel állítottak elő sejtmagátültetéses klónokat. Magyarországon Mosonmagyaróváron, osztrák segítségével juhokat állítottak elő ezzel a módszerrel, valamint a gödöllői Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpontban is hasonló kutatások folytak szarvasmarha-embriók felhasználásával (Dinnyés et al., 1997). Az embrió eredetű sejtmagátültetéses klónozás módszerével, a klónozott emb-

riók több klónozási cikluson keresztül „újra-felhasználásával”, egy embrióból kiindulva akár százkilencven embrió is nyerhető (hat-generációs klónozás). Azonban a harmadik klónozási generáció után a további klónozott embriók átültetéséből nem születtek utódok, jelezve a rendszer biológiai és technológiai korlátait. Az eljárás hatékonysága szarvasmarha esetében viszonylag magas volt, de a gazdasági felhasználást jelentősen korlátozta a klónozással előállított borjak szokásosnál nagyobb mérete, amely gyakran ellési nehézségekhez vezetett, valamint a jelentős születés utáni elhullás. Ennek okai a legutóbbi vizsgálatok szerint inkább az embriók előállítására használt *in vitro* rendszer tökéletlenségében és rendellenes génműködésváltozásokat indukáló hatásában keresendők, mintsem magában a klónozási folyamatban.

A nehézségek miatt a kutatók figyelme a *totipotens* (minden sejtípusú alakulni képes) sejtvonalak előállítása felé irányult, amely a klónozási technikával kombinálva a *transzgenikus* állatok előállításában ígért áttörést. Az embrionális eredetű totipotens őssejtvonalak egérben viszonylag könnyen előállíthatóak, és emberben, valamint rhesus vagy bundermajomban is sikerült ilyen sejtvonalak alapítása. Gazdasági használatokban azonban a stabil, nem differenciálódó totipotens őssejtvonalak előállítása igen nehéz, és noha szarvasmarhában, nyúlban, valamint sertésben sikerült néhány utódot nyerni ilyen sejtekből, a sejtvonalak fenntar-

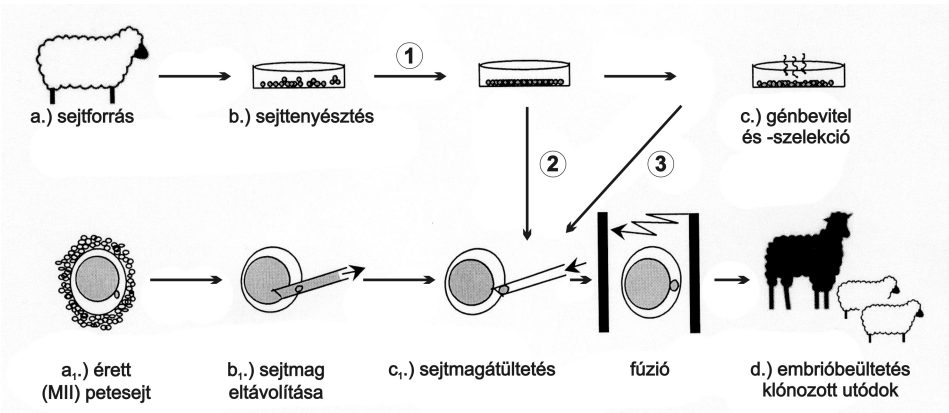
tása és az eredmények megismételhetősége nem megbízható.

Sejtmagátültetési klónozás testi sejtekből

1997-ben az össejtkutatás nehézségeivel küzdő kutatókat meglepte a tudományos áttörés híre, bárányok előállítására *differenciálódott* testi sejtekből. Magzati kötőszövet (fibroblaszt) és felnőtt egyed emlő-hámsejtjeiből egyaránt sikerült sejtmagátültetéssel utódokat előállítani (Wilmut et al., 1997). Dolly, az első *felnőtt testi sejt*ből létrehozott emlős esetében az eljárás hatékonysága 0,4 %-os volt. Ezzel megdőlt egy dogma, azaz, hogy a felnőtt, differenciálódott sejtek genetikai anyaga már nem alkalmas teljes, új szervezet létrehozására. Dolly után más fajok esetében is (szarvasmarha, egér, kecske, sertés, macska, nyúl, gaur, banteng, muflon, öszvér, ló, afrikai vadmacska; összefoglaló cikket lásd Dinnyés et al., 2002) sikerült élő utódokat nyerni testi sejtekből.

A fenti összetett módszer magas szintű technikai felkészültséget igényel (in vitro maturációs és kultivációs rendszer, mikromanipulációs és sejtfúziós felszerelés), részleteit az 1. ábra mutatja be.

A folyamat egyes lépéseinek pontos időzítése, a háttérben folyamatosan zajló komplex biológiai folyamatok miatt nagy jelentőséggel bír. Ezen biológiai folyamatok számos ponton részleteikben még nem ismertek. Az újabb ismeretek szerint a befogadó petesejt citoplazma és a donor sejtmag állapotának szinkronja meghatározó jelentőségű ahhoz, hogy a citoplazma újraprogramozhassa a bejuttatott sejtmag genetikai anyagát, és az ismét totipotenssé váljon (Campbell et al., 1996). Az eredmények ellenére a technológia még gyerekcipőben jár, és számos problémával kell szembenézni. Egy recipiensbe általában a szokásosnál több (sertésben esetenként akár százötven!) embriót ültetnek, tekintettel a klónozott embriók alacsony megta- padási arányára. A vetélések magas aránya, a megszülető borjak és bárányok nagy mérete, illetve a klónozott utódok gyakori korai elpusztulása a gyakorlati felhasználás fő akadályai. Ezen problémák pontos oka még nem ismert, de alapvetően technikai gondokra és genom újraprogramozási hiányosságokra vezethetők vissza (Wilmut et al., 2002).



1. ábra • A sejtmagátültetési klónozás kulcsfontosságú lépései: 1) sejtzölálás különböző testi sejt forrásokból, sejtenyésztés; 2) sejtmagátültetés korai sejtenyésztetből; 3) tartós sejtenyésztet, ami lehetőséget ad a génmanipulációra.

Nőstény sejt-donor esetében az X-kromoszóma inaktiváció rendellenességei is felelősek lehetnek egyes magzatok pusztulásáért (Xue et al., 2002). A „Dolly” esetében megfigyelt ún. *teloméra* génszakasz rövidülése, ami idő előtti öregedés jele lehet (Shiels et al., 1998), más fajokban nem nyert megerősítést (Tian et al., 2000). „Dolly” esetében az öregedési folyamat korai kezdetére utalhatott egy enyhe ízületi gyulladás, azonban ennek pontos okát nem sikerült felderíteni. Az öregedési folyamat alaposabb megfigyelésére sajnos ez esetben nem nyílt lehetőség, mivel „Dolly” hat és fél éves korában áldozatul esett egy klónozástól független retrovírus fertőzésnek (tüdő adenomatózis, jazszierte betegség).

A testi sejtes klónozás sikere világosan bizonyította, hogy a felnőtt testi sejtek is lényegesen rugalmasabbak a genetikai újraprogramozás terén, mintsem azt korábban feltételezték. Ezen felfedezés megtermékenyítő hatást gyakorolt az őssejtkutatásra is, ahol a dogmák egy részétől megszabadult kutatók meglepetéssel tapasztalták, hogy a felnőtt szervezetben található *szomatikus (szerspecifikus) őssejtek* más szervekbe átültetve szintén sokoldalúan átalakulhatnak a helyi sérült szövetet pótolni képes prekursor, majd differenciálódott sejtekké. Ennek részleteivel e kiadvány más fejezetei részletesebben foglalkoznak.

Klónozás és őssejtkutatás

A sejt-magátültetési klónozás története más szempontokból is szervesen összefügg az őssejtkutatással. A klónozás alapkérdése a genetikai újraprogramozás folyamata, amelynek során az egyedfejlődés során kialakult ún. *epigenetikus* változások „letörlődnek”, majd újraíródnak a sejt-mag genetikai anyagán. A klónozással kapcsolatban gyakran megjelenő fejlődési rendellenességek, és az alacsony hatékonyság gyökere a gének működését meghatározó epigenetikus

újraprogramozás tökéletlenségében eredeztethető. Ennek közvetett bizonyítéka az, hogy a klónozott állatok természetes módon fogant és megszületett utódaiban a szülők rendellenességei nem jelentkeznek. Mivel az ivaros szaporodás során a természetes folyamatnak megfelelően az epigenetikus (és a klónozás miatt esetleg hibás) génszabályozási információk letörlődnek, majd újraíródnak, az ilyen jellegű hibák eltűnnek az utódokból.

Annak megértése, hogy mely faktorok játszanak szerepet a genetikai újraprogramozásban, nemcsak a klónozás hatékonyságát javítaná, hanem forradalmasíthatná az őssejtkutatást is, mivel a genetikai újraprogramozást végző petesejten belüli faktorok valószínűleg képesek lennének arra, hogy petesejttől független közegben is átalakítsák a sejteket, és testi sejtekből „univerzális őssejteket” állítsanak elő. Lehetséges, hogy ne csak a petesejteknek, hanem például az embrionális őssejteknek is vannak ilyen faktoraik. Ebben az esetben embrionális őssejt-kivonatok is segíthetnek a genetikai újraprogramozásban.

A klónozás iránti érdeklődés egyik „szenzációt keltő” eleme a *terápiás klónozás* perspektívája. Ez esetben emberi, felnőtt testi sejteket sejt-magátültetési DNS-donorként használva hólyagcsíra-stádiumú embriót lehetne létrehozni, majd ebből őssejteket izolálni. Ezen őssejtek alkalmasak lennének egyéni sejt- és szövetpótlási valamint *gén-terápiára*, mivel a sejt-magdonor személy szervezetéből nem löködnének ki. A terápiás klónozást az országok többségében a törvényhozás és a tudományos közélet sem ellenzi, tekintettel a gyakorlati felhasználás rendkívüli perspektíváira, noha gyakorlati alkalmazására, a számos technológiai nehézség miatt, még nem került sor. Ez a módszer céljaiban és lépéseiben alapvetően eltér az általános és szakmai közvélemény által egyaránt elítélt, klónozott csecsemők létrehozá-

sáról fantazmagóriákat gyártó „humán reprodukciós klónozástól”. Az emberi reprodukciós klónozás a világ országainak nagy többségében törvénybe ütközik, valamint szakmai szempontból is felelőtlen cselekedet lenne, mivel a jelenlegi ismeretszinten az epigenetikus újraprogramozás hibái lényeges egészségügyi kockázatot jelentenének a megszülető gyermekek számára.

A terápiás klónozás felé vezető úton érdekes kísérlet volt egy amerikai próbálkozás, amikor szarvasmarha-petesejtekből a maganyagot eltávolítva ezeket humán testi sejtek recipienseként használták (Lanza et al., 1999). Az így előállított embriók fejlődésnek indultak, de a blasztociszta stádiumig nem jutottak el. Ezen lépések túl kínai kutatók, amikor nyúl petesejteket használva a humán sejtmagot tartalmazó „kiméra” embriók blasztociszta stádiumig jutottak, majd ezekből embrionális össejteket izoláltak (Chen et al., 2003). Az eredményeket több kutató is megkérdőjelezte, és ezen sejtek differenciálódási képessége és hosszú távú fenntarthatósága még nem bizonyított. Amennyiben működik, ez a módszer esetleg könnyebben elérhetővé teheti az egyedi össejt-terápia orvosi alkalmazását. De a gyakorlati alkalmazás előtt még mindenképpen számos biztonsági és etikai kérdés vár majd tisztázásra.

Tévhit a klónozásról – a módszer haszna és lehetőségei

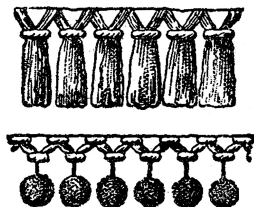
A sejtmagátültetéses klónozással kapcsolatban elterjedt egyik tévhit az így előállított utódok „pontos másolat” mivolta. Ez több okból sem fedi a valóságot. Elsősorban, a folyamat során a DNS hordozója az átültetett sejtmag, ugyanakkor a recipiens petesejtben az eredeti mitokondriális DNS jelen marad. Ennek következtében mitokondriumai genetikai anyagában a „klónozott” élőlények egymástól és a kiindulási sejtmagdonortól egyaránt eltérnek. További különbségeket okoz a

genetikai újraprogramozás már említett folyamata, amely a meglévő gének működését jelentősen megváltoztatja. A végső különbségekhez hozzáadódik az embriókat befogadó „anya”-szervezet, melynek terhesség alatti állapota szintén egyedi különbségeket indukál a fejlődő magzatban. Mindezekből következik, hogy a sejtmagátültetéssel előállított állatok között jelentős különbségek fedezhetőek fel, tehát valójában nem is igazi „klónok”. Mégis, a nehézségek és technológiai korlátok ellenére miért lehet fontos az állatok testi sejt „klónozása”?

A sejtmagátültetéses klónozásnak, mint technológia rendszerek nagy jövője lehet a *transzgenikus állatok* hatékony létrehozásában. Transzgenikus állatok esetében a genetikai anyag egy új vagy megváltoztatott működésű gén bevitelével, illetve egy jelen lévő gén kicserélésével vagy „kiütésével” (működésképtelenné tételével) megváltoztatásra kerül. Ez jelenleg általában úgy történik, hogy a génkonstrukciókat a zigóták előmagvába injektálják, ez azonban nem teszi lehetővé a gének beépülésének pontos irányítását. Egérben az össejtvonalak megléte lehetővé teszi a „halhatatlan” sejtvonalak hatékony genetikai módosítását, ami nemcsak a beépült és kifejeződő genetikai anyagú sejtek kiválogatását teszi lehetővé, hanem egyben utat nyit a finomabb, *homológ rekombináción* alapuló módszerek alkalmazásához.

A transzgenikus gazdasági haszonállatok előállítását jelentősen megnehezíti, hogy a zigóták előmagvába injektált DNS beépülése, kifejeződése és az injektált embriók túlélése alacsony hatásfokú (0,5-1 % transzgenikus egyed). Az ezzel kapcsolatos költségek igen magasak. Az injektálásos módszerrel csak DNS hozzáadására van lehetőség. A sejtvonalakra épülő klónozás alkalmazásával haszonállatok esetében lényegesen csökkenthető a transzgenikus egyedek előállítási költsége, valamint a testi sejttenyésztetek

- Oocytes. *Cell Research*. 13, 251-263
- Denning, Chris – Burl, S. – Ainslie, A. – Bracken, J. – Dinnyés A. – Fletcher, J. – King T. – Ritchie, M. – Ritchie, W. R. – Rollo, M. – De Sousa, P. – Travers, A. – Wilmut, I. – Clark, A. J. (2001): Deletion of the $\alpha(1,3)$ Galactosyl Transferase (*GGT1*) Gene and the Prion Protein (*Prp*) Gene in Sheep. *Nature Biotechnology*. 19, 559-562
- Dinnyés. András. – Bodó Sz.– Solti L. (1997): Production of Cloned Hatched Blastocysts from in Vitro Produced Bovine Morulae in Hungary. Proc. 8th European Congress on Biotechnology, 17-21 Aug, 1997, Budapest, No. MO6208.
- Dinnyés András – De Sousa, P. – King, T. – Wilmut, I. (2002): Somatic Cell Nuclear Transfer: Recent Progress and Challenges. *Cloning Stem Cells*. 1, 81-90
- Lanza, Robert P. – Cibelli, José B. – West, Michael D. (1999): Human Therapeutic Cloning. *Nature Medicine*. 5, 975-977
- McCreath, Kenneth J. – Howcroft, J. – Campbell, K. H. – Colman, A. – Schnieke, A. E. – Kind, A. J. (2000): Production of Gene-Targeted Sheep by Nuclear Transfer from Cultured Somatic Cells. *Nature*. 405, 1066-1069
- Shiels Paul G. – Kind A. J. – Campbell K. H. – Waddington D. – Wilmut I. – Colman A. – Schnieke A. E. (1999): Analysis of Telomere Lengths in Cloned Sheep. *Nature*. 399, 316-317
- Tian, X. Cindy – Xu, Jie– Yang, Xiangzhong (2000): Normal Telomere Lengths Found in Cloned Cattle. *Nature Genetics*. 26, 272-273
- Willadsen, Steen M. (1986): Nuclear Transplantation in Sheep Embryos. *Nature*. 320, 63-65
- Wilmut, Ian – Schnieke, A. E. – McWhir, J. – Kind, A. J. – Campbell, K. H. S. (1997): Viable Offspring Derived from Fetal and Adult Mammalian. *Nature*. 385, 810–813.
- Wilmut, Ian – Beaujean, N. – De Sousa, P. – Dinnyés A. – King, T. J. – Paterson, L. A. – Wells, D. N. – Young, L. E. (2002): Somatic Cell Nuclear Transfer. *Nature*. 419, 583-587
- Xue Fei – Tian, X. – Du, F. – Kubota, C. – Taneja, M. –é. – Dinnyés A. – Dai, Y. – Levine, H. – Pereira, L. V. – Yang, X. (2002): Aberrant Patterns of X Chromosome Inactivation in Bovine Clones. *Nature Genetics*. 31, 216-220



A FELNŐTT ÖSSEJTEK – VÉRKÉPZŐ ÉS EGYÉB SZÖVETI ÖSSEJTEK

Uher Ferenc

Dr. habil., tudományos főmunkatárs, Országos Gyógyintézeti Központ Össejt-biológia
uher@ohvi.hu

Bevezetés

Az embrionális fejlődés korai stádiumában a sejtek még *minden irányban* képesek differenciálódni. A felnőtt szervezetben erre már csak kisszámú, ún. szöveti össejt, és az is csak részben képes. Ezek a szöveti össejtek fontos szerepet töltenek be a sérülések regenerációjában és a folyamatosan megújuló szövetek (például a vérképzőrendszer) fiziológiai működésében. Sorsukat a közvetlen környezetükből, az össejt-niche-ből érkező proliferációs, differenciációs és túlélési jelzések határozzák meg. A folyamat mechanizmusa azonban mindmáig tisztázatlan. A felnőtt szöveti össejtek ugyanis különböző fejlődési irányokba képesek differenciálódni, sokszor még fejlődéstanilag nem rokon típusokká is át tudnak alakulni. A központi idegrendszerből például olyan idegi össejtek izolálhatók, amelyek fiatal embrióba oltva mindhárom csíralemez (ekto-, endo- és mezoderma) irányába képesek differenciálódni. A csontvelői stróma és/vagy vérképző össejtekből pedig – a vesejteken és strómán kívül – idegsejtek és gliasejtek, váz- és szívizomrostok, valamint májsejtek is keletkezhetnek. Ha infarktuson átesett egerek szívébe autológ csontvelőt oltanak, az állatok elhalt szívizomrostjainak hatvan-hetven százaléka kilenc nap alatt regenerálódik. A csontvelőtranszplantált betegek májsejtjeinek egy-két százaléka általában donor eredetű (Anderson, 2001; Bianco – Robey, 2000;

Weissman et al., 2001). Szinte hetente olvashatunk ilyen és ehhez hasonló szenzációs eredményekről a *Nature*, a *Science* és más vezető tudományos folyóiratok hasábjain, nem is beszélve a napisajtóról és az elektronikus médiáról. Lassan már úgy vetődik fel a kérdés, hogy: a szervezetben vajon – kis túlzással – bámből bámi keletkezhet (Morrison, 2001)? Ez természetesen nem így van, de a szöveti össejtek plaszticitásának jellege és mértéke az össejtbiológia egyik legizgalmasabb kérdése.

Összefoglalómban nem tárgyalom szisztematikusan, mindenre kiterjedően a különböző típusú szöveti össejtek sajátosságait és plaszticitását, inkább általános törvényszerűségek megfogalmazására törekszem, amelyek alátámasztására elsősorban a vérképző, az izom- és az idegi össejtek (egér és ember) életéből mutatok be jellemző példákat. Amikor a fejlődéstani összefüggések megértése azt indokolja, még az ecetmuslinca (*Drosophila melanogaster*), a fejlődés- és molekuláris biológusok egyik kedvenc kísérleti állata is szóba kerül. Szeretném tehát az össejteket *fejlődéstani kontextusban* (is) bemutatni, kiemelve azt, hogy mit csinálnak (feltehetően) a szöveti össejtek általában a szervezetben, és mire képesek vagy inkább kényszeríthetők, extrém körülmények (*in vitro* kultúra, idegen mikro környezet stb.) között. Azaz megpróbálom elválasztani a valóságost a lehetségestől.

In medias res

A szervezetben nagyon kevés szöveti őssejt van. A csontvelőben kb. minden 10^5 magvas sejtől egy lehet *vérképző őssejt*. Az ideg- és izomszövetben még megbecsülni sem tudjuk az idegi és *izom-őssejtek* előfordulásának arányát, részben mert olyan kevés van belőlük, részben mert nagyon jól rejtőzködnek. Kevés – és nem szomatikus – őssejt az, ami morfológiailag megkülönböztethető a környezetétől. Felszíni markereik alapján is csak a vérképző őssejteket tudjuk helyel-közzel azonosítani és viszonylag eredményesen izolálni. Úgy véljük, hogy az idegi őssejtek – pontosabban egy részük vagy egy szubpopulációjuk – a *subventricularis* (az oldalsó agykamrák alatti) zónában és/vagy magában az *ependymában*, az agykamrákat bélelő hámrétegben található. Az izom őssejteket valószínűleg az izomrostokhoz szorosan kötődő ún. *kísérő* (satellit) *sejtek* között kell keresnünk.

Szerencsére néha az őssejtek is elárulják magukat. Mind a csontvelőben, mind az enzimatikusan feltárt izomszövetben van egy kis sejtpopuláció, amelynek tagjai – a többi sejthez képest – alig jelölődnek egy Hoechst 33342-es nevű fluoreszcens festékkel. Ez az ún. szegély (side) populáció, amely áramlási citométer segítségével könnyen szeparálható, rendkívül gazdag vérképző illetve izom őssejtekben. A jelenség magyarázata az, hogy az őssejtek nagyon sok multidrogon-rezisztencia fehérjét expresszálnak, és így gyorsan el tudják távolítani a festékmolekulákat a sejtek belsejéből.

Kérdés, hogy más szöveti őssejtek esetén is beválk-e ez a módszer? Ez különösen az idegi őssejtek esetében lenne érdekes, hiszen ezeknek a sejteknek tisztítása és jellemzése még megoldatlan. Gyakorlatilag minden kísérleti munkában az enzimatikusan feltárt idegszövetből in vitro kultúrában – epidemális növekedési faktor (EGF) jelenlétében – növekedésnek induló kompakt sejtaggregátumokat, a

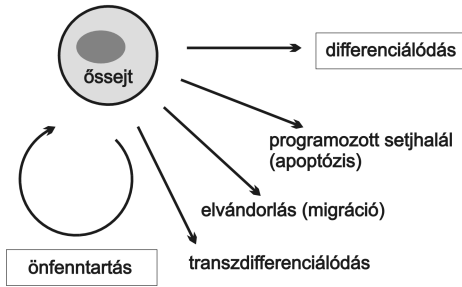
neuroszférákat, illetve a belőlük származó multi- vagy inkább pluripotens őssejteket használják idegi őssejtekként. (A neuroszférák anyasejtjei, az ún. szféraképző sejtek lennének a tulajdonképpeni idegrendszeri őssejtek). Tény, hogy a neuroszférákból származó sejtek – szemben például a vérképző vagy más szöveti őssejtekkel – EGF jelenlétében jól szaporodnak és korlátlan ideig életben tarthatók in vitro kultúrában. Szöveti őssejt voltukat azonban nagyon sokan kétségbe vonják, ami rengeteg vita forrása. A szöveti őssejtek jelenlétét egy sejtpopulációban tehát változatlanul csak transzplantációval, a megfelelően előkészített recipiensbe ültetett sejtek önfenntartó és differenciálódási képességének megfigyelésével lehet egyértelműen igazolni (Anderson, 2001; Dorshkind, 2002; Dzierzak, 2002).

Döntéskényszer az őssejt-kompartmentekben

Egy-egy szöveti őssejtnek nagyon sokféle *döntést* kell hoznia a szervezetben. Az első és legfontosabb, hogy életben maradjon-e (szükség van-e rá) vagy elpusztuljon? Ha életben marad, milyen életutat válasszon? Osztódás vagy differenciálódás, helyben maradás vagy elvándorlás? Mi legyen az osztódás során keletkező leánysejtek sorsa? Továbbéljenek-e a fejlődésben (differenciálódás), vagy őrizték meg a „fiatalságukat” (önfenntartás)?

A döntéseket az őssejtek hozzák, de mindenképpen meg kell felelniük az adott szövet és az egész szervezet igényeinek – biztosítaniuk kell a homeosztázis fenntartását (1. ábra).

Ez az igény – legalábbis mennyiségileg – nagyon eltérő feladatokat ró az egyes szöveti őssejtpopulációkra. A folyamatosan megújuló szövetek, például a vér fiziológias működése naponta néhányszor 10^{11} új vörösvérsejtet és granulocitát igényel. Ráadásul a vérképző őssejteknek a szervezetet érő



1. ábra • Amit egy szöveti őssejtnek tudnia kell. Az önfenntartáson és differenciálódáson kívül minden szöveti őssejtpopuláció egyensúlyának fenntartásában szerepet játszik a sejtek egy részének szabályozott pusztulása (apoptózis). Az egyedfejlődés korai szakaszában, a magzati élet során, minden őssejt rövidebb-hosszabb vándorutat tesz meg a szervezetben, és legtöbbször (talán minden szöveti őssejt?) a születés után is megőrzi migrációs képességét. Esetleges transzdifferenciálódásukat a sejtek genomjának „nyitottsága”, tehát az általuk megvalósítható genetikai programok sokfélesége teszi lehetővé.

stresszhelyzetekre – fertőzés, sérülés, tartós oxigénhiány stb. – is rugalmasan kell reagálniuk, növelve (vagy néha csökkentve) az érett véresejtek számát a keringésben.

Aligha véletlen, hogy őssejtátültetés után éppen a vérképző rendszer regenerálódik a leggyorsabban és a legteljesebb mértékben a recipiens(ek) szervezetében. Ugyanakkor – és ez a másik véglet – az ún. állandósult szövetekben, például a központi idegrendszerben található idegi őssejtek fiziológiás körülmények között szinte észrevehetetlenek. Felnőtt korban új idegsejtek csak kis számban, és valószínűleg csak az agy bizonyos területein (például: *hippocampus*, *bulbus olfactorius*) keletkeznek. (Egyes vélemények szerint ingergazdag környezetben (tanulás?) az átlagosnál valamivel több új idegsejt keletkezik.) A sérült vagy pusztuló idegsejtek pótlására általában nem vagy legfeljebb minimális mértékben képesek. (Az in vitro növesztett

neuroszférákból származó sejtek viszont már a vérképző őssejteknél is nagyobb regenerációs képességgel rendelkeznek)(Dzierzak, 2002; Uher et al., 2003).

Édenkert(ek) a szervezetben: az őssejt-niche

A fentiek alapján az őssejtbiológia kulcskérdése: hogyan választ magának „életpályát” egy őssejt úgy, hogy közben – legalábbis a populáció szintjén – *önfenntartóképességét* is megőrizze? A válasz, amit csak részben ismerünk, az őssejtek mikrokozmoszban keresendő. Az őssejt-niche koncepciója közel harminc évvel ezelőtt a hematológiában alakult ki. Lényege, hogy a vérképző őssejtek és az őket körülvevő csontvelői stroma sejtek, valamint az extracelluláris mátrix egy funkcionális egységet alkotnak. Az őssejt számára ez a *niche* maga az Édenkert, innen kiemelve rövid idő alatt elveszíti önfenntartó képességét, és besugárzott recipiensbe oltva nem képes annak vérképzőrendszerét újratelepíteni (repopulálni). Az őssejt-lét szempontjából kulcsfontosságú a niche-ben termelődő őssejt faktor (stem cell factor – SCF), ami az őssejtek c-Kit receptoraihoz (egy tirozin-proteinkináz receptor) kötődik. Az SCF és receptora, a c-Kit felfedezése óta szinte megszámlálhatatlan citokinnek az őssejtek életére, illetve a vérképzésre gyakorolt hatását írták le. Ezek oldható fehérjék, glikoproteinek, de gyakran kötődnek az extracelluláris mátrixban található proteoglikánokhoz (kondroitin-szulfát, heparán-szulfát stb.). Az így „felfűzött” citokinek multivalens ligandumot képeznek, és keresztköteket hoznak létre az őssejtek megfelelő receptorai között, ami jócskán felerősíti a hatásukat, sőt az FGF például csak ilyen formában aktív.

Az extracelluláris mátrixot alkotó molekuláknak azonban nem csak ez a funkciójuk. Maguk is ligandumai számos *sejtadhéziós molekulának*, amelyek nagy számban fordulnak elő az őssejtek felszínén. A legfon-

tosabbak közülük az integrinek. Funkciójuk nem korlátozódik az őssejtek helyhez kötésére, jelzéseket is eljuttatnak a sejtek belsejébe, amelyek számos különböző – például citokin receptorokat kódoló – gén kifejeződését befolyásolhatják. A számtalan részeredmény ellenére a vérképző őssejtek önfenntartó képességének a titkát még nem sikerült megfejteni. In vitro kultúrában – különböző citokin (SCF, Flt-3, IL-3, IL-6, IL-7, kolónia-stimuláló faktorok, stb.) kombinációk segítségével – osztódásra tudjuk bírni az őssejteket, de ez mindig együtt jár önfenntartó és repopulációs képességük gyors elvesztésével. (Ez ma a génmanipulációs próbálkozások egyik legfőbb akadálya). Jobb, de még korántsem kielégítő eredményeket értek el olyan sejt kultúrákban, amelyek a „hagyományos” citokinek mellett morfogéneket is tartalmaznak.

A *morfogének* pleiotróp hatású fehérjék. Különböző kombinációkban más-más fejlődési programokat képesek aktiválni a fogékony, azaz a megfelelő receptorokat hordozó sejtekben, de van egy másik – legalább ilyen fontos – funkciójuk is. Az egyedfejlődés korai szakaszában a sejtek nemcsak osztódnak és differenciálódnak, hanem egyidejűleg létrehozzák a szövetek és szervek szigorúan meghatározott, rendezett térbeli struktúráit is. Ezt a folyamatot *mintázat-kialakulásnak* (pattern formation) nevezzük. A hibátlan háromdimenziós szerveződés előfeltétele, hogy minden sejt pontos információkkal rendelkezzen saját térbeli helyzetéről, s ennek megfelelően tudjon fejlődni.

A szükséges „pozicionális” információkat *morfogenetikus gradiensek* biztosítják a sejtek számára, amelyek képesek érzékelni az egyes morfogének relatív koncentrációját, azaz – erősen leegyszerűsítve – az adott sejtnek a különböző morfogén forrásoktól (morfogént elválasztó sejtektől) való távolságát. Az egyedfejlődés során tehát a morfogének a fejlődési programok kivitelezői vagy végrehajtói.

A természet egyik csodája, hogy a leg egyszerűbb soksejtű állatoktól az emberig ugyanaz az öt – igaz, egyre nagyobb méretű és egyre több génből álló – multigéncsalád: az *Egf*, az *Fgf*, a *Hedgehog*, a *Tgf* és a *Wnt* által kódolt fehérjék látják el ezt a feladatot. Az egyedfejlődés befejeződése után a legtöbb morfogén, az EGF (epidermális növekedési faktor), az FGF (fibroblaszt növekedési faktor), a Hh (Hedgehog) és a TGF családba tartozó TGF- β (transzformáló növekedési faktor- β), aktív és körülbelül húszféle BMP (csontfejlődést indukáló faktorok), valamint a Wnt fehérjék, részben citokineként – növekedési és/vagy differenciálódási faktoroként – is funkcionálnak tovább a különböző szövetekben.

A többi szöveti őssejt mikrokörnyezetéről alig tudunk valamit, de tény, hogy kiszakítva onnan – a vérképző őssejtekhez hasonlóan – néhány nap alatt elveszítik önfenntartó képességüket. Egyedül az idegi őssejtek lógnak ki – látszólag – a sorból. Valójában nem az egyes őssejtek, hanem a neuroszférák azok, amelyek tartósan életképesek in vitro kultúrában. Egy-egy ilyen neuroszféra pedig egészen sajátos mikrovilág. Több száz sejtből áll, amelyeknek csak egy része klonogén, és valószínűleg még kevesebb rendelkezik önfenntartóképeséssel. A többi – valamivel differenciáltabb – sejt valószínűleg csak ezeknek a túlélését biztosítja. Mindenestre érdemes lenne a neuroszférákat, mint az őssejt-*niche* egy (talán egyetlen) in vitro modelljét (is) tanulmányozni (Watt – Hogan, 2000; Weissman et al., 2001).

Elkötelezettség vagy genetikai promíszkuitás

A következő kérdés az, hogy van-e a szöveti őssejteknek speciális genetikai programjuk. Összehasonlító génexpressziós módszerekkel (DNS-chip technikával) végzett vizsgálatok során mintegy kétszáz-kétszázötven olyan DNS-szekvenciát azonosítottak, amelyek

többféle (embrionális, vérképző és idegi) őssejtben is kifejeződnek. Valamilyen „*őssejt-program*” tehát valószínűleg létezik. A szöveti őssejtek legfőbb „titka” azonban valami egészen más. A legfontosabb fejlődési irányok – haematopoesis, neurogenезis, miogenезis stb. – meghatározásában és (ezeken belül) a különböző sejtfejlődési sorok differenciálódásának szabályozásában – a homeodómén tartalmú fehérjék mellett – mindig kulcsszerepet játszik néhány, alap spirál-hurok-spirál (bHLH) típusú transzkripciós faktort kódoló, ún. „*mester-szabályozó*” gén.

A szöveti őssejtekre viszont a *genetikai promiszkuítás* a jellemző. Genomjuk meglehetősen nyitott, így egyidejűleg számos különböző – más-más fejlődési irány meghatározására képes – mester-szabályozó gént expresszálnak. Mégsem differenciálódnak, mivel egyik mester-gén transzkriptuma (mRNS-e) sem éri el az ehhez szükséges kritikus mennyiséget a sejtekben. (Ugyanez igaz a szöveti őssejtek felszínén expresszálandó morfogén, citokin és kemokin receptorokra is.) A szöveti őssejtek tehát potenciálisan sokféle genetikai program megvalósítására képesek. A döntés, hogy e lehetőségek közül adott esetben melyik realizálódik – azaz milyen irányba kezd differenciálódni a sejt – az elsősorban az őssejt közvetlen környezetéből érkező jelzésektől (morfogének, növekedési faktorok stb.) függ. Ezeket a jelzéseket az őssejt feldolgozza, integrálja, majd meghozza döntését. Lényegében hasonló a helyzet az „*elkötelezett*” *elődsejtek* esetében is. Maga az *elkötelezettség* tehát minden szinten – legyen szó multipotens őssejtekről vagy elődsejtekről – relatív fogalom (Hu et al., 1997; Uher et al., 2003).

Az őssejtek öröklött tánca?

A szöveti őssejtek bevezetőben említett *plaszticitásának* mechanizmusát nem ismerjük. Modelleket tudunk alkotni, amelyek többé-kevésbé megfelelnek a rendelkezé-

sünkre álló adatoknak, de természetesen egyik ilyen modell sem tökéletes vagy kizárólagos. Lehetséges, hogy minden szövetségben vannak olyan rendkívül fiatal, a csíralemezek kialakulása előtti állapotban „szunynyadó” vagy inkább lassan osztódó *pluripotens őssejtek*, amelyek az őket körülvevő mikrokörnyezettől függetlenül még bármilyen irányba képesek differenciálódni. Vérképző, miogén vagy idegi őssejtek helyett tehát inkább a vérképző rendszerben, az izomzatban, a központi idegrendszerben és más szövetekben található őssejtkompartimentekről beszélhetünk, amelyek pluripotens sejteket is tartalmaznak. Ez a modell elsősorban azért vonzó, mert rendkívül egyszerű. Az is kétségtelen, hogy vannak a szervezetünkben olyan – igaz, nem szomatikus – őssejtek, amelyeknek az eredete és fejlődése egyaránt független a három csíralemeztől. Ilyenek például a primordiális csírasejtek.

Jóval merészebbnek tűnik a szöveti őssejtek *de- és redifferenciálódásán* alapuló modell. Főként azért, mert a differenciálódási folyamat(ok) visszafordíthatatlansága sokáig a fejlődéstan egyik alaptörvényének számított. Dolly és a többi klónozott állat megszületése óta erről már nincs szó. Ráadásul a dedifferenciálódás *in vivo* sem ismeretlen jelenség. Jól tudjuk, hogy a halak és kétéltűek egy része képes pótolni elvesztett végtagjait (úszót, lábat). (Emberben ez a regenerációs képesség az utolsó ujjpercekre korlátozódik és azokra is csak nagyon fiatal – egy-két éves – korig.) Feltételezik, hogy a csonkulás helyén a hámsejtek nagy mennyiségű FGF-et termelnek, és a környező izomrostok dedifferenciálódnak. (A gerincesek többségében ez a jeltovábbító út nem vagy csak nagyon fiatal korban működik). Blastéma keletkezik – olyan plasztikus sejtek (őssejtek?) halmaza – amiből hamarosan kifejlődik az új végtag. Csontok, erek, izmok, idegek keletkeznek és mindez dedifferenciálódott izomból (Tsonis, 2000).

Sokak számára mindez nehezen elfogadható, hiszen a normális növekedés és később a fizikai megterhelés – például sport vagy testépítés – során a kísérősejtekből keletkeznek az új izomrostok. Pedig a dedifferenciálódáson alapuló, illetve a kísérősejtekre visz-szavezethető regeneráció és növekedés korántsem zárják ki egymást. Elképzelhető – de ez még csak spekuláció – hogy az izmok növekedésében és a kisebb sérülések utáni regenerációjában valóban a kísérősejtek játsszák a főszerepet (ez történik a legtöbb állat és az ember izomzatában is), de egy teljes végtag pótálása meghaladja e sejtek le-hetőségeit. Ilyenkor kaphat szerepet néhány „szerencsés” hal és kétéltű faj esetében az izomrostok dedifferenciálódása, ami nyilván sokkal nagyobb tartalékok mozgósítását teszi lehetővé. Semmiképpen sem zárható ki tehát, hogy a szöveti őssejtek plaszticitásának hát-terében a megváltozott mikrokozmoszba (*niche*-be) kerülül őssejtek de-, majd rediffe-renciálódása áll.

A harmadik lehetőség a transzdzifferenciálódás. Ez sem ismeretlen jelenség, legalábbis a patológusok számára nem az. Vesefibrózis során például a vesetubulusok hámsejtjei miofibroblaszttá alakulnak (epithelialis mesenchymalis transzdzifferenciálódás), és így a vese működésképtelenné válik. Más szervek – a tüdő, a máj – fibrózisának is hasonló a mechanizmusa. A transzdzifferenciálódás azonban nem csak beteg sejtekben tanulmányozható.

A transzdzifferenciáció és a szöveti őssejtek plaszticitása tehát egyaránt a sejtek elkö-telezettségének megváltozására visszave-zethető jelenségek. Mindkettő csak regene-ratív sejtosztódás során (illetve azt követően) figyelhető meg, és egyik sem jár átmeneti (két különböző sejtfejlődési sorra jellemző markereket egyidejűleg hordozó) sejta-lakok megjelenésével. Lehetséges tehát, hogy a szöveti őssejtek plaszticitása a sejtek megváltozott környezeti feltételek hatására

bekövetkező transzdzifferenciálódásával ma-gyarázható. Csak a következő években fog kiderülni, hogy a fenti három modell mely elemei helytállóak, azaz pontosan mi az ős-sejtek plaszticitásának a magyarázata (Graf, 2002; Orkin – Zon, 2002; Vas et al., 2002).

Az őssejtek öregedése

Általánosan elfogadott, hogy a nem immorta-lizált eukarióta sejtek osztódása egyben öregedésüket is jelenti. Osztódáskor ugyanis a kromoszómák vége, az ún. teloméra meg-rövidül. A telomera-rövidülés mitózisról mitó-zisra folytatódik, amíg el nem ér egy kritikus értéket. Az adott sejt számára ez az utolsó lehetséges osztódás volt, hiszen egy követ-kező mitózis után már olyan utódsejtek ke-ltekeznenek, amelyek megfelelő hosszúságú telomera nélküli kromoszómákat hordoznak, és ezért életképtelenek. Tehát a telomera hossza az egyik legfontosabb „mitotikus óra” a sejtek számára. Létezik azonban egy enzim, a *telomeráz*, amely képes megnyújtani a kromoszómák végét, ezáltal lassítani, illetve immortalizált sejtekben megállítani e mi-totikus óra ketyegését. A vérképző és más szöveti őssejtek rendkívüli önfenntartó és proliferációs képessége – többek között – en-nek az enzimnek az aktivitására vezethető vissza. A foetalis májból származó vérképző őssejtekben például még igen magas, az érett felnőttkori csontvelőből izolált sejtekben vi-szont már meglehetősen alacsony a telome-ráz-aktivitás. Ezzel párhuzamosan csökken a vérképző őssejtek kromoszómainak végén található telomerák hosz-sza. Közben az őssejtek funkcionálisan is öregednek. Egy adott csontvelőt általában legfeljebb háromszor lehet sorozatosan transzplantálni. A harmadik átül-tetés után az őssejtek elvesztik önfenntartó és ezzel együtt repopulációs képességüket is.

A jelenleg legelfogadottabb és kétségtelenül legátfogóbb elmélet szerint a vérképző (és valószínűleg más szöveti) őssejtek öregedése a tartós in vivo repopulációra képes sejtek

„minőségének” az életkor előrehaladtával párhuzamosan bekövetkező folyamatos romlására vezethető vissza. Ha a foetalis májban található, tartós csontvelő repopulációra képes sejtek összességét 100 %-nak tekintjük, ebből mintegy 95 % a jó és 5 % a *gyengébb minőségű* őssejt. A jó minőségű őssejtek potenciálisan még nagyszámú osztódásra képesek. A gyengébb minőségű őssejtek mitotikus órája (lásd telomera rövidülés) viszont már lejárában van, így további lehetséges osztódásaik száma korlátozott. A fiatal felnőtt csontvelőben körülbelül tizenötször, az időskorban pedig ötvétszer akkora az őssejt kompartment, mint a foetalis májban. E növekedő kompartment azonban egyre kevesebb jó minőségű őssejtet tartalmaz. Végül a jó minőségű őssejtek elfogynek, és ettől kezdve – megfelelő utánpótlás hiányában – a gyengébb minőségű őssejtkészlet is rohamosan fogyni kezd, és hamarosan bekövetkezik a csontvelő pusztulása. A vérképző őssejtek minősége tehát az egyed biológiai korának egyik fontos meghatározója.

Természetesen minden, a vérképző rendszert súlyosan károsító és nagyfokú csontvelő-regenerációt előidéző hatás vagy beavatkozás – mérgezés, sugárterhelés, kemo- és radioterápia, szupraletálisan besugárzott egyedbe történő őssejtátültetés stb. – gyorsítja az öregedési folyamatot. Más szóval krízishelyzet(ek)ben a vérképző őssejtek ún. *akcelerált öregedése* figyelhető meg. Az őssejtállomány minőségének romlása azonban fiziológias körülmények között is nyilvánvaló. Jól ismert például, hogy idős korban csökken a szervezet védekező képessége. Ugyancsak az őssejtek öregedésével függhet össze a vérképző rendszerből kiinduló daganatok gyakoriságának növekedése idős emberekben. Amit nem tudunk: vajon mekkora tartalékok vannak a vérképző rendszerben? Hány éves korig biztosíthatná – elvben – a magzati élet során kialakult vérképző őssejtkészlet a folyamatos vérképzést, azaz hány

év a vérképző rendszer lehetséges maximális élettartama? Óvatos becslések szerint emberben talán százhusz-százötven, egérben pedig két és fél-három év (Anderson, 2001; Vas et al., 2002; Weissman, 2001).

Összefoglalás helyett

Mit profitál(hat) mindebből a gyakorlati orvoslás? A választ három részre kell bontanunk. Egyrészt minden, őssejtekkel foglalkozó fórumon – szóban és írásban – visszatér egy közhely: „új korszak kezdődik a transzplantációs medicinában”. Természetesen mint minden közhelyben, ebben is van igazság, de a szöveti őssejtek átültetése – legalábbis a vérképző őssejtek esetében – korántsem újdonság. A *csontvelő-transzplantáció* több évtizedes múltra visszatekintő, elfogadott terápiás eljárás.

Ugyanakkor pont a vérképző őssejtek átültetése kapcsán szerzett, nemritkán keserű tapasztalatok figyelmeztetnek arra, hogy a többi – kevésbé ismert és jóval nehezebben hozzáférhető – szöveti őssejt transzplantációs célú felhasználása korántsem ígérkezik túl egyszerűnek. Így eme néhány évet (vagy inkább évtizedet) még bizonyos vámi kell. Pillanatnyilag sokkal realisabbnak tűnik *szövetek* és *egyszerűbb szervek* (protézisek) előállítására (szívbillentyű, ízületek, porcok stb.) az őssejtekből in vitro kultúrában. Ez ma a biotechnológiai ipar egyik legígéretesebb területe (ún. *tissue engineering*).

Az igazi áttörést azonban az jelentené, ha sikerülne „rávenni” a szervezetet, hogy maga javítsa ki a sérüléseit, pótolja a betegség, baleset vagy egyszerűen öregedés következtében elvesztett sejtjeit (body, heal thyself). Ehhez nem kell izolálni, tisztítani és in vitro kultúrában tartani az őssejtet. Nincs szükség nehezen felkutatható donorra és a recipiens immunrendszerének gátlására. Ha egyszer az őssejtek ott vannak minden szövetben, akkor „csak” tudni kell őket – a megfelelő helyen és időben

– aktiválni. (Az őssejteket is érintő, öröklött betegségben szenvedőkben ez a módszer természetesen nem alkalmazható.) Azaz meg kell tanulnunk, *hogyan irányíthatjuk az őssejtek osztódását és differenciálódását* a saját mikrokörnyezetükben *in vivo*. Ez egy nagyszabású, több évtizedre szóló kutatási program, de az e területen elért legkisebb eredmény is biztosan megéri a szellemi és

anyagi ráfordítást. Végezetül annyit jegyzünk még meg, hogy a szöveti őssejtek terápiás felhasználása során nem merülnek fel olyan – mostanában hatalmas viharokat kavaró – etikai és erkölcsi kérdések, mint az embrionális őssejtekkel kapcsolatban.

Kulcsszavak: *genetikai promiszkuítás, öregedés, őssejt-niche, szöveti őssejtek, vérképzés*

IRODALOMJEGYZÉK

- Anderson, David J. (2001). Stem Cells and Pattern Formation in the Nervous System: the Possible Versus the Actual. *Neuron*. 30, 19-35.
- Bianco, Paolo – Robey, P. Gehron (2000): Marrow Stromal Stem Cells. *Journal of Clinical Investigation*. 105, 1663-1668
- Dorshkind, Kenneth (2002): Multilineage Development from Adult Bone Marrow Cells. *Nature Immunology*. 3, 311-313
- Dzierzak, Elaine (2002): Hematopoietic Stem Cells and Their Precursors: Developmental Diversity and Lineage Relationships. *Immunological Reviews*. 187, 126-138
- Graf, Thomas (2002): Differentiation Plasticity of Hematopoietic Cells. *Blood*. 99, 3089-3101
- Hu, Ming – Krause, D. – Greaves, M. – Sharkis, S. – Dexter, M. – Heyworth, C. – Enver, T. (1997): Multilineage Gene Expression Precedes Commitment in the Hemopoietic System. *Genes and Development*. 11, 774-785
- Momison, S. J. (2001): Stem Cell Potential: Can Anything Make Anything? *Current Biology*. 11, R7-R9
- Orkin, Stuart H. – Zon, Leonard I. (2002): Hematopoiesis and Stem Cells: Plasticity Versus Developmental Heterogeneity. *Nature Immunology*. 3, 323-328
- Tsonis, Panagiotis A. (2000): Regeneration in Vertebrates. *Developmental Biology*. 221, 273-284
- Uher Ferenc – Hajdu Melinda – Vas Virág (2003): Self-Renewal and Differentiation of Hematopoietic Stem Cells: A Molecular Approach. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*. 50, 3-21
- Vas Virág – Hajdu, M. – Pálóczi, K. – Uher, F. (2002): Alternative Views of Tissue Stem Cell Plasticity. *Haematologia*. 32, 175-190
- Watt, Fiona M. – Hogan, Brigid L. M. (2000): Out of Eden: Stem Cells and Their Niches. *Science*. 287, 1427-1430
- Weissman, Irvin L. – Anderson, David J. – Gage, Fred (2001): Stem and Progenitor Cells: Origins, Phenotypes, Lineage Commitments, and Transdifferentiation. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 17, 387-403



AZ ÖSSEJTEK ÉS AZ IMMUNRENDSZER

Rajnavölgyi Éva

az MTA doktora, Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum
Általános Orvostudományi Kar Immunológiai Intézet – evaraj@jaguar.unideb.hu

Bevezetés

Az *össejtek* korlátlan ideig osztódó, nem specializálódott önmegújító sejtek, amelyek aszimmetrikus osztódás révén önmagukhoz hasonló sejteket és emellett elkötelezett utódsejteket hoznak létre. Az emlős egyedfejlődés korai embrionális szakaszában kialakuló *embrionális össejtek* (embryonal stem – ES) a szervezet mintegy kétszáz különböző szövetének újraképzésére képesek. Ezek a sejtek ma már izolálhatók, és – elmentben az adott funkciókra szakosodott differenciált testi sejtekkel – megfelelő *in vitro* körülmények között korlátlan ideig fenntarthatók vagy különböző testi sejtekké alakíthatók.

Az embrionális és a magzati egyedfejlődést követően a felnőtt szervezet specializálódott testi sejtjei között nagyon kis számban jelen vannak olyan sejtek, amelyek megtartják önmegújító képességüket és azt a sajátosságukat is, hogy belőlük többféle típusú utódsejt alakulhat ki. Mai tudásunk alapján mintegy húsz eltérő szöveti össejt-típus azonosítható, amelyek nagyfokú fejlődési rugalmassággal rendelkeznek. Ide tartoznak a *csontvelői vérképző össejtek* is, amelyek a vér összes sejt-típusának kialakulását biztosítják. Akár egyetlen ilyen össejt is képes a szervezet teljes vérrendszerét felépíteni (Osawa, 1996). Emlősökben az immunrendszer működését biztosító sejtek a magzati élet utolsó szakaszától kezdve a csontvelői *hematopoetikus össejtekből* (hematopoietic stem

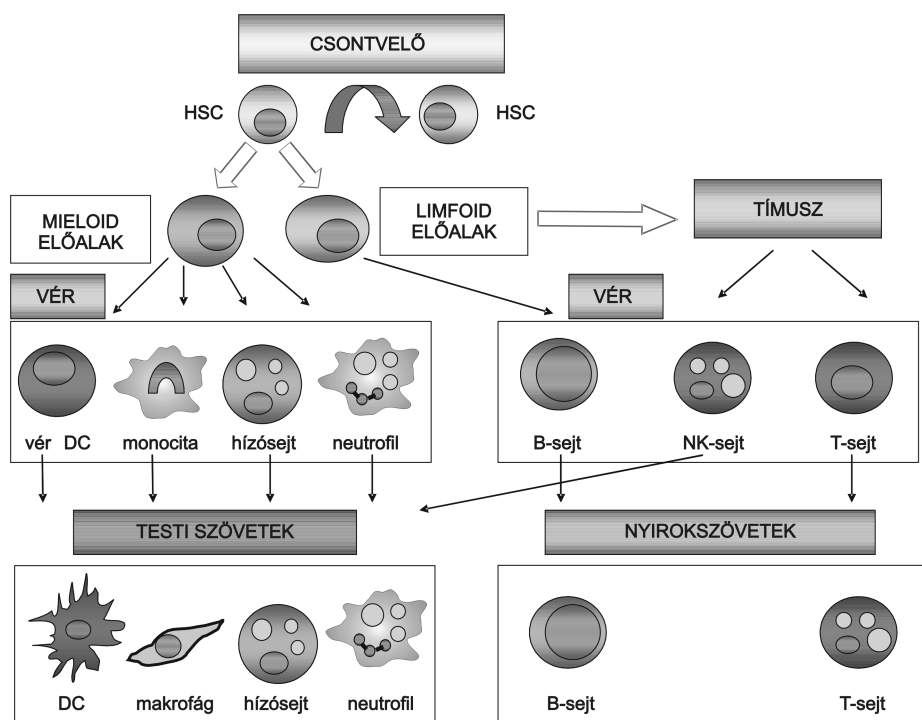
cell – HSC) fejlődnek. Ez a folyamat nem fejeződik be a születést követően, hanem egész életünket végigkíséri. A vér sejtjes elemeinek folyamatos újratermelődése, gyors válasza a különböző stresszhatásokra (például vérzés, fertőzések) és az egyensúly fenntartása összetett szabályozó mechanizmusok eredménye. Az immunrendszer sejtjeinek állandó újraképződése alapvető fontosságú a szervezet megfelelő védelmét biztosító folyamatok zavartalan és hatékony lezajlásához.

Különleges regenerációs képességük és „halhatatlan” sajátosságuk alapján mind az embrionális, mind a felnőtt össejtek felhasználhatók hiányzó, károsodott vagy hibásan működő szövetek pótlására, helyettesítésére. A különböző eredetű össejtek terápiás felhasználási lehetőségeivel ma már külön tudományág, a *regenerációs medicina* foglalkozik. Ennek kutatási és alkalmazási területe kiterjed az embrionális össejtekből származó működő szövetek előállítására és megfelelő előkészítésére éppúgy, mint a szöveti össejtek izolálására és megfelelő számban történő felszaporítására. Az össejtek elvi felhasználási lehetőségei a gyógyításban szinte korlátlanok, de ezek nagy része jelenleg még komoly etikai és módszertani korlátokba ütközik. Továbbá az össejtek terápiás felhasználási lehetőségeinek jelentős gátat szabnak az össejtek és a belőlük származó szövetek korlátlan betületesét akadályozó immunológiai reakciók is. Ebben a rövid áttekintésben a HSC-knek az immunrend-

szer működésében betöltött létfontosságú szerepét próbálom meg érzékeltetni, valamint a különböző őssejtek sajátosságainak és felhasználási lehetőségeinek néhány, az immunrendszer működésével kapcsolatos vonatkozását ragadtam ki. Bár a HSC-k a terápiás célra legelőször alkalmazott őssejtek (Pálóczi, 2003), az ezzel kapcsolatos legújabb eredményeket és terápiás vonatkozásokat e kötet egyéb fejezetei érintik.

*Az immunrendszer sejtjei
a hematopoetikus őssejtek leszármazottjai*

A HSC-ből fejlődő sejtek általában rövid élettartamúak, és ezért folyamatos utánpótlást igényelnek. A szerzett immunitás legfontosabb sejtjei a limfociták, amelyek a csontvelői HSC-ből képződő limfoid előalakokból fejlődnek (1. ábra).



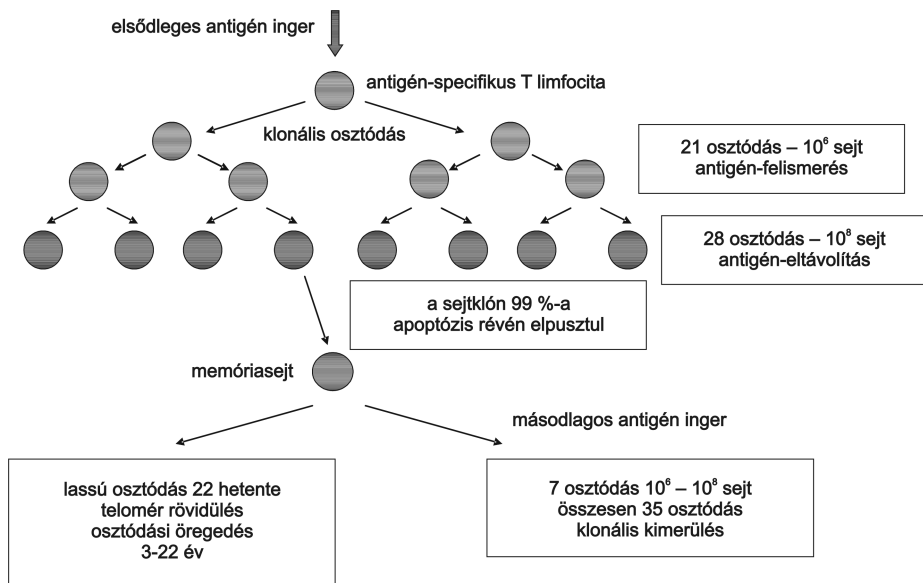
1. ábra • Az immunrendszer működésében részt vevő sejtek fejlődése a hematopoetikus őssejtekből – A hemopoetikus őssejtekből a csontvelőben mieloid és limfoid előalakok képződnek. A mieloid sejtek leszármazottjai specializált sejtökké érnek és a vérkeringésbe kerülnek. A vérben keringő dendritikus sejtek, monociták és granulociták megfelelő ingerek hatására átlépnek az érfalon, és utódaik a testi szövetekben telepednek le. A limfoid előalakokból a csontvelőben fejlődnek a B-limfociták, míg a T-limfociták és a természetes ölüsejtek előalakjai a csontvelőből a tímuszba vándorolnak, és differenciálódásuk ott fejeződik be. A B- és T-limfociták a vér- és a nyirokkeringés révén örökös körforgásban vannak, antigén-specifikus aktivációjuk a perifériás nyirokszervekben történik.

A *B-limfociták* érése a csontvelőben zajlik, míg a *T-limfocitáké* és a *természetes ölő sejté* (*natural killer*– *NK*) a tímuszban folytatódik (1. ábra). A HSC-kből differenciálódó mieloid előalakokból – szintén a csontvelőben – alakulnak ki a monociták, a dendritikus sejtek, a granulociták és a hízósejtek, amelyek a természetes immunitás fontos szereplői, valamint a szerzett immunitás számos folyamatában is részt vesznek (Rajnavölgyi, 2003, 1. ábra). A vérben keringő *monocitákból* a perifériás szövetekben differenciálódó *makrofágok* és *dendritikus sejtek* hivatásos antigénbemutató sejtek, és ezáltal a T-sejtek által közvetített sejt immunválasz fontos szabályozói. A

makrofágok, a szöveti hízósejtek és a granulociták a természetes immunitás hatékony effektor sejtjeiként működnek, és elősegítik a szerzett immunitás hatékony működését is (Erdei, 2003).

A limfociták élettartama, osztódása, öregedése

A felnőtt emberi szervezetben a limfociták száma megközelítőleg 10^{12} , a B- és T-limfociták megoszlása közel azonos. A limfocitákra jellemző, hogy egyedileg eltérő antigénfelismerő receptorokkal rendelkeznek, és ezáltal nagyszámú, eltérő szerkezetű antigén felismerésre képesek. Az egyes limfociták az antigén ingertől függően eltérő időpon-



2. ábra • A T-limfociták osztódási szakaszainak vázlatos menete – Az antigén-specifikus T-limfociták az elsődleges antigén inger hatására gyors osztódásnak indulnak, aminek eredményeként időlegesen nagymértékben megnő a kiválasztott sejtek aránya. Az antigén sikeres eltávolítását követően – további antigén inger hiányában – a feleslegessé vált T-limfociták programozott sejthalál révén elpusztulnak, csupán néhány memóriasejt marad életben. A memóriasejtek az antigén ismételt belépésekor gyorsan újra osztódnak, az összes lehetséges osztódást követően azonban funkcionálisan kimerülnek. Ha a memóriasejtek újbóli aktivációja nem következik be, azok lassú osztódással tartósan fennmaradnak, miközben lassan öregszenek (Effros – Pawelec nyomán).

tokban aktiválódnak és indulnak osztódásnak. A limfociták egyik legfontosabb sajátja az antigén hatására bekövetkező gyors *klonális osztódás*, ami időlegesen biztosítja a megfelelő specificitással rendelkező sejtek feldúsulását és az adott antigénnel szembeni hatékony védelmet (2. ábra).

Az antigén eltávolítását követően azonban a felszaporodott sejtek feleslegessé válnak, elpusztulnak, és az egyensúly fenntartása érdekében a csontvelőből új sejtek pótolják őket. A naív, antigénnel még nem találkozott limfociták folyamatos újraképződése a HSC-kből biztosítja a rendelkezésre álló limfocitakészlet terjedelmét, egyensúlyát és az immunrendszer állandó felkészültségét az újabb és újabb környezeti hatásokkal szemben.

