

Sari Cederlöf

Kantasolujen tutkimus ja käyttömahdollisuudet terapeuttisissa hoidoissa

Metropolia Ammattikorkeakoulu
Insinööri (AMK)
Bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma
Insinöörityö
6.6.2012

Tekijä Otsikko	Sari Cederlöf Kantasolujen tutkimus ja käyttömahdollisuudet terapeuttisissa hoidoissa
Sivumäärä Aika	58 sivua 6.6.2012
Tutkinto	Insinööri (AMK)
Koulutusohjelma	Bio- ja elintarviketekniikan koulutusohjelma
Suuntautumisvaihtoehto	Biotekniset sovellukset
Ohjaaja	Filosofian tohtori Annika Järviluoma
<p>Kantasolujen ominaisuudet riippuvat niiden tyypistä. Hedelmöittyneen munasolun solut ovat totipotentteja. Niistä pystyy muodostumaan kokonainen uusi yksilö ja kaikki ihmisen solut. Blastokystin eli alkiorakkulan sisäsolut, alkiooperäiset teratokarsinoomasolut ja sikiöstä eristetyt esisukusolut sekä iPS-solut ovat pluripotentteja. Syntyneen yksilön kantasolut ovat multi- tai unipotentteja. Multipotenttien kantasolujen katsotaan kykenevän muodostamaan saman ryhmän soluja, eli ihosolujen kantasolu esimerkiksi voi muodostaa kaikkia ihon eri kerrosten soluja.</p> <p>Kantasolututkimus alkoi 1950-luvulla, kun opittiin kasvattamaan hiiren kiveksistä eristettyjä karsinoomasoluja, jotka sisälsivät kantasoluja. Ensimmäiset ihmisen solulinjan solut, jotka kasvoivat maljalla, olivat Hela-soluja eli kohdunkaulan syöpäsoluja. Aluksi hiiren kantasoluja kasvatettiin petrimaljoilla syöttösolujen, kuten MEF-solujen (mouse embryonic fibroblasts), kanssa. Kun 1980-luvun lopulla löydettiin kantasolut erilaistumattomina pitäväksi tekijäksi LIF (leukemia inhibitor factor), voitiin eläinperäisistä syöttösoluista luopua. Hiiren alkion kantasoluista saatiin ensimmäiset kantasolulinjat kasvatettua 1980-luvun alussa. Ihmisen ensimmäinen alkionkantasolulinja saatiin kasvamaan 1998 ja ihmisen ensimmäinen iPS-solulinja (indeced pluripotent stem) vuonna 2007.</p> <p>Ihmisen kantasoluista suurimmat eettiset ongelmat aiheuttavat alkion kantasolut ja SCNT- solut (somatic cell nuclear transfer) eli terapeuttiseen kloonaukseen tehdyt alkion solut. Suurimpia käytännön ongelmia hoitojen kannalta ovat aiheuttaneet pluripotentit eli lähes kaikkikykyiset kantasolut, koska ne saattavat muodostaa kasvaimia elimistössä. Kiinnostavia ovat multipotentit aikuisen kantasolut, lapsiveden, äidinmaidon ja napanuoran solut, sillä ne pystyvät muodostamaan monia solutyyppejä mutta eivät aiheuta kasvaimia kehoon siirrettyinä.</p> <p>Kantasolututkimus on suuntautunut kuolleisuutta ja vaikeita sairauksia aiheuttavien tautien tutkimukseen. Monien maiden lainsäädännöissä kantasolututkimusta rajoitetaan vain vakavien ja parantumattomien sairauksien tutkimuksiin. Tämä insinööri-työ on kirjallisuustutkimus keskeisenä lähdemateriaalina Christine Mummeryn "Stem cells; Scientific facts and fiction".</p>	
Avainsanat	kantasolut, kantasolututkimus, lainsäädäntö, iPS

Author Title	Sari Cederlöf Research and Use of Stem Cells in therapeutic treatments
Number of Pages Date	58 pages 6 June 2012
Degree	Bachelor of Engineering
Degree Programme	Degree programme in Biotechnology and Food Engineering
Specialisation option	Biotechnical applications
Instructor	Annika Järviluoma, PhD
<p>The abilities of stem cells depend of their background. Cells of fertilized egg are totipotent. They are capable of forming the whole human being and extraembryonic tissues. The inner cells of blastocyst, embryonic germ cells, embryonic carcinoma cells and iPS (induced pluripotent stem) cells are pluripotent. Cells from born humans are multi- or unipotents. Multipotent stem cells are capable of forming cells of the same type, for example stem cells of skin cells can form all types of skin cells.</p> <p>Stem cell research started in 1950s by learning to grow carcinoma cells which were isolated from mice's testicles. The first human cell line cells to grow on Petri dishes were HeLa-cells which are cancer cells from cervical cancer. At first mouse stem cells grew on Petri dishes on top of feeder cells, such as mouse embryonic fibroblasts (MEF). When LIF (leukemia inhibiting factor) was found to be the significant factor in MEF, feeder cells based on animals could be put a side. First mouse stem cell lines were established in early 1980s. First human embryonic stem cell line was established in 1998. First hiPS cell line, human induced pluripotent stem, was established in 2007.</p> <p>The biggest ethical issues are caused by embryonic stem cells and SCNT, somatic cell nuclear transfer, cells because these methods use embryous cells. In practice biggest problems at therapeutic bases are caused by embryonic stem cells and iPS cells, because they are pluripotent and have the ability of causing teratomas when transferred in patients. Greatest hopes are rising about multipotent adult stem cells, cord blood cells and amniotic fluid cells because they are able to make many different cells but do not form teratomas when transferred in patients. High hopes arise for stem cells from breast milk whose pluripotency has not been verified yet.</p> <p>The research has aimed towards deceases and causes of mortality or serious illnesses. One cause for that might be that many countries have set regulations of stem cell research to search answers and therapies on causes of mortality and serious illnesses.</p> <p>This Thesis of Bachelor of Engineering is based on literature using Christine Mummy's "<i>Stem Cells, Scientific Facts and Fiction</i>" book and research articles about stem cell researches and stem cells.</p>	
Keywords	stem cells, therapeutic treatments, iPS

Sanaselitykset

Autoimmuunisairaus	Immuunijärjestelmän omien solujen väärän tunnistuksen ja tuhoamisen aiheuttama sairaus
Autologinen	Omasta kehosta peräisin oleva
Beta-solut	Haiman insuliinia tuottavat solut
Blastokysti	Alkiorakkula
Blasteema	Erihaustumaton ryhmä soluja, joista muodostuu osa ihmiseen
Blastooma	Alkioperäisistä soluista koostuva kasvain
CIRM	California Institute for Regenerative Medicine Kalifornian regeneratiivisen lääketieteen instituutti
EG-solu	Embryonic germ cell. Sikiön itusolu
Embryoid body	Solukasauma, joka muodostuu kun maljalla kasvatetut pluripotentit kantasolut tarttuvat toisiinsa
Endodermi	Sisin alkiokerros
ES –solu	Embryonic stem cell. Alkion kantasolu
Epiteeli	Pintakudoksen verisuoneton kerros
Fibroblasti	Sidekudoksen perussolu
FDA	Food and drug administration. Amerikan lääkevirasto
FGF	Fibroblast growth factor Fibroblastien kasvutekijä
GFP	Green Fluorescent Protein Vihreä fluoresoiva proteiini
GS-solu	Germline stem cells Sukusolujen kantasolut
hAFS	Human Amniotic fluid stem cell. Ihmisen lapsiveden kantasolut
hESC	Human Embryonic Stem Cell. Ihmisen alkion kantasolu

HSCI	Harvard Stem Cell Institution Harvardin kantasolu instituutti
Hematopoeieettinen	Veren kantasolu
ICM	Inner cell mass. Blastokystin sisäsolumassa
ISCI	The international stem cell initiative Kansainvälinen kantasolualoite
ISSCR	The International Society for Stem Cell Research
iPS (induced pluripotent stem)-solu	Erilaistuneesta solusta tehty pluripotentti kantasolu
IVF (in vitro fertilization)	Keinotekoinen hedelmöitys
Kimeerinen	Useampaa perimää kantava eläin
MEF (mouse embryonic fibroblasts)	Hiiren alkioista eristettyjä fibroblastisoluja
LIF (leukemia inhibiting factor)	Leukemiaa ehkäisevä tekijä
Mesenkymaalinen	Tukikudoksen, luut, rustot ja rasvan muodostava kantasolu
Multipotentti	Osittain erilaistunut kantasolu
Myeliini	Solukalvon rakenne, joka muodostaa eristekerroksen hermosolun ympärille
NRG1	Neureguliini-1. Sydämen kasvutekijä
NYSC	New York Stem Cell Foundation New Yorkin kantasolusäätiö
Oligopotentti	Tietyn elimen soluja muodostava kantasolu
Osteoblasti	Luunrakentajasolu
Plasebo	Lumelääke
Pluripotentti	Lähes kaikkikykäinen kantasolu
Progeniittori	Kantasolu, jolla rajoittunut erilaistumiskyky
Regeneraatio	Uudelleenmuodostus
SCNT	Somatic Cell Nuclear Transfer Somaattisen solun tuman siirto

SSEA	Stage-specific embryonic antigen, Antigeeni, jonka avulla tunnistetaan alkion kantasolut
STR	Short tandem repeat. Lyhyt peräkkäinen toistojakso
Strooma	Elimen tukikudos
Sytokiini	Solujen välisen viestinnän välittäjäaine
Teratooma	Itusolukasvain
Totipotentti	Kaikkikykyinen, sikiön, napanuoran, istukan ja sikiökalvot muodostava kantasolu
Trofoektodermi	Blastokystin uloin kerros, joka muodostaa alkionpuoleisen istukan osan
UBM	The urinary bladder matrix. Virtsarakon soluaine
Unipotentti	Vain yhdenlaisia soluja muodostava kantasolu

Sisällys

Sanaselitykset

1	Johdanto	1
2	Kantasolututkimuksen historia	2
3	Kantasolut	5
4	Kantasolujen viljely	8
5	Ihmisen kantasolut	12
5.1	Alkion kantasolut	12
5.2	Aikuisen kantasolut	14
5.3	iPS-solut	18
6	Hiiren kantasolut	24
6.1	Geenimuunneltu hiiri ihmisen tautimallina	24
6.2	Hiiren kantasolujen kasvatus	25
6.3	Hiiren iPS-solut	25
6.4	Hiireen kokeiltuja kantasoluterapioita	26
7	Tutkimukset ja hoitokokeilut kantasolujen siirtoina	28
7.1	Tutkimusten tarpeen syyt	28
7.2	Terapiasolujen tuoton vaikeudet	30
7.3	Kantasoluhoidojen toteuttaminen	34
7.4	Hoitokokeiluja	36
7.5	Kokeilussa olevat sydämen korjauskeinot kantasoluilla	39
7.6	Kantasoluilla tehtäviä silmän parannuskokeiluja	40
8	Kantasolujen kasvatus elimiksi	41
8.1	Kudosten kasvatus kantasoluista	41
8.2	Onnistuneita elimiksi kasvatuskokeiluja	43
8.3	Regeneraatiosta	45
8.4	Ongelmat	47
9	Lainsäädäntö	48

9.1	Euroopan maakohtaiset säädökset kantasolututkimuksessa	50
9.2	Amerikan mantereen säädökset kantasolututkimuksesta	53
9.3	Muiden maailman valtioiden kantoja kantasolututkimukseen	56
10	Mietelmiä	58
	Lähteet	59

1 Johdanto

Tämä insinööri työ on kirjallisuustutkimus kantasoluista. Kantasolututkimus oli aihe, jonka vuoksi alun perin hain biotekniikan koulutukseen. Kantasolu on solu, joka pystyy muodostamaan jakautuessaan kaksi erilaista solua. Kantasoluja on esimerkiksi hedelmöittyneessä munasolussa. Täysikasvuisen yksilön kantasolut ovat levittäytyneet ympäröivään, kyseisen kantasolutyyppin elimiin. Ne ovat erilaistuneet vain kohteensa soluja muodostaviksi kantasoluiksi, kuten lihaskantasolut lihaksissa. Koska kantasoluja on kaikissa elävissä eliöissä ja tutkimuskin on hyvin laajaa, olen keskittynyt ihmisen hoitoihin johtaviin kantasolututkimuksiin. Olen myös rajannut kloonauksen pois ja mainitsen kloonausmenetelmät vain terapeuttisen kloonauksen vuoksi. Tutkimukset ja hoitokokeilut kantasolujen siirtoina -otsikon alla.

Kantasolujen luontainen kyky erilaistua hyvinkin erilaisiksi soluiksi on peruste niiden tutkimukselle terapeuttisten hoitojen käyttöön. Tämä huomattiin hiiren alkion muokkauksen yhteydessä, kun siirrettiin valkoisen emon blastokystin eli alkiorakkulan sisäsolumassan soluja tumman emon blastokystiin ja lopputulos oli kaksivärinen eli ki-meerinen poikanen. Tumma emosta olisi alun perin tullut vain tummia poikasia mutta nyt poikaset ilmensivät molempia perimiä. Näin ymmärrettiin, että sisäsolumassan solujen täytyy olla kykeneviä muuttumaan kaikiksi mahdollisiksi alkion soluiksi. Kantasolututkimus alkoikin alkion ja sikiön tutkimuksen myötä. (Mummary et al. 2011: 48-49)

Kantasolututkimusta on tehty paljon hiirellä, jonka monet toiminnot kuitenkin eroavat ihmisen toiminnoista. Sen vuoksi joitakin tutkimuksia on tehty myös rotilla, jäniksillä, koirilla ja muilla isommilla eläimillä. Löydökset on tehty hiirellä, ja hyvien tulosten jälkeen on siirrytty tutkimaan, onnistuuko sama ihmisen soluilla. Kantasolujen kasvatuksen lisäksi haasteita asettaa eri maiden lainsäädäntö. Lainsäädännöt asettavat ehtoja alkion ja sikiön kantasolujen tutkimukselle ja käytölle; siksi aikuisen kantasolujen tutkimus on kasvussa. Nyt, kun aikuisten erilaistuneet solut on saatu muuntumaan alkion kantasolujen kaltaisiksi eli iPS-soluiksi, monet tutkijat ovat siirtyneet käyttämään niitä, sillä niiden käyttöön ei ole rajoituksia lainsäädännön puolelta.

Kantasolututkimuksen tulevaisuuden odotukset ovat suuria, niitä voisi verrata sisiliskon hännän muodostumiseen. Kun joku ruumiinosa on vaurioitunut tai rakenteellisesti vajavainen, olisi se mahdollista kasvattaa uudestaan tai kokonaiseksi omista soluista. Osan uudelleenkasvu eli regeneraatio puuttuu ihmiseltä. Evoluutio on poistanut ihmisiltä regeneraation kyvyn ja antanut tilalle arpeutumisen. Arpeutuminen mahdollistaa hengissä säilymisen, joka on ollut evoluution kannalta tärkeintä. (Kaaro 2005)

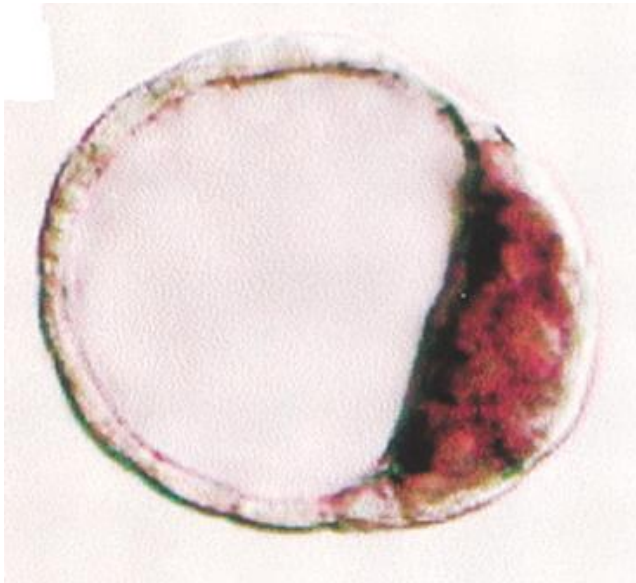
2 Kantasolututkimuksen historia

1800-luvun puolivälin jälkeen hollantilainen professori Ambrosius Hubrecht tutki naarasleijä saadakseen tietoa tiineyden eri vaiheissa olevasta alkionkehityksestä. Hän keräsi tutkimukseen siilin alkioita tiineinä olevista siilinaaraista. Tämä kokoelma on esillä Berliinin luonnontieteiden museossa. Vuonna 1890 tehtiin kokeita jäniksen hedelmöittyneillä munasoluilla, koska ne ovat isompia ja helpompia käsitellä kuin hiiren tai siilin ja saatiin siirrettyä hedelmöittynyt munasolu "sijaisäitiin" eli toiseen jänisnaaraanseen, jossa se kasvoi poikaseksi. (Mummary et al. 2011: 30,39,60–62,69)

Parikymmentä vuotta myöhemmin saatiin hedelmöittynyt jäniksen munasolu kasvatettua blastokysti- eli alkiorakkulavaiheeseen laboratoriossa. Blastokysti on yli neljän päivän ikäinen alkio, jonka rakenteessa erottuvat sisä- ja ulkomassa. Kuten kuvasta 1 näkyy, uloimpana on ohut ulkokerros, trofoektodermi, sisäpuolella blastokystin jakaa primitiivinen endodermi, ja sen toiselle puolelle jää sisäsolumassa, josta alkio muodostuu. 1942 todettiin kaksisoluisen jäniksen alkion solujen olevan totipotentteja eli kaikkivoipia kantasoluja, sillä erotettuina molemmat solut kasvoivat emoon siirrettyinä poikaseksi. (Mummary et al. 2011: 30,39,60–62,69)

1960-luvulla huomattiin, että jos alussa jaetaan jakautuneet jäniksen hedelmöittyneen munasolun solut omikseen, niin jokainen jakautuu erikseen omaksi blastokystikseen. Silloin havaittiin jäniksen hedelmöittyneen munasolun kaikkien solujen olevan totipotentteja. Tämä johti tutkimuksiin siitä, mikä pysäyttää kantasolujen kantasolujakautumisen ja mikä saa aikaan niiden erilaistumisen. Jäniksen blastokystin sisäsolujen havaittiin pysyvän yhdessä ja muodostavan erityyppisiä solukasaumia, embryoid bodies, kun ne kasvoivat maljalla. Omille kasvualustoilleen siirrostetut embryoid bodies -

kasaumat muodostivat jakaantuessaan kaikkia kolmea alkiokerrosta. Kun saman ilmiön huomattiin tapahtuvan myös hiiren soluilla, heräsi ajatus ihmisen kantasolujen käytöstä terapiamuotoisena korjaushoitona. (Mummery et al. 2011: 30,39,60–62,69)