Az immunrendszer hatékony működése szempontjából fontos kérdés, hogy mennyi ideig élnek és hányszor képesek a limfociták az antigén-specifikus aktiváció hatására osztódni. A sejtbiológiai kutatások még az 1960-as évek elején igazolták, hogy a testi sejtek csak bizonyos ideig képesek szaporodni. Ezek a vizsgálatok azt is felderítették, hogy a sejtek megkétszereződésének lehetőségeit nem az időtartam, hanem az osztódások száma határozza meg. Ezt a jelenséget „osztódási öregedésnek” nevezték, amely tulajdonság függ a fajtól, az egyed korától és genetikai adottságaitól. Így például a rövid életű élőlények sejtjei kevesebb osztódásra képesek, mint a tovább élő fajoké, a magzati vagy az újszülöttekből származó sejteknek több osztódási lehetőségük van, mint az idősebbek sejtjeinek. Kísérletes adatok azt is alátámasztották, hogy a korlátozott idejű szaporodó képesség domináns genetikai sajátosság, és a törzspejlődés során valószínűleg a korlátlanul szaporodó sejtek (például rosszindulatú daganatok) kialakulását gátló fontos mechanizmus. A sejtosztódások számát a sejtekben „biológiai órák” szabályozzák, amelyek meghatározott gének aktivá-

cója és kiiktatása révén „számolják” az adott sejt osztódási lehetőségeinek számát. Egy ilyen fontos időmérő mechanizmust az ún. *telomérák* biztosítanak. Ezek az ismétlődő DNS-szekvenciák a magvas sejtek kromoszómavégeit védik az enzimatis hasítástól, és ezáltal fokozzák azok genetikai stabilitását. A telomérák azonban minden sejtosztódás során rövidülnek, és egy kritikus hossz elérésekor a sejt osztódóképességének leállítását eredményezik. A telomérák rövidülését bizonyos sejtekben, így például az őssejtekben és a legtöbb rosszindulatú daganatos sejtben, a telomérák helyreállítását biztosító *telomeráz enzim* komplex ellensúlyozza.

A B- és T-limfocitákban a telomeráz enzim aktivitása függ a sejt állapotától, fejlődési és aktivációs állapotától. Így például a tímuszban és a perifériás T-limfocitákban a telomeráz aktivitás – a rosszindulatú tumorsejtekhez hasonlóan – magas, de mintegy tíz osztódási ciklust követően jelentősen csökken. A B-limfociták összes osztódásainak száma sejt kultúrában átlagosan huszonegyszeres, míg a T-limfociták esetében mintegy harmincöt-re becsülhető. Így egyetlen T-limfocita egész élete során mintegy 10^{10} utódsejtet képes létrehozni, ami jól érzékelteti az adott antigén specificitással rendelkező limfocita klónok funkcionális hatékonyságát. Az egyes T-sejt klónok osztódása azonban – az immunrendszer működési elve alapján – megszakításokkal, hullámokban történik, amelyeket a felesleges sejtek pusztulása követ. A 2. ábra a T-limfociták ismétlődő antigén ingerre bekövetkező osztódási szakaszait vázolja fel. Ennek alapján érthető, hogy a sokszor ismétlődő vagy folytonos antigén stimuláció az egyes T-sejt klónok „kimerülését” váltja ki, amit a megváltozott működéssel járó öregedés, majd sejtihal követ. A folyamat során képződő kevés, lassan osztódó *memóriasejt* ezzel szemben mintegy kettő-öt évig is életben maradhat, és hosszú ideig képes az immunológiai memória fenntartására.

Az osztódások számával öregedő limfociták nem válnak teljesen funkcióképtelené, de az osztódóképesség leállítását fontos, az immunológiai funkciókat befolyásoló genetikai és fenotípusváltozások kísérik. Így például csökken az antigén ingerre történő aktiváció mértéke és a programozott sejthalállal (*apoptózissal*) szembeni érzékenység. Ilyen előregedő, nem funkcióképes T-limfociták szaporodnak fel – az egyed korától függetlenül – a krónikus antigén stimulációval járó betegségben, így például a *humán immundeficiencia vírussal (HIV)* fertőzött egyedek perifériás vérében is.

Az immunrendszer differenciált sejtjei tehát folyamatosan öregednek, a tímusz serdülőkorban történő visszafejlődésével pedig csökken az újonnan képződő T-limfociták száma is. Ennek következtében a perifériás nyirokszövetekben és a vérben nő a memóriasejtek aránya, ami a szervezet „immunológiai tapasztalatait” felhasználva védelmet biztosít számos antigénnel szemben. Az immunrendszer rugalmassága az ismétlődő stresszhatások, új kórokozók vagy a daganatos sejtek szaporodásának kivédésében azonban egy idő után csökken. Ezért fontos immunológiai és talán gerontológiai kérdés is, hogy mennyire változik meg az immunrendszer folyamatos utánpótlását biztosító HSC-k funkciója a kor előrehaladtával, hiszen ez az egész szervezet élettartamát is befolyásolhatja.

Öregsenek-e az őssejtek?

A limfocitákkal ellentétben a csontvelői sejtek csupán 0,01 %-át kitevő HSC-k hosszú életűek, az „örök életet” a telomérák rövidülését helyreállító teloméráz enzim mellett egyéb mechanizmusok is biztosítják. Ennek egyik bizonyítéka, hogy a HSC-k és a belőlük származó, eltérő funkciójú utódsejtek száma az öregedéssel nem csökken, sőt bizonyos beltenyészett egértörzsekben növekedik. Ennek ellenére kísérleti adatok igazolták,

hogy a vérképző rendszer pótlásához az idős HSC-kból többre van szükség, mint a fiatalokból. Ez arra utal, hogy a HSC-k száma ugyan nem, de funkcionális aktivitása a kor előrehaladtával csökken.

Ellentétben az embrionális őssejtekkel, az emberi HSC-kben kimutatható a telomérák hosszának rövidülése és ezáltal az osztódással járó öregedés is, noha ezt a magas teloméráz aktivitás részben ellensúlyozza. Emellett azonban a HSC-k korral járó funkcionális módosulását egyéb *belső tényezők* vagy *külső hatások*, mint például a *sztromasejtek* öregedése, funkcionális változásai is előidézhetik. A HSC-k jellegzetes nem differenciált állapota és a limfoid leszámazottak fokozott érzékenysége a radioaktív sugárzással szemben arra utal, hogy az öregedő HSC-kben zajló belső változásokat – más sejtektől eltérően – elsősorban a genomiális DNS-ben halmozódó mutációk, az ezeket helyreállító mechanizmusok károsodása és a sejtciklus szabályozásának zavarai idézik elő. Ezzel szemben a csontvelő és a tímusz eltérő sztrómasejtjeinek (például a fibroblasztok, hámsejtek) öregedéssel járó változásai hasonlóak az egyéb testi sejtek öregedését előidéző folyamatokhoz, amiben a fenti mechanizmusok mellett fontos szerepet játszanak az oxidatív stressz által kiváltott fehérje- és lipidváltozások is. Ezek az eltérések a HSC-k fejlődését biztosító speciális környezetben (csontvelő, tímusz) a citokinek koncentrációjának, összetételének, a lebontó enzimek és a sejtet kívüli mátrix fehérjék mennyiségének, szerkezetének és funkciójának módosulásához vezethetnek. Ezek a külső tényezők szintén jelentősen befolyásolhatják a HSC-k regenerációs képességét (Effros, 1997). Ez a folyamat megy végbe a tímusz serdülőkorban bekövetkező visszafejlődésekor, amikor a megváltozott sztróma gátolja a csontvelői timocita előalakok bevándorlását és ezt követő differenciálódását, noha a T-sejt előalakok száma nem változik.

Ebben a folyamatban fontos szerepet játszik a tímusz hámsejtek által termelt IL-7 citokin termelésének csökkenése, ami hátráltatja a timociták osztódását és túlélését.

Hosszú és rövid életidejű HSC-kkel jellemezhető beltenyészett egereken végzett genetikai vizsgálatok igazolták, hogy a 2., a 7. és a 11. kromoszómán azonosított, az állatok korának szabályozásához kapcsolható hét különböző gén lokusz közül öt a HSC-k életidejét is befolyásolta. Érdekes módon ezekben a kromoszómaregiókban a sejtciklus szabályozásában és a DNS-helyreállításban szereplő géneket is azonosították. Ezek az eredmények arra utalnak, hogy bár a HSC-k egészséges egyedekben az egész élet során gondoskodnak a vérsejtek számának folyamatos fenntartásáról, „funkcionális” életidejük közvetlenül vagy közvetve hatással van az egész szervezet élettartamára.

Noha a HSC-ket érintik az öregedés bizonyos tünetei, önmegújító és sokféle utódsejtet létrehozó képességük hosszú ideig lehetővé teszi a teljes vérképző rendszert, ezen belül az immunrendszer sejtjeinek folytonos újraképzését. Hogy ezt a csontvelőátültetések gyakorlatja igazolja, a felnőttkori HSC-k képesek a teljes vérképző rendszer és az immunrendszer regenerációjára. Az utóbbi néhány év vizsgálatai továbbá azt is igazolták, hogy a HSC-k és leszármazottaik nagyobb rugalmassággal rendelkeznek, mint azt előzetesen gondolták. Így a HSC-k más szöveti környezetbe helyezve egyéb szöveti sejtekké is fejlődhetnek, valamint a csontvelőben a HSC-knél szélesebb regenerációs képességgel rendelkező őssejtek is találhatóak (Jiang, 2002).

Az őssejtek terápiás alkalmazásának immunológiai korlátai

Az immunrendszer egyik fontos biológiai funkciója a szervezet integritásának, belső egyensúlyának folyamatos védelme. Ennek érdekében az immunrendszer felismeri és tolerálja a saját szerveket, szöveteket, de sejt-

pusztító folyamatokkal lép fel a testidegen kórokozók, valamint a más egyedből származó idegen szövetek ellen. Az emberi populáció immunológiai szempontból rendkívül sokféle, ami jelentős előny a faj megmaradása szempontjából, de nem kedvez a szervátültetésnek, hiszen az emberi szövetek másik egyedbe juttatva erős immunológiai, ún. szövet kilökődési reakciót váltanak ki. Bár szervezetünk zömében hasonló fehérjékből épül fel, a kilökődési reakció során a befogadó szervezet immunrendszere idegenként ismeri fel a beültetett szövet eltérő, polimorf fehérjeit. Ilyen reakciót váltanak ki például a vércsoport antigének, valamint a T-limfociták antigénfelismerő működését szabályozó fő szövet összeférhetőségi génkomplex (*major histocompatibility gene complex – MHC*) génei által kódolt membránfehérjék (Gogolak et al., 2003). Az MHC molekulák az emberi genom legváltozatosabb fehérjéi, amelyek két egyed között csak az egyetétű ikrekben azonosak, közeli rokonokban lehetnek részben azonosak, de nem rokon egyedek között nagy valószínűséggel eltérők. Így a kilökődési reakció csak a saját őssejtek vagy a saját őssejtekből származó szövetek visszaültetések (*autológ* szövetátültetés) kerülhető el. Az emberi felnőtt csontvelőből és a köldökzsinórvérből kis számban izolálható HSC-k az autológ szövetátültetés lehetőségét nyújtják. Más, genetikailag eltérő egyedek szöveteinek bejuttatásakor (*allogén* szövetátültetés) az immunrendszer reakciói komoly gátat jelentenek az őssejtek vagy a belőlük származó szerv megtapadásának.

A szövetkilökődési reakció erőssége függ a beültetett sejt vagy szövet, a „*graft*” és a befogadó szervezet, a „*recipiens*” közötti genetikai eltérések mértékétől, valamint az adott szövet egyedi sajátosságaitól, elsősorban *immunogenitásától*. Az immunogenitást a szöveti összeférhetőséget meghatározó MHC fehérjék szerkezete és kifejeződésének

mértéke mellett az adott szövetben jelen lévő, donor eredetű hivatásos antigént bemutató sejtek (dendritikus sejtek, makrofágok) száma határozza meg.

Az őssejtek és az őssejt eredetű szövetek immunogenitása

Az eltérő donorokból előállított ES-sejtek, valamint az ezekből előállított különböző szövetek – a felnőtt testi sejtekhez és szövetekhez hasonlóan – immunológiai szempontból rendkívül sokfélék. Így az őssejtek és a belőlük származó szövetek nem rokon egyedbe juttatva kilökődési reakciót válthatnak ki. Az emberi ES-sejteken – mint minden testi sejten – megjelennek az *I típusú MHC* molekulák, de csak nagyon kis számban. A szöveti differenciálódás során sejt felszíni megjelenésük fokozódik, de az érett testi sejtekhez viszonyítva alacsony marad. Az ES-sejtek *II típusú MHC* molekulákat nem fejeznek ki, azonban rendelkeznek IFN γ receptorral és az IFN γ *citokín* hatására fokozódik az MHC molekulák kifejeződése. Bár az ES-sejtek és a belőlük származó szövetek immunogenitása az MHC molekulák alacsony szintje miatt kisebb, mint a felnőtt szöveti sejté, allogén egyedbe ültetve kilökődési reakciót válthatnak ki. Az emberi szövetek és az ES eredetű szövetek közötti legfontosabb immunogenitási eltérés azonban abból adódik, hogy az utóbbiak nem tartalmaznak szöveti dendritikus sejteket. A csontvelőátültetések gyakorlatából ismert, hogy a szöveti dendritikus sejtek kiemelt szerepet játszanak az allo-graftok immunogenitálásának fokozásában, mivel nagy számban hordoznak MHC molekulákat (direkt bemutatás), valamint hatékonyan mutatják be a graft polimorf fehérjéiből származó peptideket a befogadó szervezet T-limfocitái számára (3. ábra, Rajnavölgyi, 2003).

A graft eredetű dendritikus sejtek hiánya az ES eredetű szövetekben jelentősen csökkenti az immunogenitást és az akut kilökődési

reakció mértékét. A befogadó szervezet saját hivatásos antigént bemutató sejtjei (makrofágok, dendritikus sejtek) azonban felvehetik az előregedő vagy elpusztult donor sejteket vagy az azokból felszabaduló szöveti antigéneket, és a T-limfociták számára „indirekt” módon bemutatják a donor eredetű fehérjékből származó peptideket (3. ábra). Az antigénbemutatásnak ez a módja is képes aktiválni az allo-reaktív T-limfocitákat és kiváltani a kilökődési reakciót.

Az immunológiai korlátok csökkentésének lehetőségei

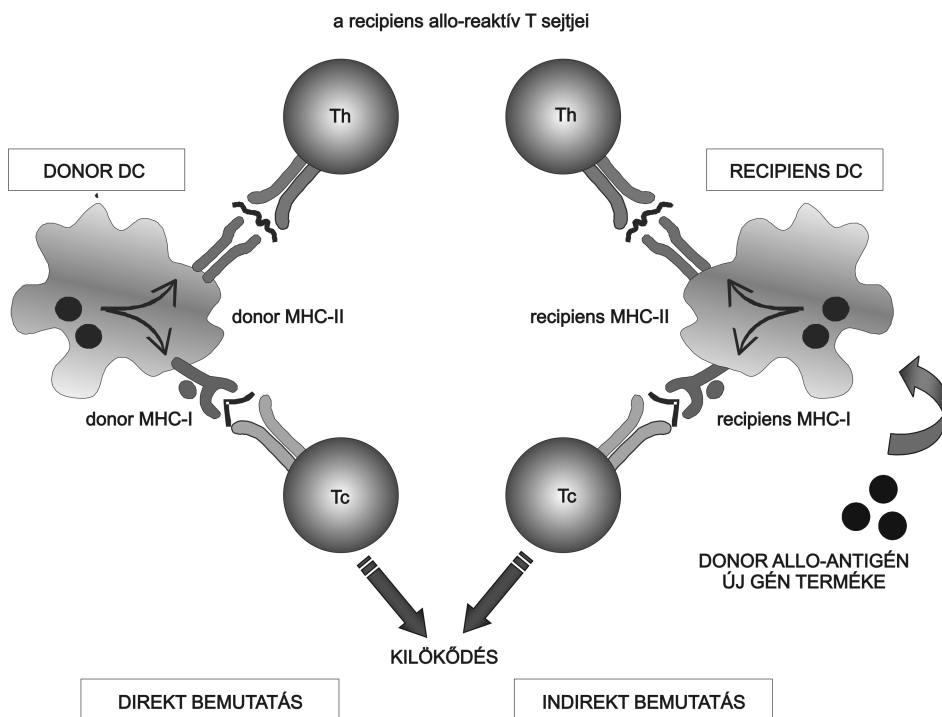
1. Az őssejtek és az őssejt eredetű szövetek módosítása

A felnőtt szövetekhez hasonlóan az immunológiai korlátok csökkentésének egyik lehetősége a donor és a befogadó szervezet szövetei közötti genetikai különbségek csökkentése. Ezt szolgálja az „őssejtbankok” létrehozása, ami lehetővé teszi nagyszámú, ismert MHC molekulákat kifejező őssejtek hosszú távú tárolását, és ezt követően az egymásnak legjobban megfelelő donorok és recipiensek kiválasztását.

Ellentétben a felnőtt szövetek felhasználásával végzett terápiás eljárásokkal, az őssejtek felhasználása során további manipulációs lehetőségek is elősegíthetik az immunológiai összeférhetetlenség kiküszöbölését (Bradley, 2002). A „genomikai helyettesítés” módszere sikeresen alkalmazható eljárás arra, hogy az ES-sejtből származó szövetet immunológiailag elfogadhatóvá tegyünk a kiválasztott donor számára a laboratóriumi és háziállatokban. A „sejtmagátvitel” vagy „terápiás klónozás” néven is ismertté vált eljárás során a befogadó szervezetből származó érett petesejtből eltávolítják a genetikai állományt, majd azt a donor testi (*szomatikus*) sejtjeiből származó genommal helyettesítik. Így az osztódó embrionális őssejtekből in vitro létrehozott szövetek genetikai állománya – a mitokondriális gének által kódolt ún. „minor” szövet összeférhetőségi fehérjéket kódoló

gének kivételével – megegyezik a befogadó szervezet génjeivel. Az eljárás rendkívül idő- és költségigényes, ezért a jövőben csak úgy válhat terápiás célra is alkalmazható eljárássá, ha a szomatikus géntranszfer segítségével ismert genotípusú ES-sejtvonalbankokat

hoznak létre, amelyek lehetőséget adnak a donor genotípusával azonos ES-sejtek kiválasztására. Ez a lehetőség jelenleg nemcsak etikai, de módszertani nehézségek miatt sem alkalmazható emberben, mivel a géntranszferrel módosított emberi petesejtek osztódó



3. ábra • Az allo-graft és a géntörrekcióval módosított sejtek elleni kilökődési reakcióban szerepet játszó immunológiai folyamatok – Az allogén testi sejtek beültetésekor a graft testidegen MHC-I molekulákat fejez ki, amit a befogadó szervezet T-limfocitái felismernek. A II típusú MHC és a ko-stimulációs molekulák hiányában ez a folyamat nem indítja el a kilökődési reakciót. A beültetett graft szöveti vagy a vérárammal bekerülő dendritikus sejtjei azonban nagy számban fejezik ki az I és II típusú MHC, valamint a kostimuláló molekulákat is, és hatékonyan indítják el a befogadó szervezet allo-reaktív T-limfocitáinak aktiválódását. Az allo-antigének bemutatásában a befogadó szervezet saját dendritikus sejtjei úgy vesznek részt, hogy felveszik az allo-graft elhaló sejtjeit vagy a belőlük felszabaduló allo-antigéneket, majd a feldolgozott fehérjék peptidjeit bemutatják a T-limfociták számára. Ebben a folyamatban a segítő Th- és a sejtölő képességgel rendelkező Tc-limfociták együttműködve vesznek részt. A géntörrekció terápia során az „új fehérje” hasonló mechanizmus révén fordíthatja maga ellen az immunválaszt. Ezt a folyamatot a természetes immunitást – köztük a dendritikus sejteket – aktiváló „veszélyjelek” nagymértékben elősegítik.

képessége lényegesen rosszabb, mint az eddig alkalmazott, nem a főemlősökhöz tartozó fajokban.

Az őssejtek genetikai módosításával olyan univerzális donorsejtek is létrehozhatók, amelyek a genetikai háttértől függetlenül is felhasználhatók. A donor szöveti sejtjein megjelenő MHC molekulák kiemelt szerepet játszanak a szövetkilökődés elindításában, így az MHC gének eltávolítása vagy inaktíválása olyan sejteket eredményezhet, amelyek a donor T-limfocitái számára nem felismerhetők. Ez a beavatkozás azonban jelentősen növeli a sejtek érzékenységét a természetes ölősejtek (NK sejtek) funkcióival szemben, ami jelentős szövetkárosodást eredményezhet. Ennek a stratégiának a legnagyobb kockázata azonban az, hogy az MHC molekulák hiányában a bevitt szövet kikerül az immunrendszer ellenőrző funkciója alól. Így az ilyen szöveti sejtek alkalmasak lehetnek például különböző vírusok hosszú távú „bujtatására” vagy tumorok kialakítására is, hiszen a vírus vagy tumor antigénekből származó peptidok az MHC molekulák hiányában nem kerülhetnek bemutatásra, és így ezek a sejtek észrevételenek maradnak a T-limfociták és a sejttes immunitás számára. Ezt a lehetőséget támasztják alá azok a megfigyelések, miszerint a legagresszívebb rosszindulatú daganatok és a legsikeresebb patogén vírusok olyan menekülési mechanizmusokat fejlesztettek ki, amelyek az MHC molekulák megjelenését képesek gátolni.

2. A kilökődési reakció gátlása

A donorszövet kilökődése az immunrendszer működését gátló szerekkel is megakadályozható. Ezek az eljárások hasonlóak az allogén csontvelő-átültetés során alkalmazott terápiás lehetőségekhez. Az immunrendszer folyamatainak gátlása azonban nemcsak a kilökődési reakciót, de az immunrendszer általános védelmi funkcióit is gátolja, és egyéb súlyos mellékhatásokkal is jár.

Az ES-sejtek vagy az ES-sejt eredetű szövetek túlélése olyan módon is biztosítható, hogy azokat az immunrendszer működését gátló génekkel vétezzük fel. Így a programozott sejthalált (apoptózist) kiváltó receptorokhoz kötődni képes Fas ligand bevitelével a befogadó szervezet graft-specifikus T-sejtjeinek pusztulását eredményezheti. A T-sejttes immunitást gátló IL-10 citokin génjének bevitelével az ES eredetű szövetet védő környezet alakítható ki.

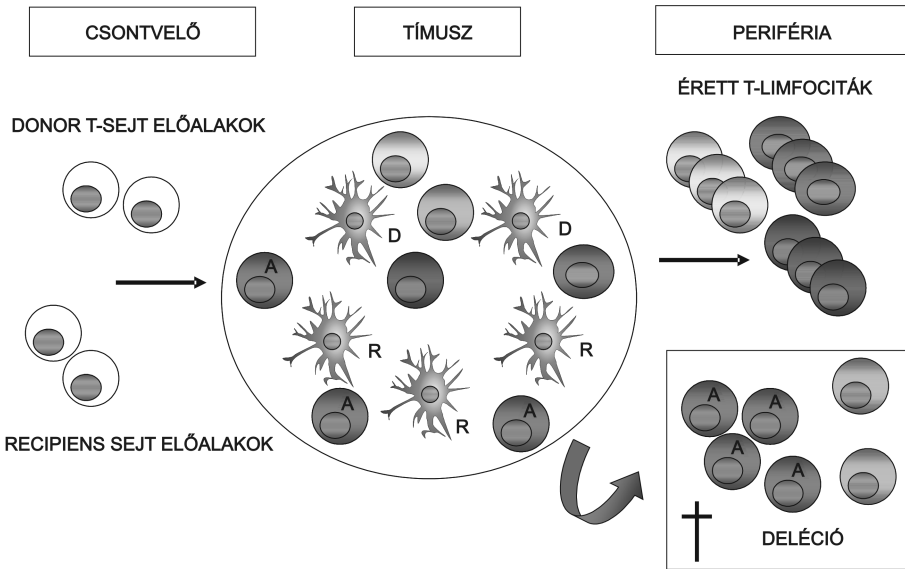
A szervkilökődési reakció gátlásának ígéretes lehetősége a donorszövetre specifikus aktív immunológiai tolerancia kiváltása. Az eljárás előnye, hogy a donorszövet ellen kialakított specifikus immunológiai válaszképtelenség nem érinti az immunrendszer egyéb, a szervezet számára fontos funkcióit. A donorszövet beadásának megfelelő módja és időzítése elősegítheti a tolerancia kialakulását és a kilökődési reakció gátlását. A donor eredetű vér transfúziója a beültetést megelőzően, a transzplantátum környezetébe bejuttatott donor eredetű limfociták, a donorsejtek túmuszba történő oltása, valamint a hematopoetikus kimerizmus kiváltása rágszálókban végzett modellkísérletekben alkalmasnak bizonyult a donorsejtek elleni tolerancia kialakítására. A tolerancia kiváltását segítheti a citokin egyensúly irányított megváltoztatása vagy a dendritikus sejtek és a T-limfociták közötti kapcsolatok gátlása is. A befogadó szervezet dendritikus sejtjei továbbá in vitro körülmények között oly módon is előkezelhetők a donor allo-antigénjeivel, hogy azok a visszaadást követően a befogadó szervezet válaszképtelenségét váltják ki. Ezek a még kísérleti fázisban lévő lehetőségek csupán rövid ideig tartó kezelést igényelnek, de feltehetőleg speciális szabályozó T-limfociták aktiválása révén hosszú távú tolerancia kialakulásához vezethetnek.

A „*kevert hematopoetikus kíméra* állapot” kialakítása a felnőtt szövetek beültetése során az egyik leghatékonyabb módja a

tolerancia kiváltásának. Ezt az állapotot allogén donor eredetű HSC-k beültetésével lehet elérni, ami a donor és a gazdaszervezet hematopoetikus sejtjeinek hosszú távú együttes jelenlétét eredményezi. Az ilyen kiméra szervezetekben a donor eredetű szövetek allo-antigénjeivel szemben tolerancia alakul ki, és a testi sejtek beültetését követően a kilökődési reakció nem következik be. A kiméra állapot nemcsak HSC-kkel, de az MHC génekből eltérő ES-eredetű hematopoetikus sejtekkel is kiváltható. Patkányokban végzett kísérletekkel igazolták, hogy az ES-szerű sejtvonalak vérkeringésbe juttatása stabil kevert kiméra állapotot eredményezett

(Fandrich, 2002). A bejuttatott donor eredetű ES-sejtek betelepítették a tímuszt, és ezáltal a T-limfociták érése során a donorszövet allo-antigénjeit felismerő sejtek a negatív szelekciós folyamat eredményeként elpusztultak, és nem kerültek ki a perifériás nyirokszervekbe. Az így felkészített gazdaszervezet – saját szöveteihez hasonlóan – elfogadta a később beültetett donorszövetet (4. ábra).

Ellentétben a felnőtt csontvelői sejtekkel, amelyek érett T-limfocitákat is tartalmaznak, az ES-eredetű donorsejtek sem fordultak a gazdaszervezet szövetei ellen. Ezek az eredmények azt igazolják, hogy az allogén ES-eredetű sejteket az immunológiailag kom-



4. ábra • A kevert kiméra állapot szerepe a tolerancia kialakításában – A „kevert hematopoetikus kiméra” állapot kialakulását követően a tímuszt mind az allogén donor (D), mind a befogadó szervezet, a recipiens (R) saját dendritikus sejtjei telepítik be. A donor és a recipiens eredetű csontvelői T-limfocita előalakok közül mindazok, amelyek a kétféle eredetű dendritikus sejt által bemutatott fehérjék peptidjeit felismerik, így az allo-reaktív T-limfociták is (A) a tímuszban zajló negatív szelekciós lépések eredményeként programozott sejthalállal elpusztulnak (deléció). Így a perifériás nyirokszervekbe és a keringésbe nem kerülnek ki autoreaktív T-limfociták, ezáltal az ugyanabból a donorból származó szöveti sejtek allo-antigénjeivel szemben a befogadó szervezetben hosszú távú tolerancia alakul ki (Bradley et al. alapján).

petens felnőtt szervezet kilökődési reakció nélkül képes elfogadni, és ezáltal a szervezet – az immunrendszert károsító előkezelés nélkül – felkészíthető a donorszövet (például hasnyálmirigysejtek, szívizomsejtek) befogadására. Az ES-sejtek – a *teratoma*-képződés veszélye miatt – önmagukban erre a célra nem használhatók fel. Új kísérletek azonban igazolták, hogy az ES-sejtekből in vitro hematopoetikus őssejtek állíthatók elő (Kaufman, 2001), amelyek kísérleti állatokban biztosítják a hematopoetikus sejtek fejlődését (Kyba, 2002).

Az őssejtek előnyös immunológiai sajátosságai a génterápia során

Ahogy az előzőek is igazolták, az immunrendszer egyik fontos sajátossága, hogy képes különbséget tenni a saját és a nem saját szövetek között. A kérdés természetesen az, hogy a felnőtt immunrendszer számára mi tekinthető sajátnak. Számos példa igazolja, hogy a „genetikai saját” nem jelenti azt, hogy az immunrendszer a szervezet összes komponensét sajátjának tekinti. Az „immunológiai saját” egyik lehetséges meghatározása, hogy az immunrendszer azokat a szöveti fehérjéket tekinti sajátjának, amelyekkel az egyedfejlődés korai szakaszában találkozott, és velük szemben tolerancia alakult ki. Így fiziológiás körülmények között az őssejteknek és a belőlük kialakuló differenciált, adott funkcióra specializálódott sejteknek fontos szerepük van az immunológiai saját és az immunológiai tolerancia kialakításában.

Ez azt is jelenti, hogy az egyetlen gén hibájából származó kóros elváltozások terápiás korrigálása során a testi sejtekbe mesterségesen bevitt gén fehérjeterméke „idegennek” minősül a szervezet számára, és ezért az immunrendszer az adott gént hordozó sejtekkel szemben kilökődési reakcióval válaszol. Ez az immunológiai reakció a génterápiás eljárások kudarcát

jelentheti, amit számos megfigyelés igazol. Az is bizonyítást nyert, hogy a génbevitellel módosított differenciált szöveti sejtekben az immunrendszer először a gén bevitelét szolgáló – általában vírus eredetű – *vektort* ismeri fel, majd ezt követően fordul a bevitt gén fehérjeterméke ellen. Az immunrendszer reakcióját tehát nemcsak az „idegenként” felismert géntermék váltja ki, hanem a vektor. A DNS, illetve a bevitel hatására kialakuló helyi gyulladási reakció „veszély”-jelként is hat, és elősegíti az immunológiai folyamatok beindulását (Brown, 2002). Ennek háttérében az áll, hogy a vektor aktiválja a természetes immunitás elemeit, például a természetes össejteket, amelyek a vektort hordozó sejteket elpusztítják. A károsodott sejteket, valamint a belőlük kiszabaduló fehérjéket – köztük a bevitt gén termékét – a szöveti dendritikus sejtek felveszik, és hatékonyan mutatják be a T limfociták számára (3. ábra). Ennek következtében a vektort és ezzel együtt a korrekciós gént hordozó sejteket a citotoxikus T-limfociták (Tc) és az immunválasz egyéb effektor funkcióinak áldozatává válnak.

Ennek a mechanizmusnak az alapján a génterápiás eljárások hatásfoka a „veszély”-jelek csökkentésével és/vagy megszüntetésével jelentősen javítható. Ennek egyik lehetősége a kevésbé immunogén vektorok kifejlesztése, valamint a legalkalmasabb hordozó sejtek kiválasztása. In vitro állatkísérletekben igazolták, hogy ha a specializálódott limfociták helyett a helyettesítendő gént autológ hematopoetikus őssejtekbe juttatták be, akkor az adott génnel transzfektált HSC-k nem kilökődési reakciót, hanem hosszan tartó toleranciát váltottak ki. Ahogy korábban már említettük, a HSC-k a befogadó szervezetben különböző vesejteké, többek között makrofágokká és dendritikus sejtekké differenciálódnak. Az így képződő antigén bemutató sejtek fiziológiás körülmények között az új fehérjét sajátként mutatják be a

tímuszban, és ezáltal hosszan tartó immunológiai toleranciát váltanak ki (3. ábra). Ennek alapján a HSC-k a génterápia új, ígéretes eszközei lehetnek, és felhasználhatók a befogadó szervezet megfelelő immunológiai előkészítésére, a specifikus immunológiai tolerancia kialakítására.

Saját kutatások

A T-limfociták különböző altípusai által közvetített sejt immunválasz szinte minden típusú patogén elleni hatékony védekezés fontos eleme, alapvető szerepet játszik az allergiás reakciók kialakulásában, a daganatok elleni immunológiai folyamatokban és a saját szövetekkel szembeni immunológiai tolerancia létrehozásában, fenntartásában is. A T-limfociták a szerzett immunitás antigént felismerő és végrehajtó sejtjei, működésükhöz azonban a természetes immunitáshoz tartozó antigént bemutató sejtekre, például dendritikus sejtekre van szükség. A T-limfocitáknak számos, funkcionálisan eltérő altípusa ismert: a CD4+ segítő és a CD8+ sejtjőlő képességgel rendelkező T-limfociták mellett az ún. szabályozó sejtek – amelyek az immunválasz mértékét és lefolyását irányítják – szintén ide sorolhatók. Eltérő funkcióik ellátásához a T-limfociták átmeneti kapcsolatokat teremtenek a dendritikus sejtekkel, a két sejt kölcsönhatása kétirányú

szabályozást tesz lehetővé, amely meghatározza a celluláris immunválasz mértékét, irányultságát, összetevőit (Rajnavölgyi – Lányi, 2003). Mind a dendritikus sejtek, mind a T-limfociták funkcionális szempontból rugalmas sejtek, így az antigén természetétől, a szervezetet ért „veszély”-jelektől függően többféle módon képesek válaszolni az őket ért hatásokra. A dendritikus sejtek közé többféle sejtfeleség sorolható, amelyek a HSC-kból és más előalakokból is előállíthatók. A dendritikus sejtek izolálására és in vitro fenntartására, differenciáltatására kidolgozott új eljárások lehetőséget adnak arra, hogy a dendritikus sejtek funkcióját in vitro módosítsuk, és segítségükkel a sejt immunválasz határfokát, irányát befolyásoljuk. Saját vizsgálatainkban elsősorban a dendritikus sejtek és a CD4+ T-limfociták kölcsönhatását vizsgáljuk azzal a céllal, hogy a vírus- és tumorrelles immunitás hatékonyságát növeljük (Gogolák, 2003). Továbbá olyan módszerek kifejlesztésén is dolgozunk, amelyek segítségével az immunológiai tolerancia a dendritikus sejtek in vitro előkészítése révén kiváltható, erősíthető.

Kulcsszavak: *embrionális őssejt, hematopoetikus őssejt, szövetkilökődés, antigén bemutatás, dendritikus sejt, T-limfocita, klonális osztódás, regenerációs medicina*

IRODALOM

Bradley, J. Andrew – Bolton, Eleanor M. – Pedersen, Roger A. (2002): Stem Cell Medicine Encounters the Immune System. *Nature Reviews. Immunology*. 2, 859-871

Brown, Brian D. – Lillicrap, David (2002): Dangerous Liaisons: the Role of “Danger” Signals in the Immune Response to Gene Therapy. *Blood*. 100, 1133-1140

Effros, Rita B. – Pawelec, Graham (1997): Replicative Senescence of T Cells: Does the Hayflick Limit Lead to Immune Exhaustion? *Immunology Today*. 18, 450-454

Erdei Anna (2003): A természetes immunitás hatalma. *Magyar Tudomány*. 48, 422-430

Fandrich, Fred et al. (2002): Preimplantation-Stage Stem

Cells Induce Long-Term Allogeneic Graft Acceptance Without Supplementary Host Conditioning. *Nature Medicine*. 8, 171-178

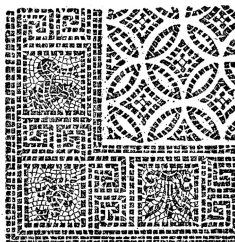
Geiger, Hartmut – Van Zant, Gary (2002): The Aging of Lympho-Hematopoietic Stem Cells. *Nature Immunology*. 3, 329-333

Gogolák Péter – Réthi B. – Hajas G. – Rajnavölgyi É. (2003): Targeting Dendritic Cells for Priming Cellular Immune Responses. *Journal of Molecular Recognition*. (In Press)

Jiang, Yuehua – Jahagirdar, B. N. – Reinhardt, R. L. – Schwartz, R. E. et al. (2002): Pluripotency of Mesenchymal Stem Cells Derived from Adult Marrow. *Nature*. 418, 41-49

Kaufman, Dan S. – Hanson, E. T. – Lewis, R. L. – Auerbach,

- R. – Thomson, J. A. (2001): Hematopoietic Colony-Forming Cells Derived from Human Embryonic Stem Cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 98, 10716-10721
- Kyba, Michael – Perlingeiro, Rita C. – Daley, George O. (2002): Hoxb4 Confers Definite Lymphoid-Myeloid Engraftment Potential on Embryonic Stem Cell and Yolk Sac Hematopoietic Progenitors. *Cell*. 109, 20-37
- Osawa, Mitsujiro – Hamad, K. – Hamada, H. – Nakachi, H. (1996): Long-Term Lymphohematopoietic Reconstitution by a Single CD34-Low/Negative Hematopoietic Stem Cell. *Science*. 273, 242-245
- Pálóczi Katalin (2003): Az immunrendszer újrakejlődése csontvelő-átültetést követően: az allogén őssejt-terápia immunológiai vonatkozásai. *Magyar Tudomány*. 48, 477-487
- Rajnavölgyi Éva – Lányi Árpád (2003): CD4+ T Lymphocytes in Anti-Tumor Immunity. *Advances in Cancer Research*. 87, 195-249
- Rajnavölgyi Éva (2003): A dendritikus sejtek és terápiás felhasználási lehetőségeik. *Magyar Tudomány*. 48, 440-450



TUMORŐSSEJTEK

Kopper László

az orvostudomány doktora,
egyetemi tanár – kopper@korb1.sote.hu

Hajdú Melinda

PhD-hallgató, Semmelweis Egyetem,
I. Patológiai és Kísérleti Rákkutató Intézet

Őssejtek és daganatsejtek

A humán főtális szövetekből olyan *embriónális őssejteket* lehet izolálni, amelyek különböző – mindhárom *embriónális csíralemezben* található – *differenciált* sejtípus kialakítására képesek (Thomson et al., 1998). Ennek felismerése teremtette meg a szövet- vagy szervgyártás gondolatát, számos etikai problémával együtt. Mérföldkövet jelentett annak igazolása, hogy a már differenciált szövetekben található ún. *szomatikus*, vagy *felhőtt őssejtek* plasztikusak, azaz nemcsak egy sejt vonal képzésére kötelezték el magukat, hanem olyan sejtek is differenciálódhatnak belőlük, amelyek adott őssejt eredeti szövetében nem fordultak elő. Ez a *transzdifferenciálódás* (például csontvelői őssejtől májsejt, vesesejt, szívizomsejt, idegsejt stb. kialakulása) (Alison et al., 2003; Eglitis et al., 1997; Orlic et al., 2001) az eredetitől eltérő mikrokozmoszban történik, amikor az új környezet hatására olyan genetikai program aktiválódik, amely a származási helyen nem működött. Az új környezetet részben az itt levő sejtek (például *sztróma-sejtek*) által termelt, részben a sejtek közötti mátrixban található növekedési és/vagy differenciálódási faktorok jelentik elsősorban. Az ezekkel kialakuló kapcsolat határozza meg az őssejtben kialakuló programot, amely *transzkripciós faktorokon* keresztül hozza meg a sejt döntését – az őssejtek esetében az elhatározást a *proliferáció* és differenciáció felé (Preston et al., 2003).

Az őssejtek két alapvető tulajdonsággal rendelkeznek: egyrészt képesek megújítani önmagukat, másrészt képesek bizonyos sejtípusok vagy sejtípus kialakítására. A többes szám nem véletlen, hiszen a differenciálódási képesség lehet *totipotens* (a megtermékenyített petesejt, a zigóta képes létrehozni az embriót és a *placenta trofoblasztjait*), *pluripotens* (a csíralemezok majd minden sejtjét), *multipotens* (bizonyos lokalizációban több sejtípust) és *unipotens* (egy sejtípust). Az említett képességek például-aszimmetrikus osztódás révén egy őssejtet és egy differenciálódásra elkötelezett sejtet eredményeznek, fenntartva így adott szövet egyensúlyát. (Persze az is elképzelhető, hogy két őssejt vagy két differenciált sejt keletkezzen.) Őssejt valószínűleg minden szervben található, talán a szív kivételével. A legtöbb szövetben az összes sejt egy-két százalékát jelentik.

A daganatokkal kapcsolatban már évtizedekkel ezelőtt felvetődött az őssejtkérdés. Megfigyelték, hogy: a.) az őssejtek és a tumorsejtek hasonló tulajdonságokkal rendelkeznek korlátlan proliferációs és szövetspecifikus differenciációs képességük tekintetében; b.) a *kolóniaképző (klonogén) potenciál*, az önmegújító képesség és a differenciálódási képesség a tumorsejtek csak egy meghatározott populációjának jellemzője; és c.) néhány daganatos sejtben terminális differenciációt – azaz a proliferációs képesség elvesztését – lehetett előidézni természetes differenciációs faktorokkal vagy exogén

vegyületekkel. Az 1970-es években a vizsgálati rendszereket, zömmel a normális *vérképző* (*hemopoetikus*) *öss sejtek* módszertanát felhasználva, az ún. *klonogén esszék* (stem cell assay) – *in vitro*: például agar-kolónia teszt, *in vivo*: lépkolónia-teszt, tüdőkolónia-teszt – jelentették, amelyekkel azt vizsgálták, hogy a daganatsejtek hányad része képes új daganatsejtcsoport, daganatsejtkolónia kialakítására. Ezek a módszerek később összefonódtak a *metasztáziskutatással* is, hiszen például az intravénásan adott daganatsejtek által létrehozott tüdőmetasztázisok (mesterséges metastázisok) a klónképző képességet és a metastatizáló képességet egyaránt jelezték. E két jelenség közötti kapcsolat nyilvánvalóan feltételezhető, ám a kísérletek ezen a szinten meg is rekedtek.

Hosszúra nyúlna az *öss sejt* és a metastatizáló sejt közötti hasonlóság elemzése. Kulcskérdés mindkét esetben a mikro környezet meghatározó szerepe, gondoljunk például a szervspecifikus metastatizisok problémájára. Különösen kérdésessé tette a klonogenitási/metastatizálási vizsgálatokat annak felismerése, hogy a daganatsejtek vagy a célszerv (vagy az egész szervezet) manipulálásával, azaz a környezet megváltoztatásával (például besugárzás, *immunszuppresszió*, citotoxikus károsítás) a klónképző/metastatizisképző képesség is módosítható. A rengeteg *in vitro* és *in vivo* kísérlet ellenére a tumorban az *öss sejtek* jelenléte ma is nyitott kérdés.

A normális *öss sejtek* és a daganatsejtek közötti kapcsolatot elsősorban három szempontból vizsgálhatjuk:

- a.) mennyiben hasonló vagy eltérő az *öss sejtek* és a daganatsejtek önmegújító képességének szabályozása;
- b.) keletkeznek-e daganatsejtek *öss sejtekből*;
- c.) léteznek-e daganatos *öss sejtek*?

Az önmegújító képesség szabályozása

Az *öss sejtek* szabályozottan újulnak meg és szolgálnak a differenciált sejtek forrásául,

biztosítva az adott igények között az adott szövet szerkezetéhez és funkciójához szükséges sejtmenyiséget. Az *öss sejtek* azonban nem egyformák. A csontvelőben számos *öss sejt* típus található (hosszú életű hemopoetikus *öss sejt*, rövid életű hemopoetikus *öss sejt*, multipotens progenitorsejtek), amelyek lépcsőzetesen egyre kevesebb sejt típus kialakulásáért felelősek, egyben – ahogy nevük is jelzi – az élettartamuk is eltérő. Bár a különböző *öss sejtek* fenotípusát elég jól ismerjük, a szabályozásukról keveset tudunk.

Mivel a daganatsejtek is rendelkeznek önmegújító képességgel, ezért valószínű, hogy ennek szabályozása hasonló az *öss sejtek*kéhez. A végtelenített önmegújító képességet (halhatatlanságot, *immortalizációt*) számos, eddig csak részleteiben ismert mechanizmus biztosítja. Az egyik a *telomeráz aktivitása*, amely meggátolja a kromoszómák osztódások során bekövetkező rövidülését és a kritikus hossz elérése után a sejt pusztulását. Ilyen vagy hasonló mechanizmus elengedhetetlen az *öss sejtek* számára, de a daganatok kialakulásában is fontos szerephez juthat. Valóban, a daganatok jelentős részében magas telomeráz aktivitást lehet kimutatni. (Ez természetesen általánosítás, hiszen – sajnos nagyon ritkán – előfordulhat, hogy a daganatsejtek nem növekednek tovább, hanem differenciálódnak, sőt a daganat spontán visszafejlődhet. Igaz, utóbbinak lehet egészen más oka is, például a vérellátás elégtelensége.) A másik fontos szabályozási lépés a túlélés biztosítására az *apoptózis gátlása*, különösen azokban a sejtrendszerekben, amelyekben a keletkezett sejtek túlélési jelek nélkül elpusztulnak (mint például a limfoid rendszer). Ebből a szempontból példa a *BCL-2* túltermelése, amit számos – közöttük igen sok szolid – daganatban megfigyeltek. (Elsők között a folliculáris limfómákban, a t:14,18 transzlokáció következtében írták le.) Kiderült, hogy a magas *BCL-2* expresszió a hemopoetikus *öss sejtek* számát is növeli

(Domen et al., 2000). Ma már tudjuk, hogy a különböző sejtekben igen sokféle antiapoptotikus stratégia érvényesülhet, amelynek csak egyik – bár igen fontos – tagja a BCL-2 és rokonsága. Az apoptózis gátlása a szabályozás szintjén szorosan összekapcsolódik a sejt túlélését meghatározó programmal, a különböző *túlélési tényezőkkel* (például AKT). Ezek túltermelése éppen az apoptózis gátlásán keresztül vezethet adott sejt és leszármazottainak halhatatlansághoz, akkor is, ha ez a sejt normális körülmények között ezt a képességét elvesztette (volna). Nem kétséges, hogy túlélési jelekre a normális őssejteknek is szükségük van.

A daganatok keletkezésével kapcsolatba hozott más jelutak is szerepet játszanak az őssejtek szabályozásában: például a *Notch*, a *Sonic hedgehog (SHH)* és a *WNT* jelutak (Reya et al., 2001). Feltételezik, hogy ezek hibái (mutációi) számos daganat kialakulásában szerepet játszanak. E jelutak jelentősége a hemopoetikussal összejött önmegújításában bizonyítottan tekinthető, sőt egyre több adat szól amellett, hogy más sejt típusok őssejtjeit is szabályozzák. Egy nemrégiben felfedezett *protoonkogénről*, a *Bmi-1*-ről pedig kimutatták, hogy működése éppúgy szükséges a normális hematopoetikussal összejött proliferációjához, mint a proliferáló leukémiás sejtészlet fenntartásához (Lessard et al., 2003).

Ezen említett jelátviteli utak (Notch, Hedgehog, WNT) az evolúció során nagymértékben konzerválódtak mechanizmusoknak tekinthetők. Alsóbbrendű élőlényekben (*Drosophila*, *C. elegans*) – itt fedezték fel őket – a *morfogenezist* befolyásolják. Emlősökben a fejlődés különböző stádiumaiban levő sejtalakok proliferációját és differenciációját szabályozzák, biztosítva az egyensúlyt az őssejtek és a progenitor sejtek, illetve az érett alakok között. (Természetesen arról nincs szó, hogy más jelutak ne működne, csak éppen ezeket előszeretettel hozzák kapcsolatba az őssejtekkel.)

WNT-jelút. Fontos tényező a sejt sorsának szabályozásában. A sejt felszínéről a sejtmagba szállítja a jeleket, ehhez β -kateninre van szüksége. Ha nincs megfelelő jel (például hiányzik a ligand vagy a receptor), akkor egy komplex (axin, APC – adenomatosus polyposus coli gén terméke, és a glikogén szintáz kináz 3 β együttese) lebontásra ítéli a β -katenint. A WNT-jel jelenlétében ez a komplex inaktívulódik, a β -katenin bejut a sejtmagba, és egy DNS-hez kötődő fehérje segítségével aktiválja a megfelelő célgéneket. A WNT- β -katenin út hibáit számos daganat esetében a kialakulás és/vagy a progresszió szempontjából fontos tényezőnek tartják. Például *transzgen* egerek epidermális őssejtjeiben mutatták ki, hogy a WNT-jelút folyamatos aktiválása daganat kialakulásához vezethet. A β -katenin egyik partnerfehérjéjének, a *TCF-4*-nek (T-cell factor-4) aktiválását a vastagbélrák keletkezéséhez vezető szabályozási zavar korai eseményének tekinthetjük. A TCF-4-et kódoló TCF712 gén hiányában nem sikerül fenntartani a bolyhokat „tápláló” kripták proliferatív kompartmentjét, ami azt jelenti, hogy a TCF-4 a normál bélben részt vesz a kriptában levő őssejtek működésének szabályozásában.

Notch-jelút. A Notch-családba négy sejt felszíni receptor és legalább öt sejt felszíni ligand tartozik. A ligand bekötődésekor a receptor proteolitikusan hasad, és az intracelluláris domén a sejtmagba transzlokálódik. Ott a *CBF-1* (C-Promoter Binding Factor-1) fehérjével komplexet képezve transzkripció aktivátorként működik. Legismertebb célgénjei a HES-családba tartoznak (Hairy/Enhancer of Split). A HES-gének által kódolt fehérjék olyan bázikus helix-loop-helix transzkripció faktorok átíródását gátolják, amelyek a sejtek differenciálódását szabályozzák. A Notch-jel részt vesz abban a döntésben, hogy a progenitor sejtek mekkora része kötelezze el magát egy megadott fejlődési irányba és mekkora része maradjon elkötelezetlen, egyben alkalmas arra,

hogy különböző sejttípusok differenciálódjanak belőle (Kojika et al., 2001). Szerepe van a neurális őssejtkészlet szabályozásában (Preston et al., 2003). A hematopoetikus rendszer különböző fejlődési stádiumban lévő sejtjén megtalálhatók a Notch-receptorok és -ligandok, befolyásolva többek között a hematopoetikus őssejtkészlet fenntartását és a T lymphocyták differenciálódását. A Notch-rendszer kóros működése – eddigi ismereteink szerint – T sejtjes leukémiák és emlőtumороk kialakulásáért lehet felelős (Kojika et al., 2001).

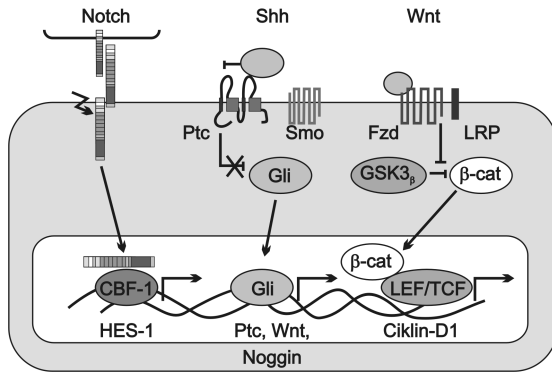
Hedgehog-jelút. A Hedgehog jelátviteli út az ontogenezis során a korai mesoderma fejlődéséért felelős. Az utat a molekula aktiválhatja sejt-sejt kapcsolat révén és szolubilis ligandként is. Receptora a Ptc (Patched), amelyhez valószínűleg az Smo (Smoothed) fehérje is kapcsolódik. Ligand hiányában a Ptc a Smo-t gátolja, míg ligandkötéskor ez a gátlás megszűnik. A Smo aktivációja olyan folyamatokat indít el, amelyek során a Gli családba tartozó transzkripciós faktorok akti-

válódnak, és a Ptc, a WNT; valamint a Noggin – a TGF- β szupercsaládba tartozó BMP-4 (bone morphogenetic protein) gátló fehérje – transzkripcióját módosítják (Bhardwaj et al., 2001). Emlősökben a Sonic hedgehog a BMP-4 molekulán keresztül a primitív hematopoetikus sejtek proliferációját szabályozza (Bhardwaj et al., 2001). A jelátviteli út hibája medulloblastoma és basalsejtes carcinoma patogenetikai tényezője lehet.

Fentiek arra szolgálnak példaként, hogy az őssejtek és a daganatsejtek döntéseiben hasonló szabályozási elemek vehetnek részt. Mindez persze csak nagyon indirekt bizonyíték arra, hogy a daganatsejtek és az őssejtek igen közeli „rokonok” lennének.

Daganatsejtek őssejtekből

Ha a szabályozásban található közös utakat, és ezeknek az utaknak a hibája a daganatkialakulásban a felhalmozódó génhibák között fontos tényező lehet, akkor felvetődik a kérdés: nem az őssejtekből alakulnak-e ki a



1. ábra • A Notch, a Sonic hedgehog és a WNT jelátviteli utak. Ezek a mechanizmusok fontos szerepet játszanak az őssejt-proliferáció, a differenciáció során. Ha a jelátviteli utak szabályozása felborul, a daganatkeletkezés tényezői lehetnek. (Shh – Sonic hedgehog; CBF-1 – C-Promoter Binding Factor; HES-1 – Hairy/Enhancer of Split-1; Ptc – Patched; Smo – Smoothed; Gli – Gli transzkripciós faktorok, Fzd – Frizzled, a WNT receptora; LRP – low density lipoprotein receptor-related protein; GSK3 β – glikogénszintáz-kináz 3 β ; β -cat – β -catenin; LEF – lymphocyte enhancer-binding factor; TCF – T-cell factor.)

daganatok? Az egyik érv az igenlő válasz mellett az, hogy az őssejtek már rendelkeznek az önmegújítás képességével, így valószínűleg „egyszerűbb” ezt a képességet megtartani, mint egy már differenciált sejtben a halhatatlanság programját újra aktiválni. A másik érv szerint az őssejtek sokkal hosszabb életűek, mint a differenciált sejtek, ezért sokkal könnyebben „gyűjtik össze” – sokszor éveken vagy évtizedeken keresztül tartó expozíció során – a szabályozás csődjéhez vezető génhibákat. Nem kizárható természetesen, hogy a korlátozottabb képességű progenitorsejtek a karcinogenezis célsejtjei, de ebben az esetben a szabályozóutak aktiválásával meg kell szerezniük az őssejtekhez hasonló önmegújító képességüket, bár ezt – génhiba formájában – öröktől is kaphatják az őssejtektől.

A vérképző rendszerben mindkét lehetőségre van példa, arra is, hogy az *ősejt*, és arra is, hogy a *progenitorsejt a daganatkeletkezés célpontja*.

Az AML egyik gyakori kromoszóma-rendellenessége a t:8,21, amelynek eredményeként a leukémiás sejtekben AML1-ETO fehérjék jelennek meg. Remisszióban levő beteg normális csontvelői hemopoetikus őssejtjeiben is ki tudták mutatni ezt a génhibát. Sem ezek az őssejtek, sem leszármazottjaik nem voltak leukémiásak, és in vitro normális *mieloeritroid* sejtekké differenciálódtak (Miyamoto et al., 2000). Ez azt is jelentheti, hogy a normális őssejtek már rendelkeztek ezzel a mutációval, de további mutációkra volt szükség a leukémia kialakulásához. Ebben a vizsgálatban a normális hemopoetikus őssejtek fenotípusa CD34+CD38-Thy-1+ volt, míg a *leukémiás blasztoké* CD34+CD38-Thy-1-. Eszerint a leukémiás transzformáció vagy a Thy-1- progenitorsejtek után történt, vagy az őssejtek veszítették el Thy-1 expresszálo képességüket.

A génhibák progenitorsejtben való felhalmozódására példa az a kísérlet, amelynek során a myeloid progenitorsejtek expresszióját

befolyásolták hMRP-8 promoterral. Ha ezekben a transzgén egerekben a BCL-2 fokozott expresszióját idézték elő, akkor hasonló körkép alakult ki, mint a krónikus myelomocitás leukémia, de akut leukémia nem. Ha viszont ehhez a FAS expresszió elégtelensége is társult (azaz mindkét apoptózist hibássá vált, s ezért a sejtek nem tudtak elpusztulni), az egerek 15 %-ában AML alakult ki (Traver et al., 1998). (A 15 % kétségtelenül bizonyító erejű, ám azt nem tudjuk, hogy a fennmaradó 85 %-ban milyen további változások vezetnének AML-hez. Mindebből még azt a következtetést is levonhatjuk, hogy a molekuláris eseményeket illetően egyre több adattal rendelkezünk; a sejtszintű válaszról, kölcsönhatásairól, az ennek nyomán – akár in vitro is – kialakuló heterogenitásról még keveset tudunk.)

Ebbe a kérdéskörbe tartozhat például a *metaplázia* jelensége is, amely rendszerint krónikus szövétkárosítás és regeneráció következménye, és a differenciálódás programjának megváltozását jelenti. Feltételezhető, hogy ez a változás a megváltozott környezeti tényező hatására az adott szövetet vagy sejtípust fenntartó őssejtekben jön létre. A programváltást előidéző károsító tényezők (ilyen például a dohányzás a légutakban: a csillószőrös hengerhámsejtek helyett lap-hámsejtek differenciálódnak) az őssejtekben további génhibákat indukálva vezetnek a daganatsejtek megjelenéséhez.

Daganatőssejtek

A daganatot olyan abnormis szövetnek tekinthetjük, amely egy sejtől és leszármazottjaiból alakul ki a génhibák folyamatos felhalmozódása és különböző *epigenetikai* változások következtében. Ez a szövet különböző differenciáltságot mutató, fenotípusosan heterogén sejtekből áll. (Persze a heterogenitás mindig attól függ, hogy milyen paraméterek szempontjából vizsgáljuk.) Míg azonban a normális őssejtekben szabályos az *organo-*

genesis programja, ez a daganatsejtekben hibás. Ennek ellenére a hasonlóság felveti azt a kérdést, hogy a daganatban minden sejt rendelkezik-e a „szövetet létrehozó” képességgel vagy nem, azaz vannak-e daganatos őssejtek vagy nincsenek. (Itt most nem említjük a daganatok progresszióját meghatározó olyan tényezőket, amelyek alapvetően befolyásolják a beteg sorsát, és amelyekkel kapcsolatban hasonló kérdéseket lehet feltenni: például minden daganatsejt alkalmas-e metasztázisok létrehozására; vagy csak bizonyosak, és ha az utóbbi az igaz, akkor milyen geno- és/vagy fenotípusos változások biztosítják ezt a képességet. A tárgynál maradva: őssejtek-e a metasztázisokat létrehozó sejtek?)

Egér *myeloma multiplex* és leukémia-sejtekkel kapcsolatban figyelték meg először azt, hogy *in vitro* a rosszindulatú sejteknek csak egy kis része (1:10000-1:100) képes nagyfokú proliferációra, azaz lágy agarban kolóniaképzésre. Az *in vivo* vizsgálatok is azt mutatták, hogy a transzplantált leukémiás sejteknek csak egy-négy százaléka hoz létre lépkolóniát (Reya et al., 2001). Ennek a jelenségnek természetesen két magyarázata lehet: vagy az összes daganatsejt rendelkezik tumort létrehozó képességgel, de adott körülmények között (agarban, lépben) ez a tulajdonság csak a sejtek bizonyos részében jelenik meg, vagy pedig a daganatos sejteknek csak meghatározott hányada rendelkezik korlátlan proliferációs potenciállal.

Humán *AML* esetében azt találták, hogy a leukémiás sejtek között valóban létezik valamilyen hierarchia. Kimutatták, hogy az immunhiányos *NOD/SCID* (non-obese diabetic/severe combined immunodeficient) egerekbe transzplantált humán *AML*-sejteknek csak a *CD34+CD38-* populációja képes a betegséget átvinni a recipiensekbe. A következtetés: ebben az *AML*-sejteknek mindössze 0,2 %-át alkotó populációban halmozódnak fel a leukémiát „létrehozni” képes sejtek (Reya et al., 2001).