Kuvio 1. Blastokystin osat. Uloimpana pyöreän muodon antaa trofoektodermi, sisäsolumassan (punainen massa oikealla) erottaa primitiivinen endodermi (tumma viiva sisäsolumassan vasemmassa laidassa). (Genes and Development 2002)

Modernin kantasolututkimuksen kuitenkin katsotaan alkaneen 1950-luvulla, jolloin saatiin kasvatetuksi ihmisen soluja laboratoriossa. Ensimmäiset ihmisen solut, jotka kasvoivat maljalla, olivat HeLa-soluja eli syöpäsoluja, jotka oli eristetty kohdunkaulan pahanlaatuisesta kasvaimesta. Tätä solulinjaa kasvatetaan edelleen laboratorioden kasvatuksissa. 1950-luvulla löydettiin kantasoluja, kun tutkittiin laboratoriohiirien teratoomiksi kutsuttuja syöpäkasvaimia. Näitä kasvaimia kutsutaan teratoomiksi, kun ne ovat hyvänlaatuisia, ja teratoomiksi, kun ne ovat pahanlaatuisia. Teratoomat ovat syöpäkasvaimista erikoisimpia, eräästä tiedetään löytyneen yli 300 hammasta. Koska niiden sisällä voi kasvaa käsittämättömässä sekamelskassa luuta, hiuksia, karvoja ja hampaita, on näiden lähinnä munasarjoissa ja kiveksissä kasvavien kasvainten päätelty alkaneen väärään paikkaan joutuneesta sukusolujen kantasolusta. Niistä on saatu laboratorio-olosuhteissa kasvamaan solukasumia eli embryoid bodyja ja kaikkia kolmea blastokystin solukerrosta. Ihmisen ja hiiren sikiöistä eristetyt esisukusolut eroavat toisistaan ominaisuuksiltaan. Ihmisen sukusolujen esisolut eivät ole yhtä uusiutumiskykyisiä eivätkä näytä olevan kuolemattomia toisin kuin hiiren. (Mummery et al. 2011: 16–19,41-43,64,95, Kaaro 2005)

1960- ja 70-luvuilla tutkijat käyttivät hedelmöittyneen munasolun totipotenteja eli kaikkivoipia soluja. Tutkijoiden suurin ongelma kantasolujen kasvatuksessa oli se, että kun soluja ei harvennettu, ne eivät jatkaneet kasvua kantasoluina vaan erilaistuivat vapaasti. 1960-luvulla huomattiin, että kun solut hedelmöittyneestä hiiren munasolusta tai blastokystin sisäsolukosta siirrettiin toisen hiiren blastokystiin, niin ne osallistuivat syntyneen hiiren kudosten muodostumiseen, jolloin syntyvä yksilö oli kimeerinen. Tämä johti ajatukseen alkion kantasolulinjan kasvatuksesta syöpäsolulinjojen tapaan, jos vain kantasolut saataisiin kasvamaan. Rinnakkain hiiren blastokystitutkimusten kanssa eteni lapsettomuushoitoihin tähtäävä munasolun hedelmöittämistutkimus ihmisillä, IVF (in vitro fertilization), ja hedelmöittyneiden munasolujen kasvatus blastokystivaiheeseen, jonka jälkeen ne siirrettiin kohtuun. Tämä johti vuonna 1978 maailman ensimmäisen koeputkivauvan syntymiseen. Kun menetelmällä hedelmöitettiin aina useampi munasolu kuin mitä kohtuun siirrettiin, jäi ongelmaksi loppujen käyttämättömien hedelmöitettyjen munasolujen käyttö. Aluksi solut jäivät tutkimuskäyttöön, ja tutkijat pääsivät työskentelemään noin viikon vanhoilla blastokystin pluripotenteilla eli sisäsolumassan alkion muodostavilla soluilla. Silloin oli myös saatu kehiteltyä sopiva kasvualusta viljellyille soluille ja ymmärretty solujen jakamisen merkitys. Mutta kun solujen pakastus opittiin 1980-luvun alussa, heräsi keskustelu alkion solujen omistuksesta. (Mummary et al. 2011: 66,72–74, Kaaro 2005)

Kantasolujen kasvatuksessa tarvitaan syöttösoluja, joiden päällä kantasolut kasvataan. Kun 1980-luvun lopulla löydettiin LIF-tekijä, kantasolulinjojen kasvatus ilman syöttösoluja tuli mahdolliseksi. Hiiren alkion kantasoluista saatiin ensimmäiset kantasolulinjat kasvatettua 1980-luvun alussa. Ensimmäiset ihmisen alkion kantasolulinjat onnistuivat vuonna 1998. (Mummary et al. 2011: 66,67,93, Thomson et al. 1998)

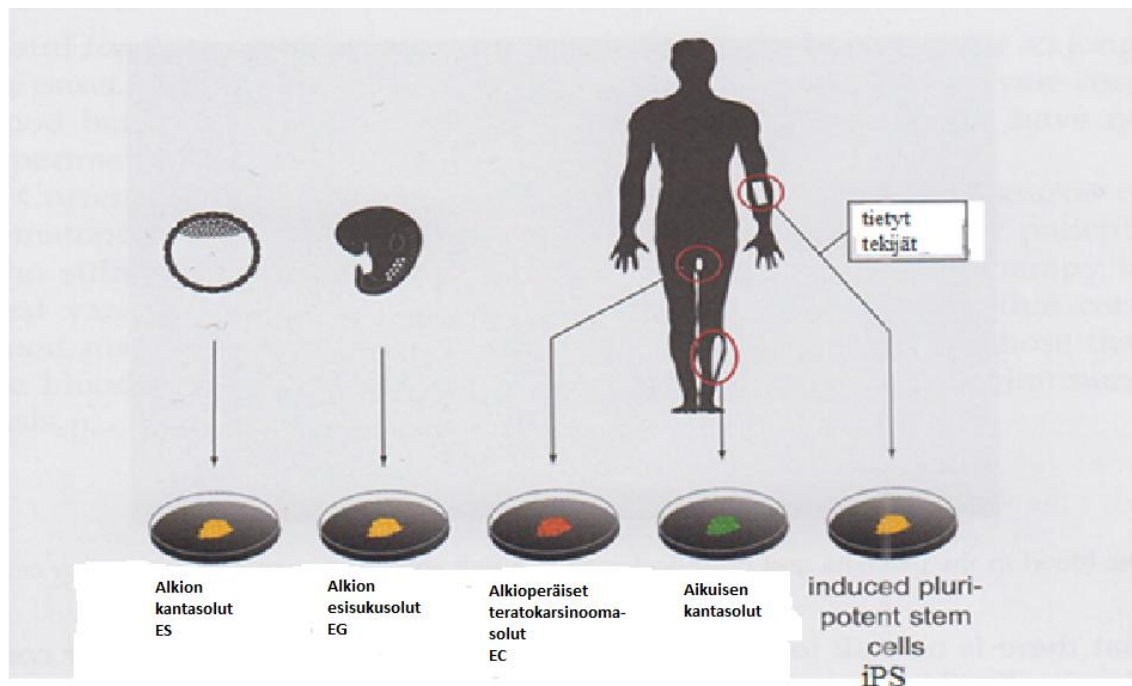
Vuonna 2006 löydettiin erilaistuneet solut pluripotenteiksi muuttavat geenit ja ensimmäiset hiiren iPS (induced pluripotent stem) -solut saatiin tehtyä. iPS-solut ovat erilais-tuneista soluista muutettuja pluripotenteja kantasoluja. Vuonna 2007 kaksi toisistaan riippumatonta tutkijaryhmää onnistui kehittämään ihmisen erilaistuneista ihosoluista pluripotenteja kantasoluja, iPS-soluja. Toistaiseksi solut soveltuvat vain tutkimukseen, mutta tämä antaa toivoa pystyä kasvattamaan ihmiselle tarpeen vaatiessa omista soluista tuotettuja "varaosia", mikä pienentää hylkimisen olemattomaksi. (Mummary et al. 2011: 86, Takahashi et al. 2007)

Taulukko 1. Kantasolututkimuksen suuret kehitykset tähän asti (Mummery et al. 2011, suomennettu)

Kantasolututkimuksen aikajana	
1890	Jäniksen alkion siirto sijaisemoon
1933	Jäniksen hedelmöittyneen munasolun kehitys blastokystiksi laboratoriossa
1940	Jäniksen kaksisoluisen alkion solujen pluripotenttius todistettiin
1951	Ihmisen solujen ensimmäinen viljelty solulinja, HeLa-solut
1959	Kahden hedelmöittyneen munasolun aolkion yhdistäminen sai aikaan kimeerisen hiiren
1965	Sisäsolumassan solut muodostivat embryoid body -solukasaumia
1967	Ensimmäiset kantasolulinjat eristettiin ihmisen teratokarsinoomista
1971	Ihmisen blastokystien viljely
1975	Embryoid bodyja muodostui teratokarsinoomasoluista
1975	Teratokarsinooman kantasolujen ruiskutus hiiren blastokystiin sai aikaan kimeerisen hiiren
1978	Ensimmäinen koeputkivauva syntyi
1981	Ensimmäinen hiiren alkion kantasolulinja kasvoi laboratoriossa
1985	Hiiren embryoid bodeista erilaistui sydänlihassoluja
1988	Todettiin, että LIF korvaa syöttösolut hiiren kantasolukasvatuksissa
1994	Ihmisen blastokystin sisäsolujen eristys ja kasvatus
1998	Ensimmäinen ihmisen alkion kantasolulinjan kasvatus
1998	Ihmisen sukusolujen kantasolujen kasvatus laboratoriossa
2000	Ihmisen alkion kantasolujen erilaistuminen hermosoluiksi kasvatuksessa
2001	Ihmisen alkion kantasolujen erilaistuminen sydänlihassoluiksi kasvatuksessa
2006	Ensimmäiset hiiren iPS-solut
2007	Ensimmäiset ihmisen iPS-solut

3 Kantasolut

Hedelmöittyneen munasolun solut ovat aluksi totipotentteja. Niistä pystyy muodostamaan kokonainen uusi yksilö. Totipotenttius säilyy noin kaksi päivää, kahdeksan solun kokoiseksi saakka jokainen solu yksinään voi muodostaa kokonaisen uuden yksilön. Blastokystin eli alkiorakkulan sisäsolut, alkioperäiset teratokarsinoomasolut ja sikiöstä eristetyt esisukusolut sekä iPS-solut ovat pluripotentteja. Näistä soluista voi teoriassa muodostua mikä tahansa osa yksilöön. Kuvassa 2 on havainnollistettu, mistä vaiheesta ihmisen kehitystä mikäkin kantasolutyyppi on mahdollista kerätä. Syntyneen yksilön kantasolut ovat multi- tai unipotentteja. Multipotenttien kantasolujen katsotaan olevan kykeneviä muodostamaan saman ryhmän soluja, eli ihosolujen kantasolu esimerkiksi voi muodostaa kaikkia ihon eri kerrosten soluja. Unipotentit solut pystyvät jakaantuman vain tietyiksi soluiksi, kuten epiteelisoluiksi eli ihon pintakerroksen soluiksi. Multipotentteilla soluilla on kuitenkin saatu "väärää" soluja aikaan laboratoriokasvatuksissa. Multipotentit solut ovatkin erilaistuneet muunlaisiksi soluiksi kuin oli niiden alkuperän vuoksi oletettu. Syytä tähän ei tiedetä. (Mummery et al. 2011: 47–50, 88)

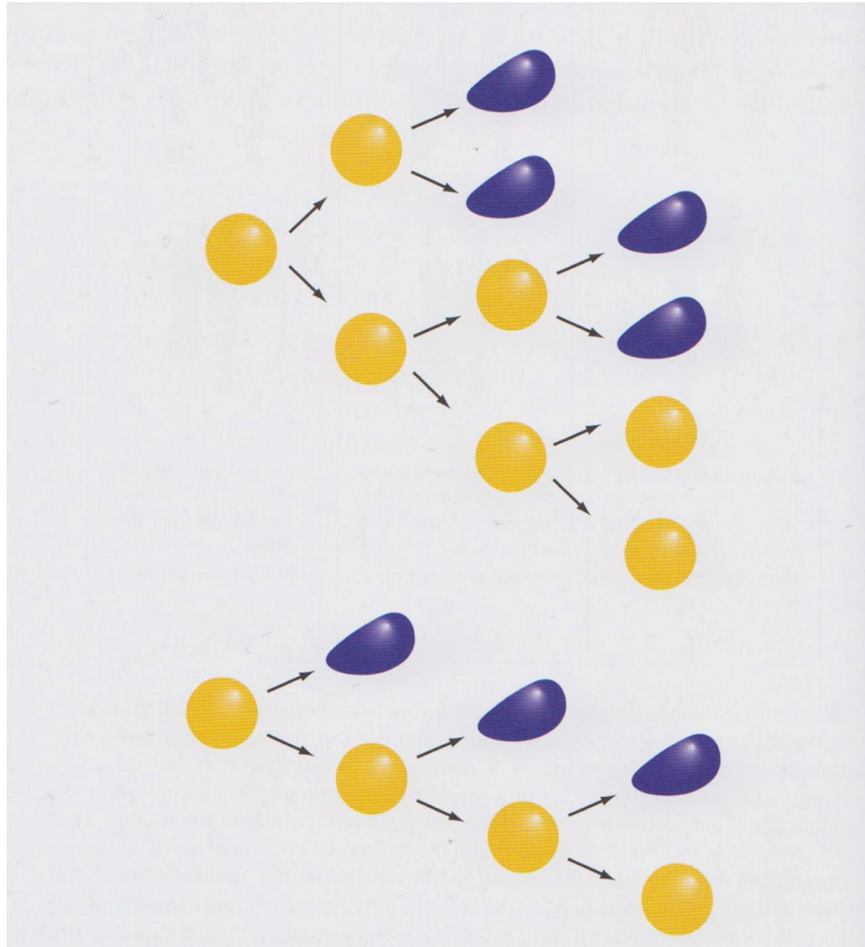


Kuvio 2. Erilaisia kantasolujen keräyskohteita. (Mummery et al. 2011, suomennettu)

Alkion teratokarsinoomasolut (EC, Embryonal carcinoma) syntyvät luultavasti esisukusoluista (EG, Embryonic Germ cells), jotka jostain syystä eivät päässeet paikalleen sukuelimiin alkion muodostuessa. Sukusolut muodostuvat huomattavasti aiemmin kuin sukuelimet. Alkion kantasolut (ES, embryonal stem cells) ovat kuolemattomia ja kasvavat maljalla kuten alkioperäiset syöpäsolutkin. Laboratoriokasvatuksissa ne eivät muutu syöpäsolun kaltaiseksi, mutta hiireen ruiskutettuina ne muodostavat teratoomia. Tämä on keino todistaa uusien löydettyjen kantasolujen pluripotenttius. Sukusolujen kantasolut (GS, germline stem cells) sijaitsevat sukuelimissä, miehillä kiveksissä ja naisilla munasarjoissa. Aikuisella, joko siittiö- tai munasoluina, ne ovat unipotentteja, mutta fuusioituessaan vastakkaiseen sukusoluun ne muuttuvat ensin totipotentteiksi ja totipotentteista pluripotentteiksi, jolloin uusi yksilö voi muodostua. Miehen sukusoluja muodostuu koko aikuisiän, kun taas naisen sukusolut ovat jakaantuneet jo kohdussa lopulliseen määräänsä. Naisten munasoluille on nyt löydetty munarauhasista munasolujen kantasoluja. Aiemmin asiaa on tutkittu hiirellä, nyt naisten hedelmättömyyden hoidot ovat saamassa uusia ulottuvuuksia. Syntyneen yksilön ja aikuisen kantasolut (adult stem cell) sekä erilaistuneista aikuisen soluista tehdyt iPS-solut, jotka ovat keinotekoisesti laboratoriossa tehtyjä pluripotentteja kantasoluja, ovat suuren mielenkiinnon koh-

teita. Niistä kerron lisää myöhemmin. (Mummery et al. 2011: 41,90,95,97, Bukovsky et al. 2005)

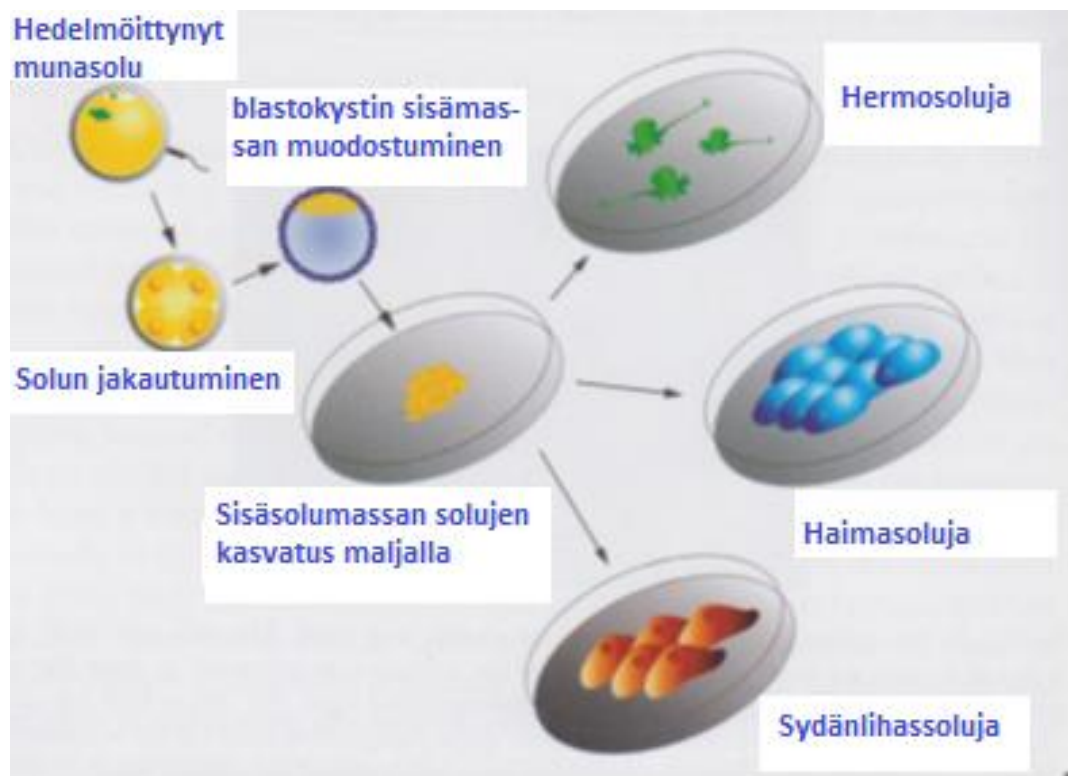
Kantasolut voivat jakaantua joko vain kantasoluiksi tai niin, että toinen tai molemmat tytärsolut ovat erilaistuneita soluja. Tämä on havainnollistettu kuvassa 3. Kantasolut voivat olla jakaantumatta pitkiäkin aikoja. Ne alkavat jakaantua ympäröivän solukon viestien perusteella. (Sariola et al. 2003: 130)



Kuvio 3. Kantasolut voivat jakaantua joko vain kantasoluiksi tai vain erilaistuneisiin soluihin kuten ylemmässä kuvassa tai niin, että toinen tytärsoluista säilyy kantasoluna ja toinen erilaistuu. Kuvassa kantasolut on esitetty keltaisina ja erilaistuneet solut sinisinä. (Mummery et al. 2011)

Blastokystin soluihin käytetään tekniikkaa nimeltä immunoleikkaus, joka tarkoittaa sitä, että soluja kasvatetaan liuoksessa, joka sisältää vasta-aineita blastokystin solujen lajia kohtaan. Nämä vasta-aineet irrottavat sisäsolumassan trofoektodermistä ja, jos mukana on veriseerumia, joka toimii proteaasina, trofoektodermi pilkkoutuu kokonaan. Si-

säsolumassan solut siirrostetaan uudelle maljalle. Jotta solut eivät alkaisi erilaistua, niitä kasvatetaan syöttösolukon päällä, mikä estää erilaistumisen. Kuvassa 4 on alkion kantasolulinjojen kasvatusperiaate. Kun syöttösoluina on käytetty hiiren alkioista eristettyjä fibroblasteja, MEF-soluja (mouse embryonic fibroblasts), solujen erittämät aineet pitävät kantasolut pluripotentteina. Tästä solukosta on eristetty vaikuttavaksi tekijäksi LIF (leukemia inhibiting factor). Tietyn erilaistuneen solukon aikaansaamiseksi kasvatusalustaa voidaan muuttaa. (Mummery et al. 2011: 90–93, Sariola et al. 2003: 129)

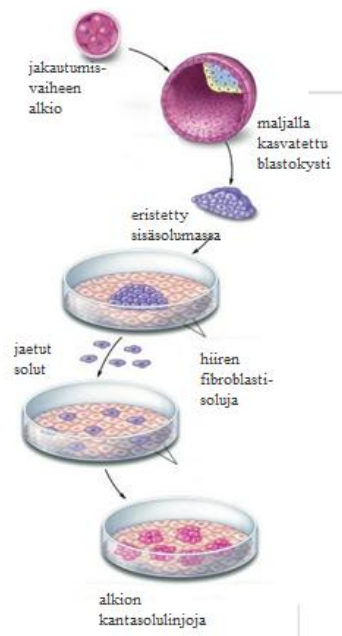


Kuvio 4. Hedelmöittyneen munasolun tie erilaistuneiksi elimistön soluiksi. (Mummery et al. 2011, suomennettu)

4 Kantasolujen viljely

Aluksi hiiren kantasolut kasvatettiin petrimaljoilla syöttösolujen, kuten MEF-solujen, kanssa. Kun 1980-luvun lopulla löydettiin ratkaisevaksi tekijäksi LIF (leukemia inhibitor factor), voitiin eläinperäisistä syöttösoluista luopua. Soluja kasvatetaan yleensä joko muovisella maljalla tai kasvatuspulloissa kasvatusliuoksessa. Kuvassa 5 on soluja kasva-

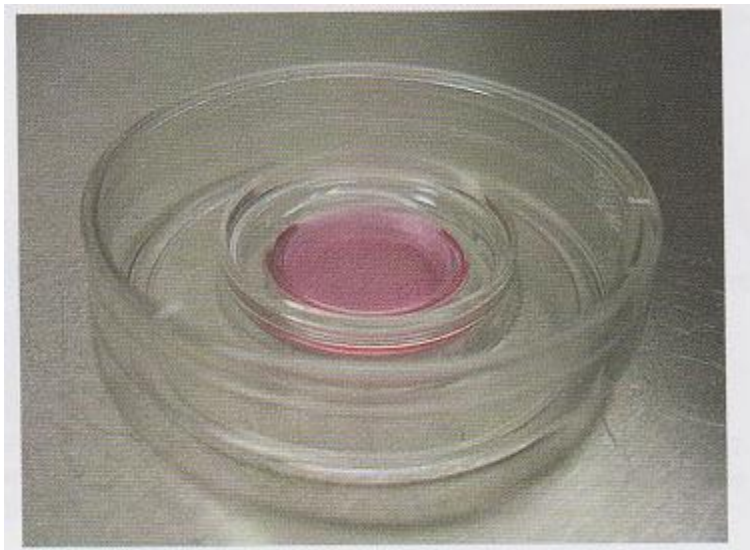
tettu hiiren fibroblastisolukolla maljalla. Kasvatusliuos sisältää soluille tarpeelliset ravinteet, kuten sokeria, aminohappoja ja mineraaleja sekä lehmän sikiön seerumia. Seerumissa on kasvutekijöitä, ja se pitää osmoositasapainon eli suolojen määrän oikeana kantasolujen kasvuksi. Seerumi on kuitenkin ollut eläinperäistä. Nyt on kokeiltu varsinkin ihmisolujen kasvatus ihmisen veren seerumissa (HS, Human serum) ja hormonilisätyssä kasvatusnesteessä, jolloin soluja voisi käyttää terapiahoidoissa. Soluille on tärkeää myös oikeanlainen happitaso, kosteus ja oikea lämpötila, joka on yleensä 37 °C. Kun kasvatetaan ihmisperäisiä kantasoluja, tarvitaan kasvatusnesteessä LIF:n tilalla fibroblastien kasvutekijöitä (FGF, fibroblast growth factor) ja aktiviinia. Aktiivisuuden riippuu, millaista mesodermaalista solukkoa kantasoluista muodostuu. (Mummery et al. 2011: 26–28,91-94, Sariola et al. 2003: 50)



Kuvio 5. Alkion kantasolujen kasvattaminen syöttösolujen avulla, tässä fibroblastisolukolla. (Stem cell information 2001, suomennettu)

Viime vuosina on keskitytty tutkimaan kantasolujen kasvattamista ihmisen syöttösolulla hiiren syöttösolujen sijaan ja jopa ilman syöttösoluja. Tähän päästiin tutkimuksessa, jossa käytettiin seerumin korvaajaa, LIFiä, ihmisen fibronectiiniä (solun ulkoisen matriisin glykoproteiini) ja transformoivaa kasvutekijä beeta 1:tä (transforming growth factor beta1). Kun soluja kasvatetaan siirretarkoitukseen, on kasvualustan oltava ei-eläinperäistä. Ihmisen kantasolujen kasvatus on kuitenkin ollut huomattavasti hankalampaa kuin hiiren kantasolujen. Suurin saavutus on kuitenkin ollut se, että iPS-solut

ovat kasvaneet kaikilla tutkimuksissa kokeilluilla menetelmillä alkion kantasolujen veroisesti. Syy siihen, miksi alkion kantasolulinjat eivät aina jakaudu samalla tavalla samoissa olosuhteissa, vaan joskus jakautuvat toisenlaisiksi kuin aiemmin, on toistaiseksi tuntematon. Kun ihmisen kantasolut saadaan kasvamaan hyvin ilman syöttösoluja ja vaskin seerumia, aukeaa terapeuttisten kliinisten hoitokokeiluiden ovi. Aiemmin tässä oli onnistuttu vain Rhesus-apinan soluilla. Viimeisen vuoden aikana on saatu iPS-solut kasvamaan myös jäniksistä, koirista ja sioista. Ne antavat paremman kuvan iPS-solujen hoitomahdollisuuksista kuin pelkät hiirimallit. Kuvassa 6 näkyy tyypillinen kantasolujen kasvatusmalja. Kuvan tyyppisissä maljoissa sopiva kosteus säilyy lämpimissä oloissa. (Mummery et al. 2011: 78–79, 89,94, Rouhi, Buske 2011, Lee et al. 2011, Montserrat et al. 2011, Honda et al. 2010, Amit et al. 2004)



Kuvio 6. Kantasolujen kasvatusmalja. Keskellä oleva vaaleanpunainen kasvatusneste on varsinainen kasvatusalusta, ympäröivä vesiastia pitää kosteuden, kun astiaa inkuboidaan solujen kasvuun optimissa lämpötilassa. (Mummery et al. 2011)

Normaalit solut lopettavat kasvun, kun ne osuvat toisiinsa, siis täyttävät pinnan, mutta syöpäsolut jatkavat kasvua. Kasvettuaan tarpeeksi maljalla keskellä kasvavat kantasolut alkavat kuolla ja reunoilla olevat kantasolut erilaistua. Solut myös erittävät aineenvaihduntatuotteita alustaan, mikä pilaannuttaa alustan. Tämä on syy siihen, että kasvatusneste on usein värjätty pH-indikaattorilla punaiseksi, jolloin aineenvaihduntatuotteet alentavat pH:ta ja värjäävät sen keltaiseksi. Jotta solut jatkaisivat kasvua kantasoluina, on solujen kasvatusneste vaihdettava päivittäin tai muutaman kerran viikossa. Solut on hyvä jakaa kasvatusnesteen vaihdon yhteydessä ja merkitä uuteen asti-

aan, monesko jako on kyseessä. Näin tutkimuksissa voidaan käyttää saman kantasolulinjan erivaiheisia soluja, jolloin vertailu on helpompaa. Kuvassa 7 on esitetty, miten kantasolut jaetaan ja siirrostetaan muutaman päivän välein. Toimenpiteen helpommin ja harvemmin tekoon on etsitty keinoja. (Mummery et al. 2011: 26–28,89,91-94)



Kuvio 7. Vasemmassa kuvassa on ihmisen alkion kantasolupesäkkeitä. Kesimmäisessä kuvassa pesäkkeet on leikattu pieniksi paloiksi, jotka oikealla olevassa kuvassa on siirrostettu kukin omalle paikalleen uudelle maljalle. (Mummery et al. 2011)

Kantasolujen kasvatus erilaistuneiksi soluiksi vaatii tietynlaisen kasvatusalustan. Kasvatusalustan pinnan pitää olla oikeanlainen, jotta kantasolut erilaistuvat halutunlaiseksi solukoksi. Solujen kasvatuksessa kolmiulotteisiksi kudoksiksi on myös alustassa olevien substraattien oikea tyyppi tärkeä. Sikiön signaalikeskukset erittävät viestimolekyylejä ja lähettävät kemiallisia viestejä tai kasvutekijöitä kantasoluille, jotta kantasolut tietävät, milloin pitää rakentaa verisuonistoa tai muuttaa pinnan muotoa. Viestimolekyylejä lähettävät signaalikeskukset ovat sikiöaikaisia väliaikaisia rakennelmia, jotka määrittävät rakennettavien elinten kolmiulotteiset muodot ja rakenteen. Kasvatusalustan materiaali saa olla mieluiten huokoista, biologista polymeeriä. Biologiset materiaalit, usein rotasta peräisin olevat, ovat solukolle helposti käytettäviä. Toisaalta rottaperäiset materiaalit ovat hankalia puhdistaa, ja eläinperäisinä ne saattavat aiheuttaa hylkimistä ihmisen elimistössä ja niissä saattaa olla patogeenejä. Merilevän ainekset ovat mahdollinen kasveista saatava haastaja eläinperäisille materiaaleille. Tulevaisuudessa lupaavin on kuitenkin synteettisten materiaalien tuleminen. Ne eivät ole millään lailla hylkimistä aiheuttavia. (Mummery et al. 2011: 173–175,177, Sariola et al. 2003: 50)

Solujen jakautumista uusiksi kantasoluiksi tai erilaistuneiksi kantasoluiksi säätelee myös kasvualustan elastisuus. Tämä havaittiin tutkimuksessa lihaskantasoluista. Tutkimuksessa käytettiin aikuisen lihaskantasoluja ja useampaa erilaista kasvualustan elastisuutta. Siinä todettiin vääränlaisen elastisuuden johtavan solujen kantasoluuminaisuuden

katoamiseen ja aiheuttavan solujen erilaistumisen. Oikeanlaisella elastisuudella kasvatetut kantasolut jakaantuivat hyvin ja istutettuina hiiren elimistöön erilaistuivat tarvittaviksi soluiksi. Tutkimuksessa lihassoluille kasvualustan paras elastisuus oli $\sim 10^6$ kilopascalia. Elastisuus tutkittiin painamiskokeella, jolloin saadaan voimaksi pascalleita. Tämän tuloksen todettiin olevan myös useamman maljalla tehdyn solunjakaantumisen jälkeen sama. Tutkimuksessa todettiin jo olemassa olevien aikuisen kantasolujen olevan parempi vaihtoehto kantasolujen käytölle terapiakäytössä kuin iPS-solut tai alkion kantasolut, jotka molemmat täytyy kasvattaa erilaistuttaen ne oikean tyyppisiksi soluiksi ennen siirtoa elimistöön. (Gilbert et al. 2010)

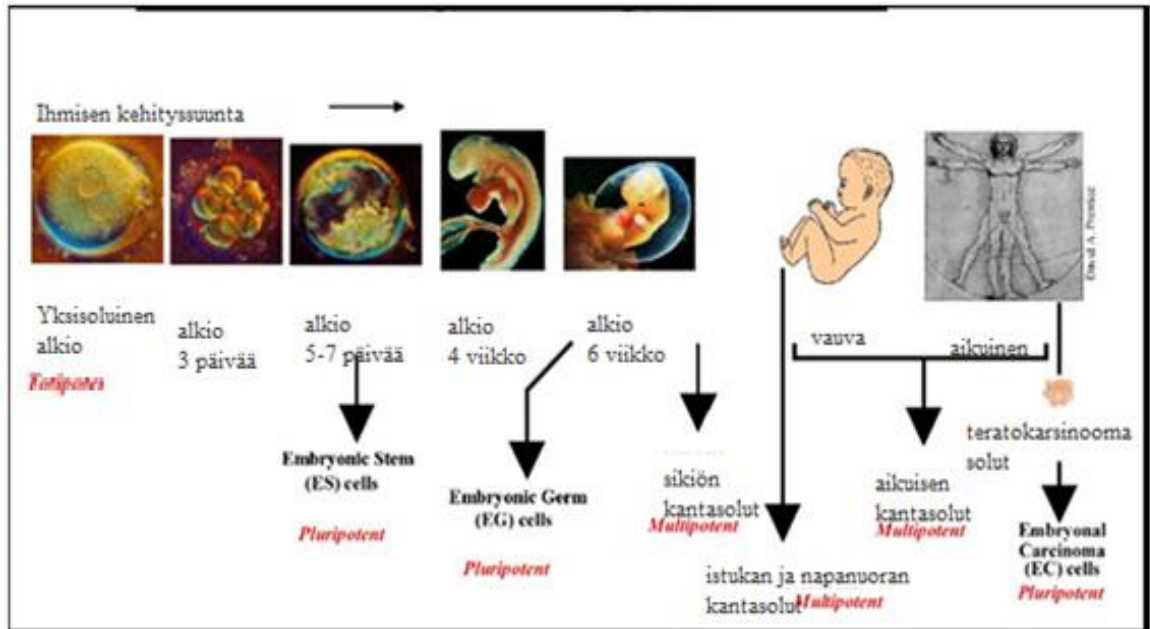
5 Ihmisen kantasolut

5.1 Alkion kantasolut

Totipotenteista hedelmöittyneen munasolun soluista pystytään kasvattamaan ihmisen kaikki solut: alkio, istukka, sikiökalvot ja napanuora. Solujen totipotenttius kestää kuitenkin vain hetken, jo kolmas solunjakautuminen on muuttanut solut pluripotentteiksi. Alkion ollessa vasta kahdeksan solun kokoinen voidaan yksi soluista ottaa geneettistä testausta varten pois ja loput seitsemän kykenevät jakautumaan niin, että lopputuloksena on terve vauva. Testattujen alkioiden hylkääminen eli kohtuun istuttamatta jättäminen on muiden kuin vaarallisten tai tappavien tautien vuoksi monissa maissa kiellettyä. Taudit, joita voidaan hoitaa, eivät siis anna oikeutta hylätä alkioita. (Mummery et al. 2011: 48,208)

Alkion kantasolut ovat pluripotentteja, ne pystyvät muodostamaan kaikki ihmisen osat. Kuten kuvasta 8 ilmenee, noin viikon vanhasta alkioista, blastokystin sisämassasta (ICM, inner cell mass), saadaan eristettyä pluripotentteja ES-soluja (Embryonic stem cell) eli alkion kantasoluja, joista kehittyy sikiö. 6 viikon ikäisestä alkioista saadaan pluripotentteja EG (Embryonic germ) – soluja eli esisukusoluja. Sikiön kantasolut ovat jo pitkälti multipotentteja, eli ne pystyvät jakaantumaan tietyn tyyppisiksi kantasoluiksi mutta eivät enää kaikiksi sikiön solutyypeiksi. Kun alkion kantasolulinjoja saatiin kasvatettua 1998, niin samaan aikaan saatiin myös EG-solulinjoja kasvamaan. Nämä 5-9-viikkoisista lääketieteellisistä syistä abortoiduista alkioista eristetyt kantasolut ovat eettisesti sallitumpia kuin varsinaiset alkion kantasolut. Tämä luultavasti johtuu siitä, että

alkiot olivat elinkyvyttömiä, siis valmiiksi viallisia. Alkion ja sikiön ero on liikkuva mutta yleensä ajatellaan, että alkio muuttuu sikiöksi kahdeksan viikon iässä. (Mummery et al. 2011: 47,48,94)



Kuvio 8. Kuva ihmisen eri kehitysvaiheina eristetyistä kantasoluista. (Prentice 2004, suomen-
nettu)

Sikiön, napanuoran ja istukan sekä lapsiveden kantasolut on luokiteltu aikuisen kantasoluiksi, koska abortoitujen sikiöiden, lapsiveden, napanuoran ja istukan kantasolut ovat multipotentteja kantasoluja. Siksi ne on käsitelty luvussa 5.2.