A hemopoetikus eredetűekhez hasonlóan a szolid tumorok is heterogének, és sejteik klónképző képessége ugyancsak alacsony. Erre vonatkozóan ugyancsak rengeteg „klasz-szikus” adattal rendelkezünk. Ebben az esetben – *in vivo* vizsgálatok esetén – a heterogenitás azonban nemcsak a daganatsejtek közötti fenotípusos különbözőségeket jelenti, hanem azt is, hogy a daganatban a daganatsejtek mellett stromasejtek is jelen vannak, sokszor elég nagy számban. Egy újabb kísérlet során emlőrákos szövetekben sikerült egy olyan sejtpopulációt elkülöníteni, amelyben feldúsulnak a tumorképzésre képes sejtek. A daganatszövetből többféle fejlődési vonalra jellemző markerek segítségével eltávolították a normális sejteket, majd a visszamaradt sejteket fenotipizálták *CD44*, *CD24* (adhéziós molekulák), *B38.1* (emlő- és ováriumrákokra specifikus marker) és *ESA* (*17-1A*, epitel-specifikus antigén, adhéziós molekula) segítségével, a különböző fenotípusú sejteket pedig *NOD/SCID* egerekbe oltották. Tumorképzésre csak a populáció két százalékát kitevő *ESA+CD44+CD24-* sejtek voltak képesek. Ezek a sejtek több passzázs után sem veszítették el *tumorigén* képességüket, az átoltás után létrejött daganat fenotípusos heterogenitása pedig az eredeti tumorhoz volt hasonló. Az ettől eltérő fenotípusú sejtek elenyészően kis százalékból tudtak daganatot létrehozni a recipiensekben. A *tumorigén* potenciállal rendelkező és nem rendelkező sejtek morfológiai alapon nem voltak elkülöníthetők (Dick, 2003).

Az őssejtek a daganatterápia területén is ígéretes lehetőségeket rejtenek magukban, amelyeket talán hasznosíthatunk a jövőben. Károsodott sejteket, szöveteket lehetne velük pótolni – ahogy azt a vértképző elemek esetében már régóta teszik a hematopoetikus őssejtátültetéssel –, de fel lehetne használni őket arra is, hogy a tumorba anyagot juttassanak, legyen az citotoxikus gyógyszer vagy a daganatsejtekre ható, génterápiával modulált

termék. A *neurális őssejtek* esetében figyelték meg, hogy kiterjedt migrációs képességgel rendelkeznek. Állatkísérletekben ezek az őssejtek a nagy malignitású agydaganat, a glioblastoma multiforme köré vándorolnak a normál szöveteken keresztül, és ott stabilan expresszálják a bevitt transzgén terméket.

Valószínű, hogy a tumorössejtek létre csak olyan kísérleti rendszerek szolgáltatathatnak meggyőző bizonyítékot, amelyek az egyes sejtek szintjén képesek vizsgálni a tumorképző képességet. Ez egyelőre nehéz feladatnak tűnik, de a normális őssejtek genotípusának egyre jobb megismerése reményekre jogosít a daganatok tekintetében is. Ezt a kérdést azért is el kellene dönteni, mert alapvetően befolyásolhatja a daganatok keze-

lését. Ha ugyanis léteznek daganatos őssejtek, akkor csupán ezeket kell kiirtani, hisz a többi daganatsejt korlátozott proliferációs képességgel, élettartammal rendelkezik. A probléma „csak az”, hogy a daganat progressziója során őssejtképességekkel rendelkező sejtek állandóan keletkezhetnek, ezek azonosítása, de főként kialakulásuk megakadályozása nem kis kihívás. A terápiának azt is figyelembe kellene vennie, hogy az őssejtfunkcióhoz megfelelő mikrokozmoszra van szükség, így ennek megváltoztatása, a daganatsejtek számára előnytelen „talaj” biztosítása (gondoljunk Stephen Paget elméletére: *seed and soil*) a daganatnövekedés gátja lehet.

Kulcsszavak: *őssejt, tumor*

IRODALOM

- Alison, M. R. Poulson, R. Jeffery, R., Dhillon A. P. Quaglia, A. Jacob, J., Novelli, M. Prentice G. Williamson J. – Wright N. A. (2000): Hepatocytes from Non-hepatic Adult Stem Cells. *Nature* **406**, 257
- Bhardwaj, G., Murdoch, B., Wu, D., Baker, D. P., Williams, K. P., Chadwick, K. Ling, L. E. Karanu, F. N. Bhatia, M. (2001): Sonic Hedgehog Induces the Proliferation of Primitive Human Hematopoietic Cells via BMP Regulation. *Nature Immunology*. **2**, 172-180
- Dick, E. (2003) Breast Cancer Stem Cells Revealed. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. **100**, 3547-3549
- Domen, Jos – Weissman I. L. (2000): Hematopoietic Stem Cells Need Two Signals to Prevent Apoptosis; BCL-2 Can Provide One of These, Kit/C-Kit Signaling the Other. *Journal of Experimental Medicine*. **192**, 1707-1718
- Eglitis, M. A. – Mezey Éva (1997): Hematopoietic Cells Differentiate into Both Microglia and Macrogia in the Brains of Adult Mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. **94**, 4080-4085
- Hitoshi, S. Alexson, T. Tropepe, V. Donoviel, D. Elia, A. J. Nye, J. S. Conlon, R. A. Mak, T. W. Bernstein, A. Kooy D. (2002): Notch Pathway Molecules Are Essential for the Maintenance, But Not the Generation, of Mammalian Neural Stem Cells. *Genes and Development*. **16**, 846-858
- Kojika, S. Griffin, J. D. (2001) Notch Receptors and Hematopoiesis. *Experimental Hematology*. **29**, 1041-1052
- Lessard, . Sauvageau, Guy (2003): Bmi-1 Determines the Proliferative Capacity of Normal and Leukemic Stem Cells. *Nature* **423**, 255-260
- Miyamoto, T. Weissman, I. L. Akashi, Koichi (2000): AML1/ETO Expressing Nonleukemic Stem Cells in Acute Myelogenous Leukemia With 8;21 Chromosomal Translocation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **97**, 7521-7526
- Orlic, D., Kajsturo, J., Chimenti, S., Jakoniuk, I., Anderson, S. M., Li, B., Pickel, J. – Mckay, R., Nadal-Ginard, B., Bodine, D. M., Leri, A. And Anversa, P. (2001): Bone Marrow Cells Regenerate Infarcted Myocardium. *Nature* **410**, 701-704
- Preston, S. L., Alison, M. R., Forbes, S. J., Direzke, N. C., Poulson, R. Wright, N. A. (2003): The New Stem Cell Biology: Something for Everyone. *Journal of Clinical Pathology – Molecular Pathology*. **56**, 86-96
- Reya, T., Morrison, S. J., Clarke, M. F. – Weissman, I. L. (2001): Stem Cells, Cancer, and Cancer Stem Cells. *Nature* **414**, 105-111
- Spradling, A., Drummond-Barbosa, D. Kai, Toshie (2001): Stem Cells Find Their Niche. *Nature* **414**, 98-104
- Thomson, J. A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S. S., Waknitz, M. A., Swiergiel, J. J., Marshall, V. S. – And Jones, J. M. (1998): Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts. *Science* **282**, 1145-1147
- Traver, D., Akashi, K., Weissman, I. L. Lagasse, E. (1998): Mice Defective in Two Apoptosis Pathways in the Myeloid Lineage Develop Acute Myeloblastic Leukemia. *Immunity* **9**, 47-57

ÖSSEJTEK: CSODATEVŐK VAGY CSAK CSODÁK?

Mezey Éva

PHD, programvezető, In Situ Hybridization Facility Basic Neuroscience Program
National Institute of Neurological Diseases and Stroke, NIH, Bethesda
mezey@ninds.nih.gov

„...több vagyok a soknál,
mert az összejtek vagyok minden ő”

József Attila

Az utóbbi években mind a tudományos, mind a népszerűsítő irodalomban nap mint nap hallunk az *összejtekről* és a velük kapcsolatos reményeinkről. Mi is az összejt? A megtermékenyített petesejt osztódása után alakul ki a *blasztocita*, egy sejtekkel körülvett üreg, melynek egyik pólusán lévő sejtömegeből lesz az embrió. Ez a sejtmassza *embriónális összejtekből* áll, melyeket *totipotensnek* képzelünk. Ez azt jelenti, hogy ezekből az összejtekből bármilyen szövet kialakulhat. Az embriónális fejlődés során három sejtréteg alakul ki: a külső *ektoderma* sejtei a bőrt és az idegrendszert fogják létrehozni; a középső sejtrétegből (*mezoderma*) képződik majd a csontrendszer, az izmok, és a vérképző rendszer; a belső (*endoderma*) sejtréteg pedig a gasztrointesztinális rendszert és a tüdőket fogja kialakítani. A három dermalis rétegben lévő összejtek „*multipotensek*”, ami azt jelenti, hogy az adott dermalis határokon belül képesek bármilyen sejté alakulni. Eddig azonban úgy hittük, hogy ezek a sejtek a „dermalis” határokat sosem léphetik át: egy izomsejtből soha nem lehet már belsejt és fordítva. Össejteket nemcsak a fejlődésben lévő, hanem a felnőtt, kifejlett organizmusokban is találunk. Tekintettel arra, hogy tudjuk, hogy szöveteink regenerá-

lódni, az összejtek jelenléte felnőtt szervezetben önmagában nem meglepő. Régóta tudjuk, hogy a vérsejtek folyamatosan újraképződnek a csontvelőben lévő differenciálatlan sejtekből. Egészen az utóbbi időkig azonban úgy hittük, hogy a felnőtt szervezetben lévő szöveti összejtek csak az adott szövet sejtjeit képesek újratermelni – így *differenciálódási* lehetőségük jóval szűkebb a dermalis összejtekénél.

Az elmúlt négy évben azonban sok adat látott napvilágot különböző tudományos folyóiratokban, melyek arra mutattak, hogy a természet nem minden esetben követi a fejlődés tanban megantult szigorú szabályokat. Az új elképzelésnek, hogy felnőtt szöveti összejtek képesek teljesen új irányba differenciálódni és áttörni a dermalis gátat, sok támogatója és ellenzője van a szakmában. A jelenséget *transzdifferenciálódásnak* nevezték el, ami tehát azt jelenti, hogy például egy ektodermális szöveti összejt környezeti hatásra képes olyan szöveti sejté differenciálódni, amely a fejlődés során nem ektodermából (hanem mesodermából vagy endodermából) származott (1. ábra).

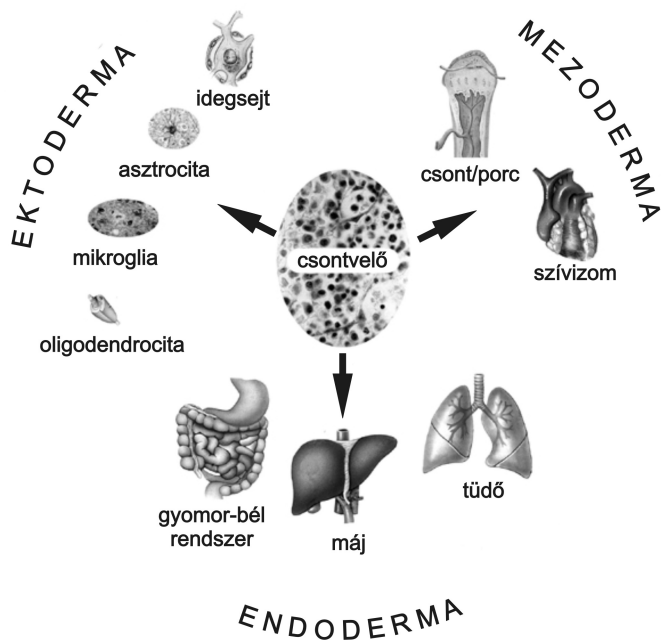
Az új teóriát ellenzők körébe tartoznak azok, akik az embriónális összejtek terápiás felhasználásán dolgoznak – mivel ha igaznak bizonyul az, hogy *szöveti (felnőtt) összejtek* használhatók regenerációra, az embriónális összejtkutatás politikai és tudományos támogatása jelentősen csökkenne. Itt mindenk-

előtt szeretnénk megjegyezni, hogy az össejtek (bármilyen eredetűek is legyenek) terápiás felhasználása még egyáltalában nem bizonyított. Jelenleg nincs rá megbízható tudományos adat, hogy bármilyen össejt képes pótolni sérülés vagy betegség következtében elpusztult szövetet, és így egyetlen fajta össejt sem látszik jobbnak a többinél. Az embrionális össejtkutatás tehát éppúgy megérdemli a támogatást, mint a szövetspecifikus felnőtt szervezetben található össejteké. Az utóbbiakkal kapcsolatos kutatás azonban még gyerekcipőben jár – alapos tanulmányozásuk csupán néhány éve kezdődött meg.

Aki a szakmai irodalmat olvassa, nehezen igazodik el az adatokban, melyek a felnőtt össejtek differenciálódási lehetőségeit vizsgálják. A zavarosság oka részben az, hogy különböző kutatócsoportok különböző oldalról közelítik meg a problémát, és a kép még nem állt össze. A kérdések közül

a legfontosabbak egyike, hogy előfordul-e fiziológiásan transzdzifferenciálódás. Vajon a vizsgált össejtek átprogramozódnak-e, vagy a bennük lévő genetikai anyag összeolvad egy meglévő (már differenciált) sejt magjával, és ez a magfúzió a magyarázata a sejt karakterváltozásának? Akár a transzdzifferenciálódás, akár a fúzió előfordul-e olyan mértékben, aminek terápiás haszna lehet, és ha igen, tudjuk-e a folyamatot irányítani?

A fenti kérdések tükrében nézzük meg a csontvelőben található össejtek. Ezek a sejtek a legújabb adatok szerint nemcsak a vörsejteket képezik újra, hanem képesek minden szövet sejtjeihez hozzájárulni – beleértve az agyat is. Ezt úgy bizonyították be, hogy egerekbe kétféle csontvelősejtet fecskendeztek be: vagy olyan össejtek, melyekhez genetikusan zöld fluoreszcens festéket kötöttek (Brazelton, 2000); vagy nőstény állatba hím állatból származó csontvelőt juttattak, és az



1. ábra • Az ábra az új adatok alapján összefoglalt lehetőségeket szemlélteti, melyben a csontvelőből különböző – fejlődéstanilag más dermatomából származó – szövetek is képződhetnek.

Y kromoszómát használták nyomkövetésre (Mezey, 2000). A genetikusan jelölt sejtekkel potenciálisan problematikus lehet, hogy a nyomkövetésre használt zöld fluoreszcens festék expressziója nem stabil (Mezey, 2003). Az Y kromoszóma igen megbízható marker, azonban technikailag nehéz a vizualizálása, valamint az Y kromoszómát tartalmazó sejtek karakterének egyidejű azonosítása. A nehézség ellenére azonban ez kivitelezhető, és megbízható adatokat szolgáltat. További kérdést vet fel az a tény, hogy sem a fluoreszcens, sem a hím csontvelő nem lett egészséges (kontroll) állapotoknak beadva. Ennek oka az, hogy annak érdekében, hogy az új csontvelősejtek megtapadjanak és osztođjanak, a fogadó állat saját csontvelőjét gyengíteni kell. Ezt általában besugárzással érik el (Brazelton, 2000; Goodell, 2001; Krause, 2001; Nakano, 2001; Theise, 2000; Wagers, 2002), vagy olyan genetikailag előállított egér használatával, mely fehérvérsejtek nélkül születik (Mezey, 2000). Jelenleg még nem tudhatjuk, hogy a besugárzás és/vagy a genetikai manipulálás befolyásolja-e a kapott eredményeket.

Amikor a *transzplantáció* után csontvelőből származó sejteket találunk a különböző szövetekben, újabb nehézséget jelent a csontvelősejtek markereinek további azonosítása az adott szövetspecifikus sejtekkel. Az agyban például nem elég kimutatni az Y kromoszómát, hanem idegsejtekre jellemző fehérjék kimutatásával azt is be kell bizonyítani, hogy ugyanaz a sejt (vagy sejt-mag) tartalmazza az Y kromoszómát, mint a specifikus (idegsejt-specifikus) fehérjét. Ennek egyértelmű kimutatása csak konfokális mikroszkóp segítségével lehetséges, mert ez kizárja, hogy egymás fölött lévő struktúrák átfedése okozná a kolokalizációt. Más szövetekben a feladat könnyebb lehet. A száj nyálkahártyasejtjeit szét lehet kenni egy mikroszkóp tárgylemezére, és a sejteket így egyenként lehet megvizsgálni. Ezt a mód-

szert használtuk laboratóriumunkban, amikor szájnyalkahártya sejteket gyűjtöttünk olyan, korábban leukémiás nőbetegektől, akik betegségük során férfi csontvelőátültetésben részesültek. Bár hasonló betegek agyában már korábban kimutattuk (Mezey, 2003) igen kis százalékban (0,3%) a csontvelőből származó Y kromoszóma-tartalmú sejtek jelenlétét, mi is meglepődtünk azon, hogy az Y kromoszómát tartalmazó (azaz a beültetett csontvelőből származó) differenciált szájnyalkahártya-sejtek száma a betegekben 0,8-12,7 % között mozgott (Tran, 2003). Ezekben a sejtekben egyidejűleg meg tudtuk festeni az X és az Y kromoszómákat, és közel tízezer sejt megvizsgálása azt mutatta, hogy csak igen elvétve (két sejt a tízezerből) vannak diploid sejtek, amiknek a sejtmagjában a normális kromoszómaszám kétszerese van meg, tehát valószínűleg két sejt (egy szájnyalkahártyasejt és egy csontvelősejt) fúziójából jöttek létre, és nem a csontvelősejt „átprogramozódásának” a következményei. Ez a kísérlet azt mutatta, hogy emberben a fúzió (legalábbis a szájnyalkahártyában) igen ritka, és azt bizonyította, hogy felnőtt őssejtek valóban képesek átváltozni olyan sejtekké, melyek a fejlődés során más dermális rétegből eredtek. Ez természetesen nem azt jelenti, hogy a sejt-magfúzió jelentőségével nem kell számolni. Tudjuk, hogy a sejt-fúzió kétségtelenül élettani jelenség. A májszövetben például ismert, hogy néha a sejtek több mint fele *diploid* – azaz a fúzió eredménye. A közelmúltban két kutatócsoport tanulmányozta a genetikailag fumarylacetoacetáthidroláz enzim hiányában szenvedő egereket (Vassilopoulos, 2003; Wang, 2003). Ezek az egerek kezelés nélkül elpusztulnak. Amikor azonban egészséges (a hiányzó enzimet tartalmazó) csontvelővel transzplantálják őket, képesek egészséges életre. Ezekben a transzplantált egerekben a májsejtek nagy százaléka az egészséges csontvelősejtek és a beteg májsejtek fúziójának eredménye-

képpen jött létre. Ezen kísérlet értékelésekor érdemes elgondolkoznunk a máj különleges szerepén. Mivel a máj elsődleges szerepe a méregtelenítés, a májsejtek folyamatosan károsodásnak vannak kitéve. Amennyiben nem tudják a DNS-üket jó hatásokkal és gyorsan megjavítani, könnyű elképzelni, hogy nagyszámú mutáció jönne létre, és előbb-utóbb az onkogének mutációjának rákos elfajulás lenne a következménye. Ha azonban feltételezzük, hogy fúzió által egy-egy létszükséges génből nem kettő, hanem négy, nyolc vagy akár tizenhat kópia is lehet egy májsejten belül, akkor már valószínűtlen, hogy ugyanaz a gén ugyanolyan módon mutálódik mindegyik kópiában, tehát így nem jön létre rákos bujángzás. Más szóval a májsejteknel a fúzió az önvédelmi rendszer szerves része lehet. Ennek tükrében azt mondhatjuk, hogy míg ismertén multiploid sejtek esetében a magfúzió természetes mechanizmus lehet, addig olyan szöveteknél, melyek diploidok maradnak egy életen át (ide tartozik a legtöbb magasabbrendű állati szövet), nem valószínű a fúzió, hanem a sejtek folyamatos újraképződésében a keringő össejtek transzdzifferenciálódása játszhat szerepet.

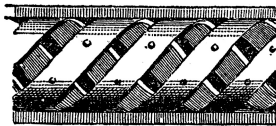
A közelmúltban David Anderson (Anderson, 2001) javasolta, hogy mielőtt transzdzifferenciálódásról számolnának be, a kutatók győződjenek meg arról, hogy a kísérletek a következő három feltételt kielégítik-e: (1) a használt össejtek klonálisak, (2) használat előtt nem voltak *in vitro* körülmények között tenyésztve és (3) az új (például transzdzifferenciált) sejtípus teljes mértékben funkcionális az új környezetben. Ezeknek a feltételeknek talán nemcsak elméleti jelentőségük van. A klonális sejtek használata valószínűleg nagyban megnövelné az esetleges terápia hatékonyságát. Mindenki egyetért azzal, hogy fontos lenne tudni, pontosan melyik fajta csontvelő-össejtekből származnak *neuronok*, *gliasejtek*, *izomsejtek*. Az a feltétel azonban, mely nem

engedi a beültetés előtti szövettenyésztet használatát, már nem egyértelműen elfogadható. Elképzelhető ugyanis, hogy a szövetekből izolált sejteket először tenyésztetben dedifferenciálni kell, vagy esetleg előkészíteni a szükséges irányba való fejlődést (például neurális vagy izomsejt) különböző ismert (vagy még nem ismert) anyagok használatával. Erre egy példa Ingvild Mikkola és csoportjának kísérlete (Mikkola, 2002), amikor már teljesen kifejtett *B limfocitákat* szövettenyésztetben kezelve elérték azt, hogy a sejtek dedifferenciálódtak, majd képesek voltak egy másik sejt (makrofág) irányába fejlődni. A lényeges kérdés nem szükségszerűen az, hogy fiziológiásan mi történik, hanem az, hogy mi lehetséges – esetleg még olyan környezeti és vegyi hatások segítségével is, amiket mesterségesen hozunk létre. A harmadik feltétellel egyet kell értenünk, hiszen a sejtek funkcionális volta elengedhetetlen ahhoz, hogy terápiásan szöveti regenerációra használhatóak legyenek. Annak bizonyítása azonban, hogy a csontvelőből származó idegsejtek működőképeseek, nem egyszerű feladat. Míg szövettenyésztetben lehetséges elektrofiziológia segítségével kimutatni, hogy a sejtek idegsejtként viselkednek, ezt „*in vivo*” nem lehet vizsgálni – mivel jelenleg még nem tudjuk a beépült sejteket így felismerni. Ha el tudjuk émi, hogy nagyságrendekkel több sejt épüljön be, és váljon neuronná, akkor lehetségessé válna egy-egy rendszer funkciójának vizsgálata. Valószínű, hogy a nehézségek a különböző szövetípustól függően különbözőek. A közeljövő feladata az, hogy kiderítsük, mely szöveteket tudjuk (és mely szöveteket nem tudjuk) össejtek segítségével regenerálni; tudunk-e megfelelő állatmodelleket létrehozni, és tudjuk-e optimalizálni az össejtek kezelését és beadását úgy, hogy sikeres terápiás eszközökké válhassanak.

Kulcsszavak: *felöltött össejt*, *csontvelő-össejt*, *transzplantáció*, *fúzió*, *transzdzifferenciálódás*

IRODALOM

- Anderson, David J. – Gage, Fred H. – Weissman, Irving L. (2001): Can Stem Cells Cross Lineage Boundaries? *Nature Medicine*. 7, 4, 393–395.
- Brazelton, Timothy R. – Rossi, F. M. – Keshet, G. I. – Blau, H. M. (2000): From Marrow to Brain: Expression of Neuronal Phenotypes in Adult Mice. *Science*. 290, 5497, 1775–1779
- Goodell, Margaret A. – Jackson, K. A. – Majka, S. M. – Mi, T. – Wang, H. – Pocius, J. – Hartley, C. J. – Ma-jesky, M. W. – Entman, M. L. – Michael, L. H. – Hir-schi, K. K. (2001): Stem Cell Plasticity in Muscle and Bone Marrow. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 938, 208–218.; Discussion 218–220
- Krause, Diane S. – Theise, N. D. – Collector, M. I. – Henegariu, O. – Hwang, S. – Gardner, R. – Neutzel, S. – Sharkis, S. J. (2001): Multi-Organ, Multi-Lineage Engraftment by a Single Bone Marrow-Derived Stem Cell. *Cell*. 105, 369–377
- Mezey Éva – Chandross, K. J. – Harta G. – Maki, R. A. – Mckercher, S. R. (2000): Turning Blood Into Brain: Cells Bearing Neuronal Antigens Generated in Vivo From Bone Marrow. *Science*. 290, 5497, 1779–1782
- Mezey Éva – Key, S. – Vogelsang, G. – Szalayova, I. – Lange, G. D. – Crain, B. (2003): Transplanted Bone Marrow Generates New Neurons in Human Brains. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 100, 1364–1369
- Mezey Éva – Nagy A. – Szalayova, I. – Key, S. – Bratincsák A. – Baffi J. – Shaha, T. (2003): Comment on “Failure of Bone Marrow Cells to Transdifferentiate Into Neural Cells in Vivo”. *Science*. 299, 1184.; Author Reply: 1184
- Mikkola, Ingvild – Heavey, B. – Horcher, M. – Busslinger, M. (2002): Reversion of B Cell Commitment Upon Loss of Pax5 Expression. *Science*. 297, 5578, 110–113
- Nakano, K. – Migita, M. – Mochizuki, H. – Shimada, T. (2001): Differentiation of Transplanted Bone Marrow Cells in the Adult Mouse Brain. *Transplantation*. 71, 1735–1740
- Theise, Neil D. – Badve, S. – Saxena, R. – Henegariu, O. – Sell, S. – Crawford, J. M. – Krause, D. S. (2000): Derivation of Hepatocytes from Bone Marrow Cells in Mice After Radiation-Induced Myeloablation. *Hepatology*. 31, 235–240
- Tran, Simon – Pillemer, S. R. – Dutra, A. – Barrett, J. – Brownstein, M. J. – Key, S. – Pak, E. – Leakan, R. A. – Yamada, K. M. – Baum, B. J. – Mezey E. (2003): Human Bone Marrow-Derived Cells Differentiate into Buccal Epithelial Cells in Vivo Without Fusion. *The Lancet*. 361, 9363
- Vassilopoulos, George – Wang, Pei-Rong – Russell, David W. (2003): Transplanted Bone Marrow Regenerates Liver by Cell Fusion. *Nature*. 422, 6934, 901–904
- Wagers, Amy J. – Sherwood, R. I. – Christensen, J. L. – Weissman, I. L. (2002): Little Evidence for Developmental Plasticity of Adult Hematopoietic Stem Cells. *Science*. 297, 5590, 2256–2259
- Wang, Xin – Willenbring, H. – Akkari, Y. – Torimaru, Y. – Foster, M. – Al-Dhalimy, M. – Lagasse, E. – Finegold, M. – Olson, S. – Grompe, M. (2003): Cell Fusion Is the Principal Source of Bone-Marrow-Derived Hepatocytes. *Nature*. 422, 897–901



ÖSSEJTEK ALKALMAZÁSA A KLINIKUMBAN – MÍTOSZ VAGY VALÓRA VÁLTHATÓ REMÉNYEK?

Boros Péter

az MTA doktora, Mount Sinai School of Medicine Transplantation Institute, New York City, USA
peter.boros@mssm.edu

Bevezetés

Az őssejt-biológia az utóbbi évtizedben jól elkülöníthető, önálló tudományággá fejlődött, kialakítva sajátos problémakörét, kísérleti stratégiáit és biológiai modelljeit. Az alap kutatásban az őssejtek új eszközök biztosítanak a különböző sejt- és szövet típusok differenciálási folyamatainak teljesebb megértéséhez. A klinikumban még inkább forradalmi hatás várható: a különböző típusú őssejtek és progenitor sejtek felhasználásával lehetőség nyílik sérült, elhasznált vagy megbetegedett sejtek és szövetek pótlására. A klinikai alkalmazás egyre inkább reális lehetőségnek tűnik: a közeli jövőben egy alapjaiban új terápiás megközelítés, a regenerációs orvoslás korai eredményei várhatók.

Klinikus és alapkutató ugyanakkor egyaránt felteszi a kérdést: reálisak-e az elvárások a várható eredményeket illetően? Mennyiben bízhatunk a laboratóriumi eredmények gyors klinikai átfordulásában? Az őssejt-biológiához kapcsolódó etikai, helyenként politikai viták során egyes kutatók, érdekcsoportok és gyakran politikusok hajlamosak eltúlozni a várható hatást, és alábecsülik a kiterjedt klinikai alkalmazás bevezetéséhez szükséges időt. Többen felhívták a figyelmet a korai génterápiás próbálkozások kiábrándító tapasztalataira: az 1980-as években megkezdett klinikai próbálkozások mö-

gött nem álltak valóban meggyőző, releváns állatmodellekből nyert adatok, és ez sok vonatkozásban magyarázza a primitív retrovírus vektorok kezdeti sikertelenségét. Ennek következtében csökkent mind a tudományos, mind a gyógyszerügyi érdeklődés, és a korábban is nehezebbé váltak az alkalmazást szabályozó mechanizmusok és rendelkezések. Értékelhető génterápiás eredmények csak mostanában, a korai próbálkozások után több mint tíz évvel látunk (Hacein-Bey-Abina et al., 2002). Amennyiben az őssejtkezeléssel foglalkozó kutatók és klinikusok nem lesznek képesek reális indikációk és alkalmazási módok kimunkálására, illetve nem lesznek körültekintőek ezek bevezetésében, a regenerációs orvoslás megismételheti a korai génterápiás korszak hibáit.

A belátható jövőben az őssejtkezelés legfontosabb technikája, módszere a sejttanszplantáció lesz. Ez történhet frissen izolált embrionális őssejtekkel, *in vitro* indukált, modifikált felnőtt egyedből származó szöveti/szomatikus őssejttel, progenitor sejtrel, valamint sejtvonalakkal. Jóllehet az *in vitro* indukció, az irányított differenciáció külön tudomány, és az őssejtvonalak előállításának is nagyon specifikus problematikája van, a végeredmény, a transzplantációra alkalmas sejt bejuttatásának, elhelyezésének alapelvei valamennyi esetben nagyon hasonlóak. Ez a fejezet az ezzel kapcsolatos legfontosabb

kérdések és buktatók közül kíván néhányról tájékoztatni. Az őssejt-transzplantáció általános alapelveinek ismertetése után megemlítnék néhány ígéretes alternatív őssejtkezelési módszert is.

A sikeres sejt pótlás feltételei: optimális donor-, illetve sejtforrás, optimális környezet a recipiensben.

Értelemszerű, hogy ideális őssejtforrásnak az aktív regenerációra képes szöveteket tekinthetjük. Ezek legfontosabb tulajdonsága, hogy megtartották azokat az élettani sajátosságokat és funkciókat, amelyek az őssejtek túléléséhez és differenciálódásához szükségesek, és képesek az egyes sejt típusok végső specializálódásához elengedhetetlen szignálok (citokinek, növekedési faktorok stb.) közvetítésére is. Ezt az alapelvet tökéletesen igazolja az őssejtkezelés mindmáig egyetlen igazán sikeres és széles körben elterjedt formája: a csontvelő-transzplantáció.

A kifejlett szervezet néhány szövetében (csontvelő, a gyomor-bélrendszer, illetve a kültakaró) is megmaradnak az őssejtek, és az egyed egész életében biztosítják a regenerációhoz szükséges utánpótlást. Hasonló folyamat biztosítja a hím ivarsejtek pubertás utáni folyamatos termelődését is. Valószínű az őssejtek perisztálása a hasnyálmirigyben és a máj parenchymában is. A központi idegrendszerben is kimutattak proliferációra képes progenitor sejteket, de – néhány kivételtől eltekintve (szemgolyó, hippokampusz) – az idegrendszer regenerációja nem egyértelműen bizonyított.

Az agy, a vesék, a tüdők és a szívizom az embrionális fejlődés egy adott, specifikus fázisában alakulnak ki, és felnőtt korban nem tartalmaznak a regenerációhoz elégséges számú őssejtet. Károsodásuk ezért kiterjedt hegesezéshez, szövet-átépüléshez és súlyos funkciókieséshez vezet. A felismerés, hogy a limitált regenerációs kapacitással rendelkező szövetek pótlása az aktuális szövetből származó őssejtekkel nyilvánvalóan nagyon

nehézkés, nagyban előmozdította azokat az elgondolásokat és törekvéseket, amelyek embrionális őssejteket, illetve embrionális őssejtvonalakat kívánnak hasznosítani.

A donor szövettípusa mellett alapvetően fontosnak tűnik az őssejtkezelés sikerének prognosztizálásában az adott betegség patomechanizmusának ismerete. Ideális donor őssejtek alkalmazása mellett is döntően fontos, hogy a kezelendő betegség *intrinsic* őssejtkárosodás következménye-e, vagy az őssejtekre ható, de azoktól független tényezők (például autoimmun betegség) váltják-e ki. Az *intrinsic*, genetikus őssejtkárosodás esetén egészséges donor őssejtekkel történő kezelés rendkívül eredményes, gyógyító hatású lehet (például Fanconi- és Diamond-Blackfan-szindróma vagy különböző genetikus immundeficienciák). Ha az őssejtkárosodás külső mechanizmusra vezethető vissza, az őssejt pótlás csak akkor effektív, ha egyidejű „neutralizáló” kezelés (például immunszuppresszió autoimmun aplasztikus anaemiában) is történik (Bacigalupo et al., 2000). Inszulín-dependens diabéteszben (IDDM) sem várható akár a béta sejtek, akár a hasnyálmirigyből származó őssejtek transzplantációjától végleges/tartós eredmény az autoimmun alapfolyamat hatékony kezelése nélkül.

Az őssejtek klinikai alkalmazásában további nehézséget jelenthet majd, ha a recipiens alapbetegsége súlyos károsodást okoz az őssejtek fejlődéséhez, végső differenciálódásához szükséges szöveti struktúrákban. A csontvelő-transzplantáció gyakorlatából ismerjük, hogy a bizonyos mieloproliferatív kórképekben kialakuló extenzív fibrózis meggátolhatja a normális vérképzés újraindulását, az aktív szöveti regenerációt (Gurevitch et al., 1999). Az őssejtkezelés után hasonló jellegű problémával kell a jövőben szembenézni egyéb betegségekben is. Az olyan próbálkozásoknak, ahol például előrehaladott cirrhosisban szenvedő betegekben a májparenchyma regenerálására

össejteket juttatnak direkt módon a szervbe (például intraportális injekcióval), feltehetően kevés tartós eredménye lesz. Hasonló a helyzet súlyos égés és marószér okozta bőrkárosodás után: a kifejezett hegesedés miatt a graft legtöbbször csupán *barrier* funkciót képes ellátni. Amíg nem vagyunk képesek effektíven megelőzni, illetve csökkenteni a hegesedést, nem várható kielégítő regeneráció a transzplantáció után, jóllehet a kultúrázó rétegei tartalmaznak össejteket, amelyek képesek lennének specializált bőrsejteké differenciálódni.

Plaszticitás: terápiás lehetőség?

A különböző típusú össejtek behatóbb megismerése révén alapelveként fogadtuk el, hogy differenciálódási képességüket tekintve az embrionális össejtek pluripotensek, míg a kifejelett szervezetben található szomatikus össejt kizárólag a rezidens szövettípus sejteinek pótlására képes. Az első tudományos eredmények a kifejelett szomatikus össejt plaszticitásáról (ezt a fogalmat használjuk annak leírására, hogy ez a sejtípus is több irányba differenciálódhat) rendkívüli érdeklődést és bizonyos fokú nyugtalanságot váltottak ki: részben a beláthatatlan tudományos és a biomedicinális lehetőségek, részben pedig a nagyon is belátható egészségpolitikai/etikai következmények miatt.

Izomból, illetve az agyból izolált össejtek képesek a csontvelő bizonyos funkcióit visszaállítani (Bjornson et al., 1999; Jackson et al., 1999). Hasonlóképpen, a csontvelői össejtek is képesek transzdifferentiálódásra, teljesen eltérő szövetek (tüdő és bél epiteliális sejtek, hepatocita, neuron és szívizom) differenciált sejtjeinek fenotípusát és funkcióit kifejleszteni (Krause et al., 2001; Lagasse et al., 2000). Nem kívánunk itt a plaszticitás elméleti/kísérleti hátterével, azt igazoló, illetve annak ellentmondó eredményekkel foglalkozni, a kötet egyéb tanulmányai ezeket részleteikben tárgyalják.

A vita lényegében arról szól, hogy mennyiben végleges, determinált a kifejelett szomatikus össejt sorsa, lehetséges-e (és ha igen, milyen mértékben) a genom totipotenciáját genetikai manipulációval felszabadítani? A kérdés első részére minden bizonnyal igennel válaszolhatunk. Korai vizsgálatok kimutatták, hogy például az izomspecifikus fehérjék/enzimek expressziója nem-izom eredetű sejtekben is aktiválható (Blau et al., 1983). A Dolly-story is bebizonyította, hogy egy terminálisan differenciálódott, kifejelett sejt magjának átültetésével a sejt egy zigotafázisra jellemző állapotba újraprogramozható, és beindulhat a teljes szöveti/szervi fejlődés. Különösen ígéretesek a mesenchymalis össejtekkel (MAPC – multipotential adult progenitor cell) nyert eredmények. Speciális tenyésztési körülmények „nyomására” ezek a sejtek hepatociták, neuronok vagy endotel sejtek sajátosságait, funkcióit produkálják (Schwartz et al., 2002; Reyés et al., 2002). Nem egyértelmű, hogy ezek a sejtek előfordulnak-e a csontvelőben, vagy csupán a tenyésztési körülmények hatására modifikálódnak: elképzelhető ugyanis, hogy a sejt eltávolítása a természetes integrin és citokin *milieu*-ből a normális génexpressziót szabályozó epigenetikus mechanizmusokat is károsítja. A MAPC sejtekben különböző módszerekkel elemezve valóban kimutatható e kontrollmechanizmusok zavara, ezek a sejtek „újraprogramozott” állapotban vannak, ellentétben az embrionális össejtekből magátvitellel kifejlesztett differenciált sejtekkel. A MAPC sejtekről tehát valóban elképzelhető, hogy szintén klinikai felhasználásra kerülnek, noha a kritikus tenyésztési körülmények egyike – az igen alacsony sejtűrűség – komoly akadálya lehet a klinikai alkalmazáshoz elegendő számú sejt előállításának.

Bizonyos adatok alapján felvetődhet, hogy a plaszticitás nem valódi jelenség, és a változások a transzplantált sejtek és a recipiens szövet fúziójával magyarázhatók. Jóllehet in vitro kísérletekben valóban sikerült

embrionális őssejteket hematopoetikus és neuronális őssejtekkel fuzionálni, az *in vivo* fúzió lehetőségének igazolása lényegesen bonyolultabb. Ezen megfigyelések alapján egyértelmű, hogy nagyon szigorú kritériumrendszer (a sejtvonalak megfelelő jelölése, klónanalízis stb.) szükséges az őssejt differenciálódási potenciájának monitorozásához.

A kifejtett szomatikus őssejt plaszticitását jelenleg még semmilyen klinikai alkalmazásban sem tudjuk kihasználni. Számos újabb kutatási eredmény ad ugyanakkor határozott reményt, hogy ezek a sejtek – függetlenül természetes differenciálódási adottságaiktól – újraprogramozva részei lehetnek a jövő terápiás fegyvertárának.

Milyen betegségeket fogunk kezelni?

Értelemszerű, hogy a csupán egy sejt-típus/sejtvonal funkcionális kieséséből adódó kórképek tűnnek a legígéretesebb területnek az őssejtkezelés szempontjából. A Parkinson-kór és az IDDM kezelésében embrionális sejtekkel, illetve hasnyálmirigysziget-(béta)sejtekkel az utolsó évtizedben elért eredmények alapján várhatóan ez a két betegség lesz a kiterjedt, rutinszerű őssejt-alkalmazás első területe. Több mint húszéves, bár zömmel kis esetszámú, nem kontrollált tanulmányokból származó tapasztalat gyűlt össze Parkinson-kórban embrionális mesencephalikus szövettranszplantáció eredményességéről. A kontrollált klinikai vizsgálatok egyértelműen bebizonyították, hogy a graft képes a tartós túlélésre, és dopamint termel (Freed et al., 2001). Az eredményekben mutatkozó nagyfokú variabilitás ugyanakkor ismételt hangsúlyozza a korábban ismertetett alapelvek fontosságát: a megfelelő számú és specificitású/minőségű sejt mellett a recipiens szöveti milieu is rendkívül fontos (jelen esetben a sikeres funkcióhoz elengedhetetlen, hogy a transzplantált sejtek az agy megfelelő területére kerüljenek).

Parkinson-kórban a széleskörű klinikai

alkalmazás szempontjából a legfontosabb korlátozó tényező a megfelelő mennyiségű dopaminerg neuron előállítása. Megfelelő tenyésztési körülmények mellett mind egér, mind humán embrionális őssejtek képesek *in vitro* dopaminerg neuronná differenciálódni. Ha kifejtett szomatikus őssejtekből elképzeltető is dopaminerg neuronok előállítása, kérdéses a szükséges mennyiség biztosítása: az embrionális őssejt ezen a területen egyelőre behozhatatlan előnyt biztosít.

IDDM a másik legfontosabb betegség, ahol az őssejtpótló kezelés óriási távlatokat nyit. A Parkinson-kórhoz hasonlóan egyelőre itt sem megoldott a szükséges sejtmennyiség előállítása. Számos eredmény bizonyítja, hogy a hasnyálmirigy vagy máj eredetű sejtek képesek *in vitro* inzulintermelő sejtekké differenciálódni, és állatmodellben a vércukorszint normalizálódása is elérhető. A klinikai tapasztalat, mely szerint a kadáverből nyert béta sejtek egyértelműen visszaállítják cukorbetegekben a szénhidrátanyagcsere egyensúlyát, az őssejtkezelés első számú célbetegségévé tesz az IDDM-t, betegek százezreinek csillantva fel a tartós tünetmentesség, a gyógyulás reményét.

Alternatív megközelítések: méhen belüli transzplantáció

Általános elv, hogy az őssejtkezelés a proliferáló szövetekben lehet igazán sikeres, ahol jelen vannak a differenciálódáshoz szükséges strukturális/funkcionális sajátosságok. Ez az embrió méhen belüli fejlődése során gyakorlatilag minden szövetre igaz. Külön előny lehet az immunrendszer „éretlensége”, a fejlődő szervezet így sajátként fogadja el a transzplantált sejteket. Nem teljesen érett a vér-agy gát funkciója sem, így az intravénásan beadott sejtek nagyobb eséllyel érik el a központi idegrendszert. Az embrionális fejlődés szakaszait részletesen ismerjük, a sebészeti és radiológiai módszerek rendelkezésre állnak. A méh viszonylag könnyen

hozzáférhető, így az egyes szövetek a terhesség különböző szakaszaiban célzottan kezelhetők.

A kísérletes adatok száma limitált, de patkányban és majomban is leírták az őssejtek sikeres integrálódását az agyba, méhen belüli transzplantációt követően. Jelenleg nem tudjuk, hogy a terhesség folyamán kivitelezett sejt-pótlás az egyed teljes élettartamára biztosítaná-e a hiányzó/kóros sejt regenerációját. Méhen belüli transzplantációval a korai gyermekkorban kialakuló és a születés előtt abszolút biztonsággal diagnosztizálható betegségek kezelése jöhet szóba. Az így kezelhető kórképek között lehetnek a glikogéntárolás zavarai és az osteogenesis imperfecta.

In vitro szervezőállítás

Ez a megközelítés az őssejttenyésztés tapasztalatait kombinálja a biotechnológia legújabb eredményeivel a mesterséges szövetek előállításának területén. Speciális bioreaktorokban őssejteket vagy irányított differenciálódással kialakított specifikus sejteket tenyésztenek háromdimenziós, a szervezetben lebomló, immunológiai szempontból semleges struktúrákon. Az így létrehozott *chip*ek alkalmasak a szövetpótlásra. Bizonyos termékek már széles körben elérhetők (csont, bőr, porc és simaizom). Biztató eredmények vannak endotél sejtek és simaizom kombinálásával (hólyagfal-pótlás), periodontális implantátumokkal, mesterséges erekkel és szaruhártyával kapcsolatban.

Különleges újdonságnak számít a „hibrid” struktúrák megjelenése. Ezekben mechanikai és/vagy elektronikus szerkezeteket építenek össze őssejtekből származó szövetekkel. Az elektromos/mechanikus jel ingerli a szövetet, amely feldolgozza és továbbítja az információt. Noha még csak nagyon kísérleti jelleggel, de az őssejtkezelés egyik sokat ígérő, új fommájaként megjelentek a közép-/belső fül és a retina-implantátumok is.

A legradikálisabb elképzelés: teljes emberi szervek előállítása sertésben. Az emberi őssejteket méhen belül transzplantálják a megfelelő szervbe. A kifejtett állatból eltávolított szerv sertés eredetű parenchymális sejtjei a recipiens szervezetben kilökődnének, míg a humán eredetű őssejtek fokozatosan átvennék ezek helyét illetve szerepét, kialakítva egy normális emberi szerv morfológiáját és struktúráját (Cai et al., 2002).

Összefoglalás

Az őssejtterápia, a regeneratív orvoslás leginkább akkor válhat sikeressé, ha az egyedi sejt szintjén reprodukálja a hagyományos szövet-/szervtranszplantáció eredményeit, követi az alapvető transzplantációs biológiai alapelveket, és folyamatosan megoldja a felmerülő specifikus, immunológiai jellegű problémákat. Az állandóan elérhető, reprodukálható és standardizált módszerekkel izolált őssejtek biztosítása elengedhetetlen. A szelektálási folyamatnak fokozatosan ki kell terjednie az aktuális sejt típus funkcionális értékelésére is: a tisztán fenotípus alapján kiválasztott sejtek működése a transzplantáció után nem lesz feltétlenül ideális. A kifejtett szervezetben előforduló, szomatikus típusú őssejtek közül csak a hematopoetikus, a neuronális és mezenchimális típusokról vannak kiterjedt ismereteink. Az őssejtek felhasználásának sikere – és a rutinszerű klinikai alkalmazás bevezetéséhez szükséges idő – nagymértékben függ az egyes specializált sejt típusok differenciálódásának genetikai és biokémiai szabályozásának a mainál sokkal mélyebb, átfogóbb megismerésétől. A legkomplexebb tanulmányok is azt igazolják, hogy az emberi őssejt sorsát *in vitro* csak igen kevéssé tudjuk befolyásolni: az *in vitro* kultúrákban egyrészt csökken a sejtek pluripotenciája, másrészt a változó tenyésztési körülmények függvényében a sejtek több-kevesebb sikerrel megindulnak a mezodermális, ektodermális vagy entodermális

differenciálódási program útján. Az irányított differenciálódás módszereinek kifejlesztése kétségtelenül nagyon korai fázisban van.

Nem képzelhető el a klinikai alkalmazás széles körű elterjedése megbízható állatmodellek nélkül sem. Bár minden állatmodell limitált, az őssejtkezelés alapvető hatásainak és hatásosságának felmérésére nincs más lehetőségünk. Kockázatosnak tűnik a betegek kezelésére gondolni, mielőtt nincsenek teljesen átfogó ismereteink a szöveti regeneráció mechanizmusairól sem. Ha csak az egérmodellben szerzett jelenlegi ismereteinkre szorítkozunk, nem tudjuk valóban megbízhatóan megősolni egyetlen őssejtkezelési módszer klinikai sikerességét, hatásait.

IRODALOM

- Bacigalupo, Andrea – Brand, R. – Oneto, R. – Bruno, B. – Socie, G. – Passweg, J. – Locasciulli, A. – Van Lint, M. T. – Tichelli, A. – McCann, S. (2000): Treatment of Acquired Severe Aplastic Anemia: Bone Marrow Transplantation Compared with Immunosuppressive Therapy – The European Group for Blood And Marrow Transplantation Experience. *Seminars in Hematology*, **37**, 69-80
- Bjornson, Christopher R. R. – Rietze, R. L. – Reynolds, B. A. – Magli, M. C. – Vescovi, A. L. (1999): Turning Brain into Blood: A Hematopoietic Fate Adopted by Adult Neural Stem Cells *in Vivo*. *Science*, **283**, 534-537
- Blau, Helen M. – Chiu, Choy – Pik – Webster, C. (1983): Cytoplasmic Activation of Human Nuclear Genes in Stable Heterocaryons. *Cell*, **32**, 1171-1180
- Cai, Jingli – Rao, Mahendra S. (2002): Stem Cell and Precursor Cell Therapy. *NeuroMolecular Medicine*, **2**, 3, 233-249
- Freed, Curt R. – Greene, P. E. – Breeze, R. E. – Tsai, W. Y. – Dumouchel, W. – Kao, R. – Dillon, S. – Winfield, H. – Culver, S. – Trojanowski, J. Q. (2001): Transplantation of Embryonic Dopamine Neurons for Severe Parkinson's Disease. *New England Journal of Medicine*, **344**, 710-719
- Gurevitch, Olga – Prigozhina, T. B. – Pugatsch, T. – Slavin, S. (1999): Transplantation Allogeneic or Xenogeneic Bone Marrow within the Donor Stromal Microenvironment. *Transplantation*, **68**, 1362-1368
- Hacein-Bey-Abina, Salima – Le Deist, F. – Carlier, F. – Bouneaud, C. – Hue, C. – De Villartay, J. P. – Thrasher, A. J. – Wulffraat, N. – Sorensen, R. – Dupuis – Girod, S. (2002): Sustained Correction of X-Linked Severe Combined Immunodeficiency by *Ex Vivo* Gene Therapy. *New England Journal of Medicine*, **346**, 1185-1193
- Jackson, Kathyjo Ann – Mi, Tiejuan – Goodell, Margaret A. (1999): Hematopoietic Potential of Stem Cells Isolated from Murine Skeletal Muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, **96**, 14482-14486
- Krause, Diane S. – Theise, N. D. – Collector, M. I. – Henegariu, O. – Hwang, S. – Gardner, R. – Neutzel, S. – Sharkis, S. J. (2001): Multi-Organ, Multi-Lineage Engraftment by a Single Bone Marrow-Derived Stem Cell. *Cell*, **105**, 369-377
- Lagasse, Eric – Connors, H. – Al – Dhalimy, M. – Reitsma, M. – Dohse, M. – Osborne, L. – Wang, X. – Finegold, M. – Weissman, L. L. – Grompe, M. (2000): Purified Hematopoietic Stem Cells Can Differentiate into Hepatocytes *in Vivo*. *Nature Medicine*, **6**, 1229-1234
- Reyés, Morayma – Dudek, A. – Jahagirdar, B. – Koodie, L. – Marker, P. H. – Verfaillie, C. M. (2002): Origin of Endothelial Progenitors in Human Postnatal Bone Marrow. *Journal of Clinical Investigation*, **109**, 337-346
- Schwartz, Robert E. – Reyés, M. – Koodie, L. – Jiang, Y. – Blackstad, M. – Lund, T. – Lenvik, T. – Johnson, S. – Hu, W. S. – Verfaillie, C. M. (2002): Multipotent Adult Progenitor Cells from Bone Marrow Differentiate into Functional Hepatocyte-Like Cells. *Journal of Clinical Investigation*, **109**, 1291-1302

Kulcsszavak: *őssejt; sejtttranszplantáció; őssejtterápia; Parkinson-kór; IDDM*

VÉRKÉPZŐ ÖSSEJTEK A GYÓGYÍTÁSBAN

Pálóczy Katalin
az orvostudomány doktora
k.paloczy@ohvi.hu

Barta Anikó
PhD

Poros Anna
az orvostudomány kandidátusa

Országos Gyógyintézeti Központ, Haematológiai és Immunológiai Intézet, Budapest

Bevezetés

E. Donall Thomas és munkatársai 1975-ben ismertették *HLA-azonos* testvéréből származó csontvelői sejtek intravénás infúziójának eredményességét kemoterápiára rezisztens leukémiás betegen. A csontvelő-átültetés a különböző, életet veszélyeztető betegségekben, a végső kétségbeesésben végzett nagy kockázatú beavatkozásból széleskörűen elfogadott kezeléssé vált (Thomas, 1999). A Nobel-díjjal jutalmazott óriási horderejű új kezelési eljárás széleskörű elterjedését számos hematológiai és immunológiai felfedezés segítette. Nyilvánvalóvá vált, hogy azonos fajon belül, az egyedek közötti sikeres csontvelő-átültetéshez a fő szövetegevezési antigének (hisztokompatibilitási antigének, humán leukocita antigének – HLA) azonosága szükséges. Az is világossá vált, hogy a más egyénből származó sejtekkel történő (allogén) transzplantáció szövődéseiért az alloimmun reakciót közvetítő T-limfociták felelősek. Később lehetővé vált a nem-rokon donorral történő transzplantáció végzése, és a csontvelő mellett, a perifériás vérből nyert mononukleáris sejtekkel történő transzplantáció is (Reiffers, 1998; Gorin, 1999). 1989-ben új őssejt-forrásként jellemezték a köldökzsinórvért, melyet még abban az évben követett az első sikeres köldökzsinórvér-transzplantáció (Broxmeyer, 1989; Gluckmann, 1989). A vérből készített őssejteket – a továbbiakban: őssejteket – tartalmazó sejtke-

szítményekkel végzett kezelés biztonságossága folyamatosan javult, a transzplantációval kapcsolatos halálozási arány – főként az infekciók hatékonyabb kivédése miatt – lényegesen csökkent.

A transzplantáció területén lényeges változások történtek: egyrészt szélesedett azon betegségek köre, amelyekben a gyógyulás ígéretével lehet alkalmazni a beavatkozást, másrészt a transzplantáció olyan betegekre is kiterjeszhetővé vált, akiket korábban, a kezelés nagy toxicitása miatt nem lehetett kitenni a beavatkozás veszélyének.

Őssejt-források

A transzplantáció szempontjából megfelelő számú őssejtet tartalmazó készítmény nyerhető a csontvelőből, és előkezelés után a perifériás vérből. Bár a köldökzsinórvér is gazdag őssejteketben és vérből készített elődsejteketben, alkalmazása elsősorban a gyermek transzplantációkra korlátozódik. Ennek oka, hogy a sikeres transzplantáció előfeltételeként $3-5 \times 10^8$ /recipiens ttkg mononukleáris sejt, vagy $3-5 \times 10^6$ /recipiens ttkg *CD34* őssejt beadását kell biztosítani, azonban a köldökzsinórvér mononukleáris sejtek száma nem éri el az átlag felnőtt testsúlyra számított mennyiséget.

Az őssejt transzplantációja történhet *autológ*, *szingén* vagy *allogén* módon. Az *autológ graft* magától a betegtől nyerhető betegségmentes klinikai stádiumban, és fagyasztástárolás után, később kerül transzplantációra. A *szingén graft* egy petéjű ikerpár egészséges

tagjától nyerhető, aki minden genetikai tulajdonságában azonos a beteg ikertestvérrel. Az *allogén graft* nem szingén testvérektől vagy alternatív donoroktól származhat. Az allogén donor lehet HLA-azonos testvér, HLA-ban azonos vagy nem teljesen azonos rokon és HLA-azonos nem-rokon (unrelated) önkéntes egyén. A transzplantáció szempontjából megfelelő testvér vagy családi donor kb. 35 %-ban található. A nemzeti és nemzetközi regiszterek segítségével kb. 50-60 %-ban lehet önkéntes nem rokon donort találni a betegek számára. A HLA-tulajdonságot tekintve különleges vagy kisebbségekhez tartozó betegek számára a donorregiszterekben nagyon nehéz vagy lehetetlen megfelelően alkalmas donort találni.

Ma már az önkéntes felajánlás alapján gyűjtött köldökzsinórvér fagyasztása és tárolása is megoldott, és a nemzetközi regiszter elérhető minden transzplantáló központ számára.

A vérképző őssejtek gyűjtése és infúziója

A három jól ismert és alkalmazott őssejt-forrás a csontvelő, perifériás vér őssejt (PBSC) és a köldökzsinórvér (CB) (Reiffers, 1998; Gorin, 1999; Broxmeyer, 1989; Gluckmann, 1989). A két fő transzplantációtípus az allogén, amikor más egyénből származnak a sejtek, illetve az autológ, amikor a beteg a saját maga donora. Az allogén transzplantáció során frissen levett sejteket transzplantálnak. Autológ transzplantáció során fagyaszttva tárolt, majd felolvasztott sejteket alkalmaznak. Az allogén transzplantáció egyik altípusa a nem-rokon donor sejtekkel végzett transzplantáció, amikor a donort, aki önkéntesen jelentkezett donációra, hazai vagy nemzetközi donor várólistán tartják nyilván. A beteg HLA-típusához keresik a megfelelő donort, majd újbóli beleegyezés, kivizsgálás és részletes immunológiai egyeztetések után kerül sor a transzplantálandó sejtek levételére és beadására.

Csontvelői sejtek nyérése: Allogén transzplantáció során az egészséges donortól, vagy

autológ transzplantációra készülve a megfelelő klinikai állapotú betegtől, altatásban, vagy gyakrabban spinális érzéstelenítésben, a hátsó csípőtövisből többszörös aspirációval nyerhető a megfelelő mennyiségű, $3-5 \times 10^8$ /recipiens ttkg mononukleáris sejtet tartalmazó csontvelő. Az alvadásgátló csontvelői sejteket megfelelő előkészítés után infúzió formájában kapja meg a beteg (recipiens).

Perifériás vér-összejt (PBSC) nyérése: A PBSC gyűjtése *aferezis* révén, a keringő vérből történik. Allogén transzplantáció esetén az egészséges donor nagy dózisu granulocita növekedési faktor előkezelésben részesül (G-CSF), mely lehetővé teszi, hogy a csontvelőből a vérbe kerüljenek a transzplantációra alkalmas őssejtek és elődsejtek. Autológ transzplantáció során az őssejtgyűjtést megelőző kezelést az alapbetegség határozza meg. Malignus hematológiai betegségben gyakran összekötik a sejtgyűjtést a kemoterápiával, amit nagy dózisu G-CSF adása követ, és alkalmas sejt szám mellett kezdődik el a sejtgyűjtés. Nem malignus betegségekben G-CSF (+- ciklofoszfamid) előkezelés elégséges. Minden esetben a G-CSF kezelés teszi lehetővé, hogy a csontvelőből nagymennyiségű őssejt és korai vérképző elődsejt kerüljön a keringésbe. Az afezesis révén gyűjtött mononukleáris sejtek között megszámlálhatók a CD34 antigént hordozó sejtek (őssejtek és korai progenitorok), ezáltal a szükségesnek tartott $3-5 \times 10^6$ /recipiens ttkg CD34+ sejt transzplantációja biztosítható.

Köldökzsinórvér-gyűjtés: Az allogén transzplantáció speciális formája, melynek sajátossága, hogy az adományozott köldökzsinórvért lefagyaszttva tárolják a felhasználásig. Az adományozás, levétel, fagyasztás, tárolás és biztonsági vizsgálatok részleteit nemzetközi szabályrend tartalmazza. Tekintve, hogy a köldökzsinórvér visszaadása transzplantációt jelent, a transzplantáció szabályainak minden esetben teljesülniük kell.

Veleszületett

Immunhiányos állapotok
 Vérbepézőszervi betegségek
 Vörösvérsejt-zavarok (anémiák)
 Fehérvérsejt-zavarok (neutropeniák)
 Vérlemezke-zavarok (trombocitopeniák)
 Veleszületett anyagcserezavarok

Szerzett

Aplasztikus anémia
 Szerzett immunhiány szindróma
Tiszta vörösvérsejt aplázia
Tiszta megakariocita hiány
Langerhans histiocitózis
 Autoimmun betegségek
 (Ritka az allogén transzplantáció,
 főként autológ átültetés történelk)

1. táblázat • Allogén vérbepéző őssejt transzplantációval kezelhető nem malignus betegségek

A nemzeti köldökzsinórvér-bank létrehozása és a nemzetközi hálózatba történő bekapcsolódás hazánkban még kialakítás alatt áll.

Rokon és nem-rokon donortól származó sejtekkel végzett transzplantáció

Az allogén transzplantáció számos nem malignus betegségben menthet életet. E betegségek legtöbbször gyermekkorban jelentkeznek, immunológiai, vérbepézőszervi, anyagcsere vagy egyéb eredetű (1. táblázat).