Vuonna 2008 tutkija Peter Hartmann tutkijoiheen ilmoitti löytäneensä äidinmaidosta runsaasti alkion kantasoluja muistuttavia soluja. Niistä on saatu muodostumaan kaikki alkion solutyypikerrokset eli endodermi, ektodermi ja mesodermi. Soluja on tutkittu olevan noin 2 % koko äidinmaidon solumäärästä eli hyvin runsaasti. Solujen määrä vaihteli maidon määrän ja imetysajan pituuden mukaan. Todistuksen pluripotenttien solujen olemassa olosta tutkijat aikovat hankkia ruiskuttamalla soluja hiiriin ja tutkimal-
la syntykö teratoomia. Teratoomien ilmeneminen on varma todistus pluripotentteista kantasoluista. Alkionkaltaisia soluja on aiemmin löydetty vain napanuorasta ja lapsive-
destä. Monikykyisyytensä vuoksi solut ovat joka tapauksessa löytö, mutta mikä on nii-
den rooli äidinmaidossa, on vielä selvittämättä. Hiirten rintamaidosta on löydetty im-
muunipuolustuksen soluja, joista hiirivauvat ovat rakentaneet immuunipuolustuksensa. Koska hiiren poikaset syntyvät jo kolmen viikon ikäisinä, on niiden immuunipuolustus

ilmeisesti rakentumatta. Ennen laajoja käyttöönottoja, varsinkin jos löydettyt solut ovat ES-solujen kaltaisia, on selvítettävä, mikä niiden tarkoitus on. Miksi niitä on niin runsaasti? Selvittääkseen asian tutkijat aikovat selvittää, mitä vauvoissa tapahtuu imetyksen jälkeen. Aiemmin samat tutkijat ovat julkaisseet tutkimuksia multipotenteista kantasoluista äidinmaidossa. (Linda Geddes 2011, Hassitou 2012)

Alkion kantasolujen tutkimuksesta Suomessa sopii esimerkiksi suomalainen Regea, joka kuuluu Tampereen yliopiston Biolääketieteellisen teknologian yksikköön. Regeassa käytetään ainoastaan hedelmöityshoidosta lahjoituksena saatuja alkioita. Kantasolulinjat, jotka on kasvatettu lahjoitetuista alkioista, perustetaan blastokystin kantasoluista otettavien, tukisoluna käytettävien, fibroblastien päälle. Fibroblastit saavat aikaan sen, että kantasolut jakaantuvat kantasoluina eivätkä aloita erilaistumisprosessia. Biolääketieteellisen teknologian yksikössä on erilaistettu blastokystiperäisiä kantasoluja sydän-, hermo-, rasva-, lihas- ja maksasoluiksi. Regean tuottamat kantasolulinjat ovat laadullisesti terapiahoitoihin soveltuvia. Ongelmana tuotetuissa kantasolulinjoissa on saada kantasolulinjoista tarpeeksi tasalaatuisia ja tarpeeksi monta kantasolulinjaa samasta lähteestä. Regea on tehnyt yhteistyötä suomalaisten yliopistosairaaloiden kanssa, ja jo vuonna 2006 kantasoluja on käytetty luunmuodostukseen potilailla. Hoidot annettiin pään ja kaulan alueilla, ja niissä käytettiin potilaan omia rasvakudoksesta eristettyjä mesenkymaalaisia kantasoluja. Vain yhdellä potilaalla kantasolut eivät muodostaneet tarvittavaa kudosta, jolloin jouduttiin turvautumaan luusiirteisiin. Vastaavanlaisia hoitoja ei, vuonna 2009 annetun haastattelun mukaan, ollut annettu kuin kerran Saksassa. Myös Oulun yliopistossa on korjattu luuvaurioita kantasoluilla. Siellä kantasolut olivat potilaan stroomasta kerättyjä. (Tampereen yliopisto 2011, Bioteknologia.info , Oulun yliopisto & Veripalvelu 2008, Regea 2009)

5.2 Aikuisen kantasolut

Aikuisen kantasoluiksi luokitellaan kaikki kudospäiset kantasolut, siksi myös sikiön, napanuoran ja istukan sekä lapsiveden kantasolut on käsitelty aikuisen kantasoluina. Aikuisen kantasolut ovat multipotentteja, ja oligopotenteina niiden oletetaan olevan kaikissa elimissä. Multipotentit kantasolut sijaitsevat elinten kudoksessa ja pystyvät jakaantumisen kaikiksi tarvittaviksi soluiksi kyseiselle paikalle, kuten veren kantasolut, joista muotoutuu kaikkia verisoluja. Niiden jakautumiskyky on kuitenkin rajoittunut, ne

pystyvät jakaantumaan vain yhdeksi tytär- ja kantasoluksi, ne eivät lisäänty eli pysty jakaantumaan kahdeksi kantasoluksi. Mielenkiintoisia ovat sukusolujen kantasolut (GS, germline stem cells), jotka ovat unipotentteja ja saavat aikaan sukusolujen hedelmöitymisen kautta totipotentteja kantasoluja. Miehen sukukantasolut tuottavat siittiöitä koko aikuisiän mutta naisen jakautuvat jo sikiönkehityksen aikana kaikiksi munasoluiksi, joita naisella tulee olemaan. Tutkimuksia naisen munarauhasten soluista on tehty viime vuosina. Viimeisimmissä tutkimuksissa naisilta otettuihin munarauhasen soluihin liitettiin GFP (Green Fluorescent Protein) eli fluoresoiva merkkiaine ennen hiireen siirtoa. Kahden viikon päästä fluoresoivia munasoluja oli hiiren munasarjoissa. (Mummery et al. 2011: 95,100,159, White et al. 2012)

Aikuisen kantasolujen eristämistä haittaa se, että vaikka niitä tiedetään kudoksessa olevan, usein niitä ei löydy. Usein huomataan kantasoluja olleen koepalassa vain siitä, että ne ovat muodostaneet erilaistuneita soluja maljalla. Kantasolujen oletetaan olevan eräänlaisessa horrostilassa ja jakautuvan vain vaurion sattuessa, kuten lihaskantasolujen kohdalla on havaittu tapahtuvan. Lihaskantasolujen tiedetään sijaitsevan ulkomembraanin alla, joka on lihaksen pintakerros, ja niitä kutsutaan satelliittisoluiksi. Kantasoluja onkin etsitty aikuiselta lähinnä sieltä, missä päivittäistä korjausta tapahtuu, kuten iholta, luuytimeistä ja suolistosta. Aikuisten kantasoluja on myös joskus kutsuttu plastisiksi, koska ne ovat jakaantuneet maljalla muuksi kuin oletettiin, kuten lihassolutta hermosoluksi. On kuitenkin päätelty, että tämä on maljaolosuhteista johtuvaa ja että näin ei tapahdu elimistössä spontaanisti. Aikuisen kantasoluja on kuitenkin jo käytössä luuytimen lisäksi rasvakudoksesta otetuilla kantasoluilla. Aikuisen kantasoluja on pystytty erilaistamaan mm. lihas- ja jännesoluiksi, joten niitä voitaisiin mahdollisesti käyttää tulevaisuudessa tuki- ja liikuntaelinten vaurioiden hoidossa. (Mummery et al. 2011: 100, 101, 105–107, 185,186, Tampereen yliopisto 2011)

Napanuorasta ja istukasta voidaan kerätä veri, joka tiivistetään ja pakastetaan säilytystä varten. Tämä veri on siis sekä napanuorasta että istukasta kerättyä. Napanuorassa ja istukassa on esitetty olevan rikas esiintymä kantasoluja ja progeniittoreita. Progeniittorit ovat kantasoluista lähtöisin. Niitä kutsutaan myös oligopotentteiksi kantasoluiksi. Ne pystyvät muodostamaan useampaa solutyyppeä. Napanuoran verta on käytetty USA:ssa jo yli 20 000 hoidon yhteydessä hyvän- ja pahanlaatuisissa taudeissa. Niitä on tutkittu ja käytetty hoitoon akuuteissa ja kroonisissa selkäydinvaurioissa sekä verisaira-

uksista anemioissa ja leukemioissa. Uusi menetelmä lisätä napaveren kantasolujen määrää on käyttää Notch-menetelmää, jolla saatiin tutkimuksessa lisättyä kantasolujen määrä monisatakertaiseksi, jolloin yhden napaveriannoksen solut riittivät potilaan parantamiseen tavallista lyhyemmässä ajassa. Notch-signaali ilmenee laajasti alkionkehityksen eri vaiheissa. Notch-signaali ei täysin vielä ymmärretä, mutta Notch-reseptorien ilmeneminen liittyy solujen kantasoluominaisuuksien säilymiseen hiiressä. Tutkimus sai klinisen I vaiheen luvan, ja tutkimukseen osallistuneista 10 akuuttia leukemiaa sairastaneesta potilaasta 7 on nyt terveitä. Suomessa on vapaaehtoisesti luovutetun istukkaveren veripankki; istukkaveren kantasoluja käytetään leukemiaa sairastavien potilaiden ja sädehoitopotilaiden hoidossa. (Mummery et al. 2011: 94, Rouhi, Buske 2011, SPR Veripalvelu 2010, Delaney et al. 2010, Sariola et al. 2003: 71–72)

Napanuoran kantasolujen pakastamisen taustalla on ajatus myös siitä, että myöhemmin ihmisille voidaan rakentaa varaosia jokaisen omista soluista. On muistettava, että jos lapsella ilmenee geneettisen taudin aiheuttama vaurio elimissä, on napaveren soluissa samat tautigeenit, eikä hoito niillä silloin onnistu. Toisaalta se, että lapsi saisi käytettyä omat napaveren kantasolunsa, edellyttäisi, että hän sairastuisi niihin tauteihin, joiden hoitoon napaveri käy. Kaupallisten napaverta varastoivien yhtiöiden ongelmana on myös kohtuullisen korkea näytteiden infektioitaso, tutkittaessa noin joka kolmas näyte oli saastunut bakteereilla. Joitakin tutkimuksia on tehty napaveren solujen käytöstä autoimmuunisairauksien hoitoon. Napaveren kantasolujen käyttö on ajankohtaista silloin, kun kyseessä on kahden eri etnisen taustan, esim. aasialainen ja afrikkalainen, omaavan ihmisen jälkeläinen, jolle on vaikeampi löytää selkäytimen korvaushoidossa sopivaa luovuttajaa. Napaveren kantasoluissa ei ole ilmeisesti immuunipuolustuksen tunnistamia pintarakenteita, pintarakenne on vielä kypsymätön, mutta selkäytimen soluissa on sama pintarakenne kuin muissakin ihmisten soluissa. Sen vuoksi napaveren kantasoluja käytetään myös selkäytimen korjauksissa, vaikka peruskäyttö on verisairauksien hoidossa. Istukkaveren kantasolujen on todettu kykenevän parantamaan aikuisen potilaan verenmuodostuksen. Kuolemaanjohtavien hematologisten syöpien tutkimuksessa ei potilaille ollut löytynyt oikeanlaista luuydinsiirrettä. Istukan verisolut tuntuivat toimivan sitä paremmin mitä enemmän kantasoluja ne sisälsivät. Mutta istukkaveri on infektioherkkää ja aiheutti kokeessa myös infektioiden vuoksi useamman kuolemantapauksen. Hoitokokeilussa istukkaveren soveltuvuutta eri potilaille ei testattu, koska istukkaveren veritekijöiden on ajateltu olevan kypsymättömiä, jolloin eivät

aiheuta niin pahoja ongelmia siirrettäessä potilaisiin. Kuitenkin usea potilas oli hengissä vielä 40 kuukautta hoidon jälkeen, mikä antoi tutkijoille toiveita. Suurin ongelma ja kuolleisuuden syy oli tutkijoiden mielestä ollut huonokuntoiset potilaat, jotka eivät voineet selvitä leikkaushoidosta. Suurin osa selviytyneistä potilaista sairasti kuitenkin akuuttia, vakavaa käänteishyljintää (graft versus host), jossa siirretyt solut käyvät omien solujen kimppuun. Ei-sovitetut napaveren kantasolut aiheuttivat siis potilaille akuuttia käänteishyljintää. Kaikkiaan tutkimukset niin napaveren, istukan kuin sikiökalvon mesenkymaalisten kantasolujen käytöstä kantasoluhoidoissa erityyppisten verisairauksien hoidossa ovat lupaavia. (Mummery et al. 2011: 105–107,185–186, Mohr et al. 2010, Laughlin et al. 2001)

Myös lapsivedestä on eristetty kantasoluja. Tutkimuksessa käytettiin niin ihmisen kuin jyrsijän lapsiveden kantasoluja. Kantasolut kasvoivat maljalla ilman syöttösoluja, eivät aiheuttaneet kasvaimia ja niiden määrä tuplaantui 36 tunnissa. Lapsiveden soluista kasvatetuissa solulinjoissa kantasolujen telomeerit pysyivät pitkinä ja kantasolut muuttumattomina. Ne ovat laaja-alaisen multipotentteja, joten aikuisen kantasoluihin nähden ne ovat parempia monipuolisempien jakautumismahdollisuuksiensa vuoksi. Laboratoriokasvatuksissa ne erilaistuivat kaikiksi alkion solukerroksiksi eli endodermi-, ektodermi- ja mesodermikerroksiksi. Alkion kantasoluihin nähden paremmiksi ne tekee se, että ne ovat alkion kantasoluja eettisempiä. Eettiseksi ne tekee alkion ja sikiön kantasoluihin nähden se, että niitä ei ole eristetty sikiöstä, vaan ne ovat sikiön ulkoisia kuten napanuoran ja istukankin kantasolut. Toisaalta ne ovat monin osin alkion kantasolujen kaltaisia, mutta eivät ole muodostaneet teratoomia hiireen ruiskutettuina. Niiden kyvystä parantaa mm. akuuttia munuaisvauriota (AKI) saatiin hyviä tuloksia rottakokeissa. (Rota et al. 2011, Femeda, De Coppi et al. 2007)

Ihmiseltä on eristetty mm. hematopoieettisia kantasoluja ja mesenkymaalisia eli tukikudoskantasoluja. Hematopoieettisia kantasoluja löytyy aikuiselta vain luuytimestä, mesenkymaalisia luuytimestä ja sen stroomasta eli tukikudoksesta ja rasvakudoksesta. Ne erottuvat toisistaan helposti maljalla, sillä mesenkymaaliset solut tarttuvat alustaan ja hematopoieettiset eivät. Hematopoieettisia soluja käytetään verisairauksiin ja mm. syöpähoitojen vaurioittaman luuytimen hoitoon. Mesenkymaalisia kantasoluja voidaan käyttää ortopediaalisten sairauksien hoidossa. Luuytimen kantasolujen arvo selviää, kun saadaan varmuus siitä, ovatko ne oikeasti pluripotentteja ja voivatko ne auttaa

useissa kliinisissä kokeiluissa. Uusimpia keinoja saada kantasolut luuytimestä on laittaa potilaaseen GM-CSF-tekijää (granulocytemacrophage-colony stimulating factor), joka siirtää väliaikaisesti kantasolut vereen. Verestä kantasolut on helppo kerätä ilman nukutusta, joka on tarpeen kantasolujen lantiopistokeräyksessä. Näin saadaan potilaalta helposti talteen omia veren kantasoluja ennen sytostaattihoitoja, jos potilaan oma luuydin on säästynyt syövältä. Samaa keinoa käytetään myös, kun kerätään kantasoluja luovuttajalta luuydinvaurioita hoidettaessa. Hoitojen jälkeen omat solut voidaan siirtää potilaaseen verisuoniston kautta, ne löytävät tiensä takaisin selkätimeen. Luuytimen kantasoluja on käytetty jo vuosia luuytimen vaurioiden korjaukseen mm. syöpähoitojen jälkeen. (Mummery et al. 2011: 100, 104, 105, 161, 172, 173, SPR Veripalvelu 2010)

Maissa, joissa alkiooperäisten kantasolujen käyttö on rajoitettua, on aikuisen kantasolututkimus edennyt kokeiluissa niiden helpon keräämisen, eettisyyden ja epätodennäköisen syöväniheuttamistapumusten vuoksi. Aikuisten kantasolut eivät muodosta teraatoomia kuten pluripotentit kantasolut saattavat tehdä hiireen injektoitaessa, koska aikuisen kantasolut ovat ihmisen multi- tai unipotentteja kantasoluja. Aikuisten kantasolujen käytössä lisätään solujen määrää, jolloin niiden tyyppi pysyy samana kuin alun perin eikä siirrostettaessa aiheuta muutoksia. Aikuisten kantasoluista mesenkymaalisia kantasoluja on kokeiltu luunmuodostuksen tukena ja autoimmuunisairauksien hoidoissa sekä ihon kantasoluja ihosiirteissä. Kokeet ovat vielä kliinisissä tutkimuksissa, mutta useat kaupalliset tahot ovat ottaneet ne kehitettäväksi. (Mummery et al. 2011: 81)

Aikuisten kantasolujen muodostumisajankohta ei ole tiedossa. Onko niitä jo sikiöaikaisessa solukossa, muotoutuvatko ne syntymän hetkellä vai tarpeen mukaan jostain kantamuodosta? Kantasolujen muodostumisajankohdan tutkimisessa voidaan käyttää apuna geneettisesti muokattuja hiiriä. Hiiren alkion kantasolut on merkittävä ja solujen sijaintia on tutkittava koko alkion- ja sikiönkehityksen ajan. (Mummery et al. 2011: 103,104)

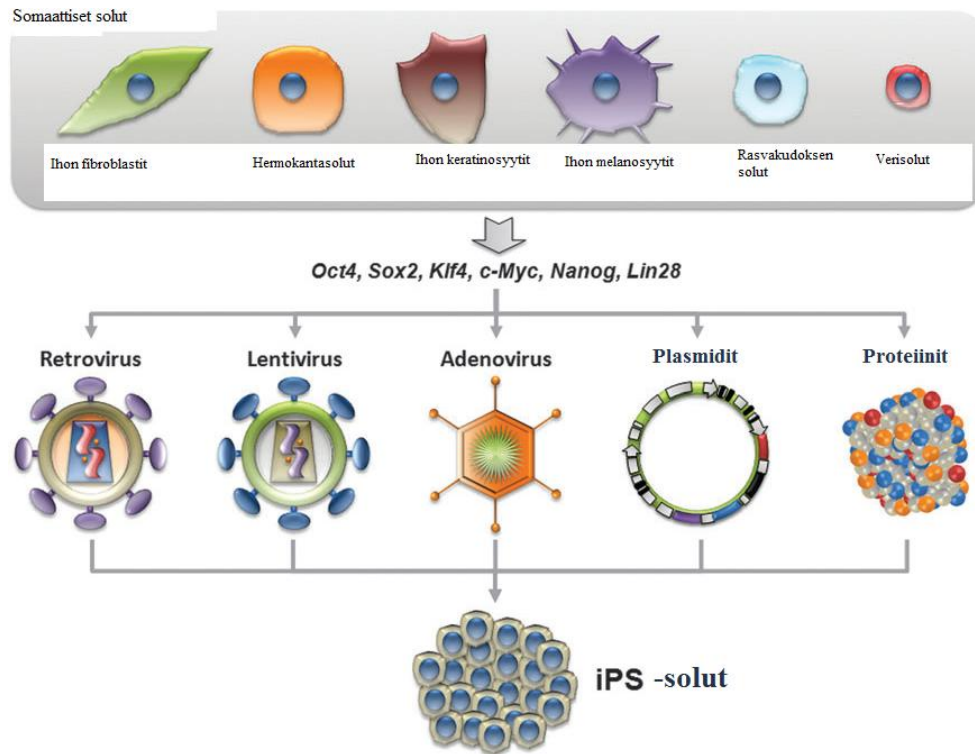
5.3 iPS-solut

Aikuisten erilaistuneet solut voidaan uudelleenohjelmoida erilaistumattomiksi kantasoluiksi, iPS-soluiksi. iPS-soluja voidaan tuottaa vaikka ihosoluista maljalla. Jo 1970-luvun lopulla huomattiin, että kun fuusioitiin teraatomasoluun erilaistuneita aikuisen

soluja, niin aikuisen solut muuttuivat pluripotentiksi. Myöhemmin huomattiin saman pluripotentiksi muotoutumisen tapahtuvan myös alkion kantasoluihin fuusioitaessa. Näin tultiin siihen johtopäätökseen, että solut voidaan palauttaa pluripotentiksi oikeanlaisissa olosuhteissa. Kun etsittiin tekijöitä, joilla erilaistuneet solut saatiin muutettua pluripotentiksi, löydettiin proteiinit ja niitä koodaavat geenit, jotka on esitelty kuvassa 9. Näiden geenien todettiin ilmenevän vain alkion kantasoluissa. Hiirillä tehtyjen kokeilujen jälkeen geenejä kokeiltiin useisiin ihmissoluihin. Kesti kuitenkin lähes kaksikymmentä vuotta, ennen kuin ihmisen solut saatiin muutettua iPS-soluiksi. iPS-soluja saatiin muotoutumaan kaikista kokeilluista soluista, kuten ihosoluista. Kun hiiren iPS-soluja ruiskutettiin hedelmöittyneeseen hiiren munasoluun, tuloksena oli kimeerinen yksilö. Näin oli löytynyt keino päästä kiistellystä alkion kantasolututkimuksesta. Nyt kun iPS-soluja pystyttiin muodostamaan ihosolukostakin eikä alkion kantasoluja enää tarvittaisi, voivat kaikki tutkijat liittyä mukaan kantasoluterapiahoitojen tutkimukseen. (Mummery et al. 2011: 83, 97-100, Takahashi et al. 2007)

iPS-soluja käyttämällä voitaisiin tuottaa siirrettävät solut potilaan omista soluista, jolloin täsmähoitojen ja -lääkkeiden tuotto jokaiselle potilaalle yksilöllisesti olisi mahdollista. Täsmähoidolla tarkoitetaan jokaiselle yksilöllistä hoitoa tai lääkkeitä, mikä on toistaiseksi kallista. iPS-soluja on kuitenkin ennen laajaa kliinistä käyttöä tutkittava tarkasti, ettei yllätyksiä tulisi, ja myös niiden valmistusmenetelmiä on kehitettävä. (Mummery et al. 2011: 162, Tampereen yliopisto 2011)

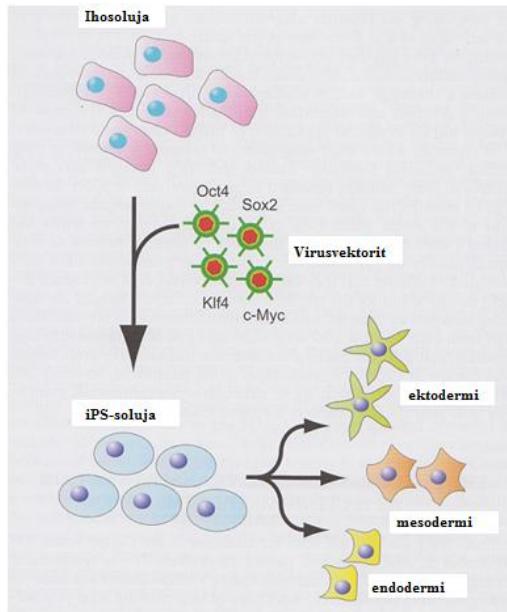
iPS-soluja on saatu aikaan virusvektoreiden, plasmidien ja kemikaalin, valporiinihapon, avulla, kuva 9. Käytetyistä virusvektoreista lentivirukset kuuluvat retroviruksiin, kun taas adenovirukset ovat oma lajinsa. Adenovirukset eivät ole syöpää tai muitakaan vaarallisia tauteja ihmisille tuottavia, kun taas retroviruksista kuuluisin on lentiviruksiin kuuluva HIV-virus. Adenovirusvektoreilla saadaan siirrettyä samat geenit muokattaviin soluihin kuin retrovirusvektoreilla. Erona on se, että adenovirukset eivät integroidu perimään. Lentivirukset kykenevät integroitumaan jakaantumattomankin solun genomiin. Retrovirukset tarvitsevat jakaantumiskykyisen solun. (Mummery et al. 2011: 97–100, Huangfu et al. 2008, Chou et al. 2011, Shao, Wu 2010, Stadtfeld et al. 2008)



Kuvio 9. Eri keinoja tehdä iPS-soluja (Han, Yoon 2011, suomennettu)

Retrovirusten käyttö geeninsiirrossa sisältää riskin, joten muut keinot on saatava tehokkaammiksi kuin virusvektorit. Virusvektoria tehtäessä retroviruksen genomiin jätetään vain toistojaksot ja pakkaussignaali. Virus pakataan pakkaussolussa, joka yhdistää viruksen genomia ja halutun geenin ja muodostaa virusvektorin. Retrovirukset ovat kuitenkin vaarallisia geeninkuljettajia, ja virusten oma perimä on poistettava mahdollisimman tarkkaan tautien ehkäisemiseksi. (Mummery et al. 2011: 97–98, Huangfu et al. 2008, Shao, Wu 2010, Hukkanen, Hyypiä 2003: 602)

Kuvassa 10 on esitetty iPS-solujen virusvektoreilla teon peruseriaate ja mainittu ne geenit, jotka aikaansaavat solujen muuttumisen pluripotenteiksi. Perinteisistä tavoista paras tulos on saatu siirtämällä geenit retroviruksilla. Parhain tulos virusvektoreilla on noin 1 % iPS-soluiksi muuttuneita soluja, muissa muutos ei ole täydellinen, vaikka soluun olisi siirretty kaikki geenit ja ennen kuin solut muuttuvat iPS-soluiksi, niin aikaa kuluu yli kuukausi. Siirryttyään erilaistuneeseen soluun geenit aktivoituvat ja muuttavat erilaistuneiden solujen muotoa, geeniperimää ja kasvuominaisuuksia, niistä tulee pluripotenteja kuten alkion kantasolut. (Mummery et al. 2011: 97–100, 42 Shao, L. 2010)



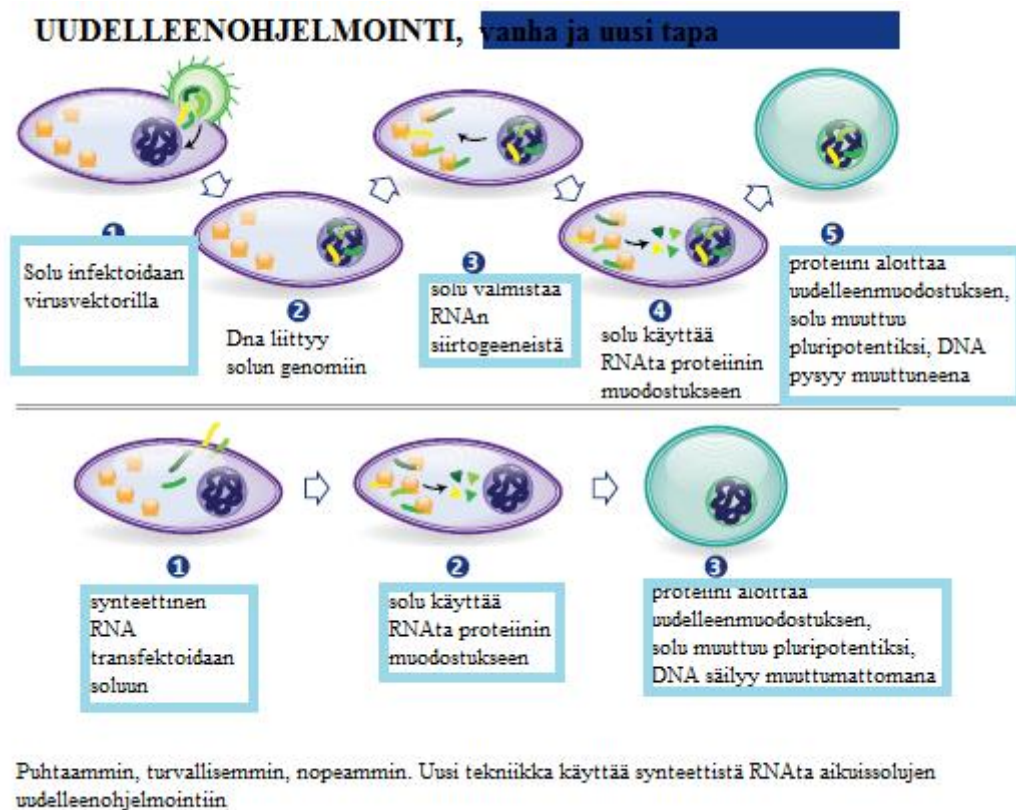
Kuvio 10. Kaavakuviota siitä, miten ihosoluista tehdään iPS-soluja virusvektoreiden avulla. Kun ihosoluihin siirretään nämä neljä geeniä, ne muuttuvat pluripotentiksi iPS-soluiksi, jotka voivat erilaistua alkion kantasolujen tapaan kaikiksi ihmisen soluiksi. (Mummary et al. 2011, suomennettu)

Plasmidien avulla valmistetuista iPS-soluista hyvänä tuloksena on pidetty 0,5 % onnistumista eli sitä että 0,5 % transfektoiduista soluista muuttui iPS-soluiksi. Plasmidien hyvinä puolina voidaan pitää iPS-solujen helppoa ja halpaa valmistusta verrattuna RNA:lla tai proteiinilla valmistamiseen. Tutkimuksessa todettiin napaverestä ja aikuisen verisoluista plasmidien avulla tehtyjen iPS-solujen muistuttavan enemmän alkion kantasoluja, kuin aikuisen tai vastasyntyneen ihosoluista tehdyt. (Chou et al. 2011)

Valporiinihappo on mm. epilepsian lääkkeenä tunnettu ja hyväksytty. Valporiinihappoa käytettäessä tarvitsee siirtää vain kaksi geeniä eli Oct4 ja Sox2. Siinä ei tarvita kahta syöpäriskin sisältävää geeniä, c-Myc ja Klf4, jotka tarvitaan kun iPS-soluja tehdään virusvektoreiden avulla. Valporiinihapon ja kahden geenin aikaansaamat iPS-solut osoittivat pluripotenttiutensa niin maljalla kuin hiiressä, muodostaen kaikkien kolmen alkion solukerroksen solumuotoja. Menetelmällä saatiin noin 1 % iPS-soluiksi muuttuneita ihosoluja käsitellyistä soluista. (Huangfu et al. 2008)

Tutkijat yrittävät saada kemikaalisen keinon, kuten synteettisen RNA:n, tuottavammaksi, siinä kun ei tarvitse siirtää kahta syöpäriskiä kohottavaa geeniä, jotka siirretään virusperäisillä vektoreilla. Toistaiseksi RiPS-solut (RNA induced pluripotent stem) ovat

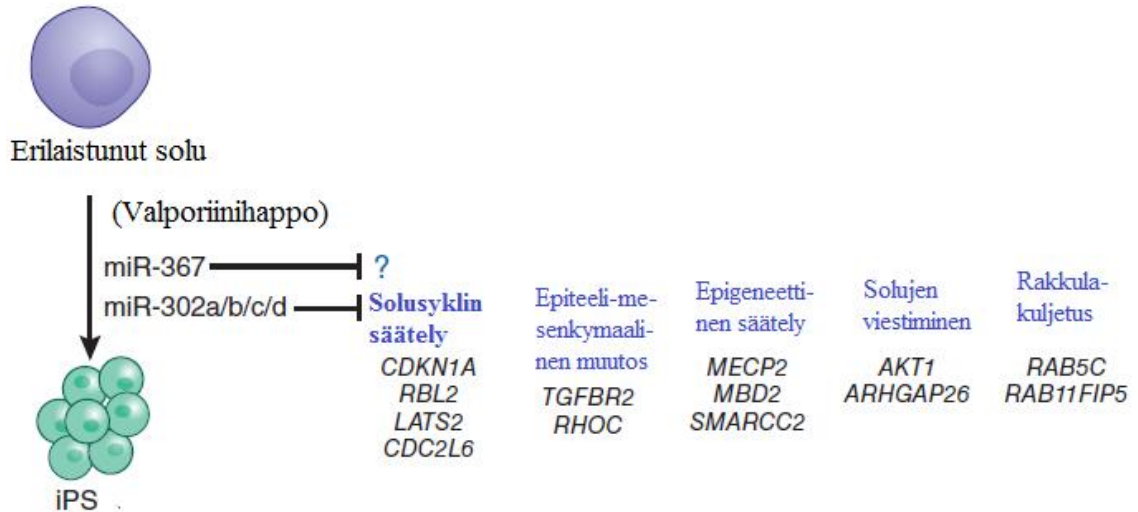
parantaneet tilanteen puoleen ajasta ja nelinkertaistaneet saannon virusvektoreihin verrattuna, eli jopa kahdessa viikossa ja muuttuneista soluista 4 % on RiPS-soluja. Kuvassa 11 näkyvät erot virusvektori iPS-solujen ja RiPS-solujen teon välillä. RiPS-solut muistuttavat geenistöltään enemmän alkion soluja kuin muilla keinoilla tehdyt iPS-solut. Mutta RiPS-solut ovat vielä liian hidas ja kallis vaihtoehto terapiaan tarvittavien solujen aikaansaamiseksi. Kemikaalikeinojen parannus olisi ehkä paras keino tehdä iPS-soluja paljon ja kohtuuhintaisesti. (Vogel 2010a)



Kuvio 11. Tässä kaksi tapaa muuttaa erilaistunut solu iPS-soluksi, yllä perinteinen virusmalli ja alla synteettisen RNA:n käyttö, joka on nopeampi ja turvallisempi kuin virusmalli. (Vogel 2010a, suomennettu)

Yksi uusi ja tehokas tapa tehdä iPS-soluja on mikro-RNA:n käyttö. Mikro-RNA:t (miRNA) ovat laaja ryhmä RNA:ta, jotka säätelevät jokainen tiettyjen, omien geeniensä toimintaa, ja jotka vaikuttavat normaaliin yksilön kehitykseen ja alkion kehitykseen. Tutkittuaan muutamia mikro-RNA-ryhmittymiä tutkijat huomasivat miR-302/367-mikro-RNA:iden pystyvän muuttamaan erikoistuneet solut pluripotenteiksi. Hiiren solut tarvitsivat lisäksi valporiinihappoa, kuten kuvassa 12 näkyy. Jopa 10 % käsitellyistä soluista

muuttui iPS-soluiksi. miRNA:t ovat helppoja siirrostaa soluihin. Soluun siirryttyään ne ovat stabiileja eivätkä aiheuta ongelmia immuunipuolustuksen kanssa. Ne ovat siis oiva tapa tehdä iPS-soluja terapiahoitoihin. (Chang, Gregory 2011)



Kuvio 12. Erilaistuneiden solujen muuttaminen iPS-soluiksi miRNA:n avulla, valporiinihappoa tarvitaan hiiren solujen muuttamiseen (Chang, Gregory 2011, suomennettu)

On tärkeä muistaa, että iPS-soluissakin on veriryhmän lisäksi immuunipuolustuksen tunnistama pintaproteiini rakenne mutta myös alkuperäisen solun luovuttajan sukupuoli, joka saattaa vääränä aiheuttaa ongelmia siirron jälkeen. Joillakin iPS-soluilla on muisti alkuperästään, eikä se poistu pitkänkään soluviljelyn tuloksena. Tämä todettiin tutkimuksessa, jossa tehtiin iPS-soluja napanuoran soluista ja ihon keranosyyteistä. Huomattiin eroja nimenomaan solujen alkuperänomaisissa osissa genomia eli niissä gee-neissä, jotka ilmenivät soluissa alun perin. Siis esim. ihosoluista tehdyissä iPS-soluissa olivat edelleen ihosolun geenit ilmenemässä. Erot näyttävät johtuvan metylaation, eli DNA:n kemiallisen muutoksen, vaihtelusta. Tulokset osoittavat, että uudelleenohjelmointiprosessi saattaa jättää solun kudospäisiä genejä ilmentymään. Tästä johtuu myöhemminkin mainittava ero eri solulinjojen käytettävyydestä eri tarkoituksiin. (Mummary et al. 2011: 192, Kim et al. 2011)

6 Hiiren kantasolut

6.1 Geenimuunneltu hiiri ihmisen tautimallina

Huomattavasti kantasolu- ja geenitutkimuksia on tehty hiirellä. Hiiri on halpa ylläpidettävä ja helposti käsiteltävä, ja sen perimässä on, luonnollisesti ja geenimuunneltuna, samoja tautimutaatioita kuin ihmisellä. Hiirellä monet taudit esiintyvät vähemmän vakavina kuin ihmisellä. Se on malliorganismi ihmisille tarkoitettujen hoitojen ja elinkohtaisten kantasolujen löytämisen kannalta. Hiiren populaatio kasvaa nopeasti, koska hiiren raskaus kestää vain alle kolme viikkoa, jolloin periytyvien sairauksien geeniterapiahoitojen vaikutusta potilaan jälkeläisiin voidaan tutkia lyhyellä aikajänteellä. Alle puolessa vuodessa saadaan tieto jo monesta hiirisukupolvesta, periytyykö terapiahoiton tulos. Kun teratioissa on saatu hyviä tuloksia hiirellä, voidaan hakea lupaa kliinisten kokeiden aloittamiseen ihmisillä. (Mummary et al. 2011: 32,163)