Mind gyermek-, mind felnőttkorban felléphetnek azonban olyan, másként nem gyógyítható malignus vérbepézőszervi és nyirokszervi betegségek is, amelyekben az egyetlen ma ismert gyógyító eljárás az allogén transzplantáció (2. táblázat).

Az allogén transzplantációhoz a megfelelő donorkiválasztás, a donor és recipiens HLA egyeztetése (szerológiai, funkcionális, molekuláris módszerek), a recipiens orvosi szempontból történő előkészítése, a donor előkészítése és a transzplantáció biztonságos elvégzésének biztosítása szükséges (Gratwohl, 2002).

Kondicionáló kezelés

Megfelelő donor és recipiens esetén a beteg speciális előkezelésben (kondicionálás) részesül, melynek célja a beteg saját vérbepéző rendszerének és immunrendszerének elpusztítása, alkalmassá téve ezáltal a beteget a donorsejtek befogadására.

A kondicionáló kezelés az alapbetegségtől függően változik. Nem malignus betegségekben enyhébb; a cél az immunológiai előkészítés, azaz a donorsejt megtapadásának a biztosítása. Malignus betegségekben a transzplantációt előkészítő hagyományos kezelés (kondicionálás) a nagy dózisú kemoterápia egésztest-besugárzással (total body irradiation – TBI) vagy sugár nélkül. A sugárkezelést nagy dózisban adott kemoterápiás szerek helyettesíthetik. Ezt a kezelést arra a hipotézisre alapozták, hogy a csontvelői sejteket elpusztító dózisú (mieloablatív) kemoterápia és a TBI nemcsak a gazdaszervezet vérbepéző- és immunrendszerét pusztítja el, de teljesen kiirtja az alapbetegség maradványsejtjeit is. Azonban ismertté vált, hogy ez az intenzív kondicionáló kezelés toxikus hatása a nem-hematológiai szervekre, így a

Allogén

Akut leukémiák
 Krónikus mieloid leukémia
 Mielodiszpláziás szindróma
 Ritka mieloproliferatív betegségek

Autológ

Malignus limfomák
 Mieloma multiplex
 Szolid tumorok
 Egyéb betegségek

2. táblázat • Rosszindulatú hematológiai betegségekben végzett transzplantációk formái

gyomor, a máj, a tüdő és a szív is károsodhat. A ma már hagyományosnak tekinthető nagy dózisu kondicionáló kezelést ezért fiatalabb (50-55 év alatti) betegek kezelésében javasolják alkalmazni, akik életfontos szervei orvosi szempontból jó állapotban vannak. Ez a korlátozás azonban sok beteget kizár a transzplantációs kezelés lehetőségéből.

Az a koncepció, hogy a dózis intenzitásának fokozása önmagában szükséges és elégséges a daganat teljes elpusztításához (eradikáció), már a HSCT korai történetében kérdésessé vált. Megfigyelések szerint a relapszusmentes túlélés nem a kondicionálás erőteljeségével, hanem az akut és a krónikus graft-versus-host betegséggel (GVHD) van összefüggésben. Tekintve, hogy mindkét reakció kulcssejtje a donor T-sejt, az érdeklődés a kevésbé toxikus kondicionáló kezelés és kiegészítő donor T-sejt terápia felé irányult.

Nem-mieloablatív kondicionáló kezelések

Az utóbbi 6-7 évben a klinikai kutatások középpontjába kerültek a csontvelői vérvépzést nem teljesen elpusztító transzplantációs előkezelésekkel (kondicionálás) kapcsolatos vizsgálatok. A nem-mieloablatív kondicionáló stratégia alapja, hogy kevésbé toxikus szereket alkalmaz, és nem pusztítja el teljesen a csontvelői vérvépzést. Ez a kondicionáló kezelés sem nélkülözi azonban az erőteljes immunszuppressziót, mivel ez biztosítja a beadott donorsejtek megtapadását. A donorsejt-megtapadás mellett további cél az alapbetegség elpusztítása, melyet ebben az esetben ismételt adott, ugyanattól a donortól származó, T-limfocita infúziókkal lehet elérni. A „nem-mieloablatív” transzplantáció tehát kezdetben olyan *kevert kíméra* állapothoz vezet, amelyben donor és recipiens eredetű vérvépzés együtt van jelen, de a donor T-limfociták ismételt adása végül donor eredetű stabil vérvépzést és szabályos graft versus leukaemia (GVL) hatást képes eredményezni. A kevésbé toxikus

előkezeléssel a transzplantáció azok számára is elérhető, akikben a hagyományos nagy dózisu kezelés életveszélyes szövődményeket okozna (McSweeney, 1999).

Az őssejt-transzplantáció utáni sejtviisszatérés és immunológiai szövődmények

A hemopoetikus őssejt-transzplantáció célja az alapbetegség teljes kiirtása, a betegek teljes meggyógyítása. Az egészséges sejtpopulációt allogén transzplantációban a donorsejtekből kialakuló vérvépzés és immunológiai rekonstitúció biztosítja. A sejtviisszatérés kinetikáját és az immunológiai-hematológiai rekonstrukciót korábbi munkánkban összefoglaltuk (Pálóczi, 2003). Az allogén donorsejtek funkciója a recipiens környezetben immunológiai szempontból nem zökkenőmentes, ezért sikeres transzplantációt követően mind akut, mind krónikus immunológiai alapú szövődményekkel (akut és krónikus GVHD, immunhiányos állapot) számolnunk kell. Azonban az allogén transzplantáció során kialakuló alloimmun reakció, a GVHD, bár nemkívánatos szövődmény, igen jelentős pozitív hatással is rendelkezik. Ez a hatás a graft versus leukaemia effektus, melynek során a donor T-sejtek képesek a leukémiás sejtek (egyéb daganatsejtek) felismerésére és elpusztítására a recipiens szervezetben, biztosítva így a teljes gyógyulás lehetőségét.

Az allogén transzplantációhoz viszonyítva autológ transzplantáció után a vérvépző és immunológiailag aktív sejtek viisszatérése gyorsabb, az infekciók száma kisebb. Tekintve, hogy saját sejtek transzplantációja történik meg, semmilyen immunológiai szövődmény-nyel nem kell számolnunk. Nincs GVHD, a beteg nem igényel immunszuppresszív kezelést. Egyúttal viszont hiányzik a GVL-8000hatás is, ami miatt a teljes gyógyulás bizonytalan, a relapszus esélye nagyobb. Ezt a negatív hatást az autológ transzplantációk utáni kezelések (pl. immunterápia) próbálják ellensúlyozni.

A transzplantációk eredményessége: túlélés és betegségmentes túlélés

A transzplantációk eredményességét betegcsoportonkénti bontásban vizsgálják. Ezen belül a transzplantáció eredményességét a betegség klinikai stádiuma, a betegség időtartama, a betegek kora, a transzplantáció típusa (allogén vagy autológ), a kondicionáló kezelés milyensége és a beadott sejtszám mennyisége alapján is bonthatjuk. Ilyen részletes feldolgozás meghaladja a jelen munka kereteit. Kihangsúlyozást érdemel, hogy a hagyományos kezelésekhez képest a transzplantáció teljes gyógyulást (allogén), vagy hosszú betegségmentes periódust (allogén, autológ) biztosít.

Nemzetközi adatfeldolgozások bizonyítják, hogy az allogén őssejtátültetés súlyos aplasztikus anémiában, súlyos kombinált immunhiányban, egyéb fatális veleszületett genetikai betegségekben, krónikus mieloid leukémiában, mielodiszpláziában, nagy rizikójú vagy előrehaladott akut mieloid és akut limfoid leukémiában ma az első választandó kezelést jelentheti, azonban a döntést mindig a beteg állapotának, a betegség stádiumának és a beavatkozás veszélyeinek gondos mérlegelése előzi meg.

Az autológ HSCT a különböző malignus limfómákban és krónikus limfoproliferatív betegségekben jelentősen megnövelte a túlélés és a betegségmentes túlélés esélyét. A beavatkozás egyes szolid tumorokban és súlyos autoimmun betegségekben is hatékonynak bizonyult (Maris – Storb, 2001).

A jövő alkalmazási lehetőségei: vérbépző őssejt alapú génterápia? Plasztikus szöveti őssejtek alkalmazása?

A klinikai felhasználhatóság szempontjából jelentős előrelépést jelent a CD34 antigént hordozó sejtek megkötésén és izolálásán alapuló szelekció, ami lehetővé teszi, hogy tiszta CD34⁺ sejteket nyerjünk transzplantáció céljára. Ezt

a technikát kiegészíti a malignus sejtek ismert sejtfelszíni antigének révén történő izolálása és eltávolítása, például anti-CD20 monoklonális antitest segítségével történő B-sejt eltávolítás, valamint a T-sejtek CD3 antigénje révén történő T-sejtmentesítés. Mindezek a lehetőségek hazánkban is elérhetőek, és ma már a klinikai gyakorlat részét képezik.

A CD34⁺ sejtek izolálása lehetővé teszi növekedési faktorokat tartalmazó tenyésztő közegben történő felszaporításukat (*ex vivo*), ezáltal a transzplantáció szempontjából optimális sejtszám elérését.

Ugyancsak erőfeszítések történnek a CD34 antigén segítségével izolált őssejtek további klinikai felhasználására génterápián keresztül. Ez a lehetőség elsősorban az egy génhibán alapuló genetikai betegségekben ígéretes, de a transzplantáció területén is alkalmazhatónak látszik (öngyilkos gén bevitel, kemoterápia-rezisztencia gén bevitel).

A génterápia lehetőségei mellett rendkívül izgalmas és ígéretes a *szöveti őssejtek plaszticitásával* foglalkozó kutatási terület. A vérbépző őssejt többirányú fejlődési potenciálját már igazolta a transzplantáció több mint harmincéves klinikai eredményessége, azaz, hogy a donor őssejt (vagy saját őssejt) a transzplantáció után, a vérbépző rendszer és immunrendszer minden sejtjének kialakítására képes. Ma már az is igazolást nyert, hogy a vérbépző őssejt képes nem-hemopoetikus szöveti sejtek képzésére is. Megfigyelték, hogy a csontvelő-transzplantált betegek májsejtjeinek 1-2 %-a általában donor eredetű. Kísérleti stádiumban van az őssejtek alkalmazása a szívizom, idegrendszer, vázizom-, porc- és csontszövet és legújabban a vese mesangiális sejtjeinek regenerációjában. A folyamatosan növekvő számú kísérleti adat megdönteni látszik a vérbépzés hierarchikus voltára vonatkozó dogmát, és egyre dominálabb az a nézet, hogy a vérbépző őssejt egyike azon szöveti őssejteknek, melyek funkcionálisan

plasztikusak és jelentős szerepet képviselnek a szöveti regenerációban (Vas, 2002). Mindaddig azonban, amíg a kutatások az egyre nagyobb számú kérdésre nem adnak megnyugtató választ, a hematológusok és a csontvelő- (őssejt) transzplantátorok a „hagyományos” transzplantációs módszereket alkalmazzák a betegségek kezelésében és a betegek gyógyításában.

A vérképző őssejt-transzplantáció hazai elindítói és a jelenleg működő transzplantációs központok

Hazánkban két intézmény [SOTE I. Belklinika, Budapest, dr. Kelemen Endre: első őssejt-transzplantáció: 1973; első csontvelő-transzplantáció: 1984 (Kelemen, 1984); Országos Haematológiai és Vértranszfúziós Intézet, Budapest, dr. Hollán Zsuzsa, dr. Poros Anna: első csontvelő-transzplantáció: 1984 (Poros, 1989)], Európában az elsők között, kapcsolódott be a nemzetközi csontvelő-transzplantációs aktivitásba. A szervezett, európai színvonalú transzplantáció feltételrendszerének kialakítása dr. Hollán Zsuzsa munkásságának eredménye (immungenetika, citogenetika, őssejtkutatás, a csontvelőfeldolgozás és -tárolás feltételei, molekuláris genetika, transzfuziológia, immunológia). Létrejött az egészségsugárkezelés feltételrendszere az Országos Onkológiai Intézetben (dr. Petrányi Júlia). A transzplantációs centrumok számának bővülése szükségessé tette a hazai Országos Csontvelő-transzplantációs Bizottság megalakulását (dr. Petrányi Győző), mely úttörő szerepet játszott a nemzeti transzplantációs értékrend és irányelvek kialakításában. Elindult a hazai önkéntes csontvelődonor-toborzás, majd sikerült bekapcsolódnia a nemzetközi donorhálózatba, mely alapját jelentette az idegen donoros transzplantációknak (dr. Gyódi Éva, dr. Rajczy Katalin).

Jelenleg öt, az Európai Csontvelő-transzplantációs Munkacsoport (EBMT) által regisztrált transzplantációs centrum működik ha-

zánkban (Országos Gyógyintézeti Központ, Budapest; Szent László Kórház, Budapest, Miskolc, Pécs, Debrecen). A hazai transzplantációk elindulása óta kb. kétszáz közlemény jelent meg a tudományterület vezető transzplantációs, hematológiai és immunológiai folyóirataiban (*Bone Marrow Transplantation, Leukemia, Acta Hematologica, Immunology Today, Transplantation Immunology, European Immunology, Tissue Antigens* stb.). Az eredmények hazai lapokban is rendszeresen ismertetésre kerülnek.

Feltétlenül kiemelésre érdemes, hogy három, sikeresen védett PhD-dolgozat témája volt már a csontvelő (őssejt)-átültetés: dr. Masszi Tamás, Szent-László Kórház, Budapest (2000); dr. Barta Anikó, Országos Haematológiai és Immunológiai Intézet, Budapest (2001); dr. Kriván Gergely, Szent László Kórház, Budapest (2003). Mindezek aktív klinikai és tudományos tevékenységet igazolnak a transzplantáció területén.

Munkacsoportunk főbb klinikai és kutatási területei

A csontvelő-átültetés interdiszciplináris összefogást és együttműködést igényel. Intézetünkön belül is több munkacsoport vett részt a transzplantációval kapcsolatos határterületi kutatási munkákban:

- Az őssejtek funkcionális vizsgálatai (Gidáli J., Fehér I., Uher F.);
- A citotoxikus T-limfocita prekurzor sejtek vizsgálatai (Kotlán B.);
- Citokin mechanizmusok tanulmányozása (Pócsik É.);
- Maradék leukémia és kevert kimerizmus vizsgálatok (Földi J., Páldi-H P., Tordai A.);
- A HLA genetikai polimorfizmussal és szervtranszplantációval kapcsolatos kutatások (Petrányi Gy., Gyódi É., Rajczy K., Padányi Á.);
- Immunszerológiai vizsgálatok (Puskás É., Miklós K., Füst Gy., Varga L., Németh J.);

- Immunfenotípus kutatások (Gopcsa L., Jakab K., Pálóczi K.)
- Új lehetőségek az akut leukaemiák diagnosztizálásában és kezelésében (Naha-jevsky S., Lovas N., Poros A.)

Transzplantációs témájú közlemények megjelenését az alábbi kutatások segítették:

1.) A rosszindulatú hematológiai betegségek immunfenotípus vizsgálatai: diagnózis, differenciál diagnosztika, a maradék leukémia/limfoma sejtek meghatározása.

2.) Az allogén transzplantációk utáni szövödmények vizsgálata: Összefüggés felvétele a gamma/delta T-sejtek nagyobb száma és az akut GVHD között; A köldökzsinórvér, mint potenciális őssejt-forrás részletes immunológiai (immunfenotípus és funkcionális)

jellemzése; A transzplantáció után kialakuló T- és B-sejt repertoár jellemzése.

3.) Klinikai jellegű, de tudományos szempontból jelentős, nemzetközileg elismert eredmények: A kevésbé toxikus, ún. „non-myeloablative” kezeléssel transzplantált betegek klinikai és immunológiai tanulmányozásának kiszélesítése Kelemen Endre megfigyelési nyomán (Kelemen, 1998); Az első hazai autológ perifériás őssejtátültetés elvégzése krónikus mieloid leukémiában; A transzplantált recipiensben a donor eredetű sejtekből kialakuló, ún. donor leukémia igazolása (Gopcsa, 2002).

Kulcsszavak: *vérbepő összejték, csontvelő, perifériás vér, köldökzsinórvér, transzplantáció*

IRODALOM

Broxmeyer, Hal E. – Douglas, Gordon W. – Hangoc, Gao et al. (1989): Human Umbilical Cord Blood as a Potential Source of Transplantable Hematopoietic Stem/Progenitor Cells. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. **86**, 2828-2832

Gluckman, Eliane – Broxmeyer, Hal E. – Auerbach, Arleen D. et al. (1989): Hematopoietic Reconstitution in a Patient with Fanconi Anemia by Means of Umbilical Cord Blood from an HLA-Identical Sibling. New England Journal of Medicine. **321**, 1174-1178

Gopcsa László – Barta A. – Bányai A. – Kónya M. – Pajor L. – Földi J. – Pálóczi K. (2002): Acute Myeloid Leukaemia of Donor Cell Origin Developing 5 Years After Allogeneic Bone Marrow Transplantation for Chronic Myeloid Leukaemia. Bone Marrow Transplant. **29**: 449-52

Gorin, Norbert-Claude (1999): *Clinical Haematology. Peripheral Stem Cells in Bone Marrow Transplantation*. Bailliere Tindall, London

Gratwohl, Alois – Baldomero, H. – Horisberger, B. – Schmid, C. – Passweg, J. – Urbano-Ispizua, A. (2002): Current Trends in Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Europe. Blood. **100**, 2374-2386

Kelemen, Endre – Jánossá Margit – Tariska Éva (1984): Blastos fázisba került átültetett granulocytás leukaemia gyógyulása előzetes sugárkezelés nélkül végzettsontvelőátültetés után. Orvosi Hetilap, **125**, **45**, 2725-2728

Kelemen Endre – Masszi T. – Reményi P. – Barta A. – Pálóczi K. (1998): Reduction in the Frequency of Transplant-Related Complications in Patients with Chronic Myeloid Leukemia

Undergoing BM Transplantation with a New, Non-Myeloablative Drug Combination. Bone Marrow Transplant. **21**, 747-749

Maris, Michael B. – Storb, Rainer (2001): Hematopoietic Stem Cell Transplantation. in: Austen, K. Frank – Frank, M. M. – Atkinson, J. P. – Cantor, H. (eds.). *Samster's Immunologic Diseases*. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA, 1095-1121

McSweeney, Peter A. – Storb, Rainer (1999): Mixed Chimerism: Preclinical Studies and Clinical Applications. Biology of Blood and Marrow Transplantation. **5**, 192-203

Pálóczi Katalin (2003): Az immunrendszer újrateremtése csontvelőátültetés követően: az allogén őssejtterápia immunológiai vonatkozásai. Magyar Tudomány. **4**, 477-487

Poros Anna – Petrányi J. – Harsányi V. – Mód A. – Bemyák J. – Hollán Zs. (1989): Initial Experiences in Allogeneic Bone Marrow Transplantation for Leukaemias: Report of National Institute of Haematology and Blood Transfusion (Hungary). Folia Haematologica (Leipzig). **116**, 409-411

Reiffers, Josy – Goldmann, John M. – Armitage, James O. (eds.) (1998). *Blood Stem Cell Transplantation*. Martin Dunitz, London

Thomas, E. Donnall – Blume, Karl. G. – Forman, Stephen. J. (eds.) (1999): *Hematopoietic Cell Transplantation*. Blackwell, Malden, USA

Vas Virág – Hajdu M. – Pálóczi K. – Uher F. (2002): Alternative Views of Tissue Stem Cell Plasticity. Haematologica. **32**, 1-16

A KÖLDÖKZSINÓRVÉR MINT ÖSSEJT-FORRÁS – TELEK A HOLDON, VAGY KINCS A TREZORBAN?

Gidáli Júlia

az MTA doktora, Országos Gyógyintézeti Központ – gidali@freemail.hu

Eckschmiedt Mónika

Pharmathesis Bt.

Bakács Tibor

Országos Gyógyintézeti Központ

Motó:

...*Megísztam azóta (egy ízben, de a szónak mind-
két értelmében) Akheront is
Üdvözlégy összejt, faragok fétist szavaimból
a partján:
Üdvözlégy, Osztóddásra Képes,
Üdvözlégy, Élet Teli Tartaléka,
Üdvözlégy, Génjeimben elraktározott tudás,
Üdvözlégy, Test, Csodák Csodája
Nincs vers, mely gyógyulásnál méltóbb tárgyat
örökíthetne meg!*

(Orbán Ottó: EL DESDICHADO)

*A köldökzsínórvér transzplantációjának
lehetősége, a köldökzsínórvér-összejtek tulaj-
donságai*

Az állatkísérleti adatok több mint két évtized alatt felhalmozódott tapasztalataira alapozva a csontvelő- (CSV) transzplantáció a hatvanas évek végétől számos hematológiai és egyéb betegség kezelésére alkalmas eljárássá vált. Az új kezelési módszer jelentőségét – több mint húsz évvel később – Nobel-díjjal ismerték el (E. Donnall Thomas, 1990).

A transzplantációhoz felhasznált összejtek számozhatnak magából a betegből (*autológ transzplantáció*) vagy egy másik személyből (*allogén transzplantáció*). Ideális eset-

ben az allogén oltvány (transzplantátum) rokon donortól származik. Az oltvány sikeres megtapadásához a donor és a recipiens HLA struktúrájának meg kell egyeznie, eltérés legfeljebb egy-két alcsoportban megengedett. A vérképző összejtek allogén transzplantációjának tehát alapfeltétele a HLA antigén-azonos donor megtalálása, elsősorban a családban, másodszorban a populációban. Ismert azonban, hogy annak az esélye, hogy teljesen egyező rokon donort találjanak, még testvérek esetében is legfeljebb 25%. A teljesen egyező testvérdonor valószínűsége a család méretének csökkenésével arányosan csökken. Ez az egyik oka annak, hogy egyre gyakrabban kell idegen (nem rokon) donort keresni. Ezért alakultak meg világszerte a CSV donorok nyilvántartási rendszerei (CSV regiszterek), amelyek számára Magyarország is szolgáltat adatokat, és amelyek szolgáltatásait Magyarország is igénybe veszi. Bár ma a nyilvántartásokban mintegy 5 millió önkéntes felnőtt donor adata szerepel, számos beteg számára még így sem található megfelelő donor. Ez a tény indokolta más, könnyebben hozzáférhető összejt-források bevezetését.

Az akkori ismeretanyag alapján, a transzplantáció céljára kezdetben csak a CSV-ből nyertek összejtek, később azonban kísérletes úton igazolták, hogy – ha megfelelő sze-

rekkel a csontvelőből a vérbe mobilizálják - a perifériás vér őssejtjei is felhasználhatók mind autológ, mind allogén transzplantációra. Az a még későbbi felismerés, hogy a köldökzsínórvér (KZSV) is tartalmaz vérképző őssejteket (Nakahata – Ogawa, 1982), újabb őssejt-forrás lehetőségét kínálta transzplantációs felhasználásra. Jelen munkánk ennek a felismerésnek a hosszú távú klinikai lehetőségeit vizsgálja.

Az első sikeres KZSV-transzplantáció 1988-ban történt. Eliane Gluckman és munkatársai egy Fanconi-anémiában szenvedő fiú és újszülött testvére között tökéletes HLA-egyezést találtak, és a beteg a testvéréből származó köldökzsínórvér transzplantációja után meggyógyult. Ez volt az első klinikai bizonyíték arra nézve, hogy a KZSV valóban megfelelő őssejt-forrás, amely a transzplantációs kezelés lehetőségeinek kiszélesítésére alkalmas. Az első sikeres KZSV-transzplantáció óta több mint kétezer KZSV-transzplantáció történt (Broxmeyer et al., 2003), számos malignus és nem malignus betegségben, elsősorban különböző vérképzőszervi malignus illetve genetikai betegségekben, köztük limfoid és mieloid leukémiákban, Fanconi-féle anémiában, aplasztikus anémiában, Hunter-szindrómában, b-talasszémiában és neuroblasztómában. Sikeres transzplantációt (a beadható KZSV-egység limitált őssejtmennyisége miatt) elsősorban gyerekekben végeztek, de újabb adatok szerint felnőttekben is elvégezhető a transzplantáció.

A vérképző (hemopoetikus) őssejtek alapvető tulajdonsága, hogy folyamatos differenciálódásuk ellenére fenntartják a vérképzést az egyén egész életén át. Az elmúlt négy évben az őssejtekre vonatkozó új paradigma jelent meg, amely szerint a felnőtt őssejtek sokkal szélesebb differenciálódási kapacitással rendelkezhetnek, mint eredetileg gondolták. Így, meghatározott körülmények között, képesek idegsejtté, májsejtté, vázizomsejtté, szívizomsejtté differenciálódni.

Ezt az új elképzelést azonban az egymásnak ellentmondó közlemények és az eredeti megfigyelések alternatív magyarázatai szennyezően vitatják (Goodell, 2003).

A felnőtt szervezetben a vérképzés kizárólag a csontvelői mikrokörnyezetben zajlik, tehát az őssejtek kizárólag itt osztódnak és differenciálódnak. Őssejtek azonban, bár csekély mennyiségben, élettani körülmények között is keringenek a perifériás vérben is. A vérképző őssejt-populáció mind önfenntartó, mind differenciálódási képességét illetően heterogén. Az elmúlt tizenöt évben az új *in vitro* és *in vivo* őssejt-meghatározási módszerek (összefoglalásuk: Ploemacher, 1997) elterjedésével ez a heterogenitás vizsgálhatóvá vált, és lehetővé vált az őssejt-populáció úgynevezett *korstruktúrába* való rendezése. Ez a „korstruktúra” nem más, mint a különböző érettségű, tehát különböző önreprodukciós képességű őssejt-alpopulációk hierarchiája. Ez a hipotézis azon alapul, hogy az előéletükben több osztódást végzett, érettebb pluripotens őssejteknek kevesebb esélyük van a további önfenntartó osztódásokra (az önmagukkal azonos őssejtek képzésére), mint a kevesebbet osztódott, fiatalabb őssejteknek. Az említett hierarchiában szereplő pluripotens őssejtek önfenntartó képességükön kívül különböznek differenciálódási képességükben, felszíni antigén expressziójukban, sugárérzékenységükben, citosztatikum érzékenységükben (ezeket a jelen kötet más fejezetei részletesen tárgyalják, ezért itt nem részletezzük).

A transzplantáció sikere szempontjából azonban ismemünk kell, hogy a kérdéses forrásból nyert őssejtek önfenntartó tulajdonságukban hol helyezkednek el ebben a hierarchiában, mert a vérképző rendszer hosszú távú repopulációja (tehát a transzplantáció céljának elérése) attól függ, hogy a beadott oltvány milyen mennyiségű jó minőségű, nagy önfenntartó képességű, fiatal őssejt-alpopulációt tartalmaz.

A KZSV őssejtek önfenntartó képességét vizsgáló kísérletek szerint a KZSV mononukleáris sejtjei között nagyobb a szubletálisan besugárzott NOD/SCID egeret repopuláló sejtek (azaz a tartós repopuláló képességgel rendelkező sejtek) előfordulásaránya, mint CSV sejtek között (Wang et al., 1997). A KZSV-ben ugyancsak nagyobb az egyéb fiatal őssejtek (célzott sejtenyészetben a kiültetés után nyolc héttel úgy nevezett „macskakőtelepeket” – *Cobblestone Area*-kat képező sejtek) előfordulási frekvenciája a CSV-hez képest (Pettengell et al., 1994). (1. táblázat).

Mindkét kísérlet arra utal, hogy a KZSV sejtek kellő mennyiségű jó minőségű, nagy önfenntartó képességű, fiatal őssejtet tartalmaznak.

A KZSV (mint őssejt forrás) a CSV-höz képest számos *előnyvel* rendelkezik. Mint-hogy jelentős mennyiségben tartalmaz fiatalabb progenitor sejteket, kombinált radio- és citosztatikus kezelést követően a vérképzés helyreállításához egy nagyságrenddel kevesebb KZSV-sejt, mint CSV-sejt szükséges. Bár egy 100 ml-es KZSV egység az 1000 ml-es CSV-egység magvas sejtszámának csak 1/10-ét tartalmazza, a fentiek értelmében egyetlen KZSV-egység is képes a teljes vérképzést helyreállítani. Előny ezenkívül, hogy a KZSV-sejtek gyűjtése a donorra nézve semmilyen kockázattal sem jár, csekély a herpeszvírus-családnak az oltvánnyal történő átvitele, és nem-rokon transzplantáció esetén lényeges szempont, hogy a KZSV-sejtek – a később

ismertetendő KZSV-bankoknak köszönhetően – a recipiens számára sokkal gyorsabban hozzáférhető. Minthogy a donor és a recipiens közötti egy-két HLA antigén eltérése tolerálható, a KZSV-bankok a donorválasztékot jelentős mértékben kiterjeszthetik, ez pedig az adott ország etnikai kisebbsége szempontjából igen nagy jelentőségű lehet. Végül, de nem utolsósorban a KZSV-transzplantációnál a *graft-versus-host* (GVH) betegség – amely az allogén CSV-transzplantáció leg súlyosabb, életet veszélyeztető szövődménye – előfordulási gyakorisága kisebb, és súlyossága csökkent a CSV-transzplantációhoz viszonyítva (Barker – Wagner, 2002). (Mint ismeretes, a GVH betegséget a grafitban található T-sejtek okozzák, a KZSV-ben található T-sejtek azonban éretlenek, így az általuk kiváltott GVH is gyengébb).

Ugyanakkor a KZSV-transzplantációnak bizonyos *hátrányai* is vannak a CSV-transzplantációval szemben. Hátrány elsősorban, hogy a KZSV-transzplantációt követően a vérképzés regenerációja lassúbb, ez pedig – a tartós csontvelő aplázia miatt – jelentősen fokozza a recipiensben a vérzés és a fertőzés veszélyét. Ez a jelenség részben a KZSV-egység korlátozott sejtszámának tulajdonítható, részben a KZSV-őssejtek korstruktúrájának következménye. Ugyanakkor az NK sejtek és a B-limfociták regenerációja nem különbözik az egyéb őssejtek transzplantációját követő regenerációtól, de a CD8 T-sejtek később regenerálódnak.

	SRC*	CAFC-8 hét**
KZSV	$1 / 0,93 \times 10^6 \text{ mns}^{***}$	$1 / 22\,368 \text{ mns}^{***}$
CSV	$1 / 3 \times 10^6 \text{ mns}^{***}$	$1 / 33\,949 \text{ mns}^{***}$

* SRC: Self Reproducing Cells = szubletálisan besugárzott NOD/SCID egeret repopuláló sejt (Wang et al., 1997)

** CAFC :A kiültetés után nyolc héttel macskakőtelepet képező sejt (Pettengell et al., 1994)

*** mononukleáris sejt

1. táblázat • Két jellemző vérképző őssejt-alpopuláció előfordulási gyakorisága a köldökzsinórvér és a csontvelő mononukleáris sejtjei között

A KZSV-transzplantáció lehetséges indikációi

A KZSV-transzplantáció indikációi általában nem különböznek a csontvelőtranszplantáció indikációitól, ezért ezeket itt nem soroljuk fel. A KZSV-sejtek transzplantációjának eredményessége (a sejtek megtapadása, a vérképző rendszer kialakulása), valamint az alapbetegség visszatérése stb. hasonló a CSV-sejtek transzplantációja során tapasztaltakhoz. Ezért a CSV-transzplantáció során felgyűlt több mint haminc éves tapasztalatot adaptálni lehet a KZSV-transzplantációra is.

Minthogy az oltvány sikeres megtapadásához meghatározott minimális magvas sejtszám vagy CD34 pozitív sejtszám szükséges, a KZSV-transzplantáció javallatát csak akkor szabad felállítani, ha a HLA-ban egyező donor egység legalább 2×10^7 /recipiens testsúly kg magvas sejtet tartalmaz. Ez a tény limitálja a KZSV-átültetés lehetőségét a felnőttek és a nagyobb súlyú gyermekek számára.

Különleges transzplantációs indikációt jelent az allogén csontvelőátültetés indikációihoz képest azonban, hogy KZSV-gyűjtése lehetséges és indokolt az egészséges újszülöttől, ha a családban sürgős transzplantáció szükséges egy idősebb gyermek számára. Az idősebb gyermek kezeléséért felelős hematológusnak – a család és a nőgyógyász beleegyezésével – kell kapcsolatba lépnie a megfelelő KZSV-bankokkal, a KZSV gyűjtése és tipizálása céljából.

A KZSV-transzplantáció klinikai eredményei

A legtöbb tanulmány vérképzőrendszeri betegségben (malignus vagy más, jóindulatú hematológiai betegségben) szenvedő gyermekek adatait dolgozta fel, és kimutatta, hogy rokon donorok esetén a KZSV-transzplantáció utáni hosszú távú túlélés nem különbözik a CSV-transzplantáció utáni túléléstől.

A New York Blood Center széleskörű nemzetközi jelentés alapján 562 transzplantáció

eredményeit közölte (Rubinstein et al., 1998). A betegek 67%-a tizenegy évnél fiatalabb és negyven kilónál kisebb súlyú volt. A betegek 28%-a a graft megtapadását jelző fehérvérsejtszám regenerációjának megindulása előtt meghalt. Azokban a betegekben, akikben az oltvány megtapadt, a neutrofil granulocyták regenerációjának megindulásához ($0,5 \times 10^9$ /L neutrofilszám eléréséhez) szükséges idő medián értéke huszonöt nap volt, és ez a beadott sejtszámmal összefüggést mutatott.

Minthogy a transzplantációs dózis KZSV-sejteknel recipiens testsúly kilogrammonként 2×10^7 magvas sejt, a KZSV alkalmazása felnőttekben lehetetlennek tűnt. Mary J. Laughlin és munkatársai (Laughlin et al., 2001) azonban hatvannyolc KZSV-sejttel transzplantált felnőtt figyelemreméltó eredményét közölték, akik közül negyvennyolc emberben a transzplantáció nem teljesen identikus, egy-két HLA antigénben eltérő KZSV-rel történt. A betegek átlagos életkora harmincegy év, átlagos testsúlya pedig hatvankilenc kilogramm, az átlagosan transzplantált sejtszám $2,1 \times 10^7$ /testsúly kg volt. Azokban a betegekben, ahol a KZSV megtapadt – hasonlóan a gyerek recipiensekhez – a neutrofil granulocytá szám $0,5 \times 10^9$ /L értékének eléréséhez szükséges idő medián értéke huszonhét nap volt. Az összes beteg 26%-a negyven hónappal a transzplantáció után betegségmentesen életben volt, de 60%-ukban fordult elő II-IV fokozatú GVH betegség. Az eredmények azt mutatják, hogy – bár a felnőttek KZSV-transzplantációja nem lehetetlen – ennek limitáló tényezője a rendelkezésre álló sejtek mennyisége.

Az Eurocord csoport nagyszámú KZSV-transzplantációról szóló közlésében beszámolt százötvenhat felnőtt idegen (nem rokon) KZSV-donorsejtekkel történt transzplantációjának eredményeiről (Gluckman, 2000). A betegek alapbetegsége száznolc esetben malignus hematológiai betegség volt (elsősorban akut mieloid és limfoid, il-

letve krónikus mieloid leukémia), a betegek medián életkora huszonhat év, a medián testsúlyuk hatvan kilogramm volt. Bár a betegek egy-három HLA antigénben különböző oltványt kaptak, a II-IV fokú GVH csak a betegek 38 %-ában fordult elő, és az egyéves túlélés 27 % volt. A neutrofil granulociták újraképződésének megindulásához szükséges medián idő huszonöt-harminckét nap, a trombociták újraképződéséhez ötvennégy-nyolcvanöt nap volt, ezek az idők pedig jelentősen hosszabbak, mint amit a nem rokon csontvelő átültetésnél tapasztaltak. Általános tapasztalat, hogy a bevitt sejt dózis és a megtapadás között korreláció van, de a megtapadást mindenképpen biztosító minimális sejt dózist eddig nem sikerült minden kétséget kizáróan meghatározni. Az összes betegre vonatkozó, többszörös analízis szerint a megtapadás szempontjából a legfontosabb faktorok a következők: a beadott sejtszám, az alapbetegség, a HLA-egyezés, és a transzplantációs centrum, ahol az átültetést végezték. Összefoglalva tehát az eredmények a jövőre nézve ígértesek.

A csontvelődonor hálózat bővítése köldökzsinórvér-bankokkal

A nem-rokon transzplantáció – a GVH előfordulása és súlyossága, a graft-elégtelenség fellépése és a fertőzőes szövődmények miatt – nagyobb veszélyt jelent a recipiens számára, mint HLA identikus rokon átültetés. A HLA antigének tipizálásának fejlődésével a teljesen azonos antigenitású donor keresése ugyan lehetővé vált, de esélye nem javult a technikai lehetőségek javulásával. A teljesen egyező donor elérésének lehetősége függ az etnikai csoportoktól is: optimális esetben, kaukázusi populációra nézve ez az esély megközelítheti a 70 %-ot. A KZSV – mint raktározott őssejt-forrás - több okból is vonzó lehetőség: egyrészt, mert a KZSV elvben minden születésnél rendelkezésre áll, raktározását pedig csak a személyzet elérhetősége és a tároló ka-

pacitás limitálja, másrészt – minthogy a GVH betegség előfordulása kisebb, mint CSV-transzplantáció esetén – a KZSV-transzplantáció nagyobb HLA-diszparitást tolerál, mint az a nem rokon CSV-transzplantációnál megengedett. Tehát a KZSV-bank a potenciális donorok keresésének lehetőségét kiterjesztheti. Köldökzsinórvér bankok létesültek Európában és az Egyesült Államokban, hogy a rokon és az idegen donorokból gyűjtött KZSV-rel folyamatosan hozzáférhető őssejtkészletet biztosítsanak. Ma már több mint hetvenezer egységet tárolnak a korábban szülési hulladéknak tekintett KZSV-ből, és a KZSV-bankokból nyert sejtekkel több, mint kétezer sikeres transzplantációt hajtottak végre. Egyedül a *New York Blood Center* – 2002-ben publikált adatok szerint (Lewis, 2002) – több mint tizenkét ezer KZSV-egységet tárol, ebből 1992 és 1998 között hatszázhetvenhat KZSV-transzplantátumot szolgáltatott kilencvennyolc transzplantációs központ számára. Számos európai bank is létesült már. Az *Eurocord* például 1988. októberé és 2000. márciusa között hétszáz KZSV-transzplantációról kapott jelentést, amelyeket 29 ország, 121 transzplantációs centrumában végeztek el. Megalakult a KZSV-bankok nemzetközi együttműködését biztosító szervezet, a *Netcord*, amely részletes standardokat dolgozott ki a nemzetközi cserék meggyorsítására és a termékek minőségének biztosítására (Gluckman, 2000).

A nem rokon donortól származó allogén KZSV-transzplantáció egyik fontos előnye a felnőtt CSV-vel szemben, hogy a bankokban tárolt sejtek HLA-típezáltak, így a KZSV potenciálisan azonnal rendelkezésre áll. Ez csökkenti a megfelelő donor kereséséhez szükséges időt (ami CSV estén több hónap lehet, míg KZSV esetén néhány hét), ez pedig súlyos állapotban lévő (például akut leukémiás) betegeknél kritikus lehet. A legtöbb KZSV-bank tudatában van annak, hogy csak olyan esetben gyűjtik a KZSV-t,

ha a kinyert sejtek mennyisége felnőttek számára is elegendő. A Netcord bankban, Düsseldorfban – amely 1997 óta több mint 80 ml-es egységekben gyűjti a KZSV-t – az átlagos magvas sejtszám egységenként $10 \pm 5 \times 10^8$ sejt és a minták 25 %-a ötven-hetven kilogrammos recipiens transzplantációjához elegendő sejtet tartalmaz (Kogler et al., 1999). Ezért javasolta Gluckman 2001-ben, hogy nem-rokon transzplantáció donor keresésénél a CSV nyilvántartások mellett *egyidejűleg* a KZSV-bank nyilvántartásokban is kell donort keresni. A végső döntés előtt figyelembe kell venni azt, hogy mennyire sürgős a transzplantáció, a HLA-identitás mértékét és a KZSV-egység sejtszámát.

A KZSV feldolgozása, tárolása

A KZSV-bankok megalakulásával alapvető feltétellé vált a KZSV levételének, fagyasztásának és tárolásának kidolgozása és szabályozása. KZSV-sejtek elvileg kétféle módon, vagy *in utero* a még meg nem született placentából gyűjthetők (Stanworth et al., 2001). Általában az utóbbi módszert alkalmazzák.

A feldolgozási folyamat első lépése a KZSV térfogatának csökkentése, mert a KZSV-egységek folyékony nitrogén térben történő tartós tárolása igen drága, és a tárolható egységek mennyiségét a tárolási kapacitás korlátozhatja. A térfogatcsökkentő módszerek a következők lehetnek: a vörösvérsejtek ülepitése (például a hidroxietil keményítő vagy más kolloidális anyagok felhasználásával) vagy a *buffy coat* (a vörösvérsejt és plazmaréteg határán megjelenő mononukleáris fehérvérsejt-réteg) kinyerése. A fejlett szeparálási technikák mellett a sejtesvesztés általában csekély (Rubinstein – Stevens, 2000). Az ezt követő fagyasztás a KZSV tárolás egyik kritikus lépése. A mai általánosan alkalmazott technikáknál krioprotektánsként (a sejteken belüli jégkristályképződést megakadályozó vegyületként) dimetilszul-

foxidot (DMSO) használnak, általában 10 % végkoncentrációban. A sejteket szigorúan szabályozott tempójú, fokozatos (programozott) fagyasztással -179 °C-ra hűtik, és folyékony nitrogéngőzben tárolják. A lefagyasztva tárolt KZSV-egységek sejtjeinek életképességét fejlett technikákkal (NOD/SCID egerben történő őssejt meghatározással és a progenitorsejtek számolásával) eddig maximum tizenöt éves tárolás után mérték (Broxmeyer et al., 2003), és a visszanyerhető őssejtek számában nem tapasztaltak jelentős veszteséget.

KZSV: telek a Holdon vagy kincs a trezorban

Munkánk célja a KZSV-transzplantáció jövőbeni lehetőségeinek tárgyalása volt. Ma még nem rendelkezünk elegendő és kellőképpen alátámasztott *klínikai* adattal arra nézve, hogy valójában mire képes a transzplantációval bejuttatott őssejt. Feltehetően többre, mint ezt tíz évvel ezelőtt feltételeztük, és feltehetően kevesebbre, mint amit a mai kísérletes adatok alapján emberre extrapolálunk. Várhatóan a laboratóriumi kísérleteket követően még éveknek kell eltelnie ahhoz, hogy mindezek az adatok megfelelő helyükre kerüljenek. Tudjuk ugyan, hogy a KZSV őssejtek alkalmasak a génterápiára (Mayani – Lansdorp, 1998), de nem tudjuk, hogy milyen betegségek gyógyítására lehet ezt majd felhasználni. Ugyanígy várnunk kell még arra, hogy az *in vitro* őssejtszaporítás (stem cell expansion) kísérletesen igazolt jelenségét megfelelően értékelni tudjuk. Nem igazolt ugyanis, hogy a tenyésztőedényben szaporított őssejtek valóban képesek saját magukat is reprodukálni, vagy csak a belőlük származó, korlátozott osztódási képességű elkötelezett őssejteket tudjuk szaporítani.

Ezeknek a kételyeknek a fenntartásával azonban a feltett kérdésre mindenképpen pozitív választ adhatunk: minden olyan lehetőség, amellyel az elérhető donorok

választékát bővítjük, *kincs*. Lehet, hogy az orvostudomány ezt a kincset arra fogja használni, hogy több tumoros beteg jusson kompatibilis donorhoz, és meglehet, hogy ezzel a kincs-csel majd a Parkinson-kóros betegek is gyógyulási lehetőséghez jutnak, és az infarktusos betegekben is új szívizom képződhet. Ez a két utóbbi elképzelés azonban

ma még olyan bizonytalan, mint az ötvenes években annak a lehetősége, hogy az Ember a Holdra lép.

Kulcsszavak: *köldökszinórvér, köldökszinórvér-tárolás, köldökszinórvér-bank, vérképző őssejt, őssejt-transzplantáció, nem rokon őssejt-transzplantáció*

IRODALOM

- Barker, Juliet N. – Wagner, John E. (2002): Umbilical Cord Blood Transplantation: Current State of the Art. *Current Opinion in Oncology*. 14, 160-164
- Broxmeyer, Hal E. – Srouf, Edward F. – Hangoc, Gao et al. (2003): High-Efficiency Recovery of Functional Hematopoietic Progenitor and Stem Cells from Human Cord Blood Cryopreserved for 15 Years. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 100, 645-650
- Gluckman, Eliane (2000): Current Status of Umbilical Cord Blood Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Experimental Hematology*. 28: 1197-1205
- Goodell, Margaret A. (2003): Stem Cell "Plasticity": Befuddled by the Muddle. *Current Opinion in Hematology* 10, 208-213
- Kögler, Gesine – Somville, T. – Göbel, U. – Hakenberg, P. – Knipper, A. – Fischer, J. – Adams, O. – Krempe, C. – McKenzie, C. – Ruttgers, H. – Meier, W. – Bellmann, O. – Streng, H. – Ring, A. – Rosseck, U. – Rocha, V. – Wernet, P. (1999): Haematopoietic Transplant Potential of Unrelated and Related Cord Blood: The First Six Years of the EUROCORD/NETCORD Bank Germany. *Klinische Padiatrie*. 211, 224-232
- Laughlin, Mary J. – Barker, J. – Bambach, B. – Koc, O. N. – Rizzieri, D. A. – Wagner, J. E. – Gerson, S. L. – Lazarus, H. M. – Cairo, M. – Stevens, C. E. – Rubinstein, P. – Kurtzberg, J. (2001): Hematopoietic Engraftment and Survival in Adult Recipients of Umbilical-Cord Blood from Unrelated Donors. *New England Journal of Medicine*. 344, 1815-1822
- Lewis, Ian D. (2002): Clinical and Experimental Uses of Umbilical Cord Blood. *Internal Medicine Journal*. 32, 601-609
- Mayani, Hector – Lanslop, Peter M. (1998): Biology of Human Umbilical Cord Blood-Derived Hematopoietic Stem/Progenitor Cells. *Stem Cells*. 16, 153-165
- Nakahata, Tatsutoshi – Ogawa, Makio (1982): Hemopoietic Colony Forming Cells in Umbilical Cord Blood with Extensive Capability to Generate Mono and Multipotential Hemopoietic Progenitors. *Journal of Clinical Investigation*. 70, 1321-1324
- Pettengell, Ruth – Luft T. – Henschler R. et al. (1994): Direct Comparison by Limiting Dilution Analysis of Long-Term Culture-Initiating Cells in Human Bone Marrow, Umbilical Cord Blood and Blood Stem Cells. *Blood*. 84, 3653-3659
- Ploemacher, Rob E (1997): Stem Cells: Characterization and Measurement. *Baillière's Clinical Haematology*. 10, 429-444
- Rubinstein, Pablo – Carrier, C. – Scaradavou, A. – Kurtzberg, J. – Adamson, J. – Migliaccio, A. R. – Berkowitz, R. L. – Cabbad, M. – Dobrila, N. L. – Taylor, P. E. – Rosenfield, R. E. – Stevens, C. E. (1998): Outcomes among 562 Recipients of Placental-Blood Transplants from Unrelated Donors. *New England Journal of Medicine*. 339, 1565-1577
- Rubinstein, Pablo – Stevens Cladd E. (2000): Placental Cord Blood for Bone Marrow Replacement: The New York Blood Center's Program and Clinical Results. *Baillière's Clinical Hematology*. 13, 565-584
- Stanworth, S. – Warwick, R. – Fehily, D. – Persaud, C. – Ammitage, S. – Navarrete, C. – Contreras, M. (2001): An International Survey of Unrelated Umbilical Cord Blood Banking. *Vox Sanguinis*. 80, 236-243
- Wang, Jean Y. C. – Doedens, Monica – Dick, John E. (1997): Primitive Human Haematopoietic Cells Are Enriched in Cord Blood Compared with Adult Bone Marrow Or Mobilized Peripheral Blood As Measured by the Quantitative in Vivo SCID-Repopulating Cell Assay. *Blood*. 89, 3919-3924

AZ IDEGI ŐSSEJTEK ÉS LEHETSÉGES ORVOSI ALKALMAZÁSUK

Madarász Emília

PhD, a biológiai tudomány kandidátusa, MTA Kísérleti Orvostudományi Kutató Intézet
Idegi Sejtbiológia Laboratórium – madarasz@koki.hu

Bevezetés

Az 1900-as évek végéig általánosan elfogadott tétel volt, hogy a magasabbrendű gerinces fajok központi idegrendszerében az idegsejtképződés lehetősége rövid idővel a születés után lezárul, a kifejlett agyban és gerincvelőben új idegsejtek már nem keletkeznek. Ez az elképzelés makacsul tartotta magát annak ellenére, hogy már az 1980-as években Fernando Nottebohm és munkatársai (Goldman, 1983) megmutatták, hogy az énekesmadarak ún. „*ének-központjaiban*” a párválasztási időszakban, nagy számban képződnek új idegsejtek. A *Science* folyóiratban 1992 tavaszán megjelent közlemény (Reynolds, 1992) áttörést hozott: Samuel Weiss laboratóriumában felnőtt egér előagyából izoláltak idegi őssejteket. Ezek a sejtek a mesterségesen biztosított környezeti feltételektől függően vagy gyors osztódással, változatlan formában sokszorozódtak, vagy *nem-szimmetrikus osztódással* olyan utódsejteket hoztak létre, amelyek idegsejtekké fejlődtek.

A bejelentést követő években, gyors egymásutánban jelentek meg közlemények hasonló idegi őssejtek jelenlétéről főemlősök (Gould, 1999) és az ember (Svendsen, 1999) érett központi idegrendszerében is. Az adatok egyértelműen bizonyították, hogy sokirányú fejlődésre képes, önmegújító sejtek – azaz szöveti őssejtek – jelen vannak a magasan differenciált, önmegújításra látszólag

nem képes idegszövetben is. A felfedezés az őssejtkutatásnak újabb lendületet adott, az orvosi gyakorlat számára pedig felvillantotta a felnőttkori idegsejtpótlás lehetőségét.

Az új eredmények új kérdéseket vetettek fel. Ha az idegszövetben vannak idegi őssejtek, akkor mi a „feladatuk”, és miért nem pótlódnak belőlük a sérülés vagy betegség során elpusztuló idegsejtek? Hol helyezkednek el a felnőttkori idegi őssejtek, és milyen hatásokra nőhet a számuk vagy sejtkepző kapacitásuk? Vajon a felnőtt agyban található idegi őssejtek ugyanolyan fejlődési lehetőségekkel rendelkeznek, mint az idegszövet kialakításában szerepet játszó embrionális idegi őssejtek?

A lázas kutatómunka ellenére ezekre a kérdésekre ma még csak részleges válaszok adhatók. Azt már tudjuk, hogy hol érdemes keresni őssejteket a kifejlett agyban és gerincvelőben. Élettani jelentőségüket, fejlődési lehetőségeiket azonban továbbra is csak részben ismertek, és klinikai felhasználhatóságuk intenzív kutatások és heves viták tárgya.

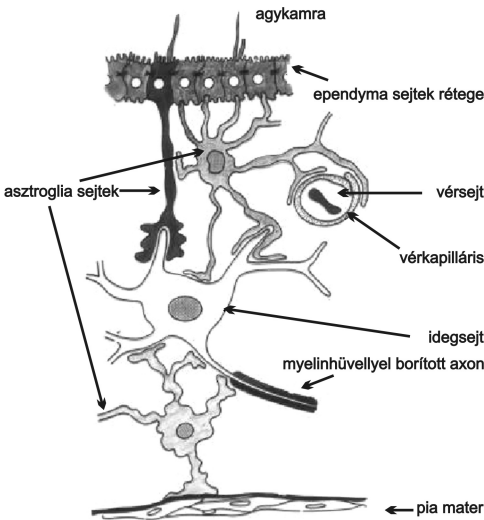
Az idegi őssejtek sajátosságait, fejlődési lehetőségeit csak az idegszövet szerkezetének, működési sajátosságainak és kialakulásának ismeretében lehet megérteni. A klinikai sejt-pótlás kérdései pedig csak akkor vizsgálhatók, ha megértjük az idegi őssejtekből történő sejtkepzés folyamatait, legalább meg tudjuk becsülni azokat a szükséges és lehetséges kapcsolatokat, amelyeket az őssejtekből fejlődő sejtalakok létesíthetnek a központi idegszövet alkotóival, és ismerjük azokat a válasz-

reakciókat, amelyeket a beültetett őssejtek a befogadó idegszövetben váltanak ki.

Az idegszövetről, röviden

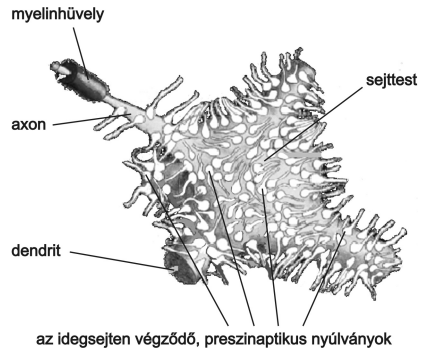
A gerincesek központi ideg(gerincvelő- és agy)szöve az embrionális idegszövetből fejlődik, és a csőszerkezet a kifejlett szervre is jellemző. A cső üregét (a gerincvelői csatornát és az agykamrákat) szorosan záró ependyma sejtek határolják, a cső külső felszínét a lágy agyhártya (pia mater) fedi (1. ábra).

E két határoló hártya között, maga a csőfal sejttestek és finoman tagolt nyúlványok tömör szerveződése, amelyben a sejtek közötti tér nagyon szűk. A véreket, valamint a vérésejteket nem tekintve, a központi idegszövetet egyetlen embrionális csíralemezből származó, ektoderma eredetű sejtek, az idegsejtek (neuronok) és *makroglia sejtek (asztrociták és oligodendroglia sejtek)* építik fel. A látszólag kevés sejtfeleség ellenére az idegszövet igen bonyolult összetételű sejt-együttes, amelyben szinte minden neuron és gliasejt egyedi sajátosságokkal és jellemző kapcsolatrendszerrel rendelkezik.



1. ábra • Az idegszövet fő alkotói.

Az *idegsejtek* osztódásra képtelen, ún. végdifferenciált sejtek, amelyek a környezetükből érkező (elsősorban kémiai) ingerek felfogására, továbbítására és átadására „szakosodtak”. Citoplazmájuk igen nagy része – nagy vetítő neuronok esetén, akár kilencven százaléka – nem a sejtmag körül, hanem hosszú, finoman elágazó nyúlványokban – a dendritekben és axonágakban – található. Ez az egyik oka annak, hogy ha egy idegsejt a sejttesthez közel sérül, és elveszti a nyúlványainak jelentős részét, a regenerációra igen kis esélye van. A nyúlványos szerkezetből adódik, hogy az idegsejt felülete a térfogatához képest igen nagy. Hatalmas felszíni sejtmembrán-mennyiséget kell „karbantartania”, rendszeresen felépítenie és lebontania. Ez a sejt felszíni membrán nem egységes: specializált – ingerületet vezető, ingerületet átadó (preszinaptikus), ingerületet fogadó (posztiszinaptikus), gliasejtekkel kapcsolódó – membránfoltok mozaikja (2. ábra).



2. ábra • Az idegsejt felszínének mozaikszerkezete. A sejten más idegsejtek nyúlványai preszinapszisokat létesítenek. A preszinapszisokkal szemben a fogadó sejt felszínén speciális szerkezetű membránszakaszok, posztiszinapszisok helyezkednek el. A szinaptikus membránszakaszok között a gyors ingerületvezetésre szakosodott, ún. vezető membrán található. Az ábrán nincsenek feltüntetve a szinaptikus végződések körül elhelyezkedő asztrocglia nyúlványok.

A nyúlványok életben tartásához és működéséhez sok olyan anyagra van szükség, amely a sejtmag körüli citoplazmában termelődik, és innen szállítódik a nyúlványokba. A nyúlványok végein felvett és onnan szállított molekulákra viszont szükség van a sejtest anyagcseréjének szabályozásához. Mindez nagy távolságot – emberi gerincvelői mozgató idegsejtek esetén, akár egy métert is – áthidaló, nagy kapacitású szállítást igényel, amit az idegsejtek jellegzetes belső szállítórendszerei biztosítanak.

A neuronok jellegzetes működése, a gyors információátvitel a belső molekulaszállító rendszerektől függetlenül, a felszíni membrán gyorsan nyíló és csukódó feszültségérzékeny ioncsatornáinak működése révén valósul meg. Az ioneloszlás változása a vezető membránfelszínének mentén elhelyezett mikroelektrodokkal terjedő potenciálváltozásként („csúcspotenciál”-sorozatokként) mérhető. A potenciálváltozás terjedési sebessége (az ún. vezetési sebesség) emlős állatok gyorsan vezető axonjain elérheti a 100 m/sec értéket. (Ehhez azonban már az *oligodendroglia* sejtek segítségére van szükség.) A központi idegszövetben egyetlen neuron akár tízezer posztzinaptikus felületen „fogadhat” és hasonló számú preszinaptikus felületen „adhat” információt. A „fogadott” információ a posztzinapszis körüli „vezető” membránszakaszok potenciállapotát változtatja meg. Az információadás meghatározott mennyiségű idegi átvivőanyag (például acetilkolin, noradrenalin, glutaminsav, gamma-amino-vajsav [GABA] stb.) és különböző neuropeptidek kibocsátásával történik a sejt pillanatnyi potenciállapota által „kijelölt” preszinapszisokból. Összességében az idegsejt hatalmas mennyiségű jelmolekulát szintetizál és tárol.

Az idegsejtek szerkezete, anyagcseréje és speciális működése csak nagy energia-befektetéssel biztosítható. Ehhez segítségére van szükség: az emlős idegszövetben az

érett idegsejtek csak az *asztroglia* sejtekkel együtt, azokkal összehangolt együttműködésben léteznek. Az idegi nyúlványrendszer kialakítása és fenntartása más neuronokkal vagy egyéb célsejtekkel (például izom- vagy mirigysejtekkel) létesített aktív kapcsolatokat igényel. Az egymással szinaptikus kapcsolatok útján kommunikáló idegsejtek alkotják a bonyolult idegi hálózatokat.

Új sejtek tömeges képződése vagy bevándorlása a sejtek közötti kapcsolatok megbomlásával járna, és lehetetlenné tenné a stabil ideghálózati működést. Nem véletlen, hogy az érett, ép idegszöveten belül osztódó és vándorló sejtek csak meghatározott helyeken találhatóak, és számuk igen alacsony. Ép felnőtt agyban az osztódásra képes összejek nem az idegszövet belsejében, hanem annak peremén, a fejlődés korai szakaszain sejteket termelő, ún. germinatív zónák maradványterületein helyezkednek el. A germinatív zónákból – az embrionális fejlődés és a felnőtt kori sejt képzés alatt egyaránt – olyan idegsejt-előalakok lépnek ki, amelyek már nem osztódnak. Ezekből hosszú érési folyamatok során, fokozatosan alakulnak ki a különböző típusú idegsejtek.

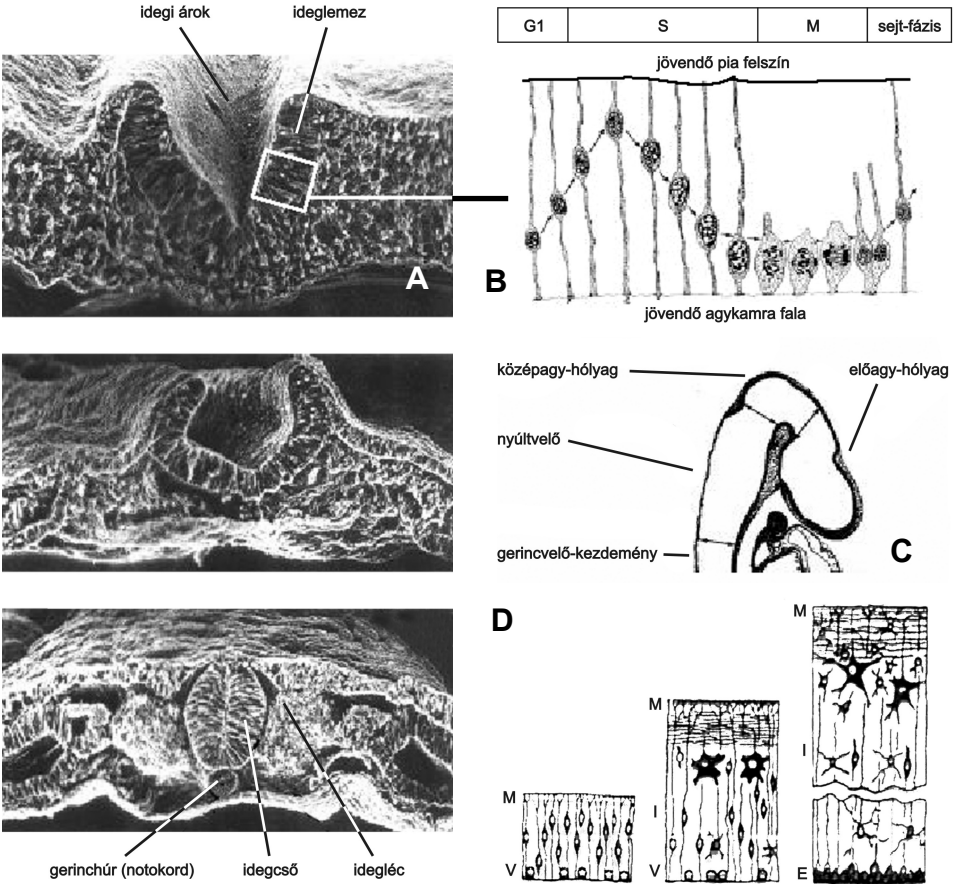
Idegsejtképzés az idegrendszer kialakulása során: embrionális és perinatális idegi összejek

A gerinces fajok embrióiban a központi idegszövetet képző *idegi lemez* igen korán (csirkében a tojás fejlődésének megindulása utáni másfél nappal, emberben a megtermékenyítés után a hetedik-nyolcadik, a méhfal-ba való beágyazódás után kb. a második napon) alakul ki, és a fejlődő embrió háti sejttrétegét csaknem teljesen kitölti. Kezdetben ez a neuroektoderma réteg gyorsan osztódó sejtekből áll, amelyek magukkal azonos utódsejteket létrehozva, a réteget növelik. A gyors növekedés eredményeként a test középvonalában a réteg benyomódik, és kialakul az *idegi árok* (3. A ábra).

További osztódások és sejtmozgások hatására az árok a test hosszanti tengelye mentén megnyúlik, és csővé záródik. Megjelenik az embrió test teljes hosszán végighúzódó *idegi cső*. Az idegcsőből fejlődik a központi idegrendszer (szinte) minden ideg- és makrogliá sejtje. A csővé záródás során a cső két oldalán kimarad egy-egy neuroektoderma-csík, a neurális lécc. Ebből fejlődik a perifériás

idegrendszer. A korai embrionális idegcső sejtjeiből – ha más irányú fejlődést indító külső tényezőkkel nem találkoznak – „kötelezően” idegszöveti sejtek képződnek: ez a *csőfal embrionális idegi összejtekből áll*.

A hat-hét napos patkányembrió „idegrendszere” egy egyetlen sejttrétegből álló sejtermelő cső, amelyben a gyorsan osztódó sejtek átérnek a csőfal teljes vastagságát, és



3. ábra • Az idegrendszer kialakulásának kezdeti lépései. **A:** Az egyetlen sejtorsóból álló ideglemez csővé záródik. **B:** Az ideglemez és az idegcső sejtjei kezdetben szimmetrikusan osztódnak. A kettéosztódás (M) fázisában a sejtmagok a csőfal üregi oldalán helyezkednek el. **C:** A velőcső feji szakasza a záródás időszakában kitágul, megjelennek az agyhólyagok, amelyeknek fala ugyancsak egyetlen osztódó sejttrétegből áll. **D:** A csőfal vastagodása során az idegszöveti sejtek előalakjai a ventrikuláris zónából (V) kilépve, az ún. intermedier zónán (I) át vándorolnak a széli (marginális; M) terület felé. A V zóna idővel a kamrafalat határoló ependyma sejtek rétegévé (E) alakul. Az ábra a gerincvelő kialakulására jellemző sémát mutatja.

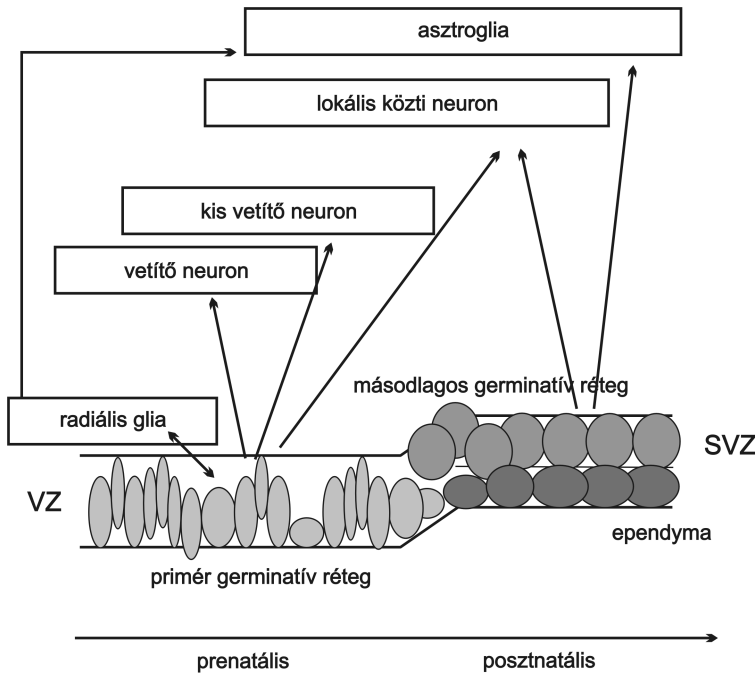
kapcsolatot tartanak mind a cső üregét, mind a cső külső felszínét borító molekuláris rétegekkel. A sejtmagok a megnyúlt sejtek eltérő részeire vándorolnak attól függően, hogy a sejt az osztódási ciklus melyik fázisánál tart (3. B ábra).

A sejt kettéosztódásakor (mitotikus fázis) a magok mindig a cső ürege mentén helyezkednek el. A fejlődés előrehaladtával egyre nagyobb számban jelennek meg olyan sejtek, amelyek a kettéosztódás után elvesztik a kapcsolatukat a cső üreg felé néző felszínével, és a falban éppen nem osztódó sejtek felszínén a cső külső részére vándorolnak. A cső fala ezzel vastagodni kezd (3. D ábra).

Az üreget közvetlenül határoló sejtréteg továbbra is osztódó sejtekből áll, és a központi idegrendszer *primér germinatív zónájának*, vagy elhelyezkedése alapján *ventrikuláris* (kamrafali) *zónának* (VZ) neve-

zik. Ebben a korai embrionális stádiumban, azok a sejtek, amelyek leválnak a cső üregi felszínéről, és kilépnek a VZ-ből, elvesztik osztódó képességüket, és posztmitotikus (osztódás utáni) idegsejt előalakokká válnak. Az elsőként leváló előalakokból a nagy méretű, hosszú axonnal rendelkező ún. fő vagy vetítő neuronok differenciálódnak a későbbi fejlődés során. A később lelépő sejtekből egyre kisebb sejttestű, és rövidebb axonnal bíró idegsejtek fejlődnek. A kisebb idegsejtek (ún. helyi vagy köztes neuronok) születésével egy időben megjelennek az első asztrogliá előalakok is. Ezek azonban a VZ-ből való kilépés után nem vesztik el osztódó képességüket, és a vastagodó idegi falon belül további gliasejtek létrehozására képesek.

Az elsődleges germinatív zóna egyik jellegzetes sejtalkotója a *radiális gliasejt* (Rakic, 1971). Az eredeti leírás szerint ezek a sejtek



4. ábra • A különböző idegszöveti sejtek keletkezése az elsődleges (primér; VZ) és a másodlagos (SVZ) idegi germinatív rétegből.

a csőfal két felszíne között stabil kapcsolatot létesítenek, és a neuronképzés időszakában nem osztódnak. A korai idegsejt-előalakok ezeknek a sejteknek a felszínére tapadva vándorolnak ki VZ-ből, és jutnak el kezdeti „rendeltetési helyükre”. Az újabb adatok azonban azt mutatják, hogy *a radiális gliasejtek között kell keresni a valódi embrionális idegi összejteket*. Megdőlt az a nézet, hogy a radiális gliasejtek az idegsejtképzés időszakában nem osztódnak. Osztódásuk valóban nem folyamatos – ezért lehetett őket nem-osztódó sejtekként is azonosítani. Egy valódi szöveti összejtől azonban nem is várható, hogy folytonosan szaporodjon. Viszonylag ritka aszimmetrikus osztódásával létrehoz egy magával azonos összejt, és egy gyors(abb)an osztódó, de fejlődésre már nagyobb mértékben elkötelezett utódsejtet. Ez utóbbi egy olyan *sokszorozó sejt*, amely sorozatos osztódásával felszaporítja az elkötelezett(ebb) sejtpopulációt. Ezek szerint a VZ-ban a könnyen azonosítható osztódó sejtek már többé-kevésbé elkötelezett, sokszorozó sejtek.

A fejlődés előrehaladtával a VZ a fejlődő agykamrákat, illetve a gerincvelő csatornáját határoló, szorosan záró ependyma sejtréteggé alakul, amely fontos szerepet játszik az agy-gerincvelői folyadék (liquor) és az ideg-szövetet átitató szövetnedv összetételének szabályozásában. Az ependyma és az ideg-szövet között kialakul egy újabb osztódó réteg, az ún. *másodlagos germinatív zóna* vagy *szubventrikuláris zóna (SVZ)*. A SVZ további ideg-szöveti sejtek – köztes neuronok és gliasejtek – képződésének helye (4. ábra), emlősökben elsősorban a születés körüli (perinatális) fejlődés időszakában.

A középagy és nyúltvelő határán, a negyedik agykamra háti részéből a SVZ sejtei egyetlen sejtréteggént ránőnek a fejlődő kisagy felületére, és külső másodlagos germinatív réteggént a kisagykéreg közti idegsejtjeit, legnagyobb számban a kisagykérgi szemcse-sejteket termelik.

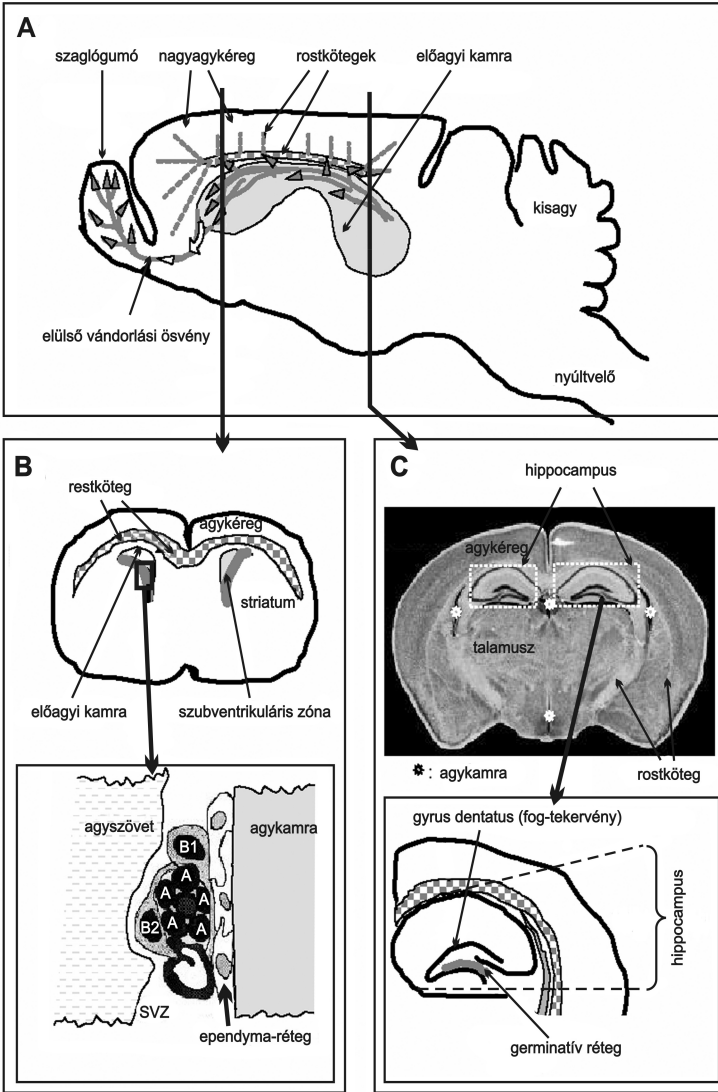
Emlősökben, az oldalsó előagyi agykamrák mentén, a striatum területén (5. ábra) már az embrionális korban kialakul, és kisebb kapacitással az élet végéig sejteket termel az SVZ. Korai sejtképzése során az agykéreg gátló közti neuronjainak többségét hozza létre. Későbbi működése elsősorban a szaglógumó idegsejtjeinek állandó pótlásában játszik fontos szerepet (lásd felnőttkori idegsejtképzés).

A másodlagos germinatív zónák ugyancsak idegi összejteket tartalmaznak, de radiális gliasejtek nem találhatóak bennük, és nem mutatható ki az elsődleges zónákra jellemző, sejtclustortól függő sejtmagathelyeződés sem. Az innen származó sejtípusok nem azonosak az elsődleges zónából születettekkel. A legfontosabb különbség, hogy a másodlagos zónákból nagy vetítő neuronok már nem képződnek. Ma még nem világos, hogy ez a különbség mennyiben magyarázható a másodlagos zónákban levő összejtek beszűkült fejlődési lehetőségeivel, vagy azzal, hogy az összejteket és a frissen képződött előalakokat egy alapvetően más ideg-szöveti környezet veszi körül.

Össejtek a kifejlett központi idegrendszerben

Ma már nyilvánvaló, hogy az érett, sértetlen emlősagyban kismértékű, de állandó idegsejtképzés zajlik. Újonnan keletkezett idegsejt-előalakok vándorolnak a *szaglógumóba*, ahol az idegsejthálózatok folyamatosan megújulnak. A szaglógumó mellett, főemlősök ép agykérgében is megfigyelték új idegsejtek beépülését (Gould, 1999).

Az agy egyes területein – például az előagyi oldalsó agykamrák striatummal határos területén – a másodlagos germinatív réteg az élet végéig fennmarad. Az ép felnőtt agyban új idegsejt-előalakok a germinatív sajátágukat fenntartó szubventrikuláris zónákban és a hippocampus ún. gyurus dentatus-ának szemcse-sejt rétege alatt keletkeznek (5. ábra).



5. ábra • A kifejlett patkányagy hossz metszeti sémáján (A) az előági kamra szubventrikuláris zónájában keletkező idegsejt-előalakok vándorlási út vonalát a kamrafal tetején és az elülső vándorlási ösvényen fekete vonalak és pöttyözött nyílhegyek mutatják. Az első hosszú nyíllal jelölt helyről készült keresztmetszet-vázlaton (B; felső ábra) a szubventrikuláris zóna elhelyezkedése látszik. A zóna (SVZ) mikroszkópos szerkezetét a B alsó ábra mutatja. Az agykamrát határoló ependyma réteg tetején, asztroglia sejtekkel (B1 és B2) határolt térben vándorolnak az idegsejt előalakok (A). A sejtegyüttes C-vel jelölt tagja a gyorsan osztódó sokszorozó sejt, amely az A sejteket hozza létre. A C ábra a hippocampusban zajló felnőttkori idegsejtképzés helyét mutatja. A keresztmetszeti vázlat (C felső ábra) a patkányagyból azon a helyen készült, amit az A ábrán a második hosszú nyíl mutat. A C alsó ábra a hippocampus nagyított sémáján a sejt képző réteg elhelyezkedését mutatja a gyrus dentatusban.

Az oldalsó kamrafal mentén (az embrionális striatum mentén húzódó VZ- majd SVZ-maradvány területein) nagyobb tömegben keletkeznek sejtek, amelyek hosszú vándorlás után, viszonylag rövid nyúlványokkal rendelkező, köztes neuronokká fejlődnek. A *gyrus dentatus*-ban keletkező kevés sejtől viszont, születésük helyéhez igen közel, gazdag nyúlványrendszerrel bíró, vetítő típusú sejtek (ún. hippocampalis szemcsesejtek) alakulnak ki.

A gangliondomb környéki felnőttkori germinatív zónában az összejtek a kamrafal ependyma sejtjei között vagy közvetlenül felettük, a szubventrikuláris rétegben helyezkednek el. Ma már bizonyítottnak tekinthető (García-Verdugo, 1998), hogy ezek az összejtek asztrogliá-sajátságokat is mutató, ritkán osztódó sejtek, amelyekből egy gyorsan osztódó sokszorozó sejtfeleség (ún. C sejt) keletkezik. Ez utóbbi hozza létre a már nem osztódó, vándorló idegsejt-előalakokat (az ún. A sejteket) (5. B ábra).

A fejletlen idegsejt prekurzorokat egy asztrogliá sejtekből álló hüvely elhatárolja a kifejlett idegszövetől, ezért a környező sejtekkel nem léphetnek kapcsolatba. A gliahüvely jellegzetes környezetet és egyben szigorúan kijelölt útvonalat biztosít az egymás felszínén előremozduló idegsejt-előalakok számára. A fő kijelölt útvonal, amely mentén a frissen keletkezett sejtek többsége vándorol, a kamrafal oldalán előrefelé húzódik, és az ún. *első vándorlási ösvényben* (rostral migratory stream – RMS) folytatódik egészen a szaglógumóig, az emlős agy legetültső részéig. A vándorlás végére az idegsejt-előalakok elég fejlettnek tűnnek ahhoz, hogy magában a szaglógumó idegszövetében folytassák vándorlásukat beépülésük végső helyére.

Az előagyi szubventrikuláris zónában keletkező idegsejt-előalakok eljuthatnak a nagyagykéregbe is, ahol beépülhetnek a kéreg köztes idegsejtjei közé. Erről a vándorlási útvonalról részletes ismeretek még nincse-

nek, de jelentős számban találtak vándorló előalakokat az előagyi rostrendszerekben (elsősorban a két agyfélteke kérgi zónáit összekötő *corpus callosum*-ban).

A nagy rostkötegekben vándorló sejtek száma jelentősen nő, ha az agyat valamiféle sérülés éri. A sérült és regenerálódó agyi és gerincvelői régiókban, a kamrafal mentén bizonyítottan megnő az osztódó sejtek száma is. Az ilyenkor keletkező sejtek túlnyomó többségéből azonban nem idegsejtek, hanem a sérülés helyére vándorló gliasejtek fejlődnek. A fokozott sejt képzés olyan szubventrikuláris területeken is megfigyelhető, amelyek az ép felnőtt agy sejt képzésében nem vesznek részt. Arról egyelőre inkább csak feltevések vannak, hogy a sérülés hatására idegsejtképzésre alkalmas összejtek is aktiválódnak, és idegsejtek is képződnek.

Egy- vagy többféle idegi összejt?

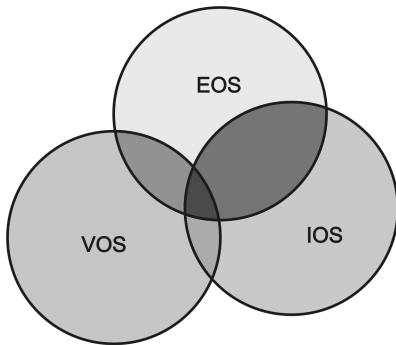
Az idegi összejtek elhelyezkedéséről és az általuk létrehozott sejtek végső fenotípusáról mondottak alapján adódik az a feltételezés, hogy sokféle – és nem egy univerzális – idegi összejttípus létezik. Különösen sok összejt-feleséget kell figyelembe vennünk, ha idegi összejtnek tekintünk minden olyan sejtet, amely önmegújításra és idegsejt létrehozására egyaránt képes.

A gerinces hólyagcsíra embrionális őssejtjeiből (ES) sejtenyészetekben nagyszámú idegsejt fejlődik. Ehhez csak azt kell megakadályozni, hogy az összejtekre hassanak a mezoderma és ektoderma kialakulását elindító jelmolekulák (például activin, csont morfogenetikus fehérjék «bone morphogenetic proteins – BMPs») (Muñoz-Sanjuán – Brivanlou, 2002). E faktorok hiányában az ún. *preneurális gének* aktiválódnak, és a korai embrionális vagy egyéb el nem kötelezett sejtekben kialakul a neurális fejlődés lehetősége. Valószínűleg a pre- és proneurális gének könnyű indukálhatósága magyarázza, hogy primitív elkötelezetlen

őssejteket (is) tartalmazó sejtegyüttesekben (például csontvelő-preparátumban) idegi irányú differenciálódás váltható ki. A vérképző, idegi és embrionális (ES) őssejtekben aktívan működő gének összehasonlító vizsgálata (Ramalho-Santos, 2002) is azt mutatta, hogy a test minden sejtjét létrehozni tudó embrionális (ES) őssejtek és az embrionális idegi őssejtek között jelentős hasonlóság van; e két őssejt-féleség közelebb áll egymáshoz, mint a vérképző őssejtek bármelyikhez (6. ábra).

Az idegi lemez kialakulásának és a cső záródásának időszakában az idegi őssejtekben a proneurális gének működnek. A proneurális gének az idegi előalakok kialakulása során válnak aktívvá, és aktivitásukat a közvetlen sejt-sejt kapcsolatok szabályozzák.

A germinatív réteg őssejtjeinek sajátosságait sok környezetből érkező hatás befolyásolja. A külső hatások annál nagyobb valószí-



Ramalho-Santos nyomán (*Science*, 2002 október)

6. ábra • A különböző őssejtek (embrionális őssejt: EŐS; vérképző őssejt: VŐS; idegi őssejt: IŐS) „rokonsági fokát” annak alapján hasonlították össze, hogy mennyire azonos gének működnek bennük. Az éppen aktív gének készletét úgy lehet megállapítani, ha megmutatjuk, hogy milyen hírvivő RNS-molekulák vannak a sejtben. Több tízezer hírvivő RNS vizsgálata azt mutatta, hogy viszonylag kevés közös gén működik mindhárom őssejtben (legsötétebb átfedés). A legtöbb közös működő gént az EŐS és IŐS összehasonlításánál találták.

núséggel érvényesülnek, minél hosszabb idő telik el a *sejtciklusban* két osztódás között. A fejlődés során a germinatív réteg sejtjeinek ciklusideje és ezen belül a G1 fázis időtartama folyamatosan nő. Az embrionális ideglemez sejtjeinek tíz-tizenkét órás ciklusidejével szemben, a másodlagos germinatív rétegben az osztódó sejtek megkettőződéséhez már huszonnégy óra kell. A rétegben ritkán osztódó „valódi” őssejtek ciklusidejéről nincsenek adataink, de ha a feltételezett hosszú nyugalmi periódust tekintjük, akkor két osztódásuk között a környezet hatására jelentősen változhatnak.

Miközben a „valódi” őssejtek egyre ritkábban osztódnak, nagy számban megjelennek a sokszorozó sejtek (7. ábra) az elsődleges germinatív rétegben.

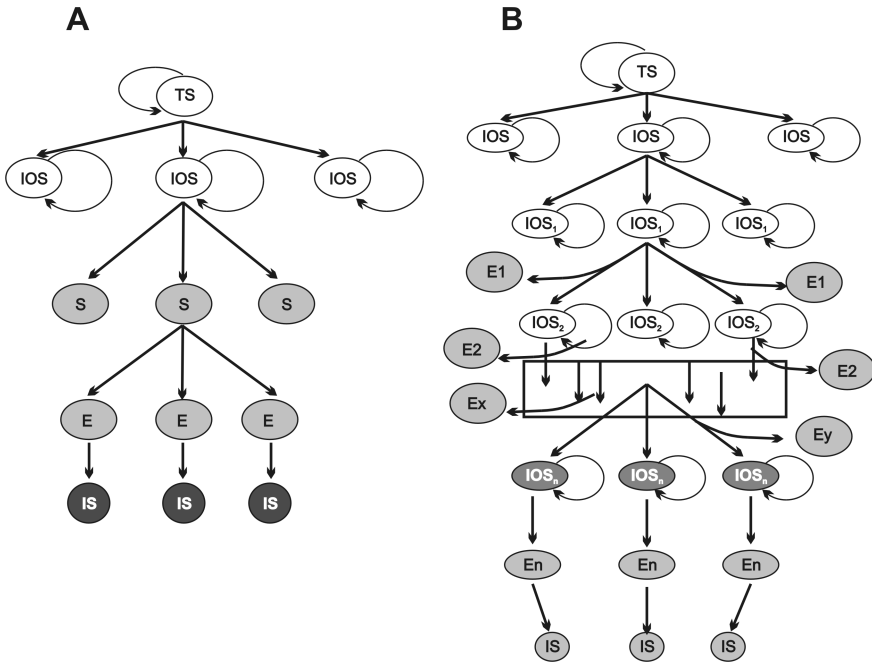
Mi a szerepe e két (vagy több) sejttemelő populációnak? Az egyik lehetőség, hogy a sokszorozók csak meghatározott számú, szimmetrikus sejtosztódásra képesek, azaz korlátozott számú és azonos sajátosságú sejteket hoznak létre. Adott számú osztódás után, szaporodóképességük kimerül, és posztmitotikus sejtként kivándorolnak a VZ-ből, vagy ott maradva a kamrafal nem-osztódó (például *ependyma*) alkotóivá válnak illetve elpusztulnak. Eszerint a kilépő idegsejt előalakok sajátosságai (például hogy belőlük nagy vetítő vagy kis köztes neuron fejlődhet) alapvetően attól függ, hogy a „valódi” őssejt milyen sokszorozó populációt hozott létre. E modell szerint – ha magyarázni akarjuk a keletkező előalakok sokféleségét – a „valódi” őssejt sajátosságainak folyamatosan és jelentős mértékben változnia kell a fejlődés előrehaladtával. Alátámaszthatja a modellt az a megfigyelés, hogy az idegi cső egy adott területéről nem folyamatosan, hanem időben jól elkülönülő hullámokban, egyszerre lép ki egy nagyobb mennyiségű, azonos sajátosságú posztmitotikus sejt. Ellene szól viszont az az elméleti megfontolás, hogy egy ilyen szerveződés rendkívül sérülékeny

lehet: egyetlen, viszonylag nagy lépésekben változó őssejt-populáció épségén múlhat a szöveti sejtprodukción.

Egy másik lehetőség szerint a viszonylag gyorsan osztódó „sokszorozó” sejtek maguk is őssejtek, amelyek képesek szimmetrikus és aszimmetrikus osztódásra is. Szimmetrikus osztódásukkal saját populációjukat növelik, aszimmetrikusan osztódva viszont két utódsejtjük közül az egyik az anyasejttel azonos őssejt-populáció fenntartását szolgálja, míg a másik a szöveti elköteleződés magasabb fokát képviselő sejt. Ez utóbbi ugyancsak lehet „őssejt”, azaz kiterjesztheti a maga tulajdonságaival rendelkező őssejt-populációt, miközben egy magánál „még elkötelezettebb” populáció kiindulópontja vagy osztódását befejező előalak lehet. Bár ma még nem tud-

juk biztonsággal megmutatni a különböző mértékben elkötelezett őssejt-populációkat a VZ-ban, az egymásból származtatható, egymástól csak kismértékben különböző őssejtek sorozata valószínűbb elképzelésnek látszik. A különböző „minőségű” idegi őssejtek jelenlétét igazolni látszik, hogy – legalább is Petri-csészében – jól elkülöníthetőek egymástól olyan őssejt-populációk, amelyek más fejlődést szabályozó hatóanyagokra (az egyik például epidermális növekedési faktorra, a másik fibroblaszt növekedési faktorra) érzékenyek.

Az első elképzelés szerint a késői geminatív rétegekben fennmaradó, ritkán osztódó vagy nyugvó állapotú őssejt a „valódi őssejt” fejlődés során módosult formája. Egy ilyen sokféle hatást megérett, „öreg” sejt



7. ábra • Az idegi őssejtek sejtkepző folyamatának két lehetséges vázlata (részletes leírás a szövegben). Jelmagyarázat: TS: „totipotens” minden sejt képzésére alkalmas őssejt. IOS: idegi őssejt. Az eltérő indexek megváltozott sajátosságú IOS-eket jelölnek. S: sokszorozó sejt, amely csak néhány vagy egyetlen sejtj típus létrehozására alkalmas. E: idegsejt-előalak. Az eltérő indexek eltérő sajátosságú előalakokat jelölnek. IS: idegsejtek

szükségszerűen olyan sajátságokat hordoz, amelyek korára és a germinatív zóna szöveti környezetére jellemzőek. Az ilyen őssejt várhatóan egyre kisebb fejlődési lehetőséggel rendelkező előalakokat hoz létre az idő előrehaladtával, azaz fejlődési potenciálja beszűkül. A felnőttkori SVZ-ben már csak néhány idegszöveti sejtfeleség előalakjai keletkezhetnek belőle.

A második modellből a következők, hogy az „őssejt-leszármazás” több lépcsőjéből is fennmaradhatnak őssejtek a késői germinatív zónákban. Ezek különböző fejlődési állapotban „megrekedt” őssejtek lehetnek, tehát többféle sejt létrehozására marad lehetőség. A modellek kutatási-gondolkodási keretet adnak; ezt a keretet a következő évek kutatásainak tényekkel kell megtöltenie.

Az idegi őssejtek és az idegsejtpótlás

Az idegszövet szigorú, tömött szerveződése és az idegsejtek speciális szerkezeti és működési sajátságai az egyedfejlődés során fokozatosan alakulnak ki. Az osztódásra már képtelen idegsejt-előalak, meghatározott szöveti környezetben vándorolva, sok sejtrel, sokféle kapcsolatot létesít. Nagy részben e kölcsönhatások eredményeként formálódik az előalak meghatározott típusú neuronná és egy adott idegsejthálózat elemévé. A nem megfelelő szövetkönyezetbe kerülő, kapcsolatokat nem létesítő előalakok és idegsejtek elpusztulnak. Ez az ún. morfogenetikus sejtpusztulás a szövetképződés természetes velejárója, amelynek során a legalkalmasabb, megfelelő időben, a megfelelő helyen előforduló sejtet válogatódna ki. Az egyedfejlődés során csaknem tízszer annyi idegsejt-előalak és fejlődő neuron jön létre, mint amennyi végül a kifejlett szövetbe beilleszkedik.

A fentiek alapján nyilvánvaló, hogy egy idegi őssejt hiába ültetnénk be az érett agyszövet egy véletlenszerűen kiválasztott területére, az ott nagy valószínűséggel elpusztulna. A kezdeti agyi szövetbeültetések jelezték, hogy a felnőtt

agy adott területére beépülhetnek embrionális agyi sejt, de csak akkor, ha meghatározott korú embriók meghatározott agyi régióiból származnak (Björklund, 2000).

Parkinson-kórban szenvedő betegek egy részénél jelentős javulást lehetett elérni, ha a beteg striatumba dopamint termelő embrionális közepagi sejtet ültettek. Ehhez azonban kizárólag hét-nyolc hetes humán embriók közepagi szövetét lehetett felhasználni. Más agyterületekről vett vagy korban (fejlődési állapotukban) nem megfelelő sejtet a felnőtt szövetbe nem épültek be.

Az embrionális agyból vett mintákban a sikeresen beépülő sejt nem az őssejt, hanem olyan fejlődő, de még nem végdifferenciált idegsejt-előalakok, amelyek az idegsejtérés bizonyos fokára már eljutottak, és többé-kevésbé elköteleződtek egy adott idegi működésre. A felnőtt agyszövetben nincsenek jelen olyan sejten kívüli molekulák és sejtorsot irányító faktorok, amelyek az embrionális szövetszerveződés idején fontos szerepet játszanak. Hiányzik az a szöveti környezet, amely ahhoz kell, hogy egy elkötelezetlen sejt az adott szöveti régiónak megfelelő idegsejtté fejlődjön.

Hogyan lehet mindezek után az idegi őssejteket felhasználni a központi idegszövet sejtjeinek pótlására? Alapvetően két stratégia adódik: 1.) az őssejteket fejlődésre kell bírni, még mielőtt a befogadó területre kerülnek, és 2.) a befogadó idegszövetet olyan irányba kell módosítani, hogy az a fejlődő sejt számára befogadó és fejlődést biztosító környezetet nyújtson.

Az idegi őssejteket a testen kívül is fejlődésre lehet készíteni. A fejlődést megfelelő hatóanyagokkal és sejtletapadást befolyásoló molekulákkal irányítani is lehet, és a fejlődésnek indult sejtegyüttesből a megfelelő sajátságokkal rendelkező sejtet kiválogathatók.

Embrionális egér őssejtek gondosan megtervezett *in vitro* kezelésével már sikerült a gerincvelő fejlődő mozgató neuronjaihoz

minden tekintetben hasonló (Wichterle, 2002), vagy dopamint termelő (Kim, 2002) idegsejteket létrehozni. Ezek a sejtek be tudtak illeszkedni felnőtt egerek központi idegrendszerének megfelelő területeire.

Ilyen kísérletek a világ igen sok laboratóriumában zajlanak, és sok különböző helyről izolált idegi őssejt-populációt vizsgálnak. Van remény arra, hogy a kezdeti ígéretes eredményekből gyakorlatban is alkalmazható klinikai eljárások születnek, talán nem is a túl távoli jövőben.

Világszerte sok laboratóriumban foglalkoznak azzal a kérdéssel is, hogy hogyan lehet a befogadó agyszövetet alkalmassá tenni az őssejtek fogadására. Különösen fontos kérdésekre kell választ találni, ha meggondoljuk, hogy sok idegrendszeri degenerációs folyamat esetén nemcsak elpusztult sejteket kell pótolni, hanem mindezt egy kórosan elváltozott szövetkörnyezetben kell megoldani. Egyelőre csak elenyésző részét ismerjük azoknak a faktoroknak, amelyek létfontosságú szerepet játszanak abban, hogy egy fejlődő sejt megfelelő kapcsolatot létesítsen a környezetével. Vannak adatok, amelyek azt mutatják, hogy a felnőtt agyban mesterségesen kell „helyet teremteni” a beültetett sejtek számára. Olyan módon – programozott sejtelhatalás kiváltásával (Shin, 2000) – kell fellazítani az agyszövetet, hogy annak hatására gyulladási folyamatok ne induljanak el. A megfelelően regenerálódó agyszövetben sok olyan molekula újratermelődik, amely egyébként csak a fejlődő embrionális idegrendszerre jellemző. Számos kísérleti eredmény azt mutatja, hogy az így előkészített környezetben az idegsejt-előalakok nagyobb valószínűséggel épülnek be.

A sok nehézség ellenére az idegi őssejtek terápiás felhasználása ígéretes és nem túl távoli lehetőség. Ma azonban még csak lehetőség. Az embrionális idegrendszer beültetésével nyert adatok megmutatták, hogy súlyos idegi degenerációs betegségek gyógyíthatók (vagy a tünetek jelentősen csökkenthetők), ha megfelelő új idegsejtek kerülnek az érintett agyterületre. Megfelelő embrionális idegrendszer azonban csak korlátozottan állhat rendelkezésre, és súlyos etikai problémákkal terhelt.

A Parkinson-kór sejtbeültetéssel történő kezelésénél egy páciens kezeléséhez minimálisan négy abortált (hét-nyolc hetes) embrióból nyert sejtekre van szükség. De ha olyan agyterületeken (például a hippocampus) van sejt pótlásra szükség, amelyre csak a magzati fejlődés késői szakaszában megjelenő sejtek használhatók, akkor beültetésre alkalmas sejteket fiatalon abortált embriókból már nem lehet nyerni.

Az őssejt-terápiát szorgalmazó kutatók legszebb „álma”, hogy felnőtt szervezetből könnyen kivehető őssejteket, például a bőr vagy bélhám germinatív rétegében előforduló elkötelezetlen sejteket lehessen idegi beültetésre alkalmassá tenni. Az idegi sejtorsó könnyű indukálhatósága erre reményt nyújt. Kérdés marad azonban, hogy vannak-e teljesen fejletlen, idegi sorsra még elkötelezhető őssejtek a felnőtt szervezetben. Ezek megtalálása, izolálásukra alkalmas módszerek kidolgozása és alkalmazhatóságuk vizsgálata ma az őssejtkutatás legfontosabb feladatai közé tartozik.

Kulcsszavak: *idegsejtképződés, idegrendszer, sejt megújulás, idegsejtpótlás*

HIVATKOZÁSOK

- Björklund, Anders – Lindvall, Olle (2000): Cell Replacement Therapies for Central Nervous System Disorders. *Nature Neuroscience*. 3, 537-544
 García-Verdugo, José M. – Doetsch, F. – Wichterle, H. – Lim, D. A. – Alvarez-Buylla, A. (1998): Architecture

and Cell Types of the Adult Subventricular Zone: In Search of the Stem Cells. *Journal of Neurobiology*. 36, 234-248

Goldman, Steven A. – Nottebohm, Fernando (1983): Neuronal Production, Migration, and Differentiation in a Vocal Control Nucleus of the Adult Female Canary

- Brain. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. 80, 2390-2394
- Gould, Elizabeth – Reeves, A. J. – Graziano, M. S. – Gross, C. G. (1999): Neurogenesis in the Neocortex of Adult Primates. *Science*. 286, 548-552
- Kim, Jong-Hoon – Auerbach, J. M. – Rodríguez-Gómez, J. A. – Velasco, I. – Gavin, D. – Lumelsky, N. – Lee, S. H. – Nguyen, J. – Sánchez-Pernaute, R. – Bankiewicz, K. – McKay, R. (2002): Dopamine Neurons Derived from Embryonic Stem Cells Function in an Animal Model of Parkinson's Disease. *Nature*. 418, 50-56
- Muñoz-Sanjuán, Ignacio – Brivanlou, Ali H. (2002) Neural Induction, The Default Model and Embryonic Stem Cells. *Nature Reviews Neuroscience*. 3, 271-280
- Rakic, Pasko (1971) Guidance of Neurons Migrating to the Fetal Monkey Neocortex. *Progress in Brain Research*, 33, 471-478
- Ramalho-Santos, Miguel – Yoon, S. – Matsuzaki, Y. – Mulligan, R. C. – Melton, D. A. (2002): „Stemness”, Transcriptional Profiling of Embryonic and Adult Stem Cells. *Science*. 298, 597-600
- Reynolds, Brent A. – Weiss, Samuel (1992): Generation of Neurons and Astrocytes from Isolated Cells of the Adult Mammalian Central Nervous System. *Science*. 255, 1707-1710
- Shin, Jennifer J. – Fricker-Gates, R. A. – Perez, F. A. – Leavitt, B. R. – Zurakowski, D. – Macklis, J. D. 2000. Transplanted Neuroblasts Differentiate Appropriately into Projection Neurons with Correct Neurotransmitter and Receptor Phenotype in Neocortex Undergoing Targeted Projection Neuron Degeneration. *Journal of Neuroscience*, 20, 7404-7416
- Svendsen, Clive N. – Caldwell, Maeve A. – Ostenfeld, Thor (1999). Human Neural Stem Cells: Isolation, Expansion and Transplantation. *Brain Pathology*. 9, 499-513
- Wichterle, Hynes – Lieberam, I. – Porter, JA. – Jessell, T. M. 2002. Directed Differentiation of Embryonic Stem Cells into Motor Neurons. *Cell*. 110, 385-397



A HÁMKÉPZÉS ŐSSEJTJEI

Bata Zsuzsanna

egyetemi docens, Szegedi Tudományegyetem,
Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika,
Szegedi Tudományegyetem és Magyar Tudományos Akadémia
Bőrgyógyászati Kutatócsoportja, Szeged
bata@derma.szote.u-szeged.hu

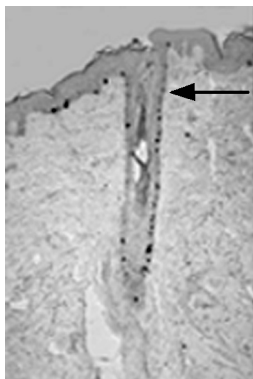
Bevezetés

A bőrünket kívülről takaró elszarusodó fedőhám (epidermisz) fő szerkezeti alkotó sejtje a *hámsejt (keratinocita)*. A születéskor már kifejlődött emberi epidermiszt a sejtek fénymikroszkópos megjelenése alapján öt rétegre oszthatjuk: alapi sejtés réteg (stratum basale vagy stratum germinativum), tüskésejtés réteg (stratum spinosum), szemcsésejtés réteg (stratum granulosum), fénylő réteg (stratum lucidum) és a szaruréteg (stratum corneum). A hámsejtek *ektodermális* eredetűek, az embrionális fejlődés során az ébrényi epiderma sejtjeiből alakulnak ki a bőr függelékszervei is: a szőrtüsző, a faggyú- és verejtékmirigy.

Az epidermisz és a szőrtüsző az élet során folyamatosan megújuló szöveteink közé tartozik, a normális szöveti egyensúly állapotában az alsó réteg sejtjei folyamatosan osztódnak, a felsőbb rétegekbe jutva differenciálódnak, majd magjukat vesztett elszarusodott keratintestekként leválnak a felszínről, illetve a szőrtüsző esetében kialakítják a szőr- illetve hajszálat, mely idővel szintén elhagyja a testfelszínt. A felnőtt bőrfelszínt érő külső behatásokra kialakuló hámsejtvesztést az alapi réteg sejtjei gyorsan pótolják, és a kialakult új hám nem különbözik a régitől, ellentétben például a felnőtt kötőszövet sérüléseivel, ahol az újraképződés során az eredetitől különböző hegszövet képződik.

Az osztódó hámsejtek szöveti szerveződése

A 70-es évek elejéig az epidermisz osztódnai képes *bazális sejt rétegét (stratum germinativum)* homogén sejt populációnak tekintették, melyben a sejtek azonos eséllyel osztódnak és/vagy differenciálódnak (Leblond et al., 1964). Későbbi vizsgálatok során kiderült, hogy a hám keratinocitái jellegzetes oszlopos elrendeződést alkotnak, melynek alján ritkán osztódó sejtek, felette gyors egymásutánban osztódó sejtek, e felett pedig nem osztódó sejtek helyezkednek el. Egy-egy ilyen oszlopot *epidermális proliferatív egységnek* neveztek el (Mackenzie, 1969). Tríciummal jelölt timidint használva a sejtosztódás vizsgálatára, kiderült, hogy a legbazálisabban elhelyezkedő hámsejtek között a felvett timidint hosszú ideig megtartó sejtek találhatóak, míg a jelzett anyagot felvett osztódó sejtek fenntebb elhelyezkedő csoportjában folyamatos gyors osztódások során kihígul a jelölés (Bickenbach, 1981). A jelzett timidint hosszán megtartó (label retaining) sejtek a szőrtüszők között elhelyezkedő (interfollikuláris) epidermiszben valóban egy-egy epidermális oszlop alatt helyezkednek el. Hasonló, a jelölt timidint hosszán megtartó sejtípust a nyálkahártyában, a cornea limbus területén és a szőrtüszőben a szőremelő izom tapadásánál elhelyezkedő kitérűnkedés (bulge) területén azonosították (*1. ábra*) (Potten and Booth, 2002).

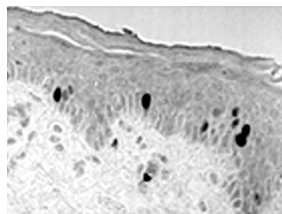


1. *ábra* • A szőrtüsző és a hám osztódó sejtjei Ki67 ellenanyaggal jelölve fekete pntonként látszanak az immunhisztokémiai eljárással készült szövettani metszeten. Nyíl jelöli a szőrtüsző kitéremkedését ott, ahol a keratinocita őssejtek találhatóak

1982-ben Robert M. Lavker és Tung-Tien Sun a humán epidermisz bazálisan elhelyezkedő sejtjei között két morfológiailag és funkcionálisan különböző sejtípust írtak le, az egyik ritkán osztódó (a jelölt timidint hosszan megtartó), sima felszínű, egyszerű citoplazmájú sejt, a másik gyors egymásutánban osztódó, felszínén kitéremkedéseket viselő, komplexebb citoplazmájú sejtípust (Lavker–Sun, 1982). Az epidermisz lassan, illetve ritkán osztódó, a jelzett timidint hosszan megtartó sejtjeit a *hámképződés őssejtjeinek* (stem cells), a gyors egymásutánban osztódó sejtjeiket pedig átmeneti osztódó (transiently amplifying) sejtjeiknek nevezték el.

Keratinocita őssejtek a tenyésztésben

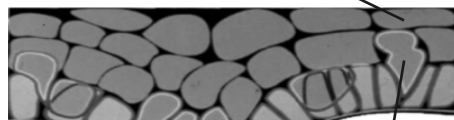
A humán keratinocita *in vitro* tenyésztésének kidolgozását követően a tenyésztett sejték között is legalább két, funkcionálisan és morfológiailag különböző osztódásra képes sejtípust lehetett azonosítani. A tenyésztésben nagyszámú és hosszú életű kolóniákat képeznek a kisméretű hámsejtek (holoklónok), míg rövidebb életű, kisebb számú kolónia képződik a nagyobb méretű hámsejtekből (paraklónok) (Barrandon–Green, 1985).



2. *ábra* • Az ép hám Ki67 ellenanyaggal jelölt osztódó sejtjei (fekete pontok). A legalsó sejtrétegben a sejtek nagyobb része nem osztódik.

Magunk többparaméteres áramlásos citometriás módszerrel vizsgálva a normál epidermiszből frissen szeparált sejtet két, a béta1 integrin és a keratin1/10 kifejeződés alapján jól elkülöníthető sejtpopulációt találtunk, amelyben a sejtek osztódtak. A béta1 integrin kifejeződés minden osztódó hámsejtre jellemző. A legbazálisabban elhelyezkedő hámsejtek, melyek a keratin 1/10-et nem fejezik ki, jellemzően kisméretűek, citoplazmájuk egyszerű, és alacsony az osztódási rátájuk. Jóval nagyobb számú osztódó sejt van azon hámsejtek között, melyek már kifejezik a keratin 1/10-et, de még béta1 integrin pozitívak. Ezek a sejtek nagyobb méretűek, és citoplazmájukban több szerkezeti elem van. A keratin 1/10 kifejeződés az

$\beta 1$ integrin⁺ K1/K10⁻ nagyméretű, nem osztódó sejt



$\beta 1$ integrin⁺ K1/K10⁻ kisméretű, ritkán osztódó sejt (őssejt)

$\beta 1$ integrin⁺ K1/K10⁺ nagyméretű, intenzíven osztódó sejt (TAC)

3. *ábra* • A szőrtüszők között elhelyezkedő hám sejtjeinek karakterizálása a béta1 integrin és keratin1/10 kifejeződés alapján, áramlásos citometriás meghatározással

epidermiszben azokban a sejtekben jelenik meg, melyek a bazális membrántól elválva elhagyják a hám legalsó sejtretegét (2. és 3. ábra) (Bata-Csörgő *et al.*, 1993).

Adott tenyésztési körülmények között a tenyészet kolóniái kizárólag keratin 1/10 negatív sejtekből alakulnak ki. A tenyészet kolóniáit képező hámsejtekre jellemző, hogy nagyon erősen kifejezik a béta1 integrint (Bata-Csörgő *et al.*, 1995).

A hámsejtek, tenyészetben, megfelelő körülmények között többrétegű, az élő szövethez nagyon hasonló hámot képesek kialakítani. Kisméretű bőrmintából nagykiterjedésű, a kötőszövetbe terjedő bőrhiányok pótlására alkalmas saját (autolog) hámiszövetet lehet tenyészteni. Ha a tenyésztési körülményeket úgy változtatjuk, hogy a sejteket nem hagyjuk többrétegű hámháttá differenciálódni, talán még hatékonyabban fedhetők a sebek hámsejt-szuszpenzióval. Saját vizsgálataink szerint a hajás fejbőről vett bőrből rövidebb idő alatt jóval több hámsejt tenyészthető, mint a comb vagy a lágyék területéről vett azonos méretű bőrdarabokból. A hajás fejbőről vett bőr hámsejtei között kb. 20 %-kal nagyobb a keratin 1/10 negatív sejtek aránya (Szabad *et al.*, közlésre benyújtva).

Fiona M. Watt és munkatársai a béta1 integrin erősen kifejező hámsejteket azonosították a szőrtüszők között elhelyezkedő epidermiszben is (Jones *et al.*, 1995). Ezek a sejtek gyorsan és erősen tapadtak az epidermális bazális membránt alkotó bizonyos fehérjékhez, és hosszabb életű kolóniákat képeztek a tenyészetben, mint a béta1 integrint kevésbé erősen kifejező sejtek.

Az utóbbi években a keratin 19, valamint az alfa integrin erős és egyidejűleg a CD71 (transzfemin receptor), illetve egy proliferációval asszociált sejt felszíni marker (10G7) gyenge kifejeződését, valamint a p63 transzkripció faktor kifejeződését találták jellemzőnek olyan hámsejtekre, melyek az ép hámiszövetben alig osztódnak, ugyanakkor a tenyészet-

ben hosszú életű kolóniaképzésre képesek (Potten–Booth, 2002). Legutóbb egy amerikai munkacsoport arról számolt be, hogy a szőrtüsző kitéremkedésénél található alfa6 integrin erősen kifejező sejtek magukon hordozzák a CD34-et, a csontvelői őssejtek jellegzetes markerét (Trempeus *et al.*, 2003).

A hámsejteket tenyészetben specifikus génnel megjelölve, majd a sejteket a szövetbe visszaültetve igazolható, hogy a hámsejtek között vannak olyanok, melyek a hámiszövetet teljes vastagságában oszlopszerűen képesek újjraképezni (Mackenzie, 1997).

A hám őssejtjeinek további jellemzése

A folyamatosan megújuló szövetek őssejtjeiről feltételezik, hogy elvben végtelen számú sejtosztódás lehetőségével bírnak, ugyanakkor fiziológiás körülmények között alig osztódnak (Lajtha, 1979). Tenyésztési körülmények között a hámsejtek osztódási kapacitása, bár igen nagy, mégis véges. Ugyanakkor az élő hámiszövet őssejtjeinek még a véges osztódási kapacitását sem bizonyították. Számos adat szól amellett, hogy az őssejt tulajdonság megtartásához a sejt közvetlen környezetéből folyamatosan kapott megfelelő jelek szükségesek. Úgy tűnik, hogy az epidermális őssejt populáció fenntartásában a bazális hámsejteknek az alattuk elhelyezkedő membránhoz történő tapadása alapvető jelentőséggel bír. A membránt alkotó fehérjék a sejtek béta1 integrin receptoraival kapcsolódva a mitogén által aktivált protein kinázon (MAPK) keresztül mint jelátviteli úton szabályozzák az epidermális őssejt populáció fenntartását (Zhu *et al.*, 1999).

A béta1 integrin esszenciális szerepet játszik a hámiszövet és a szőrtüsző normális kialakításában is. A béta1 integrin hámsejtekben való kiütése egérben a szőrtüsző és a kötőszövet elhelyezkedő hámiszövet súlyos rendellenességeit eredményezi (Brakebusch *et al.*, 2000; Raghavan *et al.*, 2000). A felnőtt szer-

vezet legtöbb szomatikus sejtjére jellemző, hogy osztódása során a kromoszómavégek DNS-e (teloméra) rövidül. A feltehetően korlátlan szaporodóképességgel rendelkező sejtekben (ősivarsejt, embrionális sejtek, immortalizált és tumorsejtek) a telomeráz enzim megakadályozza a kromoszómavégek rövidülését. Érett, egészséges szervezetben az ivarsejteken kívül csontvelőből, köldökzsinór- és perifériás vérből származó sejtekben (csontvelői összejtek), valamint a hám bazális sejtjeiben tudtak telomeráz aktivitást kimutatni (Härle-Bachor–Boukamp, 1996). Sejttenyésztésben telomeráz aktivitást a hám összejt-típusú sejtjei mutatnak, ezek az erősen tapadó, alfa6 integrint erősen kifejező és a tenyésztésben jó kolóniaképző képességgel bíró sejtek. Úgy tűnik, hogy a hámszövetben a különböző tumorképződést kialakító manipulációk célsejtjei is azok a sejtek, melyeket egyéb tulajdonságai alapján a hámszövet összejtjeinek gondolunk (Morris, 2000).

A szörtüsző kitéremkedésénél elhelyezkedő keratinocita összejtek többféle bőrstruktúrát (a szörtüszők között elhelyezkedő hámszövet sejtjeit, a szörtüsző és a faggyúmirigy sejtjeit) képesek újraformálni, ilyen értelemben a differenciálódási irányuk több-
 ágú (pluripotensek), de arra nincs egyelőre

bizonyíték, hogy a hám összejtjei más szöveti sejtek kialakulásának lehetőségével is bírának (totipotens).

Összefoglalás

A hámszövetben tehát vannak és többé-kevésbé jellemezhetőek is azok a hosszú életű sejtek, melyek normális körülmények között ritkán osztódnak, ugyanakkor képesek önmagukat és a hámszövetet nagyrészt alkotó különböző differenciáltsági fokú hámsejteket reprodukálni mind az élő szövetben, mind pedig a tenyésztőedényben. A hámszövet összejtjeinek hasznosítása, ha nem is a mindennapi és a legoptimálisabb technika alkalmazásával, már az orvosi gyakorlatban is alkalmazásra kerül a hámszövet pótlásakor. Ezek a sejtek génterápiás beavatkozások lehetőségét is hordozzák, elsősorban olyan genetikai hibák javításának lehetőségét, melyek magát a hámszövetet érintik. A keratinocita összejtek a tenyésztésben tapadási és klónképző képességük alapján szétválaszthatók, ezek a sejtek a beléjük különböző módszerekkel bevitt javított géneket befogadják és hosszú ideig kifejezik (Ortiz-Urda et al., 2002).

Kulcsszavak: *hámsejt, ektoderma, epidermális proliferatív egység*

IRODALOM

Barrandon, Yann – Green, Howard (1985): Cell Size as a Determinant of the Clone-Forming Ability of Human Keratinocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. **82**, 5390-5394

Bata-Csorgo Zsuzsanna – Hammerberg, C. – Voorhees, J. J. – Cooper, K. D. (1993): Flow Cytometric Identification of Proliferative Subpopulations within Normal Human Epidermis and the Localization of the Primary Hyperproliferative Population in Psoriasis. *The Journal of Experimental Medicine*. **178**, 1271-1281

Bata-Csorgo, Zsuzsanna – Hammerberg, C. – Voorhees, J. J. – Cooper, K. D. (1995): Kinetics and Regulation of Human Keratinocyte Stem Cell Growth in Short-Term Primary Ex Vivo Culture. Cooperative Growth Factors from Psoriatic Lesional T Lymphocytes Stimulate Proliferation among Psoriatic Uninvolved, But Not Normal, Stem Keratinocytes.

The Journal of Clinical Investigation. **95**, 317-327

Bickenbach, Jackie R. (1981): Identification and Behavior of Label-Retaining Cells in Oral Mucosa and Skin. *Journal of Dental Research*. **60**, **Spec No C**, 1611-1620

Brakebusch, Cord – Grose, R. – Quondamatteo, F. – Ramirez, A. – Jorcano, J. L. – Piro, A. – Svensson, M. – Herken, R. – Sasaki, T. – Timpl, R. – Werner, S. – Fassler, R. (2000): Skin and Hair Follicle Integrity Is Crucially Dependent on Beta 1 Integrin Expression on Keratinocytes. *The EMBO Journal*. **19**, 3990-4003

Härle-Bachor, Cosima – Boukamp, Petra (1996): Telomerase Activity in the Regenerative Basal Layer of the Epidermis Inhuman Skin and in Immortal and Carcinoma-Derived Skin Keratinocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. **93**, 6476-6481

Jones, P. H. – Harper, S. – Watt, Fiona M. (1995): Stem Cell Patterning and Fate in Human Epidermis. *Cell* **80**, 83-93

- Lajtha, Laszlo G. (1979): Stem Cell Concepts. Differentiation. **14**, 23-34
- Lavker, Robert M. – Sun, Tung-Tien (1982): Heterogeneity in Epidermal Basal Keratinocytes: Morphological and Functional Correlations. *Science*. **215**, 1239-1241
- Leblond, C. P. – Greulich, R. C. – Marques-Pereira, J. P. (1964): Relationship of Cell Formation and Cell Migration in the Renewal of Stratified Squamous Epithelia. *Advances in Biology of Skin*. **5**, 39–67
- Mackenzie, I. C. (1969): The Ordered Structure of the Stratum Corneum of Mammalian Skin. *Nature*. **222**, 881-882
- Mackenzie, I. C. (1997): Retroviral Transduction of Murine Epidermal Stem Cells Demonstrates Clonal Units of Epidermal Structure. *Journal of Investigative Dermatology*. **109**, 377-383
- Moris, Rebecca J. (2000): Keratinocyte Stem Cells: Targets For Cutaneous Carcinogens. *The Journal of Clinical Investigation*. **106**, 3-8
- Ortiz-Urda, Susana – Thyagarajan, B. – Keene, D.R. – Lin, Q. – Fang, M. – Calos, M. P. – Khavari, P. – Stable A. Nonviral Genetic Correction of Inherited Human Skin Disease. *Nature Medicine*. (2002): **8**, 1166-1170
- Potten, Cristpher S. – Booth, Catherine (2002): Keratinocyte Stem Cells: A Commentary. *Journal of Investigative Dermatology*. **119**, 888-899
- Raghavan, Srikala – Bauer, C. – Mundschau, G. – Li, Q. – Fuchs, E. (2000): Conditional Ablation of Beta1 Integrin in Skin. Severe Defects in Epidermal Proliferation, Basement Membrane Formation, and Hair Follicle Invagination. *The Journal of Cell Biology*. **150**, 1149-1160
- Szabad Gábor – Koreck A. – Kenderessy Szabó A. – Varga J. – Kemény L. – Dobozy A. – Bata-Csorgo Z. Hairy Scalp, the Ideal Donor Site for Keratinocyte Transplantation. *Közlésre benyújtva*
- Trempus, Carol S. – Morris, R. J. – Bortner, C. D. – Cotsarelis, G. – Faircloth, R. S. – Reece, J. M. – Tennant, R. W. (2003): Enrichment for Living Murine Keratinocytes from the Hair Follicle Bulge with the Cell Surface Marker CD34. *Journal of Investigative Dermatology*. **120**, 501-511
- Zhu, Alan Jian – Haase, Lingo – Watt, Fiona M. (1999): Signaling Via Beta1 Integrins and Mitogen-Activated Protein Kinase Determines Human Epidermal Stem Cell Fate in Vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. **96**, 6728-6733



IZOMSZÖVET ÖSSEJTEK ÉS ALKALMAZÁSI LEHETŐSÉGEIK A TRANSZPLANTÁCIÓS TERÁPIÁBAN

Kobolák Julianna

okleveles agrármérnök, PhD-hallgató

Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, Állatbiológiai Intézet, Gödöllő – kobolak@abc.hu

Hosszú időn keresztül tartotta magát az a nézet, hogy az egyes szövetek kialakulása során a szövetet alkotó sejtek egyre veszítenek differenciálódási képességükből. Ha egy sejt egy bizonyos irányba differenciálódásnak indul, akkor nincs mód az átalakulásra, a sejt sorsa eldőlt. A szöveti összejtek felfedezése és fejlődési képességeik feltárása azonban megdöntötte ezt a tézist.

Ma úgy gondoljuk, hogy minden egyes szervben, szövetben megtalálhatók a szöveti összejtek, azok sejtjeinek pótlásában, regenerálásában vesznek részt. Például ha megvágjuk magunkat, akkor a bőrben található szöveti összejtek osztódása révén regenerálódik a bőrszövet, míg az izomszövetben lévő összejtek révén az izomszövet.

Az elmúlt néhány év kísérletei azt mutatták, hogy az egyes szövetekben található és izolálható összejtek a szervezetbe visszajuttatva különböző sejtekké, szövetekké képesek differenciálódni. Ez az ún. transzdifferenciáció. Így nemcsak a saját szövet növekedésében és regenerációjában vesznek részt, hanem számos, vagy minden szövetspecifikus összejt-izolátum tartalmazhat olyan pluripotens összejt populációt, amely a befogadó szövetek által kibocsátott növekedési faktorok és jelek hatására a megfelelő módon képes differenciálódni (transzdifferenciálódni).