Hiiren kantasolujen viljelemisen myötä hiirestä tuli tärkein osa geneettisen manipulaation malleista. Tuhansia geenejä on siirretty ja tehty toimimattomiksi hiirissä ja toimenpiteiden tulokset on nähty seuraavassa sukupolvessa hiiriä. Jo vuonna 1974 tehtiin siirtogeenisiä hiiriä, siirrettävät geenit siirrostettiin hedelmöittyneisiin munasoluihin tai blastokystiin, jolloin geeni tarttui sattumanvaraisesti johonkin kromosomiin, mutta ei mihinkään tiettyyn kohtaan. Näin saattoi olla, että siirtogeeni oli vain yhdessä kromosomissa ja halu oli saada kimeerinen hiiri, joka siirtäisi sukusoluissaan siirtogeeniä, jolloin niiden jälkeläinen olisi mutantti. Mutantti saavutettiin, kun saatiin siirtogeeni sukukantasoluihin. Silloin päästiin tutkimaan niin sikiö- kuin aikuisvaiheenkin eroja geenin vaikutuksessa, jos siirretyn geenin vaihto ei ollut tappava. Siirtogeenisyyttä on käytetty laajalti tutkittaessa syövän syntyä, immunologiaa, neurologiaa, ihmisen geneettisiä virheitä ja umpieritystä. Hiiri on toiminut mallina, kun tautien geenejä on etsitty ja hiireltä löydetty tautigeeni on etsitty ihmisen genomista. (Mummary et al. 2011: 66–72)

6.2 Hiiren kantasolujen kasvatus

Kun hiiren teratoomia tutkittiin 1950-luvulla, huomattiin teratoomien sisältävän kantasoluja, jotka olivat kuolemattomia. 1975 todistettiin hiiren teratoomasolujen olevan pluripotentteja, koska ne kykenivät muodostamaan kaikkia alkion solukerroksia maljalla. Niiden pluripotenssi todistettiin myös yhdistämällä niitä hiiren hedelmöittyneeseen munasoluun ja tuottamalla poikasia. Poikasten geenistö oli muuten kimeerinen mutta sukusolut olivat peräisin hedelmöittyneen munasolun luovuttaneelta emolta. Ihmisen terapiakäytössä solut olisivat kuitenkin eettisesti arveluttavia, koska ihmisen teratokarsinoomasolut sisältävät vakavia kromosomaalisia muutoksia. (Mummery et al. 2011: 62–65)

Kun tutkijat huomasivat, että kahden hedelmöittyneen munasolun fuusioiminen tai muutaman blastokystin sisäsolun siirto toisen hiiren blastokystiin saivat aikaan kahta perimää kantavan jälkeläisen, he päättelivät blastokystin aikaisten solujen olevan pluripotentteja. Tämä johti ajatukseen alkion solujen kasvatuksesta laboratorioissa, kuten hiiren teratokarsinoomasoluilla oli jo tehty. Ainoa este oli löytää kasvatusalusta, jolla solut kasvaisivat. (Mummery et al. 2011: 66)

1980-luvulla kasvatettiin hiiren teratokarsinoomasolulinjoja laboratorioissa, jotta löydettäisiin paras kasvualustamalli ja päästäisiin tutkimaan hiiren alkion eri kehitysvaiheita laboratorioissa. Havaittiin, että hiiren sikiöstä eristetyt fibroblasti- eli syöttösolut saivat hiiren kantasolut pysymään pluripotentteina. Kun solut pysyivät kantasoluina eivätkä alkaneet erilaistua, oli saatu aikaan kantasolulinjat. Vuosikymmenen lopulla löydettiin LIF (leukemiaa estävä tekijä). Se oli syöttösolujen erittämä merkitsevä ainesosa, joka esti kantasolujen erilaistumisen. Tämä oli ratkaisevaa, nyt saatiin hiiren kantasoluja kasvatettua ilman syöttösoluja, vain LIF:iä lisäämällä. (Mummery et al. 2011: 66–67)

6.3 Hiiren iPS-solut

Kun kantasolut oli saatu kasvamaan kantasolulinjoina, alettiin etsiä niitä geenejä, jotka mahdollistavat erilaistuneen solun palautumisen kantasolun tyyppiseksi ja käytettiin hiiren fibroblastisoluja. Vasta vuonna 2000 löydettiin ne neljä geeniä, jotka mahdollistavat erilaistuneiden solujen muuttumisen pluripotentteiksi kantasoluiksi. Nämä neljä geeniä, Oct4, Sox2, Klf4 ja c-Myc, koodaavat transkriptiotekijöitä, jotka ilmenevät alkion

soluissa. Vuonna 2006 saatiin hiiren ensimmäiset solut muuttumaan iPS-soluiksi. Hiiren iPS-soluja on saatu valmistettua ilman syöpäriskiä kohottavaa c-Myciä. Tutkittaessa hiiren solujen muuttamista iPS-soluiksi adenovirusten avulla huomattiin, että maksan solut muuttuivat helpommin iPS-soluiksi kuin ihosolut ja sikiön maksasolut vielä paremmin. Adeno-iPS-solut muuttuivat hiireen ruiskutettuina teratoomiksi, jotka ilmensivät kaikkia solutyyppejä. Kun adeno-iPS-soluilla tehtiin kimeerisiä hiiriä, ei yhdessäkään poikasessa ole todettu kasvaimia. Plasmidilla iPS-soluja tehtäessä kokeiltiin hiiren alkion fibroblastisolujen muuttamista iPS-soluiksi. Ensimmäisessä kokeilussa kimeerisissä hiirissä oli plasmidijäännöksiä genomissa, silloin oli käytetty retro-, lenti- ja adenovirusia. Toisella kerralla siirrettiin geenit vain plasmidilla eikä jäänteitä näkynyt. iPS-solut testattiin sekä ruiskuttamalla suoraan hiireen että kimeeristen poikasten kautta. Hiireen on kokeiltu siirtää geenimuuntelulla korjattu, alun perin tautigeenin sisältänyt iPS-solun munasoluun ja jälkeläinen on ollut terve. (Mummery et al. 2011: 83–85, Stadtfeld et al. 2008, Okita et al. 2008, Wu 2011)

6.4 Hiireen kokeiltuja kantasoluterapioita

Hiirikokeissa on esimerkiksi kokeiltu siirtää keinotekoisien infarktin saaneeseen hiiren sydämeen sykkiviä, ihmisen kantasoluista valmistettuja sydänlihassoluja. Kokeissa oletettiin, että ruiskutetut sydänsolut liittyisivät sydämessä oleviin soluihin ja parantaisivat sydämen. Tutkittaessa, onko siirrettyjä sydänsoluja parantuneessa sydämessä jäljellä, huomattiin, että vain muutamat siirretyt sydänlihassolut jäivät toimimaan ja loput katosivat. Katoamisen syyksi pääteltiin, että siirretyt sydänlihassolut eivät olleet kiinnittyneet olemassa olevaan sydänsolukkoon. Sydämen parantuminenkin oli ollut marginaalista, ja todettiin, että solut on saatava toimimaan jäljellä olevan toimivan sydänsolukon kanssa. Omien ja siirrettyjen sydänsolujen yhteistoiminnan parantamiseksi on esitetty ajatusta tahdistimesta, joka pitäisi siirretyt sydänsolut sydämen kanssa samassa sykkeessä. Lisäksi siirrettävät sydänsolut kannattaa siirtää toisiinsa kiinnitettyinä rakenteina, vaikka jonkinlaiseen tukirankaan kasvatettuina, jolloin kiinnittyminen olisi pysyvämpää. (Mummery et al. 2011: 199–201)

Kun hiiren kiveksistä eristettyjä, maljakasvatettuja ituradan unipotentteja kantasoluja (GS-soluja) siirrettiin suvunjatkamiskyvyttömän uroshiiren kiveksiin, ne alkoivat tuottaa siittiöitä ja hiiri sai jälkeläisiä. Maljalla kasvatettuina ituradan kantasolut muuntuivat

pluripotenteiksi harvoin, vain 1 / 15 000 000 solusta muuntui. Huomattiin niiden myös tarvitsevan LIF:iä ja lehmän sikiön seerumia maljakasvatuksissa. Maljalla kasvatetut GS-pluripotentsolut aiheuttivat usein myös teratoomia, kun ne siirrettiin hiiren kiveksiin. Kun maljakasvatettuja GS-pluripotentsoluja ruiskutettiin blastokystivaiheessa olevaan hiiren alkioon, siirretyt GS-solut osallistuivat kudosten muodostukseen alkiossa. Maljalla kasvatetut unipotentit solut tuovat toivoa suvunjatkamiskyvyttömille miehille. (Mummery et al. 2011: 95–97)

Tutkittaessa hiirellä selkäytimen kantasolujen toimintaa, liitettiin kantasoluihin vihreää fluoresoivaa proteiinia (GFP, green fluorescent protein) koodaava geeni. Näin selkäytimen kantasolujen liikkumista päästiin seuraamaan helposti hiiressä. Kokeessa hiiren selkäytimen solut sädetettiin pois ja tilalle siirrostettiin keinotekoisella vihreällä fluoresoivalla aineella merkattuja selkäytimen soluja. Jonkin ajan kuluttua kaikki hiiren selkäytimen solut, myös verisolut, loistivat kuvattaessa vihreinä. Parin kuukauden kuluttua vihreinä loistivat myös useat elimet. Tästä tehtiin se johtopäätös, että selkäytimen kantasolut voivat vaihtaa tyyppiään vaikka sydänsoluiksi. Tarkemmissa tutkimuksissa tämä johtopäätös todettiin vääräksi. Kantasolut voivat joissain tapauksissa fuusioitua erikoistuneisiin soluihin mutta eivät vaihtaa malliaan. Tätä fuusioitumista ei kuitenkaan voida käyttää hyväksi terapioissa. (Mummery et al. 2011: 160)

Vain osittain erilaistuneet hiiren alkion kantasolut muuntuivat hiiren aivoihin ruiskutettuina oikean tyyppisiksi soluiksi aivosolujen lähettämien viestien perusteella. Tähän voi perustaa ajatuksen, että kantasolut osaisivat erilaistua tarpeen vaatiessa kulloinkin vallitsevien olosuhteiden mukaisesti tarvittaviksi soluiksi. (Mummery et al. 2011: 162)

Tutkimuksessa ihmisen lapsiveden multipotenteiksi luokitelluilla mutta monimuotoisimmiksi osoittautuneilla kantasoluilla (hAFS, Human amniotic fluid stem cells) huomattiin kantasolujen kykenevän parantamaan akuutin munuaisvian (AKI) vaurioita hiireltä GDNF:n (glial cell line-derived neurotrophic factor) läsnä ollessa. hAFS-solut vähensivät selvästi solujen apoptoosia vaurioituneessa munuaisessa. Kokeen tuloksena munuaisvaurioisten hiirten eloonjäämisen mahdollisuus kasvoi. Kokeen tuloksissa todetaan lapsiveden kantasolujen oleva uusi, helppo ja eettinen keino ihmisen kantasoluhoidon terapiakäytölle oletettavasti monessa taudissa. Lapsiveden kantasolujen huomattiin toimivan enemmän paikallisesti aktivoivana eikä monipuolisesti jakaantuvana. Ne et-

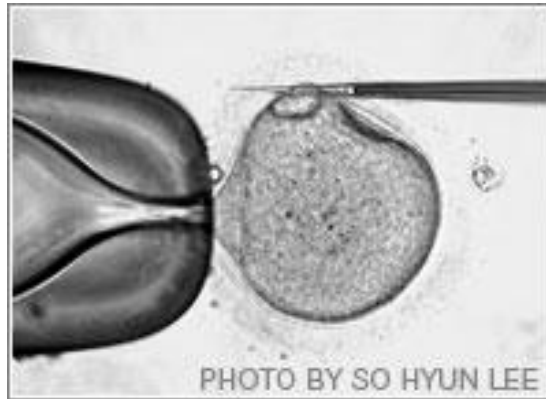
siytyivät vaurioituneeseen elimeen ja pysyivät siellä korjaustoimissa. Kokeessa solut oli käsitelty GDNF:llä, jonka oletettiin auttavan soluja kotiutumaan vaurioituneeseen elimeen ja pystyvän toimiaan siellä ilman vaurioituneen elimen aiheuttamaa oksidatiivista stressiä. Ne eivät aiheuttaneet minkäänlaisia muutoksia hiiren elimistössä, kun niitä ruiskutettiin hiireen tutkittaessa muuttuvatko teratoomiksi. Ruiskutettuna rotan vaurioituneeseen sydänlihakseen ne muuttuivat sydänlihassoluiksi. (Rota et al. 2011)

7 Tutkimukset ja hoitokokeilut kantasolujen siirtoina

7.1 Tutkimusten tarpeen syyt

Luovutuselimiä on suurimpia syitä siihen, että etsitään hoitomenetelmiä, joissa kantasolut olisivat käytössä. Luovutuselimiä, joilla voitaisiin korjata elimellisiä vaurioita tai poistaa syntynyt vajaavaisuus, kuten kuurous tai sokeutuminen, on tarpeeseen nähden liian vähän johtuen väestön vanhenemisestä. Luovutuselimeissä on myös aina hylkimisen riski. Terapiahoitoihin on tarjolla paljon vaihtoehtoja erilaisten solujen muodossa. Useista aiemmin mainituista kantasolutyypeistä voidaan käyttää jotain solumuotoa tai valmistaa niistä elimiä tai elimen osia. Terapiahoitojen tuottaminen alkion kantasoluilla voi olla tulevaisuudessa mahdollista mm. hermosoluilla, joiden valmistus osataan jo. Sydänsolujen ja verisuonten endoteelisolujen tuotto on vaikeampaa, mutta erittäin vaikeita valmistaa ovat mm. keuhkojen ja haiman solut. Arvoituksena on se, että ne solut, jotka ovat hankalimpia valmistaa, kuten β -solut haimassa, ovat helpoimpia siirtää. Vastavuoroisesti helpoimmat valmistaa eli aivojen hermosolut, ovat vaikeimmat ja riskialttiimmat paikalleen siirrettäessä. Kantasoluhoidoissa voitaisiin myös käyttää terapeuttisia klooneja, SCNT-soluja. Kloonauksessa munasolun tuma poistetaan ja erilaistuneen solun tuma siirretään munasoluun. Munasolulle annetaan keinotekoinen impulssi, joka saa sen jakaantumaan ja muuttumaan alkiksi. Vuonna 2004 korealaiset tutkijat saivat ensimmäisen kerran ihmisen solut kloonautumaan niin, että kloonatusta blastokystistä saatiin sisäsolut talteen ja kasvatettua ne solulinjoiksi. Heillä oli käytössä tuman siirtoon tavallisesti käytetyn imumenetelmän, kts. kuva 13, tilalla tuman ulos puristus, joka on hellävaraisempi ja aiheuttaa vähemmän mutaatio-ongelmia. He myös havaitsivat, että kun munasolun annetaan olla pari tuntia siirron jälkeen koskematta ennen impulssia, on onnistuminen varmempaa. Mutta kuten iPS-

solujen, ei myöskään terapeuttisten kloonien valmistaminen ole helppoa, ja valmiiden solujen määrä on pieni verrattuna alussa olleiden muuttuvien solujen määrään. Terapiat hoidot eivät ole vielä rutiinia, vaan ne ovat käytössä vain eriasteisina kokeiluina. (Mummery et al. 2011: 79,80, Hwang et al. 2004, Olson, Atala & Yoo 2011)



Kuvio 13. Munasolun tuman poisto ohuen neulan avulla imemällä. (Stanford School of Medicine 2007)

Kantasoluhoidoissa solut voitaisiin periaatteessa joko siirtää injektioon avulla suoraan vaurioituneeseen elimeen, kuten sydänkohtauksen jälkeen sydämeen, tai verisuonistoon, jossa ne siirtyisivät paikalleen sen perusteella, että solut tietävät elimen, johon ne kuuluvat. Verisuoniston kautta kantasoluja paikalleen siirrettäessä on kohde-elimen kuitenkin oltava korjaustilassa. On vielä tutkittava, pitääkö siirrettävät solut saada ensin erilaistumaan, ennen kuin ne ruiskutetaan hoidoksi. Rutiinomaiseksi hoitomuodoksi hoidot voivat muuttua, kun hoitotoimien helppous, turvallisuus ja toimivuus on varmistettu. Autoimmuunisairauksissa ja muissa soluja tuhoavissa tiloissa on tutkittava myös, millä aikavälillä hoito on mahdollisesti uusittava. (Mummery et al. 2011: 135–142)

Tarvittavien solujen määrä on kiinni mm. siitä, kuinka suuri vaurio on kyseessä ja ovatko solut potilaan omia vai luovuttajalta, sillä luovutetuissa soluissa on aina hyljinnän riski, jolloin soluja tarvitaan enemmän, että ne pystyvät olemaan hyödyksi. Kun kyseessä on geneettisesti periytyvä tauti, hoitoon tarvitaan ainakin toistaiseksi luovuttajan kantasoluja, koska omissa kantasoluissa on sama geenivirhe. On mahdollista vaihtaa solujen geenejä, jos geenivirheen aiheuttamat geenit on löydetty. Omiin soluihin voitaisiin siirtää luovuttajalta vain terveet geenit, jolloin estolääkitystä mahdollista hylkimistä vastaan ei tarvittaisi. Kuinka monta solutyyppiä tarvitaan, on tärkeimpiä kritee-

reja mietittäessä, voidaanko kantasoluterapiaa harkita. Muutaman tietyn solutyypin korjaus on huomattavasti helpompaa kuin monessa eri elimessä olevat usean solutyypin vauriot. Parkinsonin taudin hoitoon on helppo perustella kantasolujen käyttöä, koska siinä vaurioituu vain yhden tyyppisiä, dopamiinia tuottavia hermosoluja. Dopamiini on hermosolujen välittäjäaine. Alzheimerin taudissa vauriot ovat laaja-alaisempia ja useamman hermosolutyypin kato aiheuttaa sen, ettei tautiin ole vielä hoitoa näkyvissä. Usein taudin tai vaurion laatu on kuitenkin ratkaisevampaa kuin se, montako solutyyppeä se on vahingoittanut. Kaikissa taudeissa vain yhden solutyypin puuttuminen ei kuitenkaan ole suora tie kantasoluhoidomahdollisuuksien kärkeen, aina on myös mietittävä mikä taudin aiheuttaa. (Mummery et al. 2011: 135–142)