A szöveti összejtek, vagy angol nevükön *stem sejtek* (stem cells – SC) olyan sejtek, amelyek osztódásuk során önmegújításra és differenciált utódsejtek létrehozására egyaránt képesek. Az embrionális fejlődés során szerveink a sejtek osztódása (proliferáció) és különböző feladatok ellátására való specializálódása (differenciáció) révén jönnek létre. A két folyamat egymással párhuzamosan, egész életünkben zajlik. Az összejtek esetében tehát olyan sejtekről van szó, amelyek egyszerre mindkét folyamatra képesek: mind önmegújulásra, azaz proliferációra, mind pedig differenciálódott utódsejtek létrehozására. Itt kell megjegyeznünk, hogy nem végdifferenciálódott sejteket kell az utódsejteken érteni (mint például egy májsejt), hanem ún. *prekurzor*sejteket. Ezek egy bizonyos fejlődési útvonal irányába elkötelezett sejtek, amelyekből azonban még több sejtípus is kialakulhat.

Az izomszövet eredetű (izomszövetből izolálható) szöveti összejtek olyan, önmegújulásra képes sejtpopulációt képviselnek, amelyek a születés utáni izomnövekedés és izomzatregenerációban részt vevő utódsejteket képesek létrehozni. Azonban – ahogy azt a tudományos közlemények egyre növekvő száma is bizonyítja –, az izomszövet több, egymástól jelentősen eltérő karakterisztikájú, így eltérő differenciálódási

képességgel rendelkező összejtpopulációt tartalmaz.

Az ún. miogén (izmot létrehozó) szatellita sejtek a kifejlett vázizom bazális laminája alatt találhatóak, az izomrost mellett. A szatellita sejtek normális esetben mitotikusan inaktívak, de a szünetelés utáni növekedés és izomregenerálódás igényének megfelelően osztódást indítanak el, és prekursor sejteket hoznak létre. Ezek a miogén prekursor sejtek a terminális differenciáció előtt többszöri sejtosztódáson mennek keresztül. Az inaktív szatellita sejtek száma a kifejlett izomban a regeneráció és a degeneráció többszöri ciklusa során viszonylag állandó, ami a szatellita sejtek önmegújító képességét sugallja. A szatellita sejteket régóta unipotens összejteknek tartják, amelyek csak a miogén sejtek előállítására képesek. Valóban, az inaktív szatellita sejtek a miogén sejtekre jellemző markereket, például *M-cadherin*, *Pax7* és *Myf5* fehérjéket termelnek. Mindazonáltal a legújabb vizsgálatok szerint a szatellita sejtek *in vitro* körülmények között képesek zsírsajttá (adipocita) és csontsejtté (osteocita) is fejlődni. Így továbbra sem egyértelmű, hogy a szatellita sejtek „igazi” összejteknek tekinthetők-e? (Egyébként az „izomösszejt” nevezéktana és a fogalmak meghatározása körül nincs egyetértés a kutatók között. Az egyéb sejtvonalakra alkalmazott összejt/átmeneti forma/differenciálódott sejt kifejezések és osztályok alkalmazhatók-e egyáltalán a vázizom esetében? Amennyiben igen, akkor az embrionális és magzati mioblaszt sejtek az átmeneti formákhoz tartoznak, míg a szatellita sejteket –vagy legalábbis egy részüket– tulajdonságaik alapján az összejtekhez kell sorolnunk.)

Az elképzelést, hogy kizárólag a szatellita sejtek vesznek részt a felnőtt izomsejtek regenerálódásában, az újabb kutatások megcáfolták. Ezek azt mutatják, hogy a felnőttkori izomzat multipotens összejtpopulációt is tartalmaz. A felnőtt izom összejtjei, szubletális mértékben besugárzott egérbe intravénásan bejuttatva képesek az egész vérképző

(hematopoetikus) rendszer újraépítésére. Mindemellett természetesen izomsejtekké is képesek differenciálódni.

Margaret A. Goodell és munkatársai (1996) voltak az elsők, akik bebizonyították, hogy több fajcsontvelői összejtje elkülöníthető fluoreszcens sejtválogatással (Fluorescence Activated Cell Sorting – FACS) az SP sejtektől (Side Population – SP). (Az ún. SP sejtpopuláció azon sejteket jelenti, amelyek Hoechst 33342 fluoreszcens festés során a festéket aktívan „kipumpálják” a sejtől, ennél fogva a FACS szelekció során negatív populációt képeznek.) Emanuela Gussoni és munkatársai kimutatták, hogy szubletális besugárzott egérbe történő intravénás beinjektálást követő regeneráció során a csontvelőből szelektált SP sejtek vázizom létrehozására képesek. Ugyanez a csoport azt is kimutatta, hogy a felnőtt vázizom is tartalmaz SP populációt, amely képes vérképző sejtek létrehozására, illetve besugárzott egérbe történő intravénás injektálását követően izomrostok regenerációjára is. Ez azt mutatja, hogy az izom SP frakciója izomeredetű vérképző sejteket (Muscle hematopoietic potential cells – MHPC) is tartalmaz. Számos kísérlet azt mutatta, hogy izomból származó tenyésztett sejt intravénásan besugárzott egérbe juttatva képes az egész vérképző szervrendszer újraépítésére, ami azt jelenti, hogy az MHPC sejtek tenyésztésben is megtartják a vérképző rendszert újraépítő képességüket. Ráadásul, *in vitro* vizsgálatok szerint az izom figyelemreméltóan nagy mennyiségben tartalmaz vérképző progenitorokat, amelyek többféle vérképző kolóniát hoznak létre (Asakura–Rudnicki, 2002). Ezek a vérképző progenitor sejtek magas számban találhatóak az izom SP populációban, mint ahogy a csontvelői SP sejtek között is.

Az a megfigyelés, hogy az izom SP sejtek intravénásan bejuttatva új izomrostok létrehozásában vesznek részt, és szatellita sejteket hozhatnak létre, felvetette annak a lehetőségét, hogy az MHPC sejtek valójában szatellita

sejtek. Azonban újabb adatok megcáfolták ezt a feltevést, és bebizonyították, hogy a szatellita sejtek és MHPC sejtek különböző sejtípusok, külön populációt alkotnak az izomszövetből izolálható őssejtek között (Asakura et al., 2002). Így például az izom SP sejtek a *Sca-1* vérképző őssejtmarkerre pozitívak, de szatellita sejtmarkerekre nem, továbbá in vitro körülmények között soha nem képesek izomsejteket létrehozni. Ezzel szemben a szatellita sejtek *Sca-1* fehérjére negatívak, és in vitro körülmények között nem képesek hematopoetikus kolóniákat létrehozni. Ráadásul ezek a populációk nem izolálhatók együtt FACS/Hoechst szelekcióval. A *Pax7*-hiányos mutáns egerek szatellita sejtjei teljesen hiányoznak, bár izmaikban találunk vérképző potenciállal rendelkező sejteket, és normális arányban tartalmaznak SP sejteket (Seale et al., 2000). Továbbá, csak a *CD45⁺* izomeredetű sejteknek van az egész vérképző rendszert újraépítő képességük (McKinney-Freeman et al., 2002). A szatellita sejtek nem expresszálnak *CD45* fehérjét, míg azok az izomsejtek, amelyek in vitro körülmények között vérképző kolóniákat képesek létrehozni, *CD45⁺* eredetűek. Mindezeket egybevéve, az adatok azt sugallják, hogy az MHPC sejtek képesek hematopoetikus sejtvonaldifferenciációra, és elkülönült populációt alkotnak a szatellita sejtektől.

Az ok, amiért az izmok ilyen figyelemre méltó vérképzőrendszeri rekonstrukciós képességgel rendelkező sejteket tartalmaznak, izgalmas kérdés. Az újabb kutatások rávilágítottak, hogy az izom és több más felnőtt szövet – mint például az agy, a szív, a tüdő, a lép, a vese és a vékonybél – *CD45⁺* vérképző progenitorokat tartalmaznak, amelyek nagy számban találhatóak az SP-frakcióban. Számos kísérlet zárta ki annak a lehetőségét, hogy ezek a szöveti eredetű, hematopoetikus differenciációs képességgel bíró sejtek kontamináció útján kerültek volna a preparátumba, és valójában csak perifériális hematopoetikus

sejtekről lenne szó (Asakura – Rudnicki, 2002). Ez azt jelenti, hogy a hematopoetikus fejlődési potenciállal rendelkező őssejtek normális „lakói” az egyes szöveteknek. Mindazonáltal a besugárzott egér vérképző rendszerének felnőtt szöveti sejtekből történő újjáépítéséről – a máj kivételével, melynek sejtjeiben valóban kimutattak hematopoetikus őssejteket (Hematopoietic Stem Cells – HSC) – még nem számoltak be.

Fontos kérdés, hogy vajon az izom SP sejtek között vannak-e sejtek, amelyek hozzájárulnak az izomregenerálódáshoz és szatellita sejtek létrejöttéhez. Tisztított, izomeredetű SP sejtek önmagukban képtelenek izomsejteké differenciálódni, jelezve, hogy az izom SP sejtek alapvető differenciációs útja nem miogén (Asakura et al., 2002). Azonban intravénás és intramuszkuláris transzplantációs kísérletek világosan megmutatták, hogy az izom SP sejtek között vannak olyanok, melyek képesek regenerálódott rostokká differenciálódni. Az újabb kutatások minden kétséget kizáróan megmutatták, hogy transzplantációt követően az izom SP sejtek szatellita sejteket képesek létrehozni regeneráló izomban (Asakura et al., 2002; Gussoni et al., 1999). Így az izom felnőtt őssejtjeinek megvan a kapacitásuk, hogy az izomregenerációban részt vegyenek, és szatellita sejteket hozzanak létre. Ezek az eredmények azt a hipotézist sugallják, hogy a felnőtt őssejtek a fejlődés és regeneráció során valójában a szatellita sejtek normál progenitorai.

A beültetett őssejtpopulációk az izomzati környezeti hatására miogén differenciáción mennek keresztül. Érdekes módon, az izom SP sejtek miogén specifikációja és az izomsejtek kialakulása (az egysejtmagvú mioblasztokat is beleértve) volt megfigyelhető in vitro körülmények között, elsődlegesen mioblasztokkal történő kokultivációt követően (Asakura et al., 2002). Így az, hogy az izom SP sejtek csak a miogén sejtek jelenlétében képesek miogén differenciálódásra,

azt sugallja, hogy a folyamatot egy izomsejt-közvetített induktív interakciót is magában foglaló mechanizmus szabályozza.

A *Pax7*-deficiens izomból teljes mértékben hiányoznak a miogén szatellita sejtek, ami a *Pax7*-nek a szatellita sejtek fejlődésében játszott nélkülözhetetlen szerepére utal (Seale et al., 2000). Érdekes módon a *Pax7*⁻ egérből nyert izom SP sejtek primer mioblasztokkal történő kokultiváció során többmagvú izomsejtet hoznak létre (Asakura et al., 2002). A *MyoD* – egy miogenezisért felelős fő szabályozó transzkripciós faktor is képes a *Pax7*⁻ izom SP sejteinek miogén differenciációjára. Sőt, mi több, vad-típusú izom SP sejtekből származó mioblasztokban a *Pax7* nem indukálható *MyoD* által. Ezek az adatok azt sugallják, hogy az izom SP sejtek terminális miogén differenciációja független a *Pax7*-től.

Az idegi őssejtek (Neural Stem Cells – NSC) hasonló módon képesek miogén differenciációra, akár mioblasztal történő kokultiváció során, akár intramuszkuláris injektálást követően. Ráadásul, a csontvelő-eredetű sejtek (Bone Marrow-Derived Cells – BMDC) képesek *in vivo* miogén differenciációra, ha intramuszkulárisan vagy intravénásan a szervezetbe juttatjuk őket (Gussoni et al., 1999). Tehát a miogén differenciáció, amely minden felnőtt őssejt számára lehetséges, a sejt-sejt közötti adhézió, különböző szekretált faktorok vagy az extracelluláris mátrix közvetítette szignálok hatására váltódik ki. Ennek tényleges mechanizmusa azonban még nem tisztázott. Az embrióban a vázizomzat a miotomból származik, ahol a differenciációt olyan, a szervezet által kiválasztott molekulák indítják be, mint a *Sonic hedgehog* (Shh) vagy a *Wnts*. Ráadásul úgy tűnik, hogy az embriogenezis alatt a *Notch* szignálok biztosítják az egyensúlyt az izom prekursor sejtek expansziója, valamint a terminális differenciáció között. Elképzelhető, hogy az embrionális izomfejlődés útjai hasonlóképpen vehetnek részt az izom SP sejtek specifikációjában.

A legfrissebb eredmények szerint különböző sejtpopulációk izolálhatók a nyugalomban lévő és az éppen regenerálódó izomból. Míg a nyugalomban lévő izomból izolált *CD45*⁻/*Sca1*⁺ sejtek *in vitro* alig mutatnak miogén differenciációt, addig a regenerálódó izomból tisztított *CD45*⁺/*Sca1*⁺ sejtpopuláció erőteljes miogén differenciációt mutat. Ráadásul a regenerálódó izomból mintegy tízszer több *CD45*⁺ sejt tisztítható, összehasonlítva a nyugalomban lévő szövetvel. Mindez azt jelenti, hogy a *CD45*⁺ sejteknek fiziológias szerepük van az izomzatban, nem „véletlenül kerültek oda”. Érdekes kérdés, hogy hogyan történik ezen sejtek aktivációja a sérülés/regeneráció során. *In vitro* kísérletek során lítium adagolása, vagy *Wnt* fehérjéket ektopikusan expresszáló sejtekkel történő kokultiváció egyaránt képes volt kiváltani a *Wnt* szignál útvonal aktivációját, és így a miogén differenciációt. Az *in vivo* szerep bizonyítására *Wnt* antagonistá fehérjét (*sFRP2*) injektáltak egerek regenerálódó lábizmába, kardiotoxin injekciót követően. A *Wnt* blokkolót nem kapott, de kardiotoxin injekción átesett csoporthoz képest a kezelt egyedek izmaiból csökkent mennyiségű aktivált *CD45*⁺/*Sca1*⁺ sejtet lehetett izolálni. Mindez egyértelmű bizonyítékot szolgáltat a *Wnt* útvonalon keresztül történő aktiváció szerepére.

A csontvelő és a csontvelői SP sejtek transzplantációja szintén vázizomrostok képződését eredményezte. Jóllehet, a csontvelői SP-származású szatellita sejtek nem mutatnak ki intravénás transzplantációt követően (Gussoni et al., 1999), újabb kísérletek azonban megmutatták, hogy a csontvelő-eredetű sejtek (BMDC) transzplantáció után képesek szatellita sejtekké differenciálódni. Az is bebizonyosodott, hogy az izomeredetű *CD45*⁺ SP alpopuláció képes miogén sejtekké válni elsődleges mioblasztokkal végzett kokultivációt követően. Amennyiben ezeket a sejteket intramuszkulárisan injektálták, azok beépültek a regenerálódó

izomrostokba (McKinney-Freeman et al., 2002). Mindent összevetve, úgy tűnik, hogy az izomszövetből izolált hematopoetikus sejtek (MHPC), a csontvelő-eredetű sejtek (BMDC) – és talán a hematopoetikus őssejtek (HSC) – hasonló biológiai tulajdonságokkal bírnak, míg a csontvelő-átültetési kísérletek azt sejtetik, hogy az MHPC sejtek valóban a csontvelőből származhatnak.

Egy fontos kérdés az MHPC sejtek vázizmon belüli elhelyezkedése. A *Sca-1*⁺ sejtek az izomrostok között helyezkednek el, különösen a vérerekhez kapcsolódva. A megfigyelések azt sugallják, hogy az MHPC sejtek, mint az erekhez kívülről szorosan kötődő, azzal kapcsolatban álló sejtek az izomban, a szatellita sejtek progenitor sejtjei vagy izom-prekursor sejtek.

Ezeket a sejteket izolálva és besugárzott egerekbe ültetve szintén kimutatták, hogy hematopoetikus rekonstrukciós aktivitással rendelkeznek (Howell et al., 2002). Ezek a potenciálisan hematopoetikus sejtek in vitro körülmények között jól felszaporíthatók, anélkül, hogy hematopoetikus újraépítő képességüket elvesztenék. A *CD45* és a *CD45*⁺ hematopoetikus potenciálú sejtek közötti rokonsági viszony még tisztázatlan.

Elképzelhető, hogy a miogén szatellita sejtek érendszerrel kapcsolatban levő progenitorjai, amelyeket embriókban mesoangioblastoknak neveznek, felnőtt izomszöveti őssejtként továbbra is szoros kapcsolatban maradnak az érendszerrel. Ráadásul bizonyítást nyert, hogy a vázizom kötőszöveti elemei tartalmaznak mezenhimális progenitor sejteket (Young et al., 2001).

Yvan Torrente és munkatársai (2001) izomeredetű őssejteknek (Muscle Derived Stem Cells – MDSC) nevezett őssejtpopulációt különítettek el újszülött izomból. Az MDSC sejtek mind a *Sca-1*, mind a *CD34*-et expresszálják, de a vázizom jellegzetes markerét, a *dezmin*-t nem. Ez a populáció olyan sejteket tartalmaz, melyekből hematopoetikus sejt kolóniák jöhetnek létre in vitro.

Amikor ezeket a sejteket artérián keresztül izomba injektálták, a sejtek először az endotéliumhoz kötődtek, majd a befogadó izomszövetbe vándoroltak, hogy ott részt vegyenek az izomrostok regenerációjában. Mások hasonló eljárással az izolált embrionális MDSC sejtek transzplantációt követő transzdzifferenciációjáról számoltak be: a transzplantált sejtek vázizomsejtekké, gliasejtekké és endoteliális sejtekké fejlődtek.

Hasonlóképpen, FACS eljárás alkalmazásával felnőtt izomból *CD34*⁺/*CD45* frakciót tartalmazó miogén-endotél progenitor sejteket izoláltak. A sejtek *Sca-1*, *c-met* és *BCRP1/ABCG2* pozitívak voltak, de endoteliális vagy miogén markerre (mint például *CD31*, *Flk-1*, *MyoD* vagy *Myf5*) negatívnak mutatkoztak. Kísérletekkel kimutatták, hogy e sejtek három sejtvonallá képesek differenciálódni: adipocitákká, endotél sejtekké, valamint miogén sejtekké. Ezek a sejtek a vázizom intersticiális üregeiben találhatóak, és izomba ültetve endoteliális sejtekké és izomrostokká differenciálódhatnak. Mivel ezek a sejtek SP sejtmarkereket (*BCP1/ABCG2*) és *Sca-1*-et expresszálnak, az SP sejtektől Hoechst-festéssel és FACS analízissel különböztethetők meg. Érdekes módon, felnőtt vázizomból izolált *Sca-1*⁺/*CD45* SP sejtek képesek adipociták, osteociták és miociták létrehozására. Yuehua Jiang és munkatársai (2002) nemrég adtak hírt mezenhimális felnőtt progenitor sejteknek (Mesenchymal Adult Progenitor Cell – MAPC) nevezett pluripotens őssejtek felnőtt csontvelőből való elkülönítéséről. A MAPC sejtek számos markert hordoznak, azonban nem expresszálnak hematopoetikus vagy endoteliális markert, mint például a *CD45* vagy *CD31*. A MAPC sejtek sokféle sejtje képesek differenciálódni in vitro és in vivo. Ugyanez a csoport azonosított felnőtt izomban MAPC-szerű sejteket, melyek endotéliummá, idegsejtekké, gliasejtekké és májsejtekké képesek differenciálódni (Jiang et al., 2002). Marina Romero-Ramos és mun-

katársai (2002) érdekes, pluripotens őssejtnak (Pluripotent Stem Cell – PPSC) nevezett őssejtszerű sejteket különítettek el felnőtt vázizomból, és kimutatták, hogy a sejtek vimentinre pozitívak, de *CD45*-re negatívak voltak, és neurális őssejt-marker nestin-pozitív szigeteket alkotnak. Ezek a PPSC-eredetű „szigetek” idegsejteké, asztrocitákká és oligodendrocitákká képesek fejlődni.

Így a szatellitasejteken és hematopoetikus képességgel rendelkező *CD45*⁺ sejteken kívül az izom számos más őssejtpopulációja képes részt venni az izomregeneráció folyamatában, bár az e sejtpopulációk közötti rokonsági viszony még tisztázásra vár. Az izom újabb őssejtpopulációi – mint például a *CD45*⁺ MHPC sejtek és a *CD45* mezenhimális típusú sejtek – más felnőtt szövetben is gyakran előfordulnak (Asakura – Rudnicki, 2002; Jiang et al., 2002). Ennélfogva megengedhetjük azt a hipotézist, hogy minden felnőtt szövetnek van egy általános típusú őssejtje, mint például hematopoetikus és a mezenhimális szerű őssejtek, valamint progenitor-típusú őssejtek, mint például a vázizom szatellita sejtjei és a központi idegrendszer idegi őssejtjei (NSC). Az ilyen pluripotens őssejtek a progenitor típusú őssejtekkel együtt felelősek a szövetgyógyulásért.

Számos szívbetegség esetében a gyógyszeres terápia nem sokat segít, és az egyedüli javulást a szervátültetés jelentheti. A donorok elégtelen száma azonban szükségessé teszi a kutatást új módszerek után. Bár szívizomból eddig nem sikerült őssejteket elkülöníteni, máshonnan származó őssejtek szívbe történő beültetése ígéretesnek tűnik. Az MDSC sejtek szívbe injektálva képesek szívizomsejtté differenciálódni. Vonzó őssejtforrássá válhatnak: amellet, hogy multipotensek, in vitro könnyen tenyészthetők, ellenállnak az ischémiának, és a beteg saját izomzatából könnyen elkülöníthetők. Számos sikeres állatkísérlet után, 2001-ben emberben is sikerrel alkalmazták ezt a megoldást. Phi-

lippe Menasché és munkatársai (2001) egy ischémiás szívbetegségben szenvedő 72 éves beteg alsó végtagjából vettek izombiopsziát, amelyből kéthetes kultiváció után izoláltak őssejteket. A betegen végzett *bypass* műtét során 800·10⁶ sejtet (melyek 65%-a mioblast volt) juttattak a bal kamra megvastagodott hátsó falába. Öt hónappal a műtét után elvégzett PET vizsgálat metabolikus aktivitást mutatott a korábban elhalt területen, s az ultrahangos képeken aktív összehúzóerők voltak láthatók.

Bár a miogén sejt típusok jobb donorsejtnak bizonyulnak, mint például a dermális fibroblasztok (ez utóbbiak nem húzódnak össze), a nagy kérdés annak meghatározása, hogy sejtátültetés céljára mely sejt típus felel meg a leginkább. (Meg kell jegyezni, hogy a befogadó szövetek (izmok) is nagy szórást mutatnak azt illetően, hogy a bejuttatott sejtek mennyire képesek integrálódni a szövetbe. Az egyes izmok befogadóképessége között ezerszeres (!) különbséget tapasztaltak a kísérletek során.)

A miogén sejtek közül legelőször magzati szívizomsejtekkel értek el jó eredményeket. Ezek mind in vitro, mind in vivo körülmények között termelnek kontraktilis fehérjéket, amik biztosítják az állandó pulzálást, valamint *gap junction* fehérjéket, amik lehetővé teszik a beültetett sejteknek a szívizomhoz való kapcsolódását és szinkron működését. Állatkísérletekben jelentősen javították a szív működést. Azonban a humán embrionális őssejtekhez hasonlóan a magzati szívizomsejtek használatának is komoly etikai akadálya van (immortalizált sejt vonalak pedig nem használhatók a kontrollálhatatlan növekedés miatt). Klinikai szempontból a beteg saját szövetéből származó sejtek a legelfogadhatóbbak. Ilyen sejtek a vázizom-eredetű szatellita sejtek és mioblasztok, a csontvelő-eredetű sejtek, a bal pitvarból izolált szívizomsejtek, simaizomsejtek a *ductus deferens*-ből, érfalból, bélből vagy húgyhólyagból (bár ezen

utóbbiak izolálása meglehetősen invazív beavatkozás). A felnőtt szívizomsejtek (a magzattal ellentétben) ugyanakkor kifejezett dedifferenciáción mennek keresztül az in vitro kultiváció során. A klinikai sejtranszplantációs kutatások ezért elsősorban két sejttípusra: az izomeredetű sejtekre és csontvelő-eredetű sejtekre irányulnak.

Egy másik kísérlet eredményei ugyanakkor arra hívják fel a figyelmet, hogy nem csak sejtek közvetlenül a gyógyítandó szövetbe való bejuttatására gondolhatunk. Izomeredetű őssejteket (MDSC) sejtmentes *submucosa matrix*ba ültettek, amit a sejtek hamarosan benépesítettek, és az in vitro rendszerben izomkontrakció volt mérhető.

Végigkövetve az izomszövetben található számos őssejtpopulációt és az eddig velük végzett kísérletek eredményeit, világosan látszik, hogy sok még a tennivaló. Tisztázásra vár, hogy a különböző protokollokkal, különböző eredményességgel izolált populációk – amelyeket szinte minden kutatócsoport más és más

névvel illetett – valójában milyen származási kapcsolatban is állnak egymással. Szükséges, hogy világosan lássuk, mikor, milyen stádiumban, milyen eljárással és milyen hatékonysággal izolálhatók őssejtek a vázizomzatból. Ahogy az előzetes eredmények sejtetik, arra is szükség van, hogy a különböző izmok eltérő regenerációs kapacitását is megvizsgáljuk, és ennek figyelembevételével határozzuk meg, mely izmok, izomtípusok szolgálhatnak megfelelő őssejtforrással. Mindezeket egybevetve, hosszú út vár még ránk a terápiás céllal történő izomszövet-eredetű őssejtek klinikai alkalmazásáig.

A közeljövőben az újabb őssejtek további felnőtt szövetekből (például szívizom) való elkülönítése elősegítheti a regeneráció mechanizmusának megértését, és segítségünkre lehet a őssejtátültetés új módszereinek terápiás célból történő alkalmazásában.

Kulcsszavak: *izomszövet őssejt, szatellita sejt, transzplantációs terápia*

IRODALOMJEGYZÉK

Asakura, Atsushi – Rudnicki, Michael A. (2002): Side Population Cells from Diverse Adult Tissues Are Capable of in Vitro Hematopoietic Differentiation. *Experimental Hematology*. **30**, 1339-1345

Asakura, Atsushi – Seale, P. – Girgis-Gabardo, A. – Rudnicki, M. A. (2002): Myogenic Specification of Side Population Cells in Skeletal Muscle. *Journal of Cell Biology*. **159**, 123-134

Goodell, Margaret A. – Brose, K. – Paradis, G. – Conner, A. S. – Mulligan, R. C. (1996): Isolation and Functional Properties of Murine Hematopoietic Stem Cells that Are Replicating in Vivo. *Journal of Experimental Medicine*. **183**, 1797-1806

Gussoni, Emanuela – Soneoka, Y. – Strickland, C. D. – Buzney, E. A. – Khan, M. K. – Flint, A. F. – Kunkel, L. M. – Mulligan, R. C. (1999): Dystrophin Expression in the Mdx Mouse Restored by Stem Cell Transplantation. *Nature*. **401**, 390-394

Howell, Jonathan C. – Yoder, Merv C. – Srour, Edward F. (2002): Hematopoietic Potential of Murine Skeletal Muscle-Derived CD45(-)Sca-1(+)-Kit(-) Cells. *Exp. Hematol.* **30**, 915-924

Jiang, Yuehua – Vaessen, B. – Lenvik, T. – Blackstad, M. – Reyes, M. – Verfaillie, C. M. (2002): Multipotent

Progenitor Cells Can Be Isolated from Postnatal Murine Bone Marrow, Muscle, and Brain. *Experimental Hematology*. **30**, 896-904

McKinney-Freeman, Shannon L. – Kathyjo, J. A. – Fernando D. C. – Ferrari, G. – Fulvio, M. – Goodell, M. A. (2002): Muscle-Derived Hematopoietic Stem Cells Are Hematopoietic in Origin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. **99**, 1341-1346

Menasché, Philippe – Hagège, A. A. – Scorsin, M. – Pouzet, B. – Desnos, M. – Duboc, D. – Schwartz, K. – Vilquin, J. T. – Marolleau J. P. (2001): Myoblast Transplantation for Heart Failure. *The Lancet*. **357**, 279-280

Polesskaya, Anna – Seale, Patrick – Rudnicki, Michael A. (2003) Wnt Signaling Induces the Myogenic Specification of Resident CD45+ Adult Stem Cells during Muscle Regeneration. *Cell*. **113**, 841-852

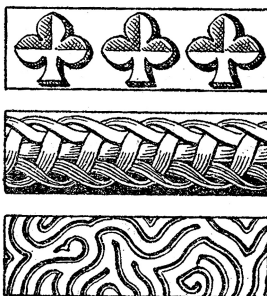
Romero-Ramos, Marina – Vourc'h, P. – Young, H. E. – Lucas, P. A. – Wu, Y. – Chivatakam, O. – Zaman, R. – Dunkelman, N. – El-Kalay, M. A. – Chesselet, M. F. (2002): Neuronal Differentiation of Stem Cells Isolated from Adult Muscle. *Journal of Neuroscience Research*. **69**, 894-907

Seale, Patrick – Sabourin, L. A. – Girgis-Gabardo, A. – Mansouri, A. – Gruss, P. – Rudnicki, M. A. (2000): Pax7 Is Required For The Specification Of Miogénic Satellite Cells. *Cell* **102**, 777-786

Torrente, Yvan – Tremblay, J. P. – Pisati, F. – Belicchi, M. – Rossi, B. – Sironi, M. – Fortunato, F. – El Fahime, M. – D'Angelo, M. G. – Caron, N. J. – Constantin, G. – Paulin, D. – Scarlato, G. – Bresolin, N. (2001): Intraarterial Injection of Muscle-Derived CD34(+)Sca-

1(+) Stem Cells Restores Dystrophin in Mdx Mice. *European Journal of Cell Biology*. **152**, 335-348

Young, Henry E. – Steele, T. A. – Bray, R. A. – Hudson, J. – Floyd, J. A. – Hawkins, K. – Thomas, K. – Austin, T. – Edwards, C. – Cuzzourt, J. – Duenzl, M. – Lucas, P. A. – Black, A. C. Jr. (2001): Human Reserve Pluripotent Mesenchymal Stem Cells Are Present in the Connective Tissues of Skeletal Muscle and Demis Derived from Fetal, Adult, and Geriatric Donors. *The Anatomical Record*. **264**, 1, 51-62



AZ ŐSSEJTEK, MINT A GÉNTERÁPIA FEGYVERHORDOZÓI

Német Katalin

PhD, Országos Gyógyintézeti Központ Haematológiai és Immunológiai Intézet
nemet@biomembrane.hu

A korábbi fejezetekben többször is olvashattak az *őssejtek* nagyfokú szaporodóképességéről és sokirányú *differenciálódásáról*. Ezek a sejtek megfelelő átalakulás vagy sejtfúzió után képesek a szervezet valószínűleg minden sejtjét pótolni. E fontos sajátjukból következik kiemelt jelentőségük a jövőben alkalmazásra kerülő gyógyítási módszerek között. Ilyen eljárásnak tekinthető a *génterápia* is.

Génterápiának nevezzük azokat az eljárásokat, melyek során a beteg sejtjeinek genetikai állományán végrehajtott módosítás eredményezi a gyógyulást, és ezért alapjában különbözik minden klasszikusan alkalmazott gyógyító eljárástól. A jelenlegi humán génterápiás kísérletek mindegyike testi sejteket céloz. Az emberi ivarsejteken végrehajtható genetikai változtatások számos etikai kérdést vetnek fel, így végzésük a legtöbb országban nem engedélyezett. A fejlesztés alatt álló, testi sejteken végrehajtandó eljárások többsége a betegből kivett sejteket a szervezeten kívül, steril körülmények között kezeli, majd visszajuttatja a betegbe (*ex vivo génterápia*). A másik fő eljárástípus esetében a beteg megfelelő szövetébe (például a szívbe, agyba) *in vivo* juttatják be a helyileg ható, géntartalmú kezelőanyagot.

A kívánt eredmény eléréséhez a kiválasztott célsejtbe kódoló DNS-szakaszokat (génet) kell bejuttatni, amelyek ott fejtik ki hatásukat. A hatás többféle lehet: például a bevitt génről termelődik egy olyan fehérje,

amely a betegből korábban kórosan hiányzott, vagy máskor a termelt fehérje megöli a hibás sejteket. Megint más esetben, a bevitt génről átíródó termék immunaktíváló hatású, amely segíti a szervezetet a betegség leküzdésében (Strach, 1999).

A terápiás génmódosítás eszköze a kitűzött céltól függ. Számos gyógyító eljárásnál egy élettani folyamat átmeneti létrejötte eredményezi a kívánt hatást, de annak tartós fennállása már káros lehet a szervezetre nézve. Ilyen például az immunstimulálás daganatos sejtek elpusztítására, vagy sejtölő hatású citokintermelés beindítása génbevittel. Minthogy a gyógyítást segítő anyag termelődésére csak átmenetileg van szükség, a génbejuttatás eszközei lehetnek például: liposzómába zárt DNS, finom eloszlású fémszemcsékhez kötött gén (gene gun), illetve módosított (*rekombináns*) adenovírus-sal megvalósítható génbevétel, amelyek mind átmeneti génbevételt eredményeznek (Robbins, 1997). Ezeknél az eljárásoknál a bejuttatott DNS-szakasz nem, vagy csak elenyésző mértékben épül be a beteg sejtjeinek kromoszómájába. Ugyanakkor ezek a technikák igen nagyméretű DNS-szakaszok bevitelét is lehetővé teszik. Külön érdemes kiemelni a módosított adenovírusoknak azt az előnyös tulajdonságát, hogy nyugvó, nemosztódó sejteket is képesek megfertőzni, és bejuttatni a terápiás gént. Ez a tulajdonság nagy előnyt jelent például az idegsejtek gyógyításában (Strach, 1999).

A fent felsoroltakkal ellentétben, számos más betegségnél, ahol a hiányzó fehérje termelésének kiváltása (például hemofiliában vagy veleszületett immunhiányos betegségekben) a terápiás cél, a gén kromoszómába történő beépülése szükséges (Williams – Smith, 2000). Ehhez választható eszközök lehetnek a különböző módosított vírusok, így az adeno-asszociált vírusok és *retrovírusok*. Ez utóbbiak terápiás célú átalakításáról a későbbiekben még részletesen is szólnunk. Olyan kórképeknél, amelyek gyógyítása tartós génmódosítást igényel, a célsejt megválasztása is kritikus: sokáig a szervezetben maradó, esetleg hosszú életű sejtet érdemes génezni. Jelenlegi ismereteink szerint e kritériumoknak legjobban megfelelő célsejtek szervezetünkben az őssejtek lehetnek. Nem meglepő tehát, hogy a génterápiás kutatások kiemelt jelöltjei ezek a sejtek.

Meg kell vallani, hogy egyelőre a sokat ígérő elméletek gyakorlati megvalósítása mélyen a várakozások alatt marad, még napjainkban is csak kísérleti szakaszban tart. Bár 2003 nyarán közel négyszáz klinikai vizsgálat van folyamatban vagy zárult le, rutinszerűen alkalmazott módszerként egyelőre egyik sem használható (lásd Gene Therapy Trials www.wiley.co.uk/wileychi/genmed/clinical/). A vizsgálatok több mint a fele rákban szenvedő betegek génterápiás gyógyítását célozza, míg a korábbi célkitűzések elsősorban örökletes betegségek korrigálására irányultak. A világ fejlett országaiban szinte mindenhol megindult kutatásokat, a klinikai kipróbálások igen magas költségei miatt, multinacionális gyógyszergyárak és biotechnológiai cégek finanszírozzák, amelyek a nagyszámú beteg várható kezelésének reményében szívesebben áldoznak a fejlesztésre.

A génterápiás kísérletek első szakasza laboratóriumi körülmények között könnyen tenyészthető sejtvonalakon, majd betegekből nyerhető sejteken, steril tápedényekben történik, ezt nevezzük *in vitro* szakasznak.

Ezután a sikeres eljárást kisállat- (többnyire eger) modelleken próbálják ki (*in vivo*, vagy más néven *pre-klinikai* vizsgálat), majd a módszer klinikai kipróbálásának szakaszai következhetnek.

A következő oldalakon a jelenleg leghatékonyabbnak gondolt, őssejteket célzó és remélhetőleg tartós gyógyulást kínáló génterápiás erőfeszítések eszközeiről, megvalósítási módszereiről, eredményeiről próbálunk rövid képet adni. A megoldandó feladatokat két kérdéskörben tárgyaljuk: az egyik a *génbevétel eszközeinek megválasztása*, míg a másik a *célsejt (őssejt) előkészítése és fenntartása* a génbeviteli folyamat során. Ezek után röviden ismertetjük néhány *emberi gyógyításra már felhasznált, ilyen eszközzel végzett génterápiás vizsgálat eredményeit*.

Őssejteken alkalmazható génbeviteli eljárások – a terápiás gén beépülése a kromoszómába

Minthogy a sejtek DNS-állományához csak több védőhártya és DNS-t lebontó mechanizmus „lektüzdése” után lehet hozzáférni, nem elhanyagolható problémát jelent a gyógyító DNS-szakasz bejuttatása a célsejtbe, majd a „vendég”-gén beépítése a gazdasejt kromoszómájába. A probléma megoldásához legalkalmasabbnak tűnő eszközök retrovírusok módosításával jöttek létre.

A retrovírusok örökítő anyaga RNS, amelyről szaporodásuk egyik fázisában a vírusban előforduló enzim, a reverz transzkriptáz segítségével a megtámadott sejtben DNS szintetizálódik. A vírus genom ebben a szakaszban épül be a megfertőzött sejt kromoszómájába, azaz a DNS-láncba. A beépülés eredményeként a továbbiakban a gazdasejt fehérjei mellett átíródnak a vírus által bevitt gének kódolt, így a gyógyulást eredményező fehérjék is. A természetben előforduló retrovírusok közé tartoznak igen súlyos betegségek okozói, például a rákos megbetegedések egy részéért felelős *onkoretrovírusok* és a

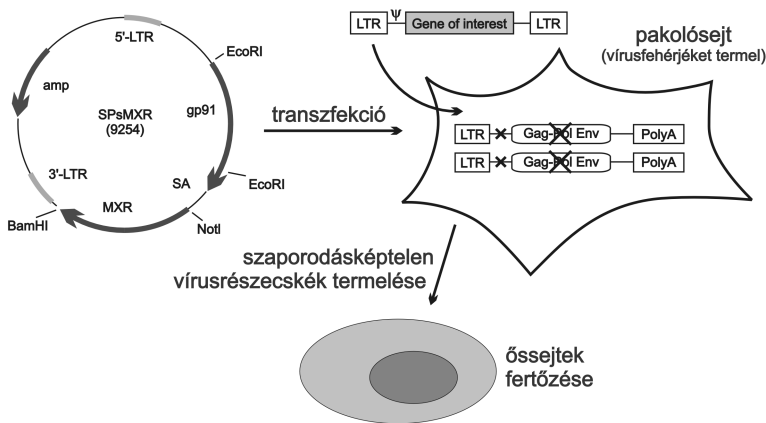
szerzett immunhiányos betegséget (AIDS) okozó *lentivírusok*. Az előbbiek csak akkor képesek beépülni a megfertőzött sejt kromoszómájába, amikor a gazdasejt magja éppen osztódik, míg az utóbbiak a nyugvó sejtek magjába is beépülnek.

A vírusok molekuláris felépítésének megismerése lehetővé tette géntevitel céljára történő laboratóriumi átalakításukat. Számos virológus kutatócsoport olyan „művírusokat” hozott létre, amelyek lehetőséget kínálnak arra, hogy mint egy páncélautóba, a vírusokba ültessük a beteg sejtjeibe bejuttatni kívánt gént, így a páncél védelmet jelentsen a sejt többféle védőapparátusával szemben. Természetesen kívánalom, hogy a „jármű” a szállítás elvégzése után ne fejtse ki káros hatást, és saját „anyagait” minél kevésbé szennyezzék a sejtet (Miller – Garcia, 1991).

Az onkovírusok esetében (ilyen például az egérleukémiát okozó vírus, a MoMuL) a vírus átalakítását oly módon sikerült megvalósítani, hogy a vírus saját örökítő állományának nagy részét DNS-technikák segítségével eltávolították, ennek helyére mód nyílik az előre megtervezett DNS-szakaszok beillesztésére. A bejuttatás ún. *vektor* segítségével történik (1. ábra).

A kiiktatott vírus-gén szakaszok között van a vírus szaporodásáért felelős rész is, amelynek hiányában a „páncélautó” már nem képes saját magát reprodukálni. A vírusrészecske keletkezéséhez szükséges más, nélkülözhetetlen fehérjéket kódoló génszakaszokat külön-külön „gyártó”-egységekkel (külön vektorokról) temeltetik, hogy a vírus, még valamilyen technikai hiba esetében se tudjon újra összeállni, és vad-típusú, betegséget okozó mikroorganizmussá alakulni.

A vírusrészecskék gyártása egy erre a célra kialakított segédsejtben, az úgynevezett pakolósejtben történik. Mint a neve is mutatja, ez a sejt termeli egyebek közt a vírus csomagolására alkalmas vírus burokfehérjét, valamint a korábban már emlegetett reverz transzkriptáz enzimet. A vírustermelő sejteket laboratóriumi vagy akár üzemi körülmények között is jól lehet tenyészteni, szaporítani. Az általuk előállított fehérjék azonban csak abban az esetben állnak össze vírusrészecskévé, ha a pakolósejtbe juttatunk egy, ún. „pakoló szekvenciát” is tartalmazó DNS-darabkát (vektort). Ehhez a DNS-szakaszhoz kapcsolódnak a termelt vírusfehérjék, *fertőzni képes, de szaporodásképtelen* vírusrészecskét alkotva. A pakoló szekvencia mellett a vek-



1. ábra • Módosított retrovírusok előállítása génterápia céljára

tor arra is lehetőséget kínál, hogy egy, kettő vagy esetleg három, a vírussal bejuttatni kívánt gént „ültessünk” a páncélaútóba. A pakolósejt ezután a tenyésztőmédiumba választja ki a vírusrészecskéket, ahonnan azok összegyűjthetők és a gyógyítandó sejtek fertőzésére használhatók. Léteznek olyan pakolósejt-típusok, amelyek a beléjük juttatott vektorokat stabilan megtartják, és hosszú hónapokon keresztül hasonló tulajdonsággal rendelkező, vírustartalmú tápladatok előállítására alkalmasak. Nagyszámú ilyen termelő sejtből, aprólékos munkával ki lehet válogatni (*sejtklónozás*), majd folyékony nitrogén alatt tartósan tárolni lehet a legjobb vírusűrűség előállítására alkalmas pakolósejteket. A megfelelő tulajdonságú, sok oldalról ellenőrzött pakolósejteket üzemi méretekben, bioreaktorokban tenyésztik, nagytisztaságú sejtenyésztő médiumban, így a betegből kivett őssejtek fertőzésére közvetlenül alkalmasak. A vírus-„készítmény” igen érzékeny és rövid életidejű, néhány óra alatt szobahőmérsékleten a módosított vírusok többsége inaktívvá válik, -80 °C-on azonban hónapokig tárolhatók.

A lentivírusok molekuláris biológiai átalakítása és a belőlük létrehozott, módosított vírusok termeltetése elvileg hasonlóan történik. Ugyanakkor ezekhez jelenleg nem állnak rendelkezésre megfelelő pakolósejtek, ezért az eljárás kevésbé biztonságos, és jól reprodukálható. Azon előnyös tulajdonságuk azonban, hogy a lentivírusok genomja a nyugvó sejtek magjába is hatékonyan beépül, génbeviteli hasznosításuknak komoly jövőt jósol. A vad-típusú vírus véletlenszerű keletkezésének minél biztosabb kizárása fogja megnyitni az utat a módosított lentivírusok klinikai kipróbálása előtt.

A retrovírusok terápiás alkalmazásánál komoly megfontolást igényel az a tény, hogy genomjuk és így az általuk bejuttatott terápiás gén kromoszómába történő beépülése is véletlenszerű. Így a „vendég” gén

átíródása nem megfelelően szabályozott, és kedvezőtlen helyre történt beépülése esetén tönkretelheti más, egy szomszédos gén szabályozott működését is. A kérdéskör taglalására egy klinikai eredmény ismertetésekor még röviden visszatérünk (Baum – Dullmann, 2003).

Az őssejtek kinyerése, előkészítése és fenntartása a génbeviteli folyamat során. Az őssejtek visszajuttatása a betegbe

A jelenleg folyamatban levő kutatások túlnyomó többsége az ún. *vérbépző, hematopoetikus őssejteket* választja célsejtnek. A magas hatásfokú génbevétel eléréséhez fontos a célsejt minél tisztább kinyerése, ezért jelenleg a legtöbb génterápiás centrumban egy felületi antigén, a CD34 segítségével történik a célsejtek tisztítása. Ez a fehérje, amelynek funkcióját nem ismerjük, az ellene előállított antitest segítségével azonosítható. A génterápia szempontjából fontos tudnunk, hogy nyugvó állapotban ezek a sejtek igen ritkán osztódnak, és nagyobb számban csak a köldökzsinórvérben vagy a csontvelőben találhatók (ezekben a szövetekben előforduló sejtek kb. 1 %-a CD34 pozitív).

Ezek az ismeretek vezettek a CD34⁺ sejtek kinyerési módszerének bevezetéséhez, amelynek elve röviden a következő: a gyógyítandó beteget néhány napon keresztül olyan, a vesejtek által termelt *citokin* (granulocita kolónia stimuláló hormon – G-CSF) kezelik, amelynek hatására a csontvelőből és más szöveti raktárakból nagy számban kerülnek a vérkeringésbe CD34⁺ sejtek. A kezelés végén a fehérvesejteket *aferezissel* (leukaferézis) összegyűjtik. A leukaferézis során a beteg vérért zárt rendszeren keresztül áramoltatják, és különválasztják az előre megválasztott típusú fehérvesejteket. A módszer funkcióképes, ép állapotban őrzi meg a kívánt sejteket, míg a többi véralkotó elemet azonnal visszajuttatják a betegnek. Így több milliárd fehérvesejt kinyerésére

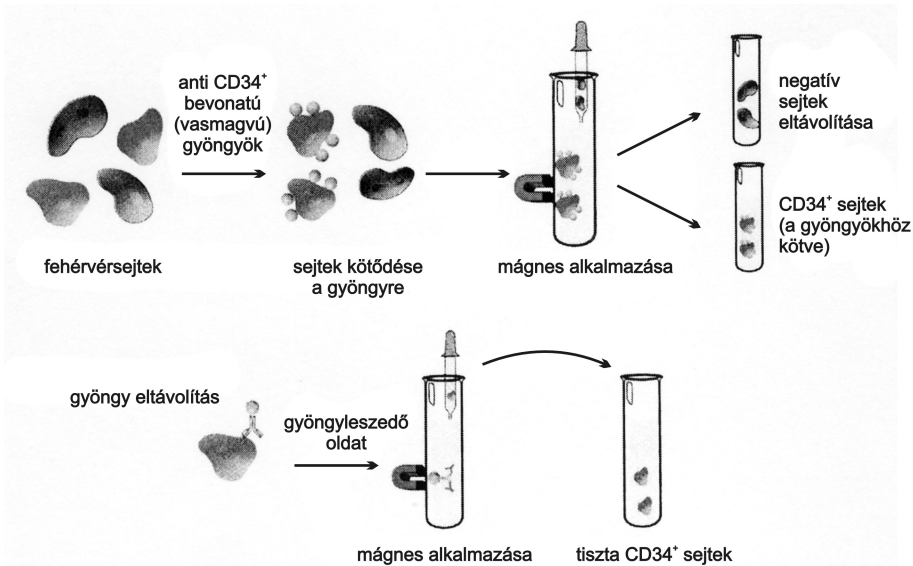
kínálkozik lehetőség, amelyekből egy CD34-szepearátor berendezés képes elkülöníteni a CD34⁺ sejteket. Az elkülönítés elvét a 2. ábra szemlélteti (Dynal Biotech).

Az ábrán látható, hogy a fehérvérsejteket tartalmazó edénybe (az ábrán a klinikumban használt vérvételi zsákot kémcső helyettesíti) CD34 antitesttel bevont, fémmagot tartalmazó apró gyöngyöket juttatnak. A gyöngyök megkötik a CD34-et kifejező sejteket, majd a fehérvérsejt tartalmú készítményt mágneses térbe helyezik, ahol a gyöngyök és a hozzájuk kötött sejtek a mágneshez tapadnak (persze a cső, illetve zsák belsejében maradván). Kiszívják a nem-kötődött sejteket az edényből, majd mosások után a tiszta CD34⁺ sejtek összegyűjthetők és gyógyászati célra alkalmazhatóak.

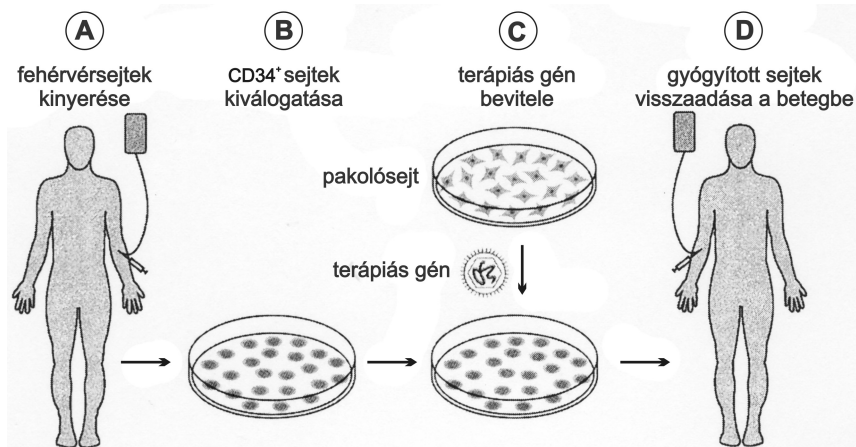
Retrovírussal történő génterápia végzéséhez az így kinyert sejteket 24-48 órán keresztül citokineket tartalmazó tápoldatban tartják, hogy a sejtek a nyugalmi állapotot elhagyják és osztódni kezdenek (Lotem, – Sachs, 2002). Számos munka foglalkozik napjainkban is az optimális

citokin-elegy megválasztásával. Az őssejtek transzplantáció utáni megtapadása szempontjából igazán kívánatos az eredeti sejtelak változatlan megtartása lenne. Mivel azonban az onkoretrovírusok, amelyeket a gének bejuttatására leggyakrabban használnak, csak osztódó sejtek megfertőzésére képesek, szükség van a kismértékű, lassú osztódás elérésére, miközben a differenciálódás megakadályozása is kívánatos. A módszerben jelenleg általánosan használt citokinek egy része a sejtek életben maradásához nélkülözhetetlen (stem cell factor – SCF), más része az osztódást stimulálja (IL-3, IL-6), míg az Flt3-ligand a differenciálódás mérséklését szolgálja. A CD34⁺ sejtek fenntartása és előkezelése egyszerűbb lentivírus-alapú génbevitel esetében, minthogy a lentivírusok nyugvó sejteket is fertőznek.

A citokin-eleggyel előkezelt, CD34⁺ sejteket tartalmazó műanyag zsákokba bejuttatják a korábban leírt módon előállított és tesztelt, módosított retrovírusokat, amelyek hordozzák a terápiás célú génszakaszt. Adalékanyagok jelenlétében, amelyek a vírusfertőzés



2. ábra • A CD34⁺ sejtek szeparálásának módszere



3. ábra • Csontvelőátültetést kiegészítő génterápiás kezelés folyamata

elősegítését szolgálják, a sejt- és vírustartalmú keveréket néhány órán keresztül együtt tenyészítjük, majd a művelet kétszer-háromszor friss vírussal megismétlik. A fertőzés végén a vírusokat eltávolítják a sejtek környezetéből, és a sejteket haladéktalanul visszajuttatják a betegbe. Ez utóbbi lépés megegyezik a csontvelő/össejt átültetés menetével. A csontvelőátültetéshez hasonlóan a sejtek a csontvelőbe vándorolnak, és ott megtapadnak. Így néhány hét elteltével a bevitt, génmódosított sejtekből indulhat meg a vérképzés.

A teljes *ex vivo* génterápiás folyamatát a 3. ábra foglalja össze.

Összefoglalva, a folyamat lényege a következő lépésekből áll: a betegből, megfelelő előkészítés után, viszonylag nagyszámú össejtet tartalmazó fehérvérsejtet nyernek (A), amelyekből egy erre a célra szolgáló berendezéssel kiválasztják a CD34⁺ sejteket (B). A CD34⁺ sejteket, műanyag zsákokban nevelve, módosított retrovírus-fertőzésnek vetik alá (C). A vírusok eltávolítása után a sejteket, az autológ csontvelő transzplantációs folyamatnak megfelelően, visszajuttatják a betegek vérkeringésébe (D). A bejuttatott sejtek egy része a csontvelőben megtapadva új, egészséges vérképzést generál.

Sok vita és kutatás tárgyát képezi az a kérdés, vajon a CD34⁺ sejtek jelentik-e az optimális, össejtként használható génterápiás sejtet, valamint, hogy a leírt hosszadalmas folyamat végén visszaadva a betegnek, ezek a sejtek képesek-e megtapadni a csontvelőben. Felmerül a kérdés, hogy a CD34⁺ sejteket tekinthetjük-e hematopoetikus össejteknek, hiszen az igazán ősi, azaz minden irányban differenciálódni képes sejteken valószínűleg nincs rajta a CD34 antigén. Ennek hiányában azonban a sejteket még nehezebb jellemezni, elválasztásuk más vérszársejtektől pedig egyelőre szinte lehetetlen.

A génterápiás eljárások ma ismert módszereihez nélkülözhetetlennek tűnik a célsejtek dúsítása, hiszen az új, terápiás gént kifejező sejtek a beadás után a beteg sejtjeivel elvegyülve erősen meghígulnak. A megoldást az kínálhatja, ha a gyógyító gén mellé sikerül egy olyan segédgént is bevinni, amely szaporodási előnyt vagy szelekciós lehetőséget biztosít a meggyógyított sejtek számára. Ezért számos laboratóriumban, köztük saját intézetünkben is, ilyen módszerek kidolgozása a cél.

Az arány javításának egyik módszere lehet, ha a sejteket ellenállóvá tesszük valami-

lyen toxikus szerrel, például citosztatikummal szemben. A leírt génbevitel, majd őssejt-traszplantáció után, a beteget a megfelelő gyógyszeres kezelésnek alávetve, a génkezelt sejtek aránya ebben az esetben jelentősen megnövelhető. Ilyen lehetőséget nyújt az ún. multidrog rezisztencia fehérjék kifejeztetése a célsejtekben. Ebben az esetben a módosított vírussal nemcsak a terápiás gént visszük be a CD34⁺ sejtekbe, hanem egy citosztatikum–rezisztenciát eredményező fehérjét kódoló gént is. Ha az első terápiás eljárás befejeződése után az eredmények nem elég kedvezőek, vagy hónapokkal, illetve évekkel később a gyógyító hatás fokozása lenne kívánatos, a beteget olyan típusú citosztatikum kezelésnek vethetjük alá, amely saját csontvelői sejtjeire mérgező. Ugyanakkor a génkezelt sejteket a segédgénről kifejeződő fehérje megóvjá a citosztatikummal szemben.

A csontvelőátültetéshez kapcsolt génterápia néhány klinikai eredménye

A nagy számban közzétett laboratóriumi és állatkísérletes eredmények ellenére eddig mindössze egyetlen sikeres klinikai szintű génterápiás kísérletről tudunk. Alain Fischer és munkatársai 1999 márciusától kezdődően Párizsban kezelték tizenegy veleszületett, súlyos immunhiányos betegségben szenvedő (SCID–*severe combined immunodeficiency*) gyermeket (Cavazzana-Calvo – Hacein-Bey, 2000). Ennek a betegségnek az az ismérve, hogy a beteg vérében kevés és kizárólag éretlen *limfocita* kering, melyek funkcióképtelenek. A SCID-ben szenvedő gyermekek, hacsak teljesen steril körülmények közt nem nevelik őket, súlyos fertőzésekben már néhány éves korban meghalnak.

A betegség korábbi egyetlen kezelését a HLA-azonos donorból származó csontvelőátültetés jelentette. Ha egy beteg ilyen rokonnal nem rendelkezett, sorsa megpecsételődött. A francia munkacsoport

ilyen, SCID-ben szenvedő gyermekeket kezelt génterápiás módszerrel, beleértve egy olyan kis páciens is, akin korábban, idegen donorból vett őssejtekkel már sikertelen csontvelőátültetést hajtottak végre. A francia csoport módszerének lényege megegyezett a fentebb ismertetett eljárással. A betegséget okozó hibás gén egészséges változatát módosított onkoretrovírus segítségével juttatták a betegekbe kinyert CD34⁺ sejtekbe. A sejtekről eltávolították a vírusrészcskéket, majd visszajuttatták a módosított sejteket az immunhiányos gyerekekbe. Az eredmények igen látványosak voltak. A betegek teljesen tünetmentessé váltak, limfocitaszámuk normalizálódott, közösségre is kerültek.

A kimagaslóan jó eredmény az egész génterápiás közösség számára, de az alapkutatóknak is tanulságként szolgált. Azt sugallta, hogy a SCID kórképe megátolja a sejtek érését és számbeli növekedését. Így ha a hibát kijavítják, az egészséges sejtek túlnövik a betegeket, más szóval a génterápia növekedési, szaporodási előnyt biztosít az egészséges sejteknek. Hasonló klinikai vizsgálatokba kezdett több más génterápiával foglalkozó kutatócsoport is, és hasonlóan kedvező eredményekről számoltak be.

A rózsaszínnek tűnő égboltra 2002 nyarán kezdtek sötét felhők gyülekezni, amikor előbb egy, majd később még egy gyógyultnak hitt SCID-es gyermek, másfél–két évvel a génterápiás kezelés után, leukémia-szerű tünetek jelentkeztek (Fischer – Hacein-Bey, 2002). Az egész világról érkezett segítő ötlet és módszer a probléma tisztázására, de a klinikai génterápiás próbálkozásokat a vizsgálatok befejezéséig mindenhol leállították, a munka megtorpant. 2003 elejére sikerült több oldalról igazolni, hogy mindkét leukémiássá vált gyermek vérében olyan homogén sejtgyűlés jelent meg, amely a terápiás gén „szerencsétlen” helyre történt beépüléséből fakad. Minthogy a SCID esetében igen nagymértékű a génterápiás sejtek

szaporodási előnye a betegekkel szemben, elégséges, ha ötvenezer vagy akár százezer sejtből egyben előfordul, hogy a bejuttatott új gén tönkretesz egy másik, rákkeltő gén szabályozását. Ez a jelenség történt mindkét gyermeknél, mégpedig ugyanaz az onkogén aktiválódott.

Szerencsére jelenleg mindkét gyermek állapota kielégítő, és várható, hogy számos új megfontolás és megkötés mellett, a hatóságok ismét engedélyezni fogják a klinikai génterápiás vizsgálatok folytatását. Meggondolandó, hogy a konvencionális terápiák,

illetve gyógyszerek többsége is okozhat mellékhatást, és ennek ellenére használják azokat. Természetesen a betegek figyelmét fel kell hívni a lehetséges veszélyekre, és ha alternatíva kínálkozik, meg kell fontolni, hogy a lehetőségek közül melyik kezelési mód jelenthet a betegre nézve kisebb veszélyt (Baum – Düllmann, 2003).