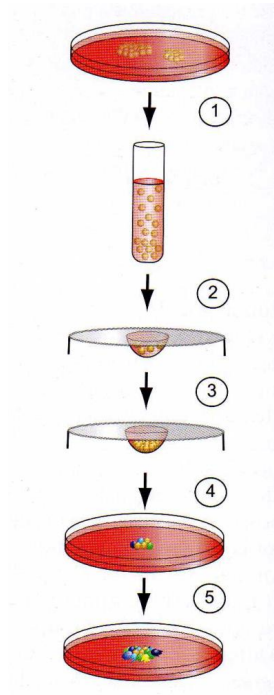
Ykköstyyppin diabetes on lupaava kantasoluhoidon kohde, sillä siinä vain yksi solutyyppe, eli β -solut, lopettaa toiminnan ja niiden tilalle ruiskutetut luovuttajan β -solut elävät useamman vuoden ennen uuden hoidon tarvetta. Normaalisti β -solut tuottavat vereen tarvittavan määrän insuliinia. Niiden tuhoutuminen on hidas prosessi ja yleensä β -solujen tuhoutuminen on yliaktiivisen immuunipuolustuksen syytä, mutta diabetes voi johtua geeniperimästä ja silloin β -solujen tuhoutuminen on niistä itsestään johtuvaa. Ei-geneettisessä diabeteksessä voidaan käyttää autologisia kantasoluja, mutta geneettisissä olisi käytettävä luovuttajan kantasoluja, jolloin hylkimisen estolääkitys haittaa hoidettavan ihmisen paranemista. Kuolleilta luovuttajilta haimoista kerätyt aikuisen kantasolut tai niiden progeniittorit eli osittain erilaistuneet kantasolut ovat jo käytössä kliinisissä kokeiluissa mutta eivät laajalti luovuttajien vähyyden vuoksi. (Mummery et al. 2011: 146,154)

7.2 Terapiasolujen tuoton vaikeudet

Alkion kantasolujen ongelmat ovat moninaiset, sillä niiden erilaistumista on hankala säädellä, eikä voida varmuudella sanoa, etteivät ne muutu teratoomiksi elimistössä. Niiden kunnollinen kiinnittyminen elimiin, joihin terapia on tarkoitettu, on puutteellinen. Lisäksi hygienian taso siirrettävissä kantasoluissa on elintärkeä. Kaiken muun lisäksi näiden kaikkien toimenpiteiden toteutus hyvän terapian tuottamiseksi on kallista. Sydämen solut, verisuonten lihassolut ja aivosolut saadaan erilaistettua alkion kan-

tasoluista. Tämä tilanne tosin on täysin kiinni solulinjasta, mutta noin puolet erilaistumisyrityksistä onnistuu. Kantasolulinjojen kasvatus- ja erilaistumisen eroista myöhemmin lisää. On oletettavaa, että istutetut kantasolut ja progeniittorit eli rajoittuneen erilaistumiskyvyn omaavat kantasolut, osaavat erilaistua tarvittaviksi soluiksi ympäristönsä mukaan. Alkioperäisissä kantasolusiirteissä on kuitenkin infektiotakin suurempi riski olemassa, ne saattavat alkaa tuhota terveitä soluja tai käyttäytyä syöpäsolujen tavoin. Aikuisen kantasoluissa on huomattavasti pienempi riski syöpätyypisille muutoksille. Laboratorioissa erilaistuneet solut ovat suuremmassa riskissä muodostaa syöpätyypisiä kasvustoja kuin vain lisäsoluiksi jakautuneet. Mutta täysin erilaistumattomat pluripotentiit solut ovat aiheuttaneet hiirikokeissa teratokarsinomia. Kuten mainittiin, solujen pluripotentiisuus todetaan ruiskuttamalla soluja hiiren ihon alle ja katsomalla pystyvätkö ne muodostamaan teratoomia. Alkion kantasoluissa ja luovuttajan kantasoluissa on myös aina hylkimisriski, vaaralliseksi hylkiminen muuttuu jos siirretyt kantasolut alkavat tuhoamaan isäntäsoluja. (Mummary et al. 2011: 161,162,165)

Kantasolujen erilaistumiseen on keksitty tiputtaa tippa erilaistumattomia kantasoluja petrimaljan kannelle ja antaa kasvaa muutaman päivän. Ne eivät siis ole kasvualustassa, vaan petrimaljan kannessa (kuva 14). Kun kantasolut alkavat erilaistua, ne muodostavat pieniä kasaumia eli embryoid bodyja, joista erilaiset erilaistuneet solut on helppo siirrostaa omille maljoilleen kasvamaan lisää. Erilaistuneiden solujen erottaminen erilaistumattomista on vaikeaa, solujen leimaaminen olisi hyvä keino. Leimaus voisi olla vaikka fluoresoiva vasta-aine, joka tarttuu erilaistuneen solun pintaan. Sitomalla samaan vasta-aineeseen magneettisuuden erilaistuneet solut saisi helposti kerättyä pois. Japanissa on onnistuttu leimaamaan mitokondrioita fluoresoivilla vasta-aineilla. Pluripotentista kantasoluista erilaistuneet sydänsolut on helppo poimia talteen, koska sydänsolut sisältävät runsaasti mitokondrioita.



Kuvio 14. 1) Erilaistumattomia pluripotentteja kantasoluja siirretään kasvatusnestettä sisältävään koeputkeen. 2) Tippa kantasoluja sisältävää kasvatusnestettä siirretään petri-maljan kannelle. 3) Roikkuvat solut kokoontuvat kasaumaksi ja muodostavat tipan kokoisen solukasauman. 4) Nämä solukasaumat ovat blastokystin sisäsolujen kaltaisia ja sisältävät kaikkia kolmea alkion solutyyppiä. Ne siirretään maljalle kasvamaan. 5) Maljalla kasvaessaan solujen erilaiset tyytit selkeytyvät (Mummery et al. 2011)

Turvallisempaa alkionkantasoluterapiaa varten on tutkittu solujen pinnan antigeenejä ja kehittyä sytometrillä tapahtuva erilaistuneiden solujen erottelu. Tutkimuksessa, jossa etsittiin keinoa estää teratoomien esiintyminen siirrettyissä alkion kantasoluissa ja iPS-soluissa, todettiin, että SSEA-antigeenin (stage-specific embryonic antigen) eri muodot esiintyvät hiirellä ja ihmisellä vain alkion kantasolumuotoisissa soluissa. Ihmisen soluissa ilmenee SSEA-3 sekä SSEA-4 ja hiirellä SSEA-1. Alkion kantasoluista löytyi SSEA-5, joka löytyy aikuisen soluistakin. Tutkijat kokeilivat yhden markkerin tunnistuksen jälkeen teratoomien kasvua ja päättelivät, että vain yhtä markkeria ei voida pitää luotettavana erottamaan erilaistuneet solut pluripotentteista soluista, joten tutkijat etsivät lisää vain tietyissä soluissa ilmeneviä markkereita. He löysivät alkion kantasoluista myös kaksi markkerisarjaa, joita ei muista kuin pluripotentteista soluista ole löytynyt. Kun solu on erilaistunut, sillä ei enää ole näitä pluripotentin kantasolun antigeenejä pinnallaan ja pluripotentit kantasolut voidaan spesifisellä sytometrillä poistaa siirrettävästä solukosta. Näin varmistetaan, etteivät siirrostetut solut aiheuta hoidon kohteessa syöpäkasvaimia. Kun soluihin lisätään esimerkiksi vasta-aineeseen kiinnitetty immunofluoresenssileima, voidaan sytometrillä erottaa toisistaan tietyt erikoistuneet solut, ku-

ten hermosolut ja sydänlihassolut. On kuitenkin tiedettävä haluttujen erilaistuneiden solujen pintamarkkerit, jotta saadaan erotettua oikeat solut muista soluista. Näin saadaan siirrosteeksi vain puhtaita, haluttuja, erilaistuneita soluja. (Mummery et al. 2011: 166,174–175,209,220,221, Andrews 2011, Tang et al. 2011)

Kantasolujen siirto yhdistettynä geeniterapiaan on tulevaisuuden terveydenhoidolle looginen askel. Kantasolujen ja geeniterapian yhteishoitomuodosta olisi nopeastikin apua verisairaus hemofilia A:ta sairastaville, koska heillä vähäinenkin faktori VIII:n lisäys verenkierrassa vähentäisi verenvuodon runsautta. Diabeetikoita vähäinen määrä terveitä β -soluja ei vielä pelasta, siksi heille kaivataan paremmin suunnattua hoitomuotoa. Haiman β -solujen ei tarvitse sijaita haimassa, ne voitaisiin siirrostaa vaikka maksaan. Kantasoluhoidoissa siis siirretään uusia β -soluja, jotka on uusittava jossain vaiheessa mutta geeniterapialla parannellut β -soluja valmistavat kantasolut voidaan liittää haimaan ja ne jakaantuvat siellä. (Mummery et al. 2011: 156–157)

Kantasoluterapia ei todennäköisesti koskaan tule käsittämään kaikkia soluja ja elimiä. Aikuisen kantasolut eivät ole kuolemattomia eikä hematopoieettisten kantasolujen kasvatus tarpeeksi suureksi määräksi syöpähoitojen korjaajia ole onnistunut. Hoitomuoto syöpähoitojen korjaajiksi on olemassa, mutta toteutus on vielä pienimuotoista. Olisi mahtavaa saada aikuisenkin kantasolut jakaantumaan niin, että yhdestä potilaasta otetuilla soluilla saataisiin potilaan hoito tehtyä. Tähän ei ole kuitenkaan vuosikymmenten työn jälkeenkään päästy. Mesenkymaalisten solujen hyvä puoli on niiden kyky erilaistua moniksi eri soluiksi. Niitä onkin kliinisissä kokeissa käytetty sydänvaurioihin, luu- ja rustovaurioihin, munuaisvikoihin, Crohnin tautiin ja käänteishyljinnän parantamiseen. Käänteishyljinnässä elinsiirtojen yhteydessä siirretyt luovuttajan veren kantasolut joskus hyökkäävät isäntäsoluja vastaan ja aiheuttavat mm. avohaavoja. Syöpähoidoissa voidaan siirretyt kantasolut "opettaa" hyökkäämään syöpää vastaan. Käänteishyljintää aiheuttavat siirteet sisältävät lymfosyyttejä. Alkion kantasolut eivät sisällä ja iPS-solujen ei oleteta sisältävän näitä tekijöitä. (Mummery et al. 2011: 159–161, 165, 178, 186, Porkka 2004)

iPS-solut tulevat luultavasti olemaan yksi kantasoluterapian kulmakivistä. Kun ihon palasesta saadaan jokaiselle yksilölliset kantasolut tarpeen mukaan, ei hylkimisreaktiotaakaan ole. Hylkimisreaktio perustuu immuunijärjestelmään, joka tunnistaa solujen pinta-

proteiineja eli HLA-molekyylejä (human leukocyte antigen) sekä veriryhmäantigeenejä. Solun pintaproteiineja on alkion kantasoluissa erittäin vähän, eikä veren pintaproteiineja ei ole ilmennyt alkion kantasoluissa ollenkaan. Immuunipuolustus on myös heikompi aivoissa, selkäytimessä, silmässä ja miesten sukuelimissä. Siksi niissä tapahtuvat kantasoluhoidot on helpompi toteuttaa. iPS-solut eivät ole aiheuttaneet hyljintää, joten on oletettu, ettei niissäkään ole immuunipuolustukselle näkyviä HLA-molekyylejä. Parhaat tulokset kuitenkin saadaan, kun iPS-solujen lähde on potilaan omat solut. (Mummery et al. 2011: 162,186)

Jotta kantasoluja voitaisiin käyttää ihmisten sairauksien hoidoissa, pitäisi niitä pystyä kasvattamaan helposti, paljon ja valmiiksi. Näin niitä saataisiin käyttöön heti, kun tarvitaan. Sydänkohtauksen jälkeen soluja olisi pystyttävä siirrostamaan sydämeen heti, jolloin arpeutumista ei ehtisi muodostua. Jotta näin voitaisiin tehdä, olisi kattava kantasolupankki ehkä helpoin toteuttaa iPS-soluista, jotka ovat sallittuja joka puolella maailmaa. On kuitenkin pidettävä mielessä, että omista somaattisista soluista kasvatetut kantasolut ovat kohtuuttoman kallis hoitokeino rutiinitoimenpiteeksi. Lupaani kliinisiin kokeiluihin ihmisillä vaaditaan eläinkokeissa onnistuminen niin turvallisuuden kuin tehokkuudenkin kannalta. Monet kokeet ovatkin nyt siirtymässä hiiristä kliinisiin kokeiluihin ihmisillä, kun tulokset ovat olleet lupaavia. (Mummery et al. 2011: 153,189)

7.3 Kantasoluhoidojen toteuttaminen

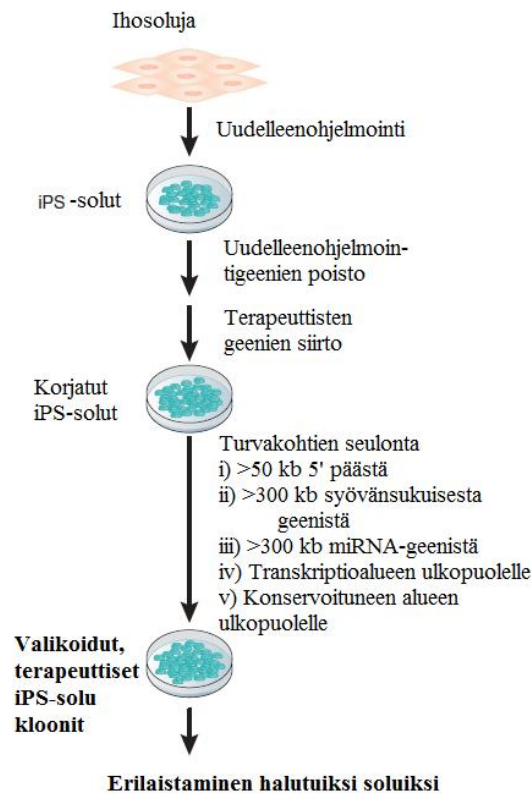
Kantasolujen tie hoidoksi on neliaskelinen. Ensimmäisessä vaiheessa on tutkittava, onko harkittu hoito turvallinen ja toteutettava. Toinen ja kolmas vaihe ovat todennettuja kliinisiä kokeita. Toisessa vaiheessa kliiniset kokeet toteutetaan pienellä ryhmällä ihmisiä, ja jos hoito on hyvä eikä aiheuta ongelmia, niin kolmannessa vaiheessa kliiniset kokeet toteutetaan suurella ryhmällä, sokkokoe mukaan laskettuna. Kolmanteen vaiheeseen liittyy satoja samaa tautia sairastavia potilaita. Heille on kerrottu hoidon mahdollisesti olevan plaseboa, eikä hoitohenkilökuntakaan tiedä kuka saa lääkettä. Kaikki oireet ja parantumistuntemukset kirjataan. Neljännessä vaiheessa on todennettava kaikki tutkimukset eli näytettävä kirjallisesti tutkimuksen tulokset ja haettava luvat hoidon / lääkkeen valmistamiseen ja markkinointiin. (Mummery et al. 2011: 229–232)

On olemassa yksityisiä klinikoita, jotka tarjoavat kokeellisia terapioita tauteihin, joihin ei muuten ole parannuskeinoa. Niiden kanssa asioimiseen kannattaa ottaa mukaan ISSCR:n (The International Society for Stem Cell Research) opas potilaalle, joka löytyy sen sivuilta ja kertoo, mitä tietoa kannattaa etsiä hoitoa tarjoavan yrityksen sivuilta. ISSCR:n nettisivuilta löytyy tietoa myös hoidoista, jotta ikäviltä kokemuksilta vältyttäisiin. Kaupallinen EmCell on ukrainalainen lääketieteellinen yritys, joka on maailman suurin kantasoluhoitoja antava yritys. Siellä tehdään kantasoluhoitoja sikiöiden (5-8 viikkoa vanhojen) kantasoluilla. Sen sivuilla on laajat selitykset niin kantasoluista kuin taudeista ja niiden hoidoistakin. Sillä on runsaasti erilaisia hoitoja sekä paljon patenteja menetelmilleen monista Euroopan maista, Venäjältä ja Yhdysvalloilta. EmCell:n sivuilla on runsaasti onnistuneiden hoitojen potilaskertomuksia, mutta hoidon tehosta ei silti ole varmuutta. (Mummery et al. 2011:228–229, EmCell)

Kliinisissä tutkimuksissa on kantasoluhoitoja parantumattomiin sairauksiin kuten Huntingtonin tautiin, Parkinsonin tautiin, kystiseen fibroosiin, diabetekseen ja sydänsairauksiin. Sivulta ClinicalTrials.gov hakuna stem cells löytyy noin 4000 tutkimusta ympäri maailmaa, joista osaan voi ilmoittautua koehenkilöksi. Sieltä löytyy myös ReNeuronin koe kantasoluhoidoista iskeemisen aivovaurion potilaille. Iskeemisessä aivovauriossa aivot eivät saa happea, usein johtuen siitä että veri ei kulje aivoihin ja solukuolema voi olla suurikin, jolloin seuraus on yleensä aivohalvaus tai kuolema. Koe sai luvat vuoden 2009 alussa, ja kliinisen kokeen I vaiheessa on 12 potilasta. Kliinisen kokeen II vaiheen on suunniteltu alkavan 2013, koska ongelmia ei ole ilmennyt. I vaiheen potilaita seurataan edelleen, vaikka ensimmäinen vaihe oli kaksivuotinen. II vaiheen kokeeseen voi ilmoittautua Clinical Trials:n sivuilla. ReNeuron on englantilainen yhtiö ja kokeet tehdään Glasgow'ssa Institute of Neurological Sciences -tutkimuslaitoksessa. Koe on nimeltään PISCES (Pilot Investigation of Stem Cells in Stroke), ja siinä käytettävät kantasolut ovat heidän yleisistä kantasolulinjoista valmistamia CTX – soluja. CTX-solut ovat hermosoluja mutta yhtiö ei anna tarkempaa tietoa. Oletan kuitenkin niiden olevan alkiopohjaisia, koska CTX-soluja on saatu valmistettua runsaasti valmiiksi. Solut on valmistettu niin, etteivät ne vaadi avukseen immuunipuolustusta heikentävää lääkitystä. Solut siirretään suoraan aivoihin, jossa niiden tarkoitus on auttaa aivoja rakentamaan hermoverkoston ja verisuoniston uudelleen. (Bloomberg 2009, Granovsky 2010, ReNeuron , Clinical trials)