Kulcsszavak: *génterápia, örökletes betegségek gyógyítása, szaporodásképtelen retrovírus, CD34⁺ sejtek, sejtek fertőzése módosított vírussal*

IRODALOM

- Baum, Christopher – Düllmann, Jochen (2003): Side Effects of Retroviral Gene Transfer into Hematopoietic Stem Cells. *Blood*. **101**, 2099-2114
- Cavazzana-Calvo, Marina – Hacein-Bey, Salima (2000): Gene Therapy of Human Severe Combined Immunodeficiency (SCID)-X1 Disease. *Science*. **288**, 669-672
- Fischer, Alain – Hacein-Bey, Salima (2002): Gene Therapy of Severe Combined Immunodeficiencies. *Nature Reviews Immunology*. **2**, 615-621
- Lotem, Joseph – Sachs, Leo (2002): Cytokine Control of Developmental Programs in Normal Hematopoiesis and Leukemia. *Oncogene*. **21**, 3284-3294
- Miller, A. Dusty – Garcia, J. Victor (1991): Construction and Properties of Retrovirus Packaging Cells Based on Gibbon Ape Leukemia Virus. *Journal of Virology*. **65**, 2220-2224
- Robbins, Paul D. (1997): *Gene Therapy Protocols*. Humana Press, Totowa, USA
- Strachan, Tom – Read, Andrew (1999): *Human Molecular Genetics*. Bios Scientific Publishers, Oxford
- Williams, David A. – Smith, Franklin O. (2000): Progress in the Use of Gene Transfer Methods to Treat Genetic Blood Diseases. *Human Gene Therapy*. **11**, 2059-2066



AZ ŐSSEJTKUTATÁS ETIKAI KÉRDÉSEIRŐL

Szebik Imre

orvos-bioetikus, tudományos munkatárs
Semmelweis Egyetem Magatartástudományi Intézet
szebik.imre@net.sote.hu

Mit kutatunk és miért?

Kétségtelen, hogy az *embrionális őssejtekkel* való kutatás ma az orvosbiológiai kutatás központjában áll. Népszerűségét egyrészt annak köszönheti, hogy a kutatók hatalmas terápiás lehetőséget látnak a technikában, szövetek, szervek tenyésztését ígérik transzplantációs célból. Ugyanakkor publicitást kap ellentmondásossága miatt is, ugyanis erkölcsi és világnézeti okok miatt sokan elfogadhatatlannak tartják a technika emberi sejteken történő alkalmazását.

Érdemes eltűnődni egy pillanatra, mit is jelent ez a technika a medicina s az emberiség számára: hatalmas kutatási potenciál bevetését, hatalmas költségekkel eddig elképzelhetetlen terápiás lehetőségeket ígérve. Valóságos medicinális forradalom ígérete sejlik, megújulhat az ember előregedett, megbetegedett szerve. Igaz, a medicina történelmét tanulmányozó ember kétségeit sem kergetheti el, hiszen hallottunk már hasonló forradalmi ígéretekről akár az antibiotikumok, a génterápia, akár a magzati szövetek kutatásakor, s rá kell döbbennünk, hogy a forradalmi újítások sok esetben nem oldták meg sem az emberiség, sem a medicina gondjait, legfeljebb időlegesen, avagy újabbakat generálva. Anélkül, hogy ünneprontónak, avagy fanyalgónak tüntetném fel magam, mindezen gondolatokat pusztán azért bocsátom előre, mert amikor egy új technika alkalmazásának társadalmi, technikai feltéte-

leit tanulmányozzuk, annak korlátait meghatározzuk, érdemes a történelem tanulságait is figyelembe véve gondolkodnunk.

Egy új technika bevezetése jó alkalmat ad arra is, hogy az emberiség, az orvostudomány örök kérdéseit feltegyük, s azokat az új technika fényében is vizsgáljuk. Mi az emberi élet célja/mi a medicina célja? Az emberi élet meghosszabbítása, a szenvedés eliminációja, az emberiség életkörülményeinek jobbítása? A betegségek megelőzése, kiküszöbölése, a tünetek enyhítése? Az emberi teljesítőképesség fejlesztése, a társadalom jobbítása, az emberi génállomány javítása, netalán az emberiség túlélésének előmozdítása?

S milyen árat kell fizetnünk a technikáért, egyáltalán valóban szükséges e technika alkalmazása? Mit szorít háttérbe, mit írt ki majd a technika, illetve annak alkalmazója? Hatékonyabb lesz-e a medicina? Kiknek válnak hasznára a technika vívmányai? Ki végzi a kutatást, s mi lesz a motivációja – tudás megszerzése, profit növelése, emberek gyógyítása? Ki fog meggazdagodni, profitálni a technika által, s ki fogja a számlákat fizetni? Mennyire tüzetiesedik el a medicina, mennyire válik profitéhes biotechnológiai cégek kiszolgáltatójává, cselédjévé? Mennyire erősíti a technika az amúgy is technicizált medicina elidegenített voltát? Mennyire gépiesedik el az orvosi gyakorlat, az emberi test? Mennyire válnak ivarsejtjeink, megtermékenyített embrióink áruvá, profitot jelentő laboratóriumi

produktummá? S egyáltalán, kicserélhetővé válik-e – legalább részben – az ember e technika által? Lesznek-e eldobható s újra-felhasználható testrészeink?

S van-e a technikának alternatívája? Valóban ez a legfontosabb kutatási irányzat: az adott technika előnyeinek (túl)hangsúlyozása által nem szorulnak-e ugyancsak fontos, de kevesebb profittal kecsegtető kutatási irányzatok háttérbe? A technika világnézeti szempontból ellentmondásos volta nem okoz-e nehezen orvosolható sebeket egyesekben?

Nem lehet, hogy csupán az emberi (kutatói) hübrisz mutatkozik meg a technika fontosságának hangsúlyozásakor? Lehet-e a technikát majd igazságos módon alkalmazni? Csökkenti avagy növeli majd a technika alkalmazása az emberiség egyenlőtlenségeit, az anyagi (egészségügyi) javak elosztásának igazságtalan voltát?

Nyilván sokan lefitymálónak tekintenek az effajta elvontnak tűnő, s egyesek számára talán időrablást jelentő, alig megválaszolható kérdésekre, de egy technika etikai kérdéseinek tárgyalása előtt nem kerülhető meg ezeknek a kérdéseknek legalább a megfogalmazása, tudván azt is, hogy a válaszok megtalálása szinte reménytelen.

Össejtek – embrionális össejtek

Az embrionális össejtekkel való kutatás egyik sarkalatos kérdése az, hogy etikai szempontból elfogadható, s így megengedhető-e egyáltalán ez a fajta kutatás.

A különböző forrásokból szerezhető embrionális össejtek – így az abortált magzat, a mesterséges megtermékenyítés kapcsán fel nem használt embriók, a kutatási célra adományozott embriók sejtenyészete, a testi sejt nukleáris transzfere által előállított sejtek (National Bioethics Advisory Commission, 2002; Nuffield Council on Bioethics, 2000) ugyan eltérő körülmények között kerültek a kutatók asztalára, mégis etikai szempontból

talán nem tévedünk nagyot, ha első közelítésben alapjában azonosnak tekintjük ezeket. Ez alól talán csak a kutatási célra adományozott, illetve a kifejezetten kutatási célból létrehozott embriók kérdése kivétel, hisz ebben az esetben kifejezetten azért hozták létre az embriót, hogy kutassanak rajta, azaz elpusztítsák. A magzati szövetekkel kapcsolatos kutatások kapcsán gyakran emlegetett függetlenség elve sérül itt (Kovács, 1999), hisz az embrió létrehozatala nem volt független a kutatás céljától, mert pusztán azért hozták létre, hogy elpusztítsák.

Bármelyik módszerrel történjék az embrionális össejtek adományozása, két alapvető etikai követelmény is létezik: egyrészt az adományozók tájékozott beleegyezését követően történhet az össejtek kutatási célból történő felhasználása, ugyanakkor az adományozók a sejtek adományozásáért semmilyen anyagi ellenszolgáltatást nem kaphatnak.

Ellenérvek

A kutatást ellenzők érve szerint azért nem fogadható el az embrionális össejteken való kutatás, ezen sejtek kutatás céljából történő szaporítása, illetve a kutatás befejeztével elpusztítása, mert ezek a sejtek egy-egy ember biológiai lehetőségét hordozzák magukban (Glover, 1989; Green, 2002), tehát ezen sejtek elpusztítása megengedhetetlen. Az érv az abortuszvita kapcsán megismert érvehhez hasonlítható, azonban az embrionális össejtkutatás sajátosságai miatt az elektív abortusz és az embrionális össejtkutatás erkölcsi megítélése egymástól eltérő jellemvonásokat is tartalmaz.

Az embrionális össejteken való kutatás s az elektív abortusz kérdése alapvetően különbözik annyiban, hogy míg az előbbinél a magzat elpusztítása/kioltása/meggyilkolása egy aktív cselekedet, addig a megtermékenyített petesejtek vissza nem helyezése egy passzív lépés, azaz mulasztásként értékel-

hető. Ez utóbbi vonatkozik az embrionális őssejtekkel való kutatásra is, hiszen ebben az esetben is „mulasztással” akadályozzuk meg azt, hogy a megtermékenyített sejtekből emberi szervezet fejlődjön ki.

Vizsgáljuk most meg, melyik az az emberi élet kezdetével kapcsolatos érv, amely megkérdőjelezi az embrionális őssejtekkel történő kutatás etikai szempontból elfogadható voltát. Az elektív abortuszt ellenző érvek egyikéhez hasonló az a felfogás, amely szerint a megtermékenyített petesejtet már a megtermékenyítés pillanatától, illetve az azt követő 14. naptól – amikor is a megtermékenyített petesejtből már nem alakulhat ki még egy, önálló emberi életre képes egypetéjű ikertestvér – megilletik azok a jogok, mint egy felnőtt embert. Ez azt jelenti, hogy a megtermékenyítéstől, illetve a 14. naptól az embriót megsemmisíteni, kutatási célból felhasználni etikai szempontból nem megengedhető. Ezen gondolatmenet szerint igaz, hogy ezek a sejtek nem rendelkeznek a felnőtt ember vagy a megszületett csecsemők legtöbb tulajdonságával, de ennek ellenére ezek a sejtek potenciálisan emberek. Eme potencialitás argumentum szerint tehát az a mértékadó, hogy az adott sejtből megvan-e az a lehetőség, hogy egy ember fejlődjön ki belőle. Ily módon míg egy testi sejt, például egy fehérvérsejt elpusztítása nem számít elítélendő cselekedetnek, a megtermékenyített petesejt, az embriók, az ezekből kivett *totipotenciális* sejtek elpusztítása, kutatási célra való felhasználásuk megengedhetetlen, ugyanúgy, ahogy megengedhetetlen az elektív abortusz, s a mesterséges megtermékenyítéskor „feleslegesen” megmaradt megtermékenyített petesejt elpusztítása is.

A potencialitás érvével sokan nem értékelik egyet, állítván, hogy egy orvostanhallgatót – potenciális orvos – nem illetik meg az orvos jogai, egy makk sem élvez olyan védelmet, mint egy kifejlesztett tölgyfa (Lo-

ewy, 1996). Ugyanakkor nehéz a kérdést pusztán intellektuális síkon eldönteni, hiszen minden ember egykoron csak potencialitásban létezett, s ha akkor nem kapta volna meg azt a védelmet, amelyet a potencialitás argumentum ellenzői kifogásolnak, akkor nem létezne. Nem kívánom ezen a helyen a kérdést részletesen elemezni, a kérdés körül a bioetikai irodalomban nincs konszenzus, így jogos lehet az a kíváncsi, hogy mindkét oldal álláspontját figyelembe vegyük az embrionális őssejtkutatás etikai kérdéseinek tárgyalásakor.

Természetesen felvetődik a kérdés, hogy amennyiben elfogadjuk a potencialitás argumentumot, akkor hogyan lehetne mégis kutatást végezni embrionális őssejteken. Plauzibilis az a megoldási lehetőség, hogy végezzünk kutatást olyan embrionális sejteken, sejtvonalakon, amelyek emberi élet kifejlődésére már biológiai okok miatt nem képesek. Ilyen ok lehet például súlyos genetikai rendellenesség avagy egyéb olyan biológiai tényező, amely meggátolhatja azt, hogy az adott sejtől/sejtvonalból emberi szervezet fejlődhessen ki, még akkor is, ha az adott sejtet emberi anyaméhbe ültetnénk. Ez az út valószínűleg azért nem járható, hiszen ez esetben értelmét veszti a kutatás eredményeként kifejlesztett sejt/szerv/szövet léte, hacsak az előbbi rendellenesség nem közömbös a kifejlesztett sejt/szerv/szövet azon funkciói tekintetében, amelyre azokat használni kívánják.

Lehetőségként felmerülhet az is, hogy használjuk fel azokat a mesterségesen megtermékenyített embriókat, melyeket „tulajdonosai”, azaz szülei immár nem kívánnak felhasználni gyermekvállalás céljából. Természetesen amennyiben a potencialitás érv talaján gondolkodunk, ezen sejtek kutatásra való felhasználása ugyanúgy megengedhetetlen, mint egyszerű elpusztítása, hiszen végső soron mindenképpen az a beavatkozásunk eredménye, hogy az adott sejtek el-

pusztulnak, illetve belőlük életképes emberi szervezet nem fejlődik ki. Igaz, hogy ezek a sejtek létre sem jöttek volna emberi beavatkozás hiányában, de ha már egyszer léteznek, a potencialitás elve szerint nem szabad ezeket elpusztítani, illetve elpusztulni hagyni.

Sokféle ellenérvet lehetne még felhozni az ellen a nézet ellen, amely a potencialitás elve s az emberi élet kezdetének a fogantatással való meghatározása miatt ellenzi az embrionális őssejteken való kutatást. A viták ismeretében azonban be kell látnunk, hogy – az abortusz s az eutanázia-vitához hasonlóan – úgy tűnik, hogy az egymással szemben álló nézeteket hirdető racionalis érvekkel egymást nem tudják meggyőzni.

Így tehát azt kell megvizsgálunk, hogy mi történik akkor, ha valamelyik fél nyomásának engedve a másik fél érvrendszerét részben vagy teljes egészében figyelmen kívül hagyva cselekszünk. Egyik esetben nem végzünk kutatást embrionális őssejteken. Ez esetben morális szempontból nem vétünk senki ellen, pusztán azt a lehetőséget mulasztjuk el, amit a kutatók ígéretesnek tartanak a medicina fejlődése szempontjából. Felmerülhet annak a mulasztásnak a felelőssége is, amely ez esetben a terápiás lehetőségek elmaradása miatt keletkezik. Amennyiben a kutatást morális kötelességként fogadjuk el, ezzel a felelősséggel természetesen számolnunk kell – bármennyire is esetleges és megjósolhatatlan ezen terápiás lehetőségek léte.

A másik esetben – s látnunk kell, hogy ez a valószínűbb, sőt már gyakorlatilag meg is valósult scenárió – azok morális érzékenysége sérül, akik az embrionális sejteken való kutatást nem tartják elfogadhatónak. Felmerül a kérdés, mi lehet ennek a következménye számukra, s az emberiség számára általánosságban?

Olyan gyakorlati dilemmákkal találjuk magunkat szemben, amelyek a különböző társadalmakban már megszokottak s eltűntek: ilyen esetben az embrionális őssejtkutatást

ellenzők szándékuk ellenére is kénytelenek adójukkal támogatni az effajta kutatást annak állami támogatása esetén. Ez a probléma azonban nem új keletű, hiszen az ateisták is kénytelenek eltűrni hogy adójukból az egyházakat támogatják, hasonlóan ahhoz, ahogyan az elektív abortuszt ellenzők is kénytelenek elviselni, hogy közpénzekből elektív abortuszt finanszírozzanak.

Felmerül a kérdés, mi történik akkor, ha olyan terápiás lehetőség valósul meg az embrionális őssejtkutatás révén, melyet egy adott társadalom – például a mai védőoltásokhoz hasonlóan – kötelezően kíván alkalmazni. Kötelezhető-e egy ember olyan orvosi beavatkozás elfogadására, amelyet számára elfogadhatatlan módon kísérleteztek ki? Nehéz kérdés, hiszen köztudott, hogy a tudományos újságok nem publikálnak olyan kutatási eredményeket, amelyeket olyan módon kísérleteztek ki, amelyek az általánosan elfogadott kutatásaitikai elvekkel ellentétesek. Ha tehát a nagyobb közösség az általánosan elfogadott etikai elvek megsértését a publikáció megtiltásával szankcionálja, jogosan merülhet fel a kérdés, hogy az a kisebb közösség, amely egy kutatási módszert számára elfogadhatatlannak tart, legalább annyiban tartassék tiszteletben, hogy egy ilyenfajta kényszer alól szankciók nélkül mentesüljön. A kérdés vizsgálata a konkrét részletek ismeretének hiányában nyilvánvalóan nem lehet alapos, de a fenti lehetőséget is érdemes szem előtt tartanunk.

Új Galilei-per avagy világnézeti szabadság?

Érheti az a vád az embrionális őssejtkutatást elvetőket, különösen az egyházakat, hogy a Galilei-perhez hasonlóan a tudomány szabadságát kérdőjelezzik meg és korlátozzák megengedhetetlen módon. Fontos látnunk egyrészt, hogy a tudomány szabadsága nem korlátlan, nem abszolút. Elég csak az Orvosok Világszövetségének *Helsinki deklarációjára* (World Medical Association, 2000)

gondolnunk, amely kimondja, hogy a tudományos kutatás során a kutatásban résztvevő kísérleti alany érdeke mindig előrébb való, mint a kutatás vagy a társadalom érdeke. S a tudományos kutatás korlátai nemcsak az embereken végzett kutatásokra vonatkoznak, hanem az emberi szöveteken, sejteken, a holttestből kivett szöveteken végzettekre is, sőt az állatkísérleteket is korlátozzák állatvédelmi megfontolások miatt. S ezek a szabályok nemcsak formai részleteket, hanem tartalmi elemeket is érinthetnek, hiszen például embereken alapvetően nem végezhető olyan kutatás, amelynek kockázata nagyobb várható hasznánál. Emellett még fontosabb látnunk, hogy a Galilei-per és az embrionális őssejtkutatás megakadályozását célzó törekvések alapvetően különböznek egymástól. Amíg Galilei esetében a katolikus egyház Galilei tudományos állítását kérdőjelezte meg nem a természettudományos paradigmába illeszkedő gondolkodásmóddal illetve eszközökkel, azaz természettudományos eredményét nem természettudományos módon kívánta megsemmisíteni, addig az embrionális őssejtkutatás ellenzése alapvetően az előbbtől különböző folyamat. Nincs ugyanis tudományos bizonyíték arra vonatkozóan, hogy mikor kezdődik az emberi élet, illetve, hogy mikortól kezdve szükséges az emberi életet hordozó sejteknek/szöveteknek/szerveknek/szervezetnek megadni mindazon jogokat, védelmet, amelyeket megadni kívánunk. Vannak kultúrák, ahol az újszülött meggyilkolása is elfogadott, s van olyan ország, ahol az elektív abortusz nem engedélyezett. Az imént feltett kérdés – vagyis, hogy szabad-e, s ha igen milyen feltételek teljesülése esetén az embrionális őssejteken kutatást végezni – tehát filozófiai, vallási, társadalmi kérdés, amelyre természettudományos módszerrel válaszolni nem tudunk, legfeljebb a kérdés megválaszolásához fel tudjuk használni a természettudomány eredményeit.

A köldökzsinór-őssejtekről

Magyarországon az elmúlt években óriási médiaérdeklődés s egyben médiahisztéria kísérte a köldökzsinórvér terápiás célú tárolásával kapcsolatos lehetőségeket. A köldökzsinórvérben található *hemopoetikus őssejtek* az embrionális őssejtektől eltérően nem totipotens őssejtek, tehát az embrionális őssejtekkel kapcsolatos filozófiai, világnézeti különbség a köldökzsinórvérrel kapcsolatban érvényét veszti. Ily módon a köldökzsinórvérben található őssejtekkel kapcsolatos kutatási és esetleges terápiás lehetőségek kiaknázását világnézeti avagy vallási szempontból gyakorlatilag senki sem ellenzi. Érdekes módon éppen emiatt sokan a köldökzsinórvérből nyerhető őssejteket javasolják az embrionális őssejtkutatás alternatívájaként, noha sokan szkeptikusak ezzel kapcsolatban, és megkérdőjelezik, hogy a biológiai szempontból felnőttnek számító köldökzsinórvérsejtekkel való kutatás ugyanolyan eredményes lehet-e, mint az embrionális sejtekkel való kutatás.

A köldökzsinórvér tárolásával és felhasználásával kapcsolatos specifikusan csak erre vonatkozó alapvető etikai kérdés alig merül fel. Ami aggályosnak tűnik az elmúlt évek tapasztalatából, az az, amikor a magán-célú s magánfinanszírozású tárolási lehetőséggel kapcsolatban az emberi hisztériységre, csodavárásra, a betegség, illetve a betegség lehetősége által fokozottan meglévő szuggesztibilitásra alapozva a nem kellően tájékoztatott embereket kihasználják.

A közösségi finanszírozásból létrehozott köldökzsinórvérbank pedig gazdasági, makroallokációs kérdéseket vet fel: amennyiben a magyarországi egészségbiztosító a szükségesnél lényegesen kevesebb (csontvelő)-őssejt-transzplantációt finanszíroz, akkor érdemes-e tetemes költségért létrehozni egy bankot, amely ugyan növeli az őssejt-transzplantációra alkalmas betegek számát,

viszont a finanszírozott transzplantációk száma nem nő? Plauzibilis válasz erre, hogy természetesen növelni kellene a finanszírozott transzplantációk számát, azonban tudjuk azt is, hogy az egészségbiztosító költségvetése limitált: ha növelünk egy kiadást, valahol általában megszorítást kell alkalmazni. Mind ezen tényeket is érdemes megfontolni, bár természetesen a köldökzsinórbanak költségessége önmagában nem érv létrehozása ellen.

Alternatívák – konszenzus

Az embrionális őssejtkutatás elfogadhatóságát illető alapkérdésben – mint láttuk – úgy tűnik, nem lehet konszenzust találni. Egy ilyen nagy jelentőségűnek tűnő kutatási projekt kezdetekor felvetődik természetesen a kérdés, hogy vajon a kutatást ellenzők világnézetének tiszteletben tartása céljából kiaknáztunk-e minden alternatív kutatási eljárást, adott esetben éppen a köldökzsinórból nyerhető vagy más, felnőttnek számító őssejtek vizsgálatával vagy egyéb módon?

Felmerül az a szempont, hogy az elektív abortusz, az eutanázia talán nemcsak az emberi élet kezdetéről s végéről szól, ennek üzenete jelzésértékű, s a konkrét történelesen túlmutató jelentőségű. Gondolhatjuk, hogy az embrionális őssejtkutatás kapcsán nem pusztán az a kérdés, hogy a szabad szemmel láthatatlan sejtek elpusztíthatók-e, hanem az, hogyan tekintünk embertársainkra, elpusztításukra, illetve szenvedéseik enyhítésére; tudunk-e toleránsak lenni mások világnézetének elfogadásában, felül tudunk-e emelkedni kicsinyes érdekeinken, tudunk-e úgy építeni, hogy közben mások bizalmát nem romboljuk le.

A kutatást a Széchenyi-NKFP projekt *Géntechnológiák fejlesztése nagy mortalitású betegségek sejt- és szövetátültetéssel kombinált terápiájához* című kutatási programja támogatja.

Kulcsszavak: *embrió, személyiség, potentialitás, erkölcsi megítélés, technicizálódás, embrionális őssejt, felnőtt őssejt*

IRODALOM

- Glover, Jonathan (1989): *Ethics of New Reproductive Technologies. The Glover Report to the European Commission*. Northern Illinois University Press, Dekalb
- Green, Ronald M. (2002): Determining Moral Status. *The American Journal of Bioethics*. 2, 1, 20–30.
- Kovács József (1999): *A modern orvosi etika alapjai*. Medicina, Budapest
- Loewy, Erich H. (1996): *Textbook of Healthcare Ethics*. Plenum Press, New York – London

- National Bioethics Advisory Commission (2002): *Ethical Issues in Human Stem Cell Research*. Volume 1. National Bioethics Advisory Commission Rockville, Maryland
- Nuffield Council on Bioethics (2000): *Stem Cell Therapy: The Ethical Issues*. Nuffield Council on Bioethics, London
- World Medical Association (2000): *Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects* <http://www.wma.net/e/policy/b3.htm>

GLOSSZÁRIUM – MINILEXIKON

aferézis (apheresis) – különböző véral-
kotorészek (például sejtek, plazma) gépi
úton történő eltávolítása a vérből, (gyűjté-
se) további felhasználás vagy a szervezet-
ből történő eltávolítás céljából.

aggregáció – (a jelen szöveggörnyezet-
ben) a kiméra embriók létrehozásának
egyik módja; az embrionális őssejteket,
nyolcsejtes embrióval összeillesztik, azok
sejtjei egymáshoz tapadva együtt kiméra
embriókat alkotnak.

agyi rostrendszer – a nagy vetítő ideg-
sejtek axonjai nem egyedi nyúlványokként,
hanem kötegekké szerveződve húzódnak
az agyszöveten át. A mielinhüvellyel
ellátott nagy kötegek alkotják a központi
idegrendszer ún. fehérállományát.

allogén – egyazon faj genetikailag eltérő, má-
sik egyedéből származó (sejt, szövet).

allogén sejt/szövetátvitel – azonos faj
genetikailag eltérő egyedek között történő
sejt/szövetátvitel.

allo-graft – allogén donorból származó beül-
tetett sejt vagy szövet (oltvány = graft)

apoptózis – programozott, fiziológiás sejt-
halál.

asztrogliaelőalakok – az idegi germinatív
zónákban keletkező sejtek. Osztódoke-
pességüket megtartják a zónából való kilé-
pés után is. A kialakult idegyszöveten belül
is – különösen sérülések után – képesek
asztroglia-sejteket létrehozni.

asztroglia-sejtek – gyors információtováb-
bitásra nem képesek, de az idegsejtek
képződésének, érésének és kifejtett mű-
ködésének minden fázisában fontos sze-
repet játszanak. Felületükön vándorolnak
az idegsejt-előalakok és nőnek az idegi
nyúlványok. Az emlősök előagyában kö-

zelítőleg négyszer-tízszerszer több asztro-
glia-sejt található, mint idegsejt.

auto-graft – ugyanazon egyénből ugyan-
azon egyénbe (saját) beültetett sejt vagy
szövet (oltvány = graft)

autológ szövetátvitel – saját szervezetből
származó szövetek saját szervezetbe tör-
ténő átvitele.

**bazális sejtréteg (stratum germinati-
vum)** – az epidermisz osztódni képes
sejtjeinek rétege.

blasztociszta – hólyagszúra.

blasztula – hólyagszúra állapotú embrió.

B-limfocita – emberben a csontvelői vér-
képző ősejtéből – a limfoid elősejten át
– fejlődő sejt. Specifikus antigénfelismerő
receptorát két nehéz és egy könnyűláncot
tartalmazó antitestmolekula, valamint az
ahhoz társuló jelátvivő molekulák alkotják.
Aktiváció után jellegzetes osztódási és
differenciálódási szakasz követően ellen-
anyagokat kiválasztó plazmasejté alakul,
ezáltal a humorális immunválasz részt-
vevője. Mint antigén-bemutató sejt, részt
vesz az antigének feldolgozásában és a T-
sejtek számára történő bemutatásában is.

CBF-1 – C-Promoter Binding Factor-1 – C-
promóter kötő faktor 1.

CD34⁺ őssejt – CD34 sejt felszíni antigént
hordozó korai vértképző sejt, amely önme-
gújításra és a vértképzés minden sejt sorának
kialakítására képes. A korai endotel sejtek
is lehetnek CD34 antigén hordozók.

citokin – szolubilis „hírvivő”, gyakran
többfunkciós molekula, melynek sokrétű
szerepe van az immunválasz sejtjei közötti
és más sejtekkel való kölcsönhatásban is. A
citokinek részt vesznek az egyes sejt sorok
osztódás- és érészabályozásában.

citoxikus, ölü T-limfocita (Tc) – a célsejtet elpusztító T-sejt.

csontvelői s(z)tróma – a vérképző sejtek csontvelői mikrokönyezet, amelyet többféle sejt típus alkot.

dedifferenciálódás – egy bizonyos fejlődési stádiumot elért sejtnek a korábbi sejtalak(ok)ká történő visszalakulása.

dendritikus sejt (DC) – csontvelői eredetű professzionális antigénbemutató sejt, amely elsősorban a nyirokszövetek, illetve nyirokszervek T-sejt függő területein található, hatékony T-sejt választ stimulál. (Nem azonos a B-sejt választ stimuláló follikuláris dendritikus sejtrel.)

differenciálódás – egy adott sejt fejlődési folyamata a kiindulási formától az érett sejtalakig.

donor – adó, adományozó (főként a vér- adással és a transzplantációval kapcsolatban alkalmazott kifejezés).

ektodermális – az embrionális hátoldali csíralemezből származó.

elektroporáció – a sejtmembrán elektromos tér hatására bekövetkező, fokozott áteresztőképességét kihasználó eljárás.

elköteleződés (commitment) – az a folyamat, amely során a multipotens sejtek valamely sejt sor irányába differenciálódni kezdenek (megeszik az első differenciálódási lépést).

elülső migrációs ösvény – az előagyi agykamra embrionálisan még meglévő, elülső nyúlványának megfelelő terület.

embrionális csíralemezek – az embrió korai fejlődése során, kezdetben egyetlen ún. epiblaszt rétegből négy olyan réteg – csíralemez – fejlődik, amelyekből a későbbiekben eltérő szövetféleségek fejlődnek. Ezek a háti oldalról a hasi oldal felé haladva a következők: ektoderma, neuroektoderma, mezoderma, endoderma.

embrionális karcinóma (Embryonal Carcinoma – EC) sejt vonalak – teratocarcinómából előállított sejt vonalak.

embrionális őssejtek (ES sejtek) – az embrió kialakulásakor a leválasztott sejtekből létrehozott sejt vonalak.

endotél sejtek – a véredények belső felszínét borító sejtek; a csontvelői mikrokönyezetnek is összetevői.

énekközpont a madarakban – a hím kanári minden új párválasztási időszakban új „dallamot” énekel, és mindez a magasabb hangközpontok idegsejtjeinek megújulásával valósul meg.

epiblaszt, inner cell mass – ICM – a hólyagsíra (*blasztula*) állapotú embrióban a belső sejtcsoport sejtjei.

epigenetikai (epigenetikus) változás – az egyedfejlődés során a szervek kialakulását befolyásoló, nem genetikai tényezők hatására létrejövő változás.

extracelluláris matrix – a sejtek által termelt, sejteken kívüli hálózat, amely tartalmazza a szöveti sejtek rögzítéséhez, alakjának biztosításához szükséges sejten kívüli váz molekulákat (például kollagén). Ezek fontos szerepet játszanak a kis mennyiségben jelen levő szabályozó molekulák (például citokinek) megkötésében és „helyben tartásában” is, kölcsönhatások révén szabályozzák a sejt működését.

extra-embriális – az egyedfejlődés során az embriót körülvevő magzatburkokat és a méhlepény embrionális eredetű részét kialakító sejteket jelölő fogalom.

fő vagy vetítő neuronok – nagy sejttesttel és hosszú axonnal bíró idegsejtek. Ilyenek például a gerincvelő elülső szarvában található vázizmot mozgató idegsejtek vagy az agykéreg alsó rétegeiben található, a gerincvelőig vagy kéreg alatti törzsdúcokig futó axonokkal rendelkező kérgi piramis sejtek.

Gab-1 (Grb2-associated binder protein-1) – egyike a sejt belüli ún. kapcsoló fehérjéknek. Ezek a fehérjék afféle házasságközvetítők: maguk nem a jelet továbbítják, hanem a kaskád egymást követő fehér-

jéit felszínükön megkötvé lehetővé teszik azok specifikus kölcsönhatását.

gap junction – strukturális egységek (connexinek – Cx) által képzett sejtek közötti csatornák, amelyek lehetővé teszik a különböző jelátviteli molekulák sejtek közötti vándorlását. Újabb eredmények szerint a CX43 típusú „gap junction”-nak alapvető szerepe van a strómán végbemenő vérképzésben, a tímusz limfocitaképzésében, az ovárium folliculusképzésében stb.

genom-imprinting – bizonyos gének esetében a DNS által kódolt genetikai információ módosulhat egy, a DNS-szállra másodlagosan rátevéődő, nem genetikai információtól (például a DNS metilálódása által).

génterápia – a genetikai defektusok miatt létrejövő kórképekben a hibás vagy hiányzó gén pótlásával történő gyógyítás.

glia – a központi idegrendszer nem-idegsejt összetevői. Az ún. makroglia sejtek (asztroglia és oligodendroglia) alapvető szerepet játszanak a központi idegrendszer működésében. A környéki (perifériás) idegrendszerben szerepüket az ún. Schwann-sejtek látják el. Az agyban található mikroglia egészen más eredetű és működésű sejt: a keringés más rendszerből kerül a fejlődő központi idegszövetbe, és ott leginkább a falósejtekhez hasonló funkciót lát el. Ép agyszövetben általában nyugalomban van, és csak károsodások esetén aktiválódik.

graft – (oltvány) átültetett sejt, szövet vagy szerv.

GVHD – **graft versus host disease** – A donorból származó graftban levő immunológiailag aktív T-sejtek pusztító reakciója a befogadó szervezet sejtjei ellen.

GVL – **graft versus leukemia** – a donortól származó graft T-sejteinek a leukémiás vagy egyéb daganatsejteket felismerő és elpusztító reakciója.

helyi vagy köztes neuronok – kis sejttesttel és rövid, gazdagon elágazó axonnal rendelkező idegsejtek. Nyúlványaik nem

hagyják el a sejttest körzetét, fontos szerepet játszanak a nagy vetítő neuronok működési állapotának beállításában.

HLA – fő szövetegyezősi (hisztokompatibilitási) antigének, humán leukocita antigének.

idegi őssejtek (Neural Stem Cells – **NSC**) – osztódóképes sejtek, amelyek nem-szimmetrikus osztódással eltérő – de idegi fejlődésre képes – utódsejteket hoznak létre. Az egyik utódsejt azonos az anyasejttel, a másik az anyasejttől eltérő sajátosságokkal rendelkező idegi őssejt, idegi sokszorozó sejt vagy idegsejt-előalak lehet. Az idegi őssejt leszármazottai idegszöveti sejtökké fejlődnek.

idegsejt-előalak – osztódásra képtelen, fejletlen sejt, amely az idegszövetben „rendeltetésének megfelelő” helyre vándorol; vándorlása során és a végleges helyén létesített sejtkapcsolatok hatására fejlődik meghatározott típusú idegsejtté.

immortalizált sejtvonalak – „halhatatlan sejtvonalak”: sejttenyésztésben az átoltások során osztódási képességüket tartósan megőrző, tulajdonságaikban állandó sejt-típusok. A képződött új sejtek minden tulajdonságukban azonosak a kiinduló sejttel. Az immortalizált rendszerint valamilyen vírus bevitelével hozzák létre.

Inzulin dependens diabétesz (IDDM) – általában fiatal korban fellépő, a hasnyálmirigy b-sejtjeinek pusztulása miatt létrejövő, inzulinhiányon alapuló cukorbetegség. A b-sejtek pusztulását örökletesen fogékony betegekben valamilyen külső tényező (vírus vagy toxikus anyag), vagy autoimmun reakció hozhatja létre.

izomban található vérvépző sejtek (Muscle hematopoietic potential cells – **MHPC**) – izomból származó tenyésztett sejtek, amelyek képesek a vérvépző szervrendszer újraépítésére

kariotípus – a fajra jellemző számú és alakú (morfológiájú) kromoszómák összessége.

kevert kiméra vérképzés – olyan állapot, amelyben donor és recipiens eredetű vérképzés együtt van jelen. Ezt az állapotot allogén donor eredetű vérképző őssejtek beültetésével lehet elérni, ami a donor és a gazdaszervezet hematopoetikus sejtjeinek hosszú távú együttes jelenlétét eredményezi.

kiméra – olyan élőlény vagy sejt, amely két fajhoz vagy fajtához tartozó egyed szöveiből mesterségesen kerül kialakításra. A görög mitológiában az oroszlánfejű, kecsketestű, kígyófarkú tűzokádó szörnyeteget hívták így.

klón – egyetlen egyedből vagy sejtől ivartalan úton származó, genetikailag egységes utódok, sejtek összessége.

klónozás – azonos genetikai örökítő anyagú élőlények létrehozása.

kontakt gátlás – sejtenyészetekben előforduló jelenség: bizonyos sejtsűrűség elérése után az egymáshoz érő sejtek a további osztódást gátolják.

LIF – leukémia inhibitor faktor – az interleukin-6 (IL-6) citokinnel rokon fehérje.

lentivirus – a génterápiában egyre gyakrabban használt vírustípus.

limfocita – kerek, nagymagvú fehérvérsejt, a nyirokrendszerben nyiroksejtként ismerjük, az immunrendszer fontos eleme.

makrofág – vérképző őssejtől származó monocita szöveti formája. Funkciója alapján mind a veleszületett, mind az adaptív immunrendszer fontos sejtje.

MAPK – mitogénaktivált protein kináz, jelátviteli fehérjecsald.

metaplázia – általános értelemben: a sejtek illetve szövetek más sejté, illetve szövetté történő átalakulása.

mezenhimális felnőtt progenitor sejtek (Mesenchymal Adult Progenitor Cell – MAPC) – pluripotens őssejtek, amelyek felnőtt csontvelőből különíthetők el, de nem expresszálják hematopoetikus vagy endoteliális markert.

MHC-I – fő hisztokompatibilitási (szövetegyezési) komplex-I (Major Histocompatibility Complex-I), rendkívüli változatoságot (polimorfizmust) mutató sejtfelszíni öröklött alloantigének, melyek minden magvas sejten kifejeződnek. Funkciójuk: sejten belüli fehérjék peptidjeinek megkötésére képesek, a CD8+ T-limfociták antigénfelismerő funkcióját biztosítják, a sejtől Tc-limfocitákat aktiválják.

MHC-II – a fő hisztokompatibilitási génkomplex gényei által kódolt membránfehérje, amely a hivatásos antigént bemutató sejteken (B-limfocita, makrofág, dendritikus sejt) jelenik meg, a külső környezetből felvett fehérjék peptidjeinek megkötésére képes, a CD4+ T-limfociták antigénfelismerő funkcióját biztosítja, segíti az ellennyag termelést és a sejtől T-limfociták működését.

mieloid sejt – kettős jelentésű kifejezés: csontvelői vérképző sejtek összefoglaló neve, vagy a fehérvérsejtek előalakjai.

mieloproliferatív körkép – a fehérvérsejtek egy csoportjának (mieloid) sejtjeiből kialakuló, a sejtek felszaporodásával jellemezhető rosszindulatú betegség.

miogén sejt – izomszövetet létrehozó sejt.

monocita – 15-20 µm átmérőjű, bab alakú maggal rendelkező, a vérben található fehérvérsejt.

morfogének – a sejtek egymáshoz viszonyított szöveti elhelyezkedését és differenciálódását meghatározó jeltovábbító molekulák.

multipotens őssejtek – őssejtek, amelyek csírasejtek vagy más néven ivarsejtek (petesejtek és hímivarsejtek) kialakítására nem képesek, más szövetek és sejtek azonban még kialakulhatnak belőlük. Képesek valamely szövetet, esetleg szervet alkotó különböző típusú sejtékké differenciálódni. A vérképző őssejtekből például legalább

hétféle érett vérsejt, az idegi összejtekből ideg- és gliasejtek, az izom összejtekből izomrostok keletkeznek.

nem-szimmetrikus osztódás – a nem-szimmetrikus (aszimmetrikus) osztódás során a két utódsejt azonos génállományt örököl az anyasejtől – ebben tehát nem különbözik a szimmetrikus osztódástól – de a citoplazmában lévő szabályozó fehérjékből a két utódsejt más készletet kap. Az eltérő szabályozóanyag-készlet a két utódsejt sorsát eltérően irányítja.

neuroszféra – ha felnőtt egér előagy kéregalatti törzsdúcából (striatum) nyert szövetdarabot enzimkezeléssel egyedi sejtekre oszlatják szét, a sejtszuszpenzióból néhány napi sejtenyésztés után csak nagyon kevés élő sejt marad. Ezek az életképes sejtek egymással kapcsolódva kis sejtaggregátumokat hoznak létre. Ha az aggregátumokat olyan közegben tartják, amely egy speciális növekedést serkentő fehérjét – epidermális növekedési faktort (EGF) – tartalmaz, akkor az aggregátumok sejtjei osztódnak. Ha a tápközegből elvonják az EGF fehérjét, és az aggregátumokat olyan felületre viszik, amelyre azok letapadnak, akkor a sejtosztódás leáll, és sok sejt nyulványos idegsejtekévé fejlődik. Azokat az aggregátumokat, amelyek idegsejtté fejlődni tudó sejteket is tartalmaznak, „idegi gömböcskének” (*neurospheres* = neuroszférák) nevezték el.

NK sejt – természetes ölüsejt. A csontvelői hematopoetikus őssejtek limfoid leszarmazottaiból fejlődő sejtek, specifikus antigén felismerésre nem képesek, sejtölő sajátsággal rendelkeznek, az MHC molekulák jelenléte a célsejteken gátolja ölü funkciójukat.

növekedési faktor – olyan, a sejtek által termelt és kibocsátott fehérje, amely génaktivációt vagy -inaktivációt, növekedést vagy fejlődést indíthat azokban a sejtekben, amelyek felszínén a faktort „felismerő”,

megkötő molekulák (receptorok) vannak. A növekedési faktorok azokról a sejtekről kapták nevüket, amelyeken először sikerült a hatásukat megmutatni. Például az epidermális növekedési faktor (epidermal growth factor – EGF) hatását elsőként bőrsejteken, a fibroblaszt növekedési faktor (fibroblast growth factor – FGF) hatását kötőszöveti sejteken írták le.

Oct4 – octamer transzkripciósi motívumokhoz kötődő fehérje.

oligodendroglia – ezeknek a sejteknek a nyulványai többrétegű membrán-burkot – ún. mielinhüvelyt – létesítenek a gyorsan vezető idegnyulványok (axonok) körül. Ezzel megakadályozzák, hogy az axon membránja közvetlenül ionokat cserélhessen a szövetfolyadékkal.

őssejt-faktor (stem cell factor – SCF, mast cell factor, c-kit ligand) – őssejtek és hízósejtek osztódását fokozó növekedési faktor.

őssejt-niche – az a „fészek”, amelyben az őssejtek proliferációja végbemegy, az őssejtek szöveti mikrokozmosza.

őssejt-plaszticitás – az őssejteknek az a képessége, hogy a felnőtt (szöveti) őssejtek a sejtvonaluktól eltérő irányban is képesek differenciálódni.

őssejtek – korlátlan számú osztódásra képes, nem specializálódott, önmegújulásra képes sejtek, amelyek aszimmetrikus osztódás révén önmagukhoz hasonló sejteket képeznek, és emellett elkötelezett utódsejteket is létrehozhatnak.

Parkinson-kór – súlyos mozgáskoordinációs zavarokkal, remegéssel és rigiditással járó betegség. Tüneteit elsősorban a középagy fekete magjából (s. nigra) az előagy striatumhoz érkező, dopamint kibocsátó idegrostok sorvadása okozza.

partenogenezis, szűznemzés – megtermékenyülés nélkül képződő embriók

perifériás idegrendszer – környéki idegrendszer. Az agy és gerincvelő területén kívül eső ideg- és Schwann-sejtek összes-

sége. Legfontosabb részei: a háti érződúcok, a belső szervek működését szabályozó szimpatikus és paraszimpatikus dúcok, a gyomor-bél idegrendszer.

PIP₃ – foszfatidil-inozitol-3,4,5-trifoszfát (PIP₃), a membránok belső lipidrétegében foglal helyet, és kötődési felszín biztosít a PH (pleckstrin-homology) doménnel rendelkező enzimeknek, jelátviteli molekuláknak. A kis területre toborzott molekulák között gyorsan, jó hatásokkal zajlanak a kölcsönhatások, felpörög a jelfolyamat.

pleiotróp – több, látszólag össze nem függő sajátságot determináló tulajdonság.

pluripotens sejtek – az embrionális fejlődéshez szükséges, majdnem minden információt tartalmazó sejtek, amelyek már nem képesek extraembrionális szövetek kialakítására, de még mindhárom csíralemez kialakulhat belőlük, és ivarsejtek képzésére is képesek.

prekursor sejtek – egy bizonyos fejlődési útvonal irányába elkötelezett sejtek, amelyekből azonban még több sejtípus is kialakulhat.

preneurális gének – például Sox1, Zic stb., olyan szabályozó fehérjéket kódolnak, amelyek az idegsejtek kialakulását biztosítják, ún. proneurális géneket (Ach, Scute, stb.) aktiválják. Az evolúció folyamán a pre- és proneurális gének szinte változatlan formában „megőrződtek” az ecetmuslicától az emberig. A magasabb rendű fajokban azonban több változatban fordulnak elő, és az egyes változatok a test meghatározott régiójában aktiválódnak.

progenitor sejtek – *A progenitor/elkötelezett elődsejt, blasztsejt, tranzienstsejt (populáció)* kifejezések azonos vagy legalábbis közel azonos jelentésűek, és általában szinonimákként – meglehetősen következtelenül – használják őket. Az őssejtekből differenciálódott, valamely sejtfejlődési sor irányába elkötelezett, korlátozott önfenntartó képességű, de megfelelő induktorok jelen-

létében gyorsan osztódó és differenciálódó (erő) sejteket nevezzük így.

prolifерáció – szaporodás, osztódás, sarjadzás.

recipients – a beültetett sejtet, szövetet, szervet befogadó szervezet, amelynek genetikai sajátosságai és immunrendszerének állapota meghatározza a grafttal szembeni immunológiai reakciók mértékét és típusát (tolerancia vagy kilökődési reakció).

regenerációs medicina – „helyreállító orvoslás”, az őssejtek felhasználásával a károsodott szövetek, szervek helyreállítását eredményező orvosi beavatkozás.

reproduktív klónozás – klónozott embriók létrehozása utódok nyérése céljából.

retrovírus – RNS tartalmú vírus, amely a sejtosztódás során beírja génállományát a gazdasajt DNS-ébe. A rekombináns, szaporodni már nem képes retrovírust gyakran alkalmazzzák génterápiás célokra.

SCID – severe combined immunodeficiency – súlyos kombinált immundeficiencia: veleszületett immunológiai hiba, sejtés és humorális immundefektussal.

SCID egér – súlyos kombinált immundeficiens egér.

segítő T-limfocita (Th) – CD4 markert hordozó T-limfocita. Az immunreguláció központi sejtje, mind a többi T-, mind a B-sejtek funkcióját befolyásolja. Az általa termelt citokinek alapján két, hatásában eltérő csoportra, Th1 és Th2 típusra oszthatók.

sejttaggregátum – olyan sejtegyüttes, amelyben a sejtek szorosan egymáshoz kapcsolódva háromdimenziós szerkezetet hoznak létre.

sejtciklus – az osztódó sejtek egyedi élete megszületésüktől megkettőződésükig terjed. Ez alatt az időszak alatt a sejt az osztódáshoz elegendő építőanyagokat halmoz fel, és „felkészül” génállományának megkettőzésére (G1 fázis), majd DNS-mennyiségét megkettőzi (S fázis), a teljes

kettéosztódásra „készül” (G2 fázis), végül kettéosztódik (M fázis).

SH2 domén – (Src homology 2 domain), az Src fehérje egyik részével mutat nagy hasonlóságot. A Src fehérje génjét, az első onkogének egyikéként a Rous-szarkóma vírusban fedezték fel. A sejtekben „egészséges” megfelelője a *c-src* protoonkogén, amelynek terméke egy tirozin-kináz, több létfontosságú jelfolyamat közvetítője.

SOCS-1 – *suppressor of cytokine signaling* jelátviteli fehérje.

Sos – *son-of-sevenless, guanine nucleotide-exchange factor* fehérje.

SP-(Side Population) sejtek – olyan sejtek, amelyek a Hoechst 33342 fluoreszcens festéket aktívan „kipumpálják”, ezért nem-festődő populációt képeznek. Ezek a sejtek számos összejuttalajdonsággal rendelkeznek.

stagnálás (quiescence) – nyugvó (nem osztódó) állapot.

STAT – jelátviteli fehérje, a *signal transducer and activator of transcription* rövidítése.

szaglógumó – az orr nyálkahártyában elhelyezkedő terület, ahova elsődleges szagló érzősejtek küldenek nyúlványokat. A felnőttkori idegsejtképzés jelentős része ezeket a sejteket pótolja.

szinaptikus kapcsolat – jellegzetes sejt-sejt kapcsolat, amely idegsejtek között, illetve ideg- és vázizom vagy ideg- mirigysejtek között alakulhat ki. A két sejtet a kapcsolódás helyén a szinaptikus rés választja el egymástól. Ebbe a kb. 250 nm-es réssbe ürülnek az idegi átvivőanyagok a preszínapszisból. A rés másik oldalán a kapcsolódó másik sejt posztzínapszisanak felszínén található azok a jelfogó molekulák (receptorok), amelyek az átvivőanyagokat megkötik, és a posztzínaptikus sejtben válaszreakciókat indítanak.

szingén – minden genetikai tulajdonságában azonos, például egypetűjű ikerpár tagjától nyerhető szövet.

szöveti (szomatikus) őssejt – a már kialakult, érett szövetben található, önmegújításra és az adott szövet sejtjeinek képzésére is alkalmas sejt. Minden szövetfeleségben megtalálhatók, de számuk a szövet megújulási sajátosságaitól függően változik. A vérképző szervekben, a bőr sejtermelő rétegében, a bélhámot termelő ún. kriptákban a számuk magas, míg a vázizomban és az idegszövetben alacsony.

TCF-4 – T-cell factor-4 – T-sejt faktor.

teloméra – a kromoszómavégeken található, ismétlődő részekből álló DNS-szakasz, amely nem kódol géneket. A sejt biológiai órájának tekintik.

telomeráz – az osztódó sejtekben a telomerek rövidülését meggátoló enzim.

terápiás célú klónozás – gyógyító céllal klónozott embriók létrehozása, melyek embrionális őssejt-forrásként szolgálnak.

teratokarcinóma – az ivarmirigyekben keletkező tumor, amelyben őssejtek és differenciálódott szövettípusok is azonosíthatók.

természetes ölóssejt (NK) – lásd NK sejt.

T-limfocita – a csontvelői hematopoetikus őssejtek limfoid leszármazottaiból a tímuszban fejlődő, antigénfelismerő limfociták, a celluláris immunválasz résztvevői. Antigén-specifikus aktiváció hatására osztódnak, és citokintermelő sejtekké differenciálódnak.

totipotens sejtek – az embrionális fejlődés során szükséges minden információt tartalmazó sejtek. A megtermékenyített petesejt, a zigóta első leánysejtjei *totipotens őssejtek*, belőlük intra- és extraembrionális szövetek (embriótest és embrionális burkok) egyaránt kialakulhatnak.

transzgenikus élőlény – genetikai anyagában mesterségesen megváltoztatott, új vagy megváltoztatott működésű gén bevitelével, illetve egy gén kicserélésével, vagy „kiütésével” (működésképtelenné tételével) létrehozott élőlény.

transzkripciós faktorok – a gének átíródását befolyásoló fehérjék, illetve azok komplexei.

trofoblaszt eredetű (Trophoblast Stem –TS) **sejtvonalak** – a *trofektoderma* sejtekből létrehozott sejtvonalak.

trofoblaszt, trofektoderma – az embrió korlátozott fejlődési képességű sejtjei, a külső magzatburkokat és a méhlepényt hozzák létre.

vektor – génbevitelre alkalmas hordozó molekula.

vérképző őssejtek (HSC) – élettani körülmények között a vérképzés sejtjeinek folyamatos pótlására képes sejtek. Transzplantáció után, csontvelői mikro környezetben, a vérképzés összes sejtjének kialakítására képes sejtek.

zigóta – apai és anyai homológ kromoszómákat tartalmazó megtermékenyített petesejt.

Sarkadi Balázs



Megemlékezés

A modern kísérleti látáskutatás megteremtőjét vesztette el a nemzetközi tudományos világ. Julesz Béla a Távközlési Kutató Intézet radarmérnökéként kezdte pályáját, majd az 1956-os forradalom során feleségével, Margittal, az Egyesült Államokba emigrált, ahol az AT&T Bell Laboratories (a mai Lucent Technologies Bell Labs) munkatársa lett. Ettől fogva teljes mértékig az emberi látás kutatásának, elsősorban a mélységészlelés és alakfelismerés problémáinak szentelte magát. Életét a New Jersey-beli Rutgers Egyetem nyugalmazott professzoraként, s az egyetem Látáskutató Laboratóriumának igazgatójaként fejezte be.

A Julesz Béla által kifejlesztett random-pont sztereogramok forradalmasították a mélységészlelés kutatási területét, és kutatók generációinak szolgálták inspirációul. Ezek a random-pontokból álló képpárok három dimenzióban megjelenő felszín érzetét keltenek a megfigyelőben. A képek egyenként, sztereoszkóp nélkül nézve pusztán értelmetlen ponthalmaznak tűnnek. A koherens háromdimenziós érzéklet azonban arra utal, hogy agyunk képes a két szembe érkező kép végtelenül pontos egyeztetésére, s hogy ehhez nincs szükség a látás magasabb, tudatos szintjeire, például alakfelismerésre. Ezzel Julesz új szemléletmódot alapozott meg, mely az alapvető kódolási és információ-feldolgozási folyamatok formális megközelítését, valamint ezek neuronális magyará-



JULESZ BÉLA

1928 – 2003

zatát helyezte előtérbe, és joggal tekinthető a látáskutatás 1960-as években bekövetkezett kopernikuszi fordulatának.

Julesz az általa „küklöpszí látásnak” nevezett, sztereó érzékletet létrehozó folyamatot 1971-es *Foundations of Cyclopean Vision* című könyvében ismertette. A mű a XX. század egyik legjelentősebb kognitív tudományi munkájának számít. Az utókor szerencséjére a szerző éppen be tudta fejez-

ni a könyv új kiadásához szánt előszavát. Az első mintegy harminc évvel követő új kiadás is igazolja, hogy a könyv azon ritka tudományos alkotások közé tartozik, melyek aktualitásán nem változtat az idő múlása.

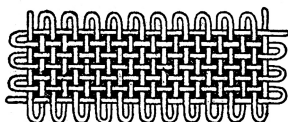
A küklöpszí látáson kívül a másodrendű statisztikában megegyező textúrák tanulmányozásával az ún. preattentív, vagyis figyelmet nem igénylő látási folyamatok terén szintén maradandót alkotott Julesz. Nagyszámú percepcióval kapcsolatos kísérleti munkáját és publikációját 1995-ben *Dialogues on Perception* című könyvében foglalta össze. Ez a könyv magyarul is megjelent *Diálogoók* címmel.

Perceptuális kutatásainak nagy részét Julesz a Bell Laboratoriesban végezte, ahol 1964 és 1982 között az Észlelési és Perceptuális Folyamatok Osztályának, 1983-tól pedig a Vizuális Percepció Kutatási Osztályának vezetője volt. 1989-ben nyugdíjba vonult a Bell Laboratories-ból, és mint

New Jersey állam pszichológia professzora a New Jersey Állami Rutgers Egyetemen megalapította a Látáskutató Laboratóriumot. Vendégprofesszorként más egyetemeken, például az MIT-n és a Caltechen is sok időt töltött. Tanítványai ma már több kontinensen folytatják a megkezdett utat, amely tág értelemben magában foglalja a modern látáskutatás egészét, szűkebb értelemben pedig azt a kis ösvényt, ami a kutatásban oly fontos „döntő kísérlet” keresését jelenti. Tudományos munkájának elismeréseként számos kitüntetést kapott, csak egy pár közülük: MacArthur Fellow Award (1983), Heineken Prize (1985) és a Karl Spencer Leshley Award (1989). 1983-ban a Magyar, 1987-ban az USA Tudományos Akadémia tagja lett.

Julesz az idegtudományok és a pszichológia művelőinek több nemzedékét terelte az agy működésének jobb megértése felé. Mindezt az ismeretlenbe indulók bátorságával, s az emberi értékekbe vetett hittel felfegyverezve. Amilyen hatalmas tudással és bizonyossággal tájékozódott a maradandó emberi alkotások, festmények, könyvek, zeneművek világában, ugyanolyan bizonyossággal volt képes első pillantásra megítélni egy tudományos elképzelés jelentőségét. A jelentőség lelkes (és lelkesítő) felismerésén túl persze mindig ott bujkált a másik oldal: gyakorlatias, realista és rendkívüli alaposágú kérdések egész özöne. Ezek nyomán jött azután létre a tökéletes vizuális inger, a tökéletes pszichofizikai feladat, a „döntő kísérlet”.

Kovács Ilona



Kitekintés

PENTAKVARK, MAGYAR RÉSZVÉTELEL

A 2003/10 számban, a *Kitekintésben* már hírt adtunk új egzotikus elemi részecskék, köztük az öt kvarkból álló pentakvark felfedezéséről. A CERN kutatóközpont friss eredményei megerősítették a Q+ pentavark létezését, és felfedeztek egy újabb, a korábbinál nagyobb tömegű pentakvarkot, ez a X részecske. A tudományos közleményt az NA49 kísérlet százfős kollektívája jegyezte, a szerzők között tizenöt magyar van, a KFKI Részecske- és Magfizikai Kutatóintézet (RMKI), az Atommagkutató Intézet és az Eötvös Loránd Tudományegyetem munkatársai. Egyikük, a fiatal Barna Dániel (RMKI), főszerepet játszott a felfedezésben.

A részecskefizika kísérleti megfigyelésekkel sokszorosan igazolt elmélete szerint az erősen kölcsönható elemi részecskék kvarkokból épülnek fel. A természetben hatféle kvark (és ezek antianyag párja) létezik, két-két kvarkból épülnek fel a mezonok, a barionok pedig, például a proton és a neutron, három összetevőből állnak. Elméletileg lehetséges ennél több kvarkot tartalmazó részecskék létezése is.

A CERN-ben a nagyenergiájú szuper-proton-szinkrotron részecskegyorsítónál az NA49 kísérlet keretében az anyag hajdanvolt ősi állapotát próbálják meg laboratóriumi körülmények között létrehozni. A világegyetem hajnalán, közvetlenül az ősrobbanás után a kvarkok még szabadok lehettek, csak később álltak össze mezonokká, barionokká. A laboratóriumban a folyamat fordítottjának megvalósítására törekszenek: a ma részecs-

kékbe zárt kvarkokat próbálják kiszabadítani. A kísérletekben ólom atommagokat ütköztetnek, az ütközésekben keletkező sokféle részecske tulajdonságait bonyolult észlelőrendszerek mérik és rögzítik. Az NA49 kísérletben az észlelőrendszer egyik fontos eleme az ún. „Budapest fal”, amelyet az RMKI-ban terveztek és építettek meg.

A pentakvark részecskét egy egyszerűbb kísérletben fedezték fel. Nagyenergiájú protonnyaláb ütközött egy protonokból álló hidrogén céltárgynak. A mérések során rengeteg adatot rögzítettek, ezek „szénakazlában keresték a tűt”, az új típusú részecskét. Először elméletileg konstruálnak egy pentakvark részecskét, majd azt elemzik, hogy a részecske milyen módon bomolhat el, az átalakulásoknak milyen megfigyelhető jellemzői lehetnek. A kísérletekben tehát nem magát a pentakvarkot észlelik közvetlenül, hanem a pentakvark bomlása, átalakulása során keletkező részecskéket. Az adathalmazban az adott feladatra írt számítógépes program keresi a szóba jöhető eseményeket, a hivatkozott esetben bevetett részecskerekonstrukciós program Barna Dániel munkája. Az analízist horvát kutatók végezték el, a napisajtóban a felfedezés az ő kizárólagos érdemükként jelent meg. A proton-proton ütközésekben olyan pentakvark részecske nyomára bukkantak, amely két „le”, két „ritka” kvarkot és egy „fel” anti-kvarkot tartalmaz.

Alt, C. et al: Observation of an Exotic $S=-2$, $Q=-2$ Baryon Resonance in Proton/Proton Collisions at the CERN SPS. *Physical Review Letters*. 8 December 2003

<http://de.arxiv.org/abs/hep-ex/0310014>
Anticic, Tome et al.: New Five-quark States
Found at CERN. CERN Courier. December
2003, 5. ([http://www.cerncourier.com/main/
article/43/10/1](http://www.cerncourier.com/main/article/43/10/1))

J. L.

TALÁLKOZÁSOK ÜSTÖKÖSÖKKEL

Január 2-án a NASA Stardust űrszondája a terveknek megfelelően berepült a Wild 2 üstökös csóvájába, és anyagmintát gyűjtött. Az 1999. februárban útnak indított műszer-együttes 236 km távolságban repült el az 5,4 kilométer átmérőjű üstökös mellett. A szonda ezután elindult hazafelé, 2006. január elején ér Föld-közelbe. Maga nem száll le, de egy ejtőernyővel leereszkedő kapszulában lejuttatja a mintákat az amerikai légierő Utahban lévő, sivatagos gyakorlóterepére. Ha a kapszula sikeresen földet ér, akkor a holdközvetek után ez lesz a második, laboratóriumokban vizsgálható földön kívüli anyagminta.

Az üstökösök a Naprendszer legkezdetelegesebb, legöregebb testei, anyagukban őrzik azt az ősi szoláris ködöt, amelyből valamikor a Naprendszer kialakult. Magjuk jégből, porból és más szilárd anyagokból áll, a jég nagyrészt vízjég, de találhatók benne jéggé fagyott gázok, például ammónia, metán, cían, szén-monoxid. A Naprendszer belsejében járva az üstökösanyagának egy része elpárolog, ebből keletkezik a látványos kóma, az üstökös csóvája. A bolygókba csapódott üstökösöknek szerepük volt az óceánok, a légkör kialakulásában, nagyobb üstökösök éghajlati változásokat is elindítottak, megváltoztatták a környezeti egyensúlyt. Az egész Naprendszerben az üstökösök a leggazdagabbak szerves molekulákban, ezért szerepük lehetett a földi élet kialakulásában is.

A Wild 2 üstökös újonc a Naprendszerben, ezért különösen érdekes a kutatók számára. 1974-ben úgy repült el a Jupiter mellett, hogy az óriásbolygó gravitációs tere megváltoztatta a pályáját, az üstökös a Naphoz közelebb vezető pályára tért át. Mostanáig mindössze ötször járt Nap-közelben, tehát kevés anyag párolgott el a magjából, nagyon közel áll az eredeti, ősi összetételéhez.

Az űrszonda tíz másodpercenként készített felvételeket. Az üstökös magja teljesen más képet mutatott, mint a korábban közelről tanulmányozott Halley- és Borelli-üstökös. A Wild 2 felszíne változatos, felszínén kör alakú, egy kilométer átmérőjű, becsapódási kráterre emlékeztető formációt és száz méter magas sziklafalat láttak a felvételeken. A felszínen geológiailag új és régi formációk keverednek.

A Stardust mintagyűjtő „porszívója” egy fantasztikus új anyag, a szilícium alapú aerogél, a világ legkisebb sűrűségű szilárd anyaga. Az űrbeli randevűknál lassúnak számító sebesség (22 ezer km/óra) is olyan nagy, hogy a befogott részecske becsapódási sebessége majdnem tízszer akkora, mint egy puskagolyóé, ezért olyan megoldást kellett találni, hogy a nagy erejű becsapódásnál ne változzon meg a porszemcske alakja, összetétele, ne párologjon el. A megoldás az aerogél csapda – az aerogél porózus, szivacsos szerkezetű anyag, térfogatának 98,9 %-a üres tér. Az aerogél szilícium alapú, alumíniumot és szenet is tartalmazó anyag, a szintén szilícium alapú üveg ezerszer sűrűbb nála. Az aerogélt már 1993-ban sikeresen kipróbálták az űrepülőgépek fedélzetén. A Stardust fedélzetén 1000 cm² porgyűjtő felületet alakítottak ki az üstököspor befogására, és egy másik ugyanekkora felületet a csillagpor számára.

A tervek szerint február végén (lapzártá után) indul hosszú útjára az Európai Űrtüregnökség Rosetta űrszondája, hogy 2014. novemberben egyik része az üstökös körüli

pályára álljon, másik része pedig leszálljon a Churyumov-Gerasimenko-üstökös felszínére. A jelentős magyar részvétellel folyó program ismertetésére visszatérünk.

A NASA 2004. decemberben indítja a Deep Impact űrszondát, ez 2005. júliusban a Tempel 1 üstököst keresi fel. Egy 370 kilogramm tömegű test zuhan majd az üstökös felszínére, és egy futballpálya méretű krátert hoz létre, az űrszonda műszerei elemzik majd a kilövellő anyagot.

Stardust Surprise (további hivatkozásokkal)
http://science.nasa.gov/headlines/y2004/16jan_stardust.htm#list71975
 Stardust Reaches Comet... Space News. 5 January 2004.
<http://www.space.com/spacenews/>
<http://spaceflightnow.com/news/n0208/07stardust/>

J. L.

TRANSZMUTÁCIÓ LÉZERREL

A nukleáris energiatermelés, az urán-ciklus ma legnagyobb problémája a hosszú felezési idejű radioaktív izotópokat tartalmazó nagy aktivitású hulladék kezelése. A biztonságos eltemetéshez geológiailag nyugodt rétegeket, területeket keresnek. Néhány éve intenzív kutatómunka indult meg a probléma más módon való megoldására: a hosszú felezési idejű atommagokat neutronokkal való besugárással rövid felezési idejűvé alakítják át, így a tárolás lényegesen leegyszerűsödne. A neutronokkal előidézett transzmutáció laboratóriumi szintű kísérletekben bevált. A szóba jöhető megoldások köre tovább bővült, megjelentek az első közlemények lézerekkel végzett sikeres transzmutációról. Brit és német kutatók a 15,7 millió éves felezési idejű jód-129 izotópot mindössze huszonöt perc felezési idejű jód-128 izotóppá alakították át. A brit Strathclyde, Glasgow és

Imperial College Egyetem és a Transzurán Elemek Intézete (Karlsruhe) munkatársai a kísérletben a Rutherford Appleton Laboratory petawatt teljesítményű Vulcan lézerét használták. A nagyintenzitású lézermagyaláb arany céltárgyra lőtték, a lézertér hatására az elektronok relativisztikus (a fénysebességet megközelítő) energiára gyorsultak föl. Ezt követően az elektronok lefékeződnek az anyagban, ezt gammasugárzás kibocsátása kíséri. Ezeket a gamma-sugarakat nyeli el a jód-129 atommagja, majd egy neutron kibocsátásával jód-128 izotóppá alakul át. A transzmutációhoz tehát többlépcsős folyamat vezet el: lézerimpulzus – elektronok felgyorsulnak – elektronok lelassulnak – gammasugárzás – atommagátalakulás. (Néhány műszaki adat: neodímium-üveg lézer, 0,7 picosec impulzushossz, 500 joule energia, 1 mm hullámhossz, 5,5 mm átmérőjű területre fókuszálva a céltárgyon 5×10^{20} W/cm² intenzitás érhető el.) Hasonló kísérletet végeztek el a Jenai Egyetem és Transzurán Elemek Intézete (Karlsruhe) kutatói is, a titán-zafir lézer tantál céltárgyra fókuszált nyalábjával ők is 10^{20} W/cm² intenzitást értek el, ugyanazt a jódátalakítást végezték el, mint a másik kutatócsoport. A kísérletek egyetemi tanszék méreteiben is végezhetőek, a jénai mérés mindössze 15 m² helyet igényelt. Ezért is vetődött fel egy újabb alkalmazási lehetőség gondolata: kórházakban a helyszínen lehetne lézeres transzmutációval előállítani a vizsgálatokhoz, kezelésekhöz szükséges rövid felezési idejű izotópokat.

Ledingham, Ken W. D. et al.: Laser-driven Photo-transmutation of ¹²⁹I—a Long-lived Nuclear Waste Product. Journal of Physics D: Applied Physics. 2003, **36**, L79–L82, CERN Courier. October 2003, 11. Laser Focus World. November 2003, 13-15. (www.laserfocusworld.com)

J. L.

A KAMASZOK AGYÁRA ÉS A HIGANY

Higannyal szennyezett hal vagy más tengeri ételek fogyasztása a kamaszok agyának fejlődését is gátolhatja – állapították meg a Harvard Egyetem Közegészségügyi Intézetének Philippe Grandjean vezetésével dolgozó kutatói. A kutatók már korábban is tudták, hogy a higany-metil felhalmozódhat a tengeri állatok szervezetében, és károsítja az anyaméhben fejlődő magzatot, azt azonban csak most bizonyították be, hogy a higany nagyobb gyermekek idegrendszerében is maradóan változásokat idézhet elő.

Grandjean és munkatársai a Dániához tartozó Faröer-szigeteken végeztek vizsgálatokat, mert a sziget híres arról, hogy az itt élők rengeteg tengeri halat és bálnahúst fogyasztanak. Körülbelül ezer, itt élő gyermek agyának elektromos tevékenységét vizsgálták a születéskor, hét évvel ezelőtt hétéves korukban, és most, tizennégy évesen. Bizonyos agytevékenységek már hétévesen lassúnak bizonyultak, és deficitjük mostanra tovább emelkedett, azaz az évek folyamán a gyerekek agyában tovább romlott ezen jelfeldolgozási rendszerek hatékonysága. Ezt is beleszámítva, eddig mindössze két nagy tanulmány született arról, hogy a higannyal szennyezett tengerből származó élelmiszereknek hosszú távon milyen egészségügyi hatásai vannak. A kutatók egyébként azt is megállapították, hogy a vérnyomás-szabályozásban is nehézségeket idéz elő ez a nehézfém. Az Egyesült Államok Táplálék- és Gyógyszerellenőrző Hatósága (FDA) jelenleg azt tanácsolja a várandós és szoptató kismamáknak, illetve a kisgyerekeknek, hogy a higanybevitel elkerülése érdekében ne egyenek például cápahúst, kardhalat és királymakrélát, mert a higany inkább a nagytestű állatokban halmozódik fel. Grandjeanék azonban hangsúlyozzák, hogy vizsgálati eredmé-

nyek legfontosabb üzenete, hogy ez kevés: a nagyobb gyermekeket is ugyanígy óvni kellene. Mások szerint azonban a Harvard kutatói a Faröer-szigeteken egy speciálisan táplálkozó, különleges népességet vizsgáltak, így az eredményeket nem szabad más populációkra is általánosítani.

Grandjean és munkatársai munkájukat egy gyermekgyógyászati folyóiratban közzölték, amelyről a Nature Science Online is beszámolt február 6-án.

A higany erodáló kőzetekből, illetve ipari tevékenységek nyomán, szénertőművekből, szemétegyütésekből kerülhet a vizekbe.

Grandjean, Philippe – Murata, K. – Budtz-Jorgensen, E. – Weihe, P. (2004): Cardiac Autonomic Activity in Methylmercury Neurotoxicity: 14 Year Follow-up of Faroese Birth Cohort. *Journal of Pediatrics*. February. 144, 2, 169–176. doi: 10.1016/j.jpeds.2003.10.058 (2004)

G.J.

A JÖVŐ: TÜKRÖZÉS HELYETT VÉR- TESZT

A vérben egy bizonyos fehérje mennyisége jelzi, hogyha valaki vastagbélrák szempontjából erősen veszélyeztetett. A Johns Hopkins Egyetem kutatói több mint ötszáz emberen folytatott vizsgálat során észrevették, hogy azok között, akiknek vérében sok van a gyulladáscsökkentő anyagokból szerepet játszó ún. CRP nevű fehérjéből (C-reactive protein) sokkal gyakoribb a vastagbélrák. A felfedezésnek, amely egy tekintélyes orvosi folyóiratban jelent meg, gyakorlati jelentősége is lehet. Elképzelhető, hogy segítségével meg tudják majd mondani, hogy kik azok, akik veszélyeztetettek, és érdemes rendszeresen részt venniük a fájdalmas és kellemetlen bél-tükrözéses vizsgálatokon.

Azt egyelőre nem tudják, hogy a fehérje és a béldaganatok jelenléte között milyen

összefüggés van. A kutatók feltételezik, hogy a CRP mennyiségének emelkedése az immunrendszer aktivitásának növekedését jelzi. Az immunrendszer reagálhat a bélben lévő rákmegelőző állapotokra, például a polipokra, és elindíthatja azok rákos elfajulását. Erre azonban még nincsenek bizonyítékok.

Egyes szakemberek szerint ezen eredmények alapján érdemes lenne most azt vizsgálni, hogy azok a gyógyszerek, amelyekről az elmúlt években bebizonyosodott, hogy rendszeres szedésük csökkenti a bélrák kockázatát – ilyen például az aszpirin és más nem-szteroid gyulladáscsökkentők – befolyásolják-e a CRP mennyiségét a vérben.

Erlinger, Thomas P. – Platz, E. A. – Rifai, N. – Helzlsouer, K. J. (2004): C-reactive Protein and the Risk of Incident Colorectal Cancer. *Journal of the American Medical Association*. **291**, 585-590

G. J.

JÁTÉK A GÉNEKKEL?

Halolajat termelő, genetikailag módosított egereket hoztak létre a Harvardon Jing Kang vezetésével. Ez az első olyan emlős, amely képes a rendkívül egészséges omega-3 zsírsav termelésére. A makrélában, lazacban, heringben jelentős mennyiségben termelődő telítetlen zsírsav javítja a vérkeringést, csökkenti a gyulladással járó folyamatokat, és egyes adatok szerint daganatellenes hatása is van. Csakhogy keveset fogyasztunk belőle.

A kutatók távlati célja olyan génmanipulált háziállatok létrehozása, amelyek tejükben, vagy húrukban nagy mennyiségben tartalmaznak az omega-3 zsírsavat. Következő lépésként halolajat termelő csirkét akarnak „konstruálni”.

Kang, Jing X. – Wang, J. – Wu, L. – Kang, Z. B. (2004): Transgenic Mice: Fat-1 Mice Convert N-6 to N-3 Fatty Acids. *Nature*. 05 February, 427, 6974, 504.

Jéki László – Gimes Júlia



Könyvszemle

Szabó Tibor:

Megkezdett öröklét

Dante a XX. századi Magyarországon

Több szempontból is nehéz bemutatni egy olyan könyvet, amely önmaga is arra vállalkozik, hogy más könyvek, tanulmányok, művészi feldolgozások hű tükré és lajstromba szedője legyen. Szabó Tibor közelmúltban megjelent kötete a 20. századi magyarországi Dante-recepció történetét kívánja – bevallottan is – a teljesség igényével az olvasó elé támi.

Mielőtt közelebről megvizsgálánk munkáját, majd egy évszázadot vissza kell mennünk az időben. 1911-ben ugyanis megjelent egy tanulmánykötet Kaposi (Klein) József tollából, *Dante Magyarországon* címmel, melyben a nagy magyar dantológus részletesen beszámolt Dante hazai befogadásának szinte minden lényeges és lényegtelen mozzanatáról. Noha műve immár szinte csak a nagyobb könyvtárak raktáraiban lelhető fel, mégis, aki ma valamit meg szeretne tudni a korabeli magyar Dante-fordításokról (voltak szép számmal!), tanulmányokról, könyvekről, dantei ihletésű képzőművészeti vagy zenei alkotásokról, nem tehet mást, mint hogy fella-pozza Kaposi József könyvét. A látszólag szerény, mások munkáit egyszerűen felsoroló és nagyon röviden értékelő gyűjtemény így válik megkerülhetetlen hivatkozási alappá, a magyar Dante-kutatás és -ismeret elévülhetetlen repertóriumává.

Szabó Tibor maga is „alapkönyvként”, saját kutatásának „száz évvel korábbi előzményeként” hivatkozik Kaposi munkájára.

Amikor tehát a most megjelent kötetet vesz-szük kezünkbe, óhatatlanul vissza kell nyúlnunk a nagy előd munkájához, s el kell mondanunk, hogy Szabó Tibor könyve méltó folytatása Kaposi úttörő vállalkozásának. Valószínű persze, hogy a *Megkezdett öröklét* sem fogja ugyan vezetni a könyveladási listákat, viszont az is könnyen prognosztizálható, hogy – miként Kaposi könyve – évtizedek múltán is komoly haszonnal forgatható kézikönyvként lesz számon tartva. Olyan munkával van ugyanis dolgunk, amely nem tűz ki más célt maga elé, mint hogy precízen, pontosan, összefogottan összegyűjtse mindazt, amit az utóbbi száz évben magyar kutatók, művészek, zenészek Dante kapcsán fontosnak véltek elmondani vagy megalkotni. Ebből következik, hogy a könyvet lapozgatva egy óriási adathalmazban találjuk magunkat, amelyből könnyen kiszemezgethetjük a számunkra érdekes tényeket, s bizony néhol igen meglepő összefüggések tárulnak szemünk elé. Azt is mondhatnánk, hogy egy magyar Dante-enciklopédia született Szabó Tibor jóvoltából – egy valódi enciklopédia összes előnyével és persze hátrányával.

Egy effajta repertórium létrehozása mindenekelőtt kitarató, szívós és alázatos kutatómunkát kíván: Szabó Tibor műlhatatlan érdeme, hogy szinte válogatás nélkül mindent összegereblyézett, ami Dante művével és személyével kapcsolatban napvilágot látott hazánkban az elmúlt évszázadban. A könyv végére illesztett irodalomjegyzék több száz tételének összeállítása már önmagában is értékesé teszi munkáját. De szerzőnk ezen bibliográfiai tételek mindegyikéről a főszövegben rövid összefoglalást közöl; tudomá-

nyos tanulmányok és könyvek esetében idézi a legfontosabb megállapításait, megvilágítja gondolatmenetüket, míg a dantei ihletésű irodalmi, képzőművészeti vagy zenei alkotásokról rövid ismertetést közöl. Valószínű azonban, hogy Szabó Tibornak mégsem a kutatómunka és az ismertetések megszövegezése okozta a legnagyobb fejtörést könyve megírásakor. A hatalmas, mind minőségileg, mind mennyiségileg rendkívül heterogén forrásanyagot rendszerezni kellett, a Dante-tanulmányok és műalkotások kusza halmazát egy mások számára is követhető szárla valamiképp mégiscsak fel kellett fűzni. A kétszázötven oldalnyi adathalmazt tematikusan, illetve az adott témakörökön belül kronológiai sorrendben találja elénk a szerző. A könyv ennek megfelelően négy nagy fejezetre oszlik: egy rövid bevezetést követően először a Dante-fordításokról, valamint fordításkísérletekről olvashatunk (17-61.), majd a tudományos kutatás létrehozta, s szerzőnk szerint alapvetően „vallásos”, illetve „laikus, evilági” interpretációkra osztható Dante-értelmezések kerülnek terítékre (63-153.). A harmadik fejezet a művészi recepció bemutatását célozza: olyan irodalmi, képzőművészeti, zenei, drámai, sőt televíziós és rádiós alkotásokat ismerünk meg, melyek valamiképp Dantéhoz köthetőek (155-198). Negyedikként a hazai oktatás Dante-képét bemutató, valamint a magyar és külföldi dantisztika kölcsönhatásairól írott fejezet zárja a kötetet (199-227.).

Az így összeállt munkának persze vannak gyenge pontjai is. Ezek persze nem Szabó Tibor feldolgozásának gyengeségei, inkább az általa választott tudományos tárgyalás óhatatlan velejárói. Egy alapvetően leíró jellegű, teljességre törekvő repertórium nem igazán tudja súlyozni az általa bemutatott tételeket. Vagyis amikor mindent be szeretnénk mutatni, nem lesz módunk arra, hogy a valóban jelentős Dante-tanulmányokat súlyuknak megfelelően kiemeljük a kevésbé megha-

tározó írások sokaságából. Csak egy példát említenék. A közelmúltban két igen jelentős Dante-tanulmánykötet látott napvilágot Pál József („*A silány időből az örökkévalóba...*”, JATEPress, Szeged, 1997) és Kelemen János (*A Szentlélek poétája*, Kávé Kiadó, Budapest, 1999) jóvoltából. Noha teljesen eltérő módon, mindketten a dantológia egyik legvitatottabb, évszázadokon átívelő kérdését, a dantei költészet és bölcelet, a poézis és a szent doktrína viszonyának mibenlétét tárgyalják. E nemzetközi mércével mérve is kimagasló munkák ismertetése egy-egy oldal terjedelmet kap az előttünk lévő könyvben, éppen annyit, amennyit az a három – valljuk be, kérdésfeltevésükben sem túl érdekesítő – tanulmány, melyek a *Pokol* sorainak számát kutatják.

Hangsúlyozom, mindez inkább a választott kritikai műfaj következménye, miként mindezzel összefüggésben az is, hogy az egyes Dante-írásokról Szabó Tibor a legritkább esetben közli saját vagy a tudományos közvélemény vélekedését. Hű krónikásként mindent lejegyez, a véleményalkotás lehetőségét meghagyja olvasóinak.

A munka egyetlen valódi hibája, hogy noha a teljességre tör, néhány fontos adat mégsem került be az egyébként valóban impozáns listába. Itt is csupán egy példát hozok. A Szabó Tibor által is ismertetett Helikon Dante-szám egyik egységét a *Pokol* 26. énekéről írott interpretációk képezik, s ezek között, a legismertebb dantisták tanulmányai mellett szerepel a magyar Hoffmann Béla rendkívül színvonalas dolgozata is. Ám e munkáról a könyvben semmit nem tudunk meg, s a bibliográfiában sem szerepel tételként. Ilyen kifogásokat ugyanakkor könnyű megfogalmazni, hiszen egy több száz tételes adatbázis létrehozásakor szinte óhatatlanul kimaradnak, elvésznek dolgok. A recenzens viszont nem mehet el szó nélkül mellettük.

De végső elemzésben mégis miről tudósít, mit dokumentál ez a kötet? Már maga az a

tény, hogy meg lehetett írni egy ilyen összegzést, azt sugallja, hogy a hazai Dante-kultúra erős bázisra tekinthet vissza, s hogy Magyarországon Danténak van egy nem túl kiterjedt, mégis értő olvasótábora. Egyet kell értenünk ugyanakkor a szerző konklúziójával, mely szerint „nagyrészt csak a művelt rétegekhez jut el hazánkban a költő-filozófus-teológus Dante” (228.). Hogy a szélesebb közönség

is megismerje és megszeresse a nagy firenzeit, még számos munkája akadna a magyar italianisztikának. Hiányoznak az elméleti összefoglalók, Dante-monográfiák, valamint a költő életművének mélyebb megértését szolgáló kommentárok. Hiányérzetünket azonban mindenképp mérsékli Szabó Tibor most megjelent munkája.

Mátyus Norbert

Fogalmi rend és nyelvi történet

Indokolt-e, s ha igen, milyen eredményre vezethet az összevetés József Attila esztétikai töredékei és Hans-Georg Gadamer filozófiai hermeneutikája között? A kérdés felvetődése és a korántsem magától értődő felelet kimunkálása a 2000 áprilisában Miskolcon megtartott, József Attila életművének újraolvasását célul kitűző konferenciához köthető. Az alkalmat, amelynek hatására Fehér M. Istvánnak a gadameri gondolatvilág irodalomtudományi jelentőségéről tervezett előadása előbb témájában módosult, utóbb önálló kötetűvé növekedett, úgyszólván véletlenül adódóként írja körül a *József Attila esztétikai írásai és Gadamer hermeneutikája* című végleges változat *Bevezetése*. A nagy ívű, egyszersmind érvmenetében és stílusában egyaránt a beszélgetés jegyeit hordozó tanulmány szerkezetét az eredeti elképzelés „menetközben” történő átalakulása mint történet-jellegénél fogva valódi hermeneutikai tapasztalat alakította (vö. 13-14.). Az elkészült könyv a hermeneutikai művészetfelfogás bemutatását (I. fejezet), majd a „József Attila művészetelméleti írásai és az esztétika hermeneutikai horizontja” közötti összefüggések és párhuzamok (II. fejezet) illetve eltérések és szembenállások (III. fejezet) végiggondolását követően arra a kérdésre keres választ, hogy mivel magyarázhatók a felmutatott párhuzamok

és eltérések (IV. fejezet); végül rendszerező igénnyel von le néhány lényeges következtetést két lépésben: előbb „irodalmi szöveg és filozófiai szöveg” viszonyát taglalva, elméleti kitekintés formájában (V. fejezet), majd egy, a zárszó szerepét is betöltő, Martin Heidegger Friedrich Hölderlin költészetéhez fűzött magyarázatainak beszédmódjára reflektáló eszme-futtatás erejéig.

Közvetlen hatás természetesen egyik irányban sem feltételezhető Gadamer és a magyar költő között. Benedetto Croce a II. világháború idején legalább egy kései tisztelgés erejéig viszonzozhatta azt a figyelmet, amellyel esztétikáját József Attila művészet-metafizikai töprengése kitüntette; utóbbi párbeszédét az esztétikai tudat gadameri kritikájával azonban már csak a hatástörténeti rekonstrukció munkája hívhatta létre. A jóindulatú rávetítés utólagosságához férfköző kételyre s az óhatatlanul felmerülő kérdésre, hogy ti. „nem követelünk-e túl sokat egy fiatal költőtől, amikor Heidegger- és Gadamer-szerű úgymond »szakfilozófusokkal« állítjuk párhuzamba” (121.), Fehér M. a József Attila-filológiára hivatkozva ad a költő spekulatív tehetségét méltató választ (vö. 122.). A filozófusi illetékesség elismertetésénél fontosabb azonban a szerző ama meggyőződésének következetes érvényesítése, hogy a párhuzamok és különbségek nem pusztán egy kivételesen mozgékony ifjú elme önkéntelen találatai. Ha a feltárt szöveghelyek nem élet- és művelődésrajzi adatokkal kimutatható hatás folytán (mintegy metonimiku-

san), de nem is a különbözők együtt- vagy együvéllátása következtében (szövegeken túli metaforikus teljességet sugallva) kapcsolódhatnak Gadamer eszmeiségéhez, akkor e kapcsolódás az előfeltevések folyamatos elmozdulásában folytatódó, lezáratlan dialógus figurája szerint írható le. A hatástörténet eseményei a művészet-filozófia-élet fogalomhármasa kijelölte vonatkozásrendszer (vö. 68. kk.) meg gondolásának eleven hagyományán belül következnek be, s nem másként, mint a *beműik* formálódó utókor *általuk* is létrehívott horizontjában válnak megragadhatókká. Fehér M. István könyve ebbe a dialogikus beszédtörténetbe kapcsolódik be, amikor, miután ismertette az újkori esztétika előfeltevéseire irányuló gadameri bírálatot, a belőle merített szempontokat – annak a hangsúlynak megfelelően, melyet az *Igazság és módszer* az alkalmazás műveletére helyez – azonnal munkába is állítja. Gadamer hermeneutikája azáltal, hogy visszaperli a művészet megismerésértékét (vö. 100.), „jelentős magyarázóerővel rendelkezik számos korabeli törekvés – alkalmasint önmaga előtt sem tudatosított – elméleti kiindulópontja számára” (133.); ezért válhat a József Attilánál rendre „felvillanó” hermeneutikai távlat észlelésének inspirációs forrásává (vö. 89.).

Fehér M. István a *Töredékek* bevezető mondataira felügyelve méri fel a vizsgálódás tartományát, s választja kiindulópontul az alábbi idézetet: „míg szemléletünk a maga valóságos lényegében ragadja meg a művésziényt, addig a művészetről való fogalmaink zavarosak” (17., vö. 18.). Az idézethez fűzött kommentár előbb a főmondathoz kapcsolódva bont ki „elméletörténeti vázlatot” (34.), körülményezve Gadamer álláspontját, mely szerint „az esztétikai megkülönböztetés” a valóságtól elkülönült szférát létesít, és a világidegen (valótlanított) műalkotásnak készít helyet. Ezután fordul az egybehangzások felé, s tér ki egyebek közt az *előzetes*

megértés fogalmának megfelelőire, kivált pedig a Gadamer megértésmo delljében heurisztikus fontosságú *játék* József Attilánál is azonosítható ontológiai jelentésére. A hermeneutikai művészetfelfogás elemzése ugyanakkor utat nyit az esztétikum öntörvényűségének állításában rejlő ambivalencia megfontolásához. A párhuzamok és eltérések filozófiatörténeti összefüggéseit mélyebben feltáró *IV. fejezet* kettős perspektívában, az előzmények meghatározó súlyát és továbbgondolhatóság irányait, a metafizikai tradícióhoz való kötődés kitaró megnyilvánulásait és a határszegésre indító hermeneutikai sugallat jeleit egyidejűleg mérlegelve teszi hozzáférhetővé a József Attila esztétikai gondolkodását is formáló szellemi közeg hatását. Lukács heidelbergi kézírataiban a műalkotás „öntörvényű mikrokozmosz”-ának hangoztatása (idézi F. M. I., 140.) – s ezzel együtt a művészetfilozófia emancipációja – egyrészt alkalmasnak látszott a valóságvesztés visszafordítására, a látszat, az önkény, a tetszés, a kikapcsolódás világába utalt művészet (vö. 33.) saját *léjogának* később Gadamerrel kiterjesztő megalapozására, de éppígy az esztétika „metafizikai hiposztázálásának” meghaladására is. Másrészt viszont az egymást „kölcsonösen és intenzíven” átható logikum és esztétikum képzetének lukácsi elmarasztalása végső soron az igazság és a szépség különválasztását erősítette meg, igazolva Gadamer kritikai észrevételét: „az autonómiájáért harcoló esztétika föladta a művészet tapasztalatában rejlő igazságigényt, önként kivonult a megismerés- s igazságigény területéről” (140.).

Az élményesztétikával szembe forduló Lukács korai írásainak vizsgálata teremti meg azt a háttérrel, amely előtt élesebben exponálható az esztétikai töredékeket a hermeneutikai művészetértéstől elválasztó elvi különbség oka. A fiatal költő-filozófus crocei közvetítésű elkötelezettsége az ismeretelméleti kettőzés metafizikai-antropológiai

hagyománya iránt – azaz érzéki és racionális, szemlélet és fogalom (az esztétikai töredékekben: *intuíción* és *fogalom*) szembenállásának elfogadása – mindössze azt teszi lehetővé, hogy a hermeneutikai látásmód, mely a „tisztá” szemléletet eleve a megértésbe gyökereztetni és abból származtatja, csak József Attila „szisztematikus törekvései *peremén*” bukkanjon föl (115.). A rögzült képleten azonban túlmutat gesztusa, mellyel a szintetizáló *ihletet* mint „a szemlélet és a gondolat ellentétében való egység”-et (idézi F. M. I., 119.) hamadikként odaemeli a hagyományos megismerésformák dichotómiája mellé. Alighanem ez a mozdulat világhítható meg leginkább olyan eseményként, amely töredékben maradt elméleti munkásságát a hermeneutikai gondolkodás modern történetének összefüggésében teszi értékelhető-

vé, s amelynek felismerése a *lírai* életmű újraolvasását is befolyásolhatja. E költészet vonatkozásában ugyanis a Beney Zsuzsa szerint „komplexitásukban lefordíthatatlan darabok”-kal való szembesülés jelenleg is élő kérdést hordoz. Márpedig a vers „rejtélye” nem kutatható a modernség ama fejleményének tudatosítása nélkül, amelyek során a filozófiai beszéd ráeszmél saját fogalmainak nyelvinségére és az irodalom értelemteremtő médiumának megkerülhetetlenségére. Vagyis a léttapasztalat nyelvi metamorfózisainak arra a következményére, hogy – Fehér M. István summázatával – „ha megváltozik a szó, megváltozik a dolog” (190.). (*Fehér M. István: József Attila esztétikai írásai és Gadamer hermeneutikája. Irodalmi szöveg és filozófiai szöveg. Pozsony, Kalligram, 2003*)

Mártonffy Marcell

Áldozat és szenvedély – tudó-sportrék.

Szerkesztette Szirtes Gábor

A könyv tizenöt interjút tartalmaz. Mindegyikük alanya tagja a Magyar Tudományos Akadémiának, és valamiképpen kötődik Pécshez, a Pécsi Akadémiai Bizottsághoz: vagy a Pécsi Tudományegyetem tanára vagy a Kaposvári Egyetemen keresztül – amely a pécsi régióban helyezkedik el – kapcsolódik a bizottsághoz, illetve a pécsi tudományossághoz.

A tizenöt tudós közül nyolc, a többség (ha Hámori Józsefet is – joggal – ideszámítjuk) orvos (sőt Borhidi Attila botanikust is ideszámítva, úgy fogalmazhatunk, hogy kilencen a biológiai és orvosi tudományok területén dolgoznak), négy az agrárterületről kerül ki, és csak egy, Ormos Mária történész a humán és társadalomtudományok területéről. Ez a megoszlás nagymértékben jellemző a pécsi tudományosságra, amely különösen erős az orvostudományokban. A kötetben szereplő orvostudósok annak a nagy nemzedéknek

a neveltjei, amelyet többek között Lirsák Kálmán, Szentágothai János, Könyey István, Kerpel-Fronius Ödön, Romhányi György neve fémjeléz.

Az egyes interjúkat rövid, az interjúalanyra, illetve legfontosabb adataira vonatkozó rész vezeti be. Ez a különböző esetekben annyira nem „standardizált”, hogy előfordul, még a szóban forgó személy születési éve sem derül ki belőle.

Az interjúkban, amelyeket egyébként három személy: Cseri László, Kozma Ferenc, Méhes Károly Gyula vett fel, az ilyen esetekben szokásos kérdések szerepelnek: a megkérdezett szakmai érdeklődéséről, eredményeiről, de magánéletéről, szórakozásairól is. Mindezekből általában igen érdekes olvasmányos anyag alakul ki. Ezekre, illetve a könyvben szereplő tudósok mindegyikének életére jellemző az, ami a könyv címében szerepel: áldozat és szenvedély.

Az interjúk közül nehéz lenne egyiket vagy másikat kiemelni. Inkább az ismertett eredmények közül két olyan megállapítást

idéznek – annak jellemzésére, hogy az interjúkban mennyire nem csak személyes vonatkozások szerepelnek –, amely a közhiedelemmel, a társadalomban meggyökerezett felfogással ellentétben áll.

Az egyik a sokat szidott peszticidekre vonatkozik, a másik a radioaktív sugárzásokra. „A peszticidek használata teszi lehetővé a termésbiztonságot és az éhínség elkerülését, túlzott háttérbe szorítása pedig növeli a terményekben és élelmiszerekben felhalmozódó mikotoxinok – gombák által termelt mérgező anyagok – által előidézett humán- és állategészségügyi problémákat.” (Horváth József) „...a sugárhatás mértékét vizsgáltuk az emberi szervezetben. A legfontosabb eredményem ezen a területen, hogy az igen alacsony sugárdózis nem károsít, ugyanis az volt eddig az alaptétel, hogy a legkisebb sugárzás is káros. A káliumos oldattal megállított békaszívet radioaktív izotóppal meg lehet indítani, vagyis a sugárzás ingerként is hat. A zöldeknek, akik megijednek egy kismértékű radioaktív sugárzásnövekedéstől, fogalmuk sincs erről. Pedig a sugárzást lehet a legpontosabban mérni úgy, hogy egyen-

ként számlálom az elektronok, kvantumok számát. Amikor Csernobil után a tejben mértek 400 impulzus/szekundumot, attól nagyon megijedtek. Pedig az emberben lévő természetes kálium 4000 impulzus/szekundum béta-sugárzást ad le. Egymást sugározzuk kölcsönösen, s ez bizonyos mértékig hozzájárul az életműködéshez. És még mindig sokan elfogadják azt a tantételt, hogy még a legkisebb radioaktív sugárzástól is félni kell, mert a zöldek tudatlanságból ezt tanítják.” (Tigyi József)

Meg kell állapítanunk, hogy a Pécsi Akadémiai Bizottság és a Pannónia Kiadó nagyon fontos feladatot teljesített az interjúkötet közreadásával, mert ahogy Vizi E. Szilveszter, az MTA elnöke a bevezetésben megállapítja: „A tudósportrékból, tudósokkal készített interjúkból álló kötetek elsődleges célja reflektorfénybe állítani az alkotó embert a szakma, a szűkebb társadalmi környezet és a nagyközönség előtt.” (*Szintes Gábor (szerk.): Áldozat és szenvedély – tudósportrék. Az MTA Pécsi Területi Bizottsága – Pannónia Kiadó, Pécs, 2003*)

Berényi Dénes

A külső szakértő szemével némely égető orvosi kérdésekről – Bárdos György tankönyvnek „álcázott” hasznos vademecumja a testi bajok lelki összefüggéseiről

Bárdos György, országosan ismert agybiológus szerző, viselkedéskutató, szokatlan könyvet írt hallgatói számára az emberi belső szervrendszerek magasabb agyi kapcsolatairól. Rendhagyó kötet, mert – a szerző bevallása szerint – sem nem orvosi, sem nem pszichológiai, de még csak nem is biológiai jellegű munka, hanem napjaink nyomasztó gondjáról, az ember lelki életének testi összefüggéseiről olvasmányos stílusban régebbi és újabb gondolatokat ötvöz. Mэгhozzá

egyáltalán nem az orvosi hivatás és szakma beavatott és sokszor elfogult művelőinek szemszögéből, hanem a viselkedéselettanban és az orvosi pszichológiában egyaránt otthonosan tájékozódó, művelt biológus nézőpontjából. Ez a friss, néha rácsodálkozó szemlélet olyan súlyos, határterületi kérdéseket boncolgat, amelyekre a közelmúlt és a jelen orvosképzése alig, vagy csak igen szórványosan világít rá. Ezek közül a sarkalatos problémák közül kiemelendő az ún. pszichoszomatikus orvoslás témaköre, amely még ma is jobbára mostohagyermek a klinikai medicinának.

Az ízléses nyomású könyv bevezetése rögtön néhány, a továbbiakban részletes kifejtésre kerülő, alapfogalmat tisztáz. Maga a munka három nagyobb részt foglal magába, ezeken

belül kilenc fejezetre és számos alfejezetre tagolódik. Az első nagyobb rész a biológiai alapokat, a második a lelki és a vegetatív jelenségek összefüggésrendszerét, a harmadik pedig e kölcsönhatások kórtanát állítja a középpontba. E részekben belüli kilenc fejezet mindegyikét, modern tankönyvhöz illően rövid áttekintés fejezi be, még hozzá „box”-szerű keretbe zártan.

Az első fejezet a zsigeri érzékelésről szól. Még manapság is eléggé hézagosan ismert terület az orvosi gondolkodásban. Maga a szerző annak idején ezt a témakört behatóan és sikeresen kutató közösség tagjaként indult tudományos pályáján, így nem véletlen, hogy a belső szervekből kiinduló információk sorsát méltó módon, kellő súllyal tárgyalja. A második fejezet az agyból a zsigerekhez futó vegetatív pályákat és központokat ismerteti, ezt a tematikát a hagyományos tankönyvek is bőven kimerítik. Itt viszont az újban nagy jelentőségűnek tartott bélidegrendszerrel olvashatunk friss adatokat és nézeteket.

Kissé hiányérzetet keltő, de korrekt a munka harmadik fejezete, amely a szervezet vegyi háztartásáról, jobbára a védelmet szolgáló immunrendszerrel szól. Hatalmas, ma már teljesen különálló diszciplína ez, amelynek még vázlatos ismeretanyaga is óhatatlanul túlnövi egy ilyen kis kézikönyv kereteit. Bárdos György ezt a nehézséget láthatóan felismerte, ezért mondanivalóját az immunkészülék és a belső elválasztású hormonhálozat kapcsolatára összpontosította.

A munka negyedik fejezete már átvezeti az olvasót a szerző gondolatmenetének fő magvához, a belső háztartás egyensúlyának, az ún. homeosztázisnak taglalásához. Ez az orvosi szempontból is fontos jelenségkör, lényegét tekintve, a vegetatív idegrendszer és az imént említett hormonális készülék együttműködéséről szól. Az ötödik fejezet logikus folytatása ennek a neuroendokrin szabályozásként is számon tartott tevékenységnek: nevezetesen a humán motivációk és

az emberi érzelmek óriási témaköre rövid és tömör vázolását foglalja magába. Szerző okfejtése itt is világos, legfeljebb a fejezet belső arányaival lehet problémánk: az emocionális jelenségek tárgyalása a motivációk rovására jobban sikerült. Talán előnyösebb lett volna e két rokon tevékenységet külön-külön alfejezetben görcső alá venni.

A könyvnek mintegy a fele terjedelmét kitöltő harmadik rész, a maga négy fejezetével és számos alfejezetével tulajdonképpen a munka gerincét alkotja: joggal kapta *A pszichovegetatív kölcsönhatások patológiája* címet. Hiszen, mint e recenzió elején már szó volt róla, főképpen a betegségekről szól a kötet. Egy kívülálló szakértő mond véleményt a medicina egyik legvitatottabb kérdésköréről, a belső szerveknek az ember pszichikus szférájával való kölcsönös kapcsolatáról. Megjósolható, hogy ez a harmadik rész váltja majd ki az olvasók, főképp a hallgatók legélénkebb érdeklődését. Egyben esetleg provokálhatja némely konzervatívnak minősíthető orvosok elhatárolódását is.

A hatodik fejezet, a maga sokrétű, egy-mással sokszor ütköző felfogásainak ki-egyenlítői törekvéseivel sok hívet, de több ellenzőt is toborozhat. Gondolok itt például a különböző, egymást kizáró családmódellek vagy a különféle „megküzdési” stratégiák leírása nyomán kialakuló helyeslő avagy kételkedő vélekedésekre. Hasonló kétarcú mondanivalót tükröz a következő, hetedik fejezet is, amely *A pszichoszomatikus betegségek jellegzetességei* címet viseli. Ebben a fejezetben Bárdos György behatóan tárgyalja a közkeletűen „pszichoszomatikus”-ként jelölt kórképek némelyikét, így a magas vérnyomás betegséget, a gyomor-nyombélfekélyt, az irritábilis vastagbélbántalmat stb. Mindezeket szociokulturális keretbe foglalja, anélkül azonban, hogy megfeleledkezne egyéb, lényeges kóroktani tényezőkről, mint az életmódbeli és egyéb rizikófaktorok, bakteriális fertőzések, és egyebek.

Az avatott viselkedéskutató szerző nagy részletességgel nyúl a munka nyolcadik, utolsó előtti fejezetében a gyógyítás kényes kérdéséhez. Miután kifejti a hagyományos orvosi eljárások korlátozott eredményeiről alkotott nézeteit, sorra veszi a legerjedtebb pszichoterápiás módszereket. Nevezetesen a visszajelzéseken alapuló ún. *biofeedback* tréninget, az izomlazításon nyugvó relaxációs módszereket, valamint a legkomplexebb „életmódterápiákat”. A tankönyvzáró 9. fejezet szinte filozofikus, töprengő, személyes hangvételű írás, bevalottan Bárdos György egyéni felfogásának tükrö. Lényegében derűlátó látásmódja szerint sok betegség kialakulásának legfőbb pszichikus okát a lelki nyugalom, a kiegyenlített

személyes és társas harmónia eltolódásaként lehet jellemezni. Zárógondolatként az egyéni önépítésen és a szociális viszonyok sokféleségének elfogadásán alapuló összhang szakadatlan ápolását ajánlja a lelki egyensúly alapkövetelményeként. Ez egy könnyen la-pozgatható, optimista *vademecum*, hasznos, hiánypótló kézikönyv. Olvasmányos tankönyv, amely a maga név- és tárgymutatójával, bőséges irodalmával, világos vázlatrajzaival komoly sikerre számíthat a hallgatók és más, kíváncsi, nyitott érdeklődésű olvasók körében. (Bárdos György: *Pszichovegetatív kölcsönhatások*. Scolar Kiadó, 2003. 350 p).

Ádám György
az MTA r. tagja

Sipos Lajos: *Babits Mihály*

Biográfiát írni – egy teljes élet történéseinek pontos feltárását vállalva – emberpróbáló feladat. Irodalomtörténeti biográfiát írni – amely az előzőeken túl még megköveteli az *oeuvre*, a kiadvány- és recepciótörténet, az irodalmi hatás- és kapcsolatrendszer teljes ismeretét is – még több és nehezebb munkát jelent. Babits Mihály biográfiáját megírni – ismerve az életmű szokatlan nagyságát és változatos-ságát, az élettények sokaságát, a homályban lévő, vitatott és tisztázatlan kérdések számát, a társadalmi szerepek sokaságát, személyisége megítélésének korabeli és későbbi ambivalenciáját – már szinte lehetetlen vállalkozás. Csak az vállalhatja, aki évtizedeken át ezzel a hatalmas életművel és annak létrehozójával foglalkozott. Jó, hogy az is vállalta: Sipos Lajos, az ELTE BTK tanára, Babits műveinek kritikai sorozatában a levelezés-, dráma-, próza- és tanulmányköteteket összeállító kutatócsoport vezetője, a kritikai kötetek és a Babits-könyvtár főszerkesztője.

A vállalkozás nagyságáról és indokoltságáról mindennél többet mond, ha elsőként a források fejezetét üjtjük fel, a felhasznált irodalom listáját. Az irodalomjegyzék 119

tételt tartalmaz. A legkorábbi, Bóhm Vilmos: *Két forradalom tüzeiben* című írása, 1923-ban jelent meg Münchenben. Ezt követik a Babits-émlékkönyv írásai 1941-ből, majd azon irodalomtörténészek munkái – mint Rába György, Belia György, Éder Zoltán, Apró Ferenc, Téglás János, Csányi László, Gál István és a tárgyalt kötet szerzője –, akik vállalták a polgári, a katolikus Babitscsal való foglalkozás ódiáját. A források további csoportját a szekszárdi kutatók munkái, majd a centenáriumi körül megjelent szövegkiadások és tanulmányok képezik. A legfrissebbek és talán a legfontosabbak a kritikai kiadásra szerveződött két kutatócsoport munkái: a kézirat- és levélkatalógus, a levelezés- és prózakötetek, a Babits-könyvtár darabjai és a kutatók sorra megjelenő tanulmányai. Hogy mily mértékben dúsult fel Babits körül a tény- és ismeretanyag, azt jól mutatja, hogy az irodalomjegyzékben több mint ötven százalékos képviselnek az 1989 után megjelent tételek! Ez egyben rámutat a biográfiaírás szükségességére is: hiszen a rendelkezésre álló forrásanyag megkétszereződött!

A szerző a műfaj korlátait kitágítva tesz eleget ennek a feladatnak. Ezemyi rögzített adat ismeretében és felhasználásával nem

csupán életrajzot ad, de pályarajzot is, utal a korszak irodalmi mozgásaira, kapcsolja a történeti háttérrel. Ez utóbbit – a terjedelmi korlátokat szem előtt tartva – nagyon sajátos módon teszi. Nem folyamatosan változó történelmi háttérbe ágyazza Babits életének tényeit, hanem a korszak politikatörténetét kapcsolja annak irodalomtörténetéhez. Ez Babits esetében különösen érdekes összevetésekre ad alkalmat, illetve annak rögzítésére, hogy Babits a kanti embereszeménnyel indulva, s eljutva a maga nagyon pregnánsan elkülöníthető nézetrendszeréig, mindig határozottan elkülöníti a „politikus lét”-et az abszolút eszményt követő „művész lét”-től. Ennek talaján állva álláspontja sohasem közelíthető meg a politika vagy a köznapi gondolkodás oldaláról, s különösen nem progresszió és reakció, jobb- és baloldal hatásmezéjében. Így lesz sajátosan babitsi álláspontja – hogy csak néhány példát említsünk – a nemzeti-ségi kérdéssel foglalkozó tartózkodása idején, 1918-ban, az Európai Államszövetség tervét dédelgető kiáltvány létrehozásakor vagy a Felvidék visszacsatolásának időszakában. Így lesz mindig konokul azonos, ám mégis változó – de sosem váltó – önmaga, akinek álláspontját semmiféle külső hatás és megfontolás nem téríti el, s aki – ennek köszönhetően – egyedül áll, s a baráti, harcostársi meg nem értés ugyanúgy kíséri egész életén át, mint az ellenérdekűké.

A munka másik nagy erénye a filológusi aprólékosság és pontosság. (A szerző – pontosan nyomon követhetően – a lehetséges források teljes körét használta: az életmű mellett a bibliográfiák adatait, a több tízezer levelet, naptárakat, publikált és publikálatlan naplókát, évkönyveket, irattári és levéltári anyagokat, újságokat, folyóiratokat, peranyagokat, hivatalos dokumentumokat, alapítványi és társasági iratokat.) Szinte hihetetlen, mennyi új részlet és – nagyon is fontos – apró adat fért ebbe a közepes terjedelmű kötetbe! Csak egyetlen példát vegyünk erre,

a gyermek, az elemi és középiskolás Babitsot érő irodalmi hatásokat, s azok eredményét. A szerző már a család történetének vázolója során rámutat „a művészeteket művelő vagy tisztelő ősök”-re, felvillantja a gyermekeinek Aranyt, Vörösmartyt és Puskint szavaló édesanya alakját. Aztán következik az első, önállóan olvasott regény, az édesapa által előfizetett első folyóirat, *Az Én Újságom*. Majd hosszasan időzik a gyermekkor élénk képzelet szülte képeinél, álmainál, az olvasói fejlődésnél, a váltásnál Vernéről, Jókairól, Vas Gerebenről Petőfire, Aranyra, Vörösmartyra. Aztán – tizenöt évesen – az első megjelenés, Julius Sturm versének átültetésével a *Szekszárd és Vidék*ben, s a gimnáziumi önképzőkörben már az irodalmi műfajok és szerepek sokfélesége, ahol emlékbeszédet mond, szaval, előadást tart, fordít és írássokat bírál. Sipos Lajos mindezen adatok részletezésével vázolja fel a költővé, íróvá érő Babits habitusát, „aki az ismeretszerzésben, a szellemi tevékenységben az énkifejezés alkalmait kereste”, s akit erre „szembetűnő koraérettsége, mégpedig a koraérettség tehetségzféra-specifikussága” tett alkalmassá.

Babits ezen biográfiájából – előfeltevések és elfogultságok nélkül – minden korábbinál többet és pontosabban tudhatunk meg. Új adatok és részletek egész sora, olvassuk akár a Babits egyetemi éveiről szóló fejezetet, akár tanáréveinek intézményi rajzait, az 1918-19 történéseiben végre tisztá és pontos összképet adó oldalakat, a *Nyugat*körüli eseményeket vagy Babits akadémiai tagságának adatait. Alapos, ahol arra van szükség, részletes, de kellően visszafogott, ahol személyes érzékenységet sérthet, mint a Csinszka-közjáték vagy Babits házasságának és betegségeinek vázolásában. Minden eddiginél részletesebb Babits személyes kapcsolatainak rögzítésében is. Ezzel kapcsolatos egyetlen kritikai észrevételünk is: hiányoljuk a névmutatót, amely segíthetne a más érdekű gyors adatszerzésben és tájolásban. Dicsmünk kell viszont – az eddigieken túl – a

szöveg jó ritmusát és stílusát, s a merev időrendet jó érzékkel esetenként feladó szerkesztési elvet. Végezetül rögzítsük még azt is, hogy ez a kötet – minden felhalmozott rész-tudás, közreadott és még kéziratban lévő forrás, adatközlés és tanulmány eredményét felhasználva – az első teljes Babits-biográfiánk, amelyet egyaránt

haszonnal forgathat a Babits-kutató, a tanár és a diák s a művelt nagyközönség. Köszönet érte a szerzőnek és a kiadónak. (*Sipos Lajos: Babits Mihály. Élet-Kép sorozat. Elektra Kiadóház. 2003. 227 p.*)

Csokonai-Illés Sándor



CONTENTS

Össejtek

Balázs Sarkadi: Introduction	274
Annamária Kemény – Ernő Duda: Distinctive Properties of Stem Cells: Pluripotency and Unique Regulation of the Cell Cycle	276
Elen Gócza: Embryonic Stem Cells, Stem Cell Lines	285
András Dinnyés: Stem Cells and Cloning	292
Ferenc Uher: Adult Stem Cells – Hematopoietic and Other Tissue Stem Cells	298
Éva Rajnavölgyi: Stem Cells and the Immune System	306
László Kopper – Melinda Hajdú: Tumor Stem Cells	319
Éva Mezey: Stem Cells: Miracle Makers or Miracles?	326
Péter Boros: Stem Cells in Clinical Therapy: Myths or Realistic Hopes?	331
Katalin Pálóczi – Anikó Barta – Anna Poros: Haematopoietic Stem Cell Therapy	337
Júlia Gidáli – Mónika Eckschmiedt – Tibor Bakács: Cord Blood as a Source of Stem Cells: A Plot of Land on the Moon or a Treasure in the Safe?	344
Emília Madarász: Neural Stem Cells and Their Potential Therapeutic Use	351
Zsuzsanna Bata: Epidermal Stem Cells	364
Julianna Kobolák: Muscle-Derived Stem Cells and Their Potential Use in Transplantation Therapy	369
Katalin Német: Stem Cells, the Target Cells of Gene Therapy	377
Imre Szebik: Ethical Issues of Stem Cell Research	385
Glossary (Balázs Sarkadi)	391
 <i>Obituary</i>	
Béla Julesz (<i>Ilona Kovács</i>)	399
<i>Outlook (László Jéki – Júlia Gimes)</i>	401
<i>Book Review</i>	406

Ajánlás a szerzőknek

1. A Magyar Tudomány elsősorban a tudományterületek közötti kommunikációt szeretné elősegíteni, ezért elsősorban olyan kéziratokat fogad el közlésre, amelyek a tudomány egészét érintik, vagy az egyes tudományterületek sajátos problémáit érthetően bemutató témákkal foglalkoznak. Közlünk téma-összefoglaló, magas szintű ismeretterjesztő, illetve egy-egy tudományterület újabb eredményeit bemutató tanulmányokat; a társadalmi élet tudományokkal kapcsolatos eseményeiről szóló beszámolókat, tudománypolitikai elemzéseket és szakmai szempontú könyvismertetőket.

2. A kézirat terjedelme szöveges tanulmányok esetében általában nem haladhatja meg a 30 000 leütést (a szóközökkel együtt, ez kb. 8 oldalnak felel meg a MT füzeteiben), ha a tanulmány ábrákat, táblázatokat, képeket is tartalmaz, a terjedelem 20-30 százalékkal nagyobb lehet. Beszámoló, recenzió esetében a terjedelem ne haladja meg a 7-8 000 leütést. *A teljes kéziratot .rtf formátumban, mágneslemezen és 2 kinyomtatott példányban kell a szerkesztőségbe beküldeni.*

3. A közlemények címének angol nyelvű fordítását külön oldalon kell csatolni a közleményhez. Itt kérjük a magyar nyelvű kulcsszavakat (maximum 10) is. A tanulmány címe után a szerző(k) nevét és tudományos fokozatát, a munkahely(ek) pontos megnevezését és – ha közölni kívánja – e-mail-címét kell írni. A külön lapon kérjük azt a *levelezési és e-mail címet*, telefonszámot is, ahol a szerkesztők a szerzőt általában elérhetik.

4. Szöveg közbeni kiemelésként *dőlt*, (esetleg **félkövér** – bold) betű alkalmazható; ritkítás, VERZÁL betű és aláhúzás nem. A jegyzeteket lábjegyzetként kell megadni.

5. A rajzok érkezhetnek papíron, lemezen vagy email útján. Kérjük azonban a szerzőket: tartsák szem előtt, hogy a folyóirat fekete-fehér; a vonalas, oszlopos, stb. grafikonoknál tehát ne használjanak színeket. Általában: a grafikonok, ábrák lehetőség szerint minél egyszerűbbek le-

gyenek, és vegyék figyelembe a megjelenő oldalak méreteit. A lemezen vagy emailben érkező ábrákat és illusztrációkat lehetőleg .tif vagy .bmp formátumban kérjük; értelemszerűen fekete-fehérben, minimálisan 150 dpi felbontással, és a továbbítás megkönnyítése érdekében a kép nagysága ne haladja meg a végleges (vagy annak szánt) méreteket. A közlemény szövegében tün-
tessék fel az ábrák kívánatos helyét.

6. Az irodalmi hivatkozásokat mindig a közlemény végén, abc sorrendben adjuk meg, a lábjegyzetekben legfeljebb utalások lehetnek az irodalomjegyzékre. Irodalmi hivatkozások a szövegben: (szerző, megjelenés éve). Ha azonos szerző(k)től ugyanabban az évben több tanulmányra hivatkozik valaki, akkor a közleményeket az évszám után írt a, b, c jelekkel kérjük megkülönböztetni mind a szövegben, mind az irodalomjegyzékben. Kérjük, *fordítsanak különös figyelmet a bibliográfiai adatoknak a szövegben, illetőleg az irodalomjegyzékben való egyeztetésére!* Miután a Magyar Tudomány nem szakfolyóirat, a közlemények csak a legfontosabb hivatkozásokat (max. 10-15) tartalmazták.

7. Az irodalomjegyzéket abc sorrendben kérjük. A tételek formája a következő legyen:

- Folyóiratcikkek esetében:

Alexander, E. O. and Borgia, G. (1976). Group Selection, Altruism and the Levels of Organization of Life. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **9**, 499-474

- Könyvek esetében:

Benedict, R. (1935). *Patterns of Culture*. Houghton Mifflin, Boston

- Tanulmánygyűjtemények esetén:

vonBertalanffy, L. (1952). Theoretical Models in Biology and Psychology. In: Krech, D., Klein, G. S. (eds) *Theoretical Models and Personality Theory*. 155-170. Duke University Press, Durham

8. Havi folyóirat lévén a *Magyar Tudomány* kefelevonatot nem küld, de az elfogadás előtt minden szerzőnek elküldi egyeztetésre közleménye szerkesztett példányát. A tördelés során szükséges apró változtatásokat a szerző egy adott napon a szerkesztőségben ellenőrizheti.

KIS GYÜLÉS, MART. 4. 1844.

Kubinyi Agoston tisz. tag' helyettes elnöklete alatt

Jelen Bajza, Balogh, Bugát, Fogarasi, Gebhardt, Györy, Kál-
lay, Kiss, Luczenbacher, Szilasy, Szontagh, Sztrokay, Vállas, Vásár-
helyi, Vörösnarty rr. tt. — Bertha, Kovács Mih., Nagy Ign., Peregriny,
Széchy H. tt. — Schedel F. titoknok, Lukács M. helyettes segédjegyző.

olvasatott

REGULY ANTAL ÚR

Vsevolodo - Blagodaczkiban, m. évi dec. 22. költ levele a' titok-
nokhoz, mely így szól:

Tek. Titoknok Úr! Nyolcz napja hogy rendeltetésem' helyén, az Úralon vagyok; és három nap óta két vogul-
lal, két tisztes öreggel, töltöm in otio literario időmet! — Egyoldalúak, kik a' népek' természetü állapotját nem értik; 's kik az idegenszerű külső formákról ítélve, e' népről bennünk bal képzeleteket indítottak; reám nézve e' két öreg ellenkező és igen jó benyomást tett, és reménylem, ha magasabb állás-
pontot veszünk, mely egy jobb műveltségnek és kifejtettebb emberi fogalmaknak felel meg, olly népet fogunk látni, mellynél nem csak semmi megvetőt nem találni, sőt ellenkezőleg sok szép nyilatkozásai tűnnek előnkbe egy eredeti természeti életnek.

* * *

A' vogul, Tek. Úr! igen kis számra olvadt népség, mely közel van az elenyésztéshez. A' statistikai tabellák mutatnak ugyan vogult elég nagy számban a' Sosva, Lobva, Lálva 's több vizek mellett, de ezek csak per traditionem vogulok, t. i. voguloktól származtak 's még *jászszékot* fizetnek vogul módra; valójában pedig már tiszta oroszok, 's a' vogul nyelvet nemcsak hogy nem beszélik, de sokan közölők soha nem is hallották, mint ezt az első vogultól, kinek házánál a' Lálva vize mellett álltam meg szánonnal, 's kihez nem kis várakozással nyitottam be, hallottam. Valódi vogul még csak a Lozva és Pélim mellékein találatik: amott, a' tobolszki határig, talán 90 férfi lélek, melly azonban szinte oroszúl beszél, öltözik és él; a' Pélim mellett, mint mondatik, számosabban találtatnak és még több eredetiséggel. A' Pélimtől kelet felé vagy a' Lozváttól éjszakknak a' felső Sosva felé, vogulnak híre sincs többé: ott már csupa osztyák lakik.

* * *

Ez alkalommal megjegyezte a' *titoknok*, hogy orosz. cs. statustanácsos és academicus Baer úrnak hozzáírt legújabb levele szerint a' királyi ajándék (1000 ft. cp.) febr. 1. körül csakugyan R' kezébe ért, 's így az imént közölt levél' költe után. Ezen kívül előterjesztette a' titoknok Baernek a' pétervári academia előtt olvasott két rendbeli jelentését is Reguly' utazásáról, mellyeknek tartalma az itt közölt le-
vélével összeüt. A' permiekről tett megjegyzéshez ezt vetette Baer úr: „Ezek szerint a' permiek, vagyis a' régi scandinávok' *Beormás* nevű népe, szélesén elterjedt népnek volna újra bemutatva.“ — Végre az elnökség kéretni rendeltetett, hogy a' Regulynak igazgatóságilag ki-
rendelt ezer ft' második fele is minélelőbb utána küldetnék.