7.4 Hoitokokeiluja

Soldner kollegoineen tutki Parkinsonin taudin geenien korjaamista manipuloimalla alkion kantasoluja ja vaihtamalla alkion solujen geenit Parkinsonia sairastavien ihmisten ihosoluista tehtyihin iPS-soluihin. Heidän päätelmänsä oli, että korjatut iPS-solut ovat se malli, jonka varaan voidaan kantasoluhoidoja muodostaa. Heidän käyttämänsä iPS-solun korjaustekniikkaa on esitelty myös toisessa artikkelista, joka on esitetty kuvassa 15. Katsauksessa turvallisista viruksen tarttumiskohdista genomiin keskitytään vain retroviruspohjaisiin iPS-solujen valmistusmalleihin. Tutkimuksessa, jossa korjattiin β -thalassemiaa sairastavien potilaiden soluista tehtyjä iPS-soluja, tutkijat kartoittivat solujen koko genomin. He havaitsivat, että genomissa on 17,3 % sellaisia kohtia, jotka voidaan määritellä turvallisiksi tarttumakohdiksi. Tutkimuksessa käytettiin lentivirusvektoria. iPS-soluja valmistettiin 20 linjaa ihon fibroblasteista ja luuytimen mesenkymaalisista kantasoluista, jotka oli otettu β -thalassemiaa sairastavilta potilailta. iPS-solujen pluripotenssi todettiin niiden kyvyllä muodostaa hiiren teratoomia, jotka ilmensivät kolmea alkion solutyyppeä. Turvallisen tarttumakohdan määritelmät ovat kuvassa 15: kohdat i) ja ii), koska riskialttiit alueet ovat geenien lähetyvillä; kohta iii), koska miRNA:t osallistuvat solujen jakautumiseen ja erilaistumiseen; kohta iv), koska transkriptioalueelle liittyvä vektori sotkee geenin ilmentymistä; ja v), koska konservatiiviset alueet ovat selkärankaisilla täynnä geenien aloituskohtia ja geneja koodaavia kohtia. Koska tutkijat katsoivat kokeilun onnistuneen useimpien korjausgeenien asetuttua turvallisille alueille, he pitävät tätä menetelmää terapeuttisten korjattujen iPS-solujen mallina. (Soldner et al. 2011, Williams, Thrasher 2011, Papapetrou et al. 2011)



Kuvio 15. Terapeuttisten, turvallisten iPS-solujen valmistusvaiheet (Williams, Thrasher 2011, suomennettu)

Selkäydinvaurioita on monen tyyppisiä, joitakin voitaisiin hoitaa kantasoluilla, toisia ei ainakaan vielä. Multippeliskleroosi on tauti, joka aiheuttaa myeliinin katoamisen hermosolujen ympäriltä. Sitä ei toistaiseksi voida hoitaa kantasoluilla, sillä ongelmana on, miten kantasolut saataisiin levittäytymään koko hermosolukkoa myeliinillä ympäröiväksi. Onnettomuuksista johtuvissa selkäydinvaurioissa, joissa ei ole hengenvaaraa, voitaisiin käyttää potilaan omia osteoblasteja eli luunrakentajasoluja tai niiden progeniittorisoluja parantumisen varmistamiseksi ja nopeuttamiseksi. Usein onnettomuuksissa tapahtuneet selkäydinvauriot, joissa myeliini on kadonnut hermosolujen ympäriltä, ovat kantasolujen käytölle todennäköinen hoitomuoto (kuva 16). Kantasolut voitaisiin erilaistaa oligodendrosyyteiksi eli myeliiniä tuottaviksi hermosoluiksi, jolloin ne paikallisesti auttaisivat selkäytimen korjauksessa omia kantasoluja. Lääkeyhtiö Geron sai luvan ihmisten hoitokokeiluun, koska rottakokeet kantasoluista erilaistuneilla oligodendrosyyteillä olivat olleet lupaavia. (Mummery et al. 2011: 147,148,150)



Kuvio 16. Selkäytimen vauriokohdat Geronin kokeessa punaisella (SRxA 2010)

Rottia on käytetty monissa kokeissa hiiren tilalla, kun on haluttu tutkia hiirikokeissa saatujen tulosten vastaavuutta suurempiin eläimiin. Biotekniikan yhtiö Geron huomasi tutkimuksissaan, että kun halvaantuneisiin rottiiin ruiskutettiin oligodendrosyyteiksi eli keskushermoston tukisoluiksi muuttuneita alkion kantasoluja, rottien kävelykyky palautui muutamien viikkojen kuluessa. Ei ole tietoa, korvasivatko kantasolut vahingoittuneet solut vai auttoivatko ne vain omia vaurioituneita soluja korjautumaan. Näiden kokeiden seurauksena Geron haki lupaa ihmiskokeisiin Amerikan lääkevirastolta (FDA, food and drug administration) ja lopulta sai sen. Oletuksena oli, että vaurioitunut selkäydin voitaisiin parantaa ennen arpeutumista aloitetulla kantasoluhoidolla. Ihmiseen hoito ei välttämättä tehoa yhtä hyvin, koska ihmisen selkäytimen rakenne ei ole täysin samanlainen kuin rotilla. Geron on ilmoittanut kesällä 2009 löytäneensä joiltakin kokeessa käytetyiltä rotilla kystia. Nyt selkärankavammapotilaiden parantaminen alkion kantasoluilla on toistaiseksi laitettu jäihin, marraskuussa 2011 Geron keskeytti vuotta aiemmin jatkamansa kokeen ja ilmoitti keskittyvänsä kehittämään syöpälääkkeitä. Geronin koe on ollut kiistanalainen, koska siinä käytetään abortin kautta saatuja alkion kantasoluja, vaikka muissa selkäydinvaurioiden hoitokokeiluissa käytetään aikuisten kantasoluja. Nyt näyttää siltä, että tämän tyyppiset terapeutiset hoidot tulevat kokeiluasteelle vasta vuosien kuluttua. (Mummery et al. 2011: 80, 163–164, UPFRONT 2011)

7.5 Kokeilussa olevat sydämen korjauskeinot kantasoluilla

Kun sydän vaurioituu, on mahdollista injektoida kantasolut suoraan sydämeen tai verenkiertoon, jossa ne kulkeutuvat oikeaan kohtaan. Paikalleen ne houkuttavat immuunijärjestelmään kuuluvat sytokiinit eli proteiinirakenteiset solujen välittäjäaineet. Pluripotenttien kantasolujen on havaittu pystyvän muuntumaan sydänlihassolujen lisäksi myös sileiksi sydänlihassoluiksi ja verisuoniksi oikeisiin paikkoihin, jolloin parantunut sydän pystyy toimimaan kunnolla. Jos sydänlihassoluiksi erilaistettuja kantasoluja saataisiin sydämeen mielellään heti, kun niitä on sydäimestä sydänkohtauksen vuoksi kadonnut, voitaisiin saada sydän korjattua ja lääkitykseltä vältyttäisiin. Heti tapahtuva hoito on kuitenkin mahdollista vain kattavan kantasolupankin avulla. Jos vaiva on kuitenkin ollut sydämessä jo kauan, saattaa sydämen ulkomuoto olla muuttunut, jolloin pelkistä sydänlihassoluista ei ole apua, vaan tarvitaan myös kirurgiaa. Sydänlihassoluja on oltava valmiina miljoonia, sillä yhdessä sydänkohtauksessa voi kuolla jopa miljardi sydänsolua. Siirretyistä soluista suurin osa saattaa kuolla vaurioituneen sydämen estäessä kiinnittymisen. Vain aika näyttää, saadaanko kantasolut otettua tutkimusten ulkopuolella käyttöön sydänsairauksien hoidossa. (Mummery et al. 2011: 157,159,199, 202,205, 220)

iPS-soluja käytetään tutkittaessa terveen ja sairaan sydämen eroja eli sitä, mitkä geenit aiheuttavat synnynnäiset sydänviat. Tämän tutkimuksen toivotaan mahdollistavan sen, että synnynnäisten sydänvikojen periytyminen vähenisi alkion geenitestauksen avulla. Lääkeyhtiöt ovat myös ilmaisseet halunsa tutkia ihmisille suunnattujen sydänlääkkeiden tehoa ihmisten kantasoluista tuotetuilla sydänlihassoluilla. Yksi kokeellinen tapa on kasvattaa sydämen erilaisia solutyyppejä kantasoluista biopolymeeristä tai luonnollisista aineista tehdyn rakenteen päälle, johon kasvanut sydänsolukko voidaan kiinnittää laastarimaisesti sydämeen. Kun rotan kantasoluista kasvatettuja rotan sydänsoluja kasvatettiin elastisen rakenteen päällä ja rakenteeseen liitettynä siirrettiin vahingoitettuun rotan sydämeen, huomattiin, että sydänsolut liittyivät hyvin sydämeen ja verisuonetkin kasvoivat rakenteeseen. (Mummery et al. 2011: 208, 214, 216)

Sydämen vikojen korjaukseen on kokeiltu monenlaisia kantasoluja. Yksittäisiä raporteja löytyy luuytimen kantasolujen toimivuudesta, mutta parantavat vaikutukset ovat vähäisiä ja yksittäisiä. Myös mesenkymaalaisia kantasoluja ja napaveren kantasoluja on kokeiltu, mutta todennäköisintä on, että sydämen parantaminen on johtunut luuytimen

kasvutekijöistä, jotka ovat päätyneet sydämeen. Sydämen korjaamiseen liittyvissä hoidoissa on hyvät ja huonot puolensa. Verisuonen kautta kantasolujen tai sydänsolujen syöttäminen on helppoa ja turvallista, mutta solujen perille pääsy ja sydämeen jäänti, eikä veren mukana pois huuhtoutuminen, on epävarmaa. Neulalla suoraan sydämeen siirretyt solut kyllä pääsevät paikalleen, mutta hoito jää paikalliseksi ja saattaa aiheuttaa rytmihäiriöitä, jos solut ovat valmiiksi sykkiviä. Laastarilappumaisen rakenteen paikalleenlaitto on kirurginen toimenpide, ja leikkauksessa on komplikaatoriski. Ongelmana on vielä se, että kun solut pitäisi jollain keinolla saada sydämeen, ei sydän ole siinä kunnossa, että se ottaisi solut vastaan. Infarktista toipuva sydän kärsii hapen ja ravinteiden puutteesta, ja lisäksi tulehdusreaktiot ja kuolevat solut haittaavat uusien sydänsolujen kiinnittymistä. Koska sydäntaudit ovat suurin kuolin- ja sairastumissyä määrällisesti, löytyy parantamis- ja hoitokokeiluja myös kohdassa 8.1. (Mummery et al. 2011: 217–219)

Vuonna 2009 ilmoitettiin löytyneen sikiöltä sydämen kantasoluja, aiemmin niitä oli löydetty hiireltä. Kokeessa oli kasvatettu kahta alkion kantasolulinjaa, jotka tuottavat ISL1 (Islet-1) -nimistä proteiinia, ja saatu ne kasvamaan maljalla, ennen kuin ne erilaistuivat kaikiksi erilaisiksi sydänsolutyypeiksi. Sikiöstä löydettyjä soluja ei voida käyttää suoraan aikuiselle, mutta niiden avulla voidaan tutkia mekanismeja aikuisella. Toinen uusi löytö on tehty Bostonin lastensairaalassa, jossa ruiskutettiin sydänkohtauksen vaurioittamaan hiiren sydämeen kasvutekijä NRG1:tä (neureguliini-1) ja huomattiin sen saavan sydämen omat solut jakaantumaan, mikä nopeutti sydämen parantumista. Suomessa Oulun yliopistollisessa sairaalassa on annettu kokeellista kantasoluhoitoa sydäninfarktiin hoidossa. Hoitoon on käytetty potilaan omia, luuytimeistä kerättyjä kantasoluja, ja hoidon on todettu auttavan sitä enemmän, mitä vaikeammin sairas sydänpotilas on ollut. (Oulun yliopisto & Veripalvelu 2008, Bu et al. 2009, Wadugu, Kuhn 2012)

7.6 Kantasoluilla tehtäviä silmän parannuskokeiluja

Useat tutkimusryhmät ovat tutkineet silmän rappeutumissairauden parantamista ihmisen alkion kantasoluilla. Hoidettavana on silmänpohjan rappeuma, joka on verkkokalvoa rappeuttava sairaus, joka aiheuttaa näönmenetyksen silmän keskeltä. Vaikka silmän korjaaminen on toimenpiteenä riskialtis, sen tutkimusrahoitukseen on moni suuri lääkefirma ryhtynyt. Silmän kantasoluhoito sisältää vähemmän riskejä, koska silmä on

suljettu systeemi, joten sinne siirrostetut kantasolutkaan eivät pysty siirtymään muualle. Hoitolupien saamiselle suurimman ongelman kuitenkin muodostaa taas alkion kantasolujen käyttö. On huomattu, että siirtosarveiskalvon sijaan voidaan siirtää sarveiskalvon kantasoluja. Koska tässäkin tapauksessa on kyse vain yhden solutyypin puuttumisesta, on tämä yksi todennäköisimmistä kantasoluhoidon ensimmäisistä yleiseen käyttöön tulevista hoidoista. Terveestä silmästä otetuista sarveiskalvon kantasoluista on siirrostettu kantasoluja jo useammalle henkilölle. Usealla potilaalla näkö parani huomattavasti. Keväällä 2010 saatiin lupa hiiri- ja rottakokeisiin hoitaa alkion kantasoluilla nuorten ihmisten verkkokalvon puuttuvia soluja ns. orpoluvan avulla. Terapi-aa ovat kehittäneet useat suuret yhtiöt, kuten Pfizer ja ACT (Advanced Cell Technology) ja siitä on jo julkaistu tutkimustuloksia hiiri- ja rottakokeista. Tämä koe sai luvan, koska tauti on harvinainen. Samalla orpo-statuksella saadaan myös kliinisten kokeiden lupa nopeammin hiiri- ja rottakokeiden onnistuttua. (Mummery et al. 2011: 80–81,155,188)

8 Kantasolujen kasvatus elimiksi

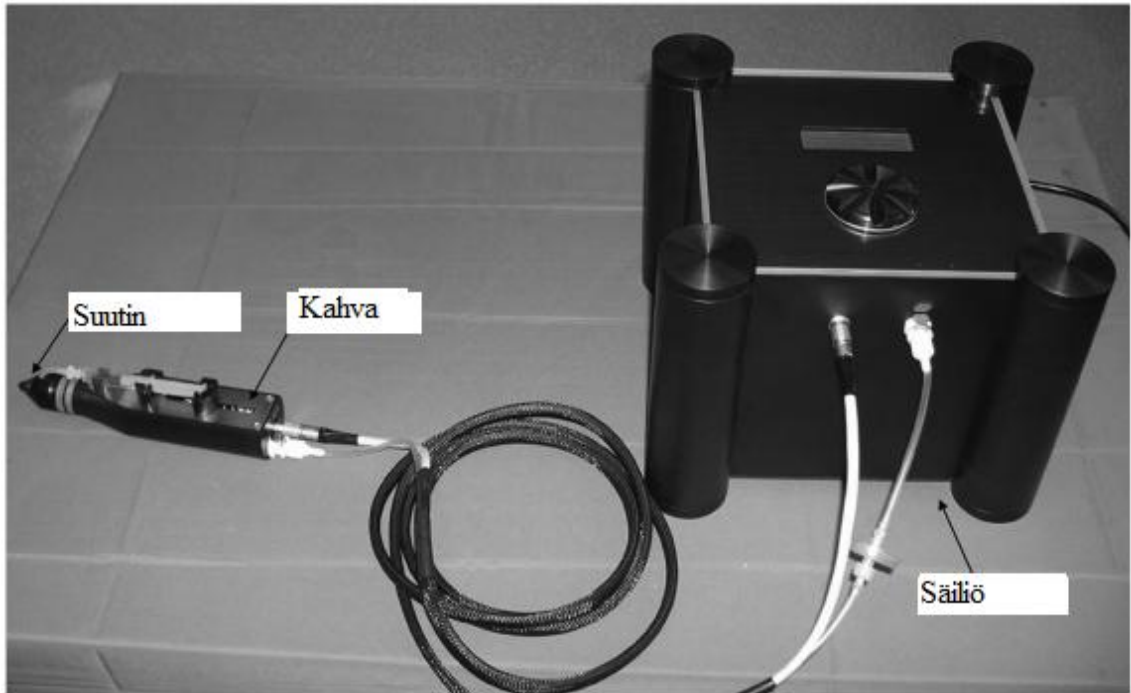
8.1 Kudosten kasvatus kantasoluista

Kudosten kasvattaminen kantasoluista on hankalaa kudoksen kolmiulotteisen muodon vuoksi. Kasvatettavaan elimeen on saatava oikeantyyppisiä soluja, oikea muoto ja kokonaisuus on kasvatettava elimistöä muistuttavissa olosuhteissa. Usein kudoksen muoto on tehty keinotekoisesta mallin päällä. Malli voi olla keinotekoisesti tehty tai synteettisestä materiaalista, mutta ihmisen solut tarvitsevat jonkin tarttumapinnan, johon rakentua. Ihmisen solut kasvavat huonosti tai kuolevat ilman tarttumapintaa. Biomateriaali saisi olla sellaista, että se antaa tuen solujen kasvulle mutta hajoaa pois kasvun edetessä. Toisaalta, synteettisistä materiaaleista saadaan tasalaatuisia, suuria eriä sopivia malleja. Useat kudokset on kasvatettu bioreaktorissa tai hiiren elimistössä kuten selässä. Hiiren elimistössä kasvattamisen hyvänä puolena on se, että silloin solut saavat helposti tarvitsemansa kasvutekijät. Kun solut kuitenkin ovat ihmisperäisiä, ei hiiressä kasvatuksen pitäisi aiheuttaa hylkimistä. Bioreaktorit on usein rakennettava muodostettavan elimen tarpeisiin, kaupalliset bioreaktorit ovat yleensä liian isoja, eikä niissä ole tarvittavia mekanismeja, kuten lihassolujen kasvatukseen tarvittavia supistavia ja

venyttäviä mekanisme. (Mummery et al. 2011: 162–163, 170–175, Olson, Atala & Yoo 2011)

Uusinta tekniikkaa on luovuttajan elimistä solujen poisto, jolloin jäljelle jää kehikko, proteiineista koostuva solujen ulkoinen matriisi eli solukehikko. Siihen on päälle mm. iPS-soluista kasvatettu potilaalle oma uusi elin. Toistaiseksi on onnistuttu tekemään siirtoelimiksi onttoja elimiä, kuten virtsarakko ja henkitorvi. Yksi hankalimmista asioista kiinteiden elimien muodostamisessa laboratoriossa on kudoksen verisuonitus. Kiinteissä elimissä on usein monia eri soluja, joiden paikoilleen muodostus ja kaikkien solukerrosten ravinnon- ja hapensaanti ovat haasteita. Näistä määräävin on kuitenkin hapensaanti, sen jälkeen muut ongelmat ovat voitettavissa. Kantasoluhoidoissa onnistumisen vaihtelut johtuvat yksilöstä, jostain syystä hoidot, jotka ovat jo käytössä, eivät auta kaikkia. (Mummery et al. 2011: 162–163, 170–175, Olson, Atala & Yoo 2011)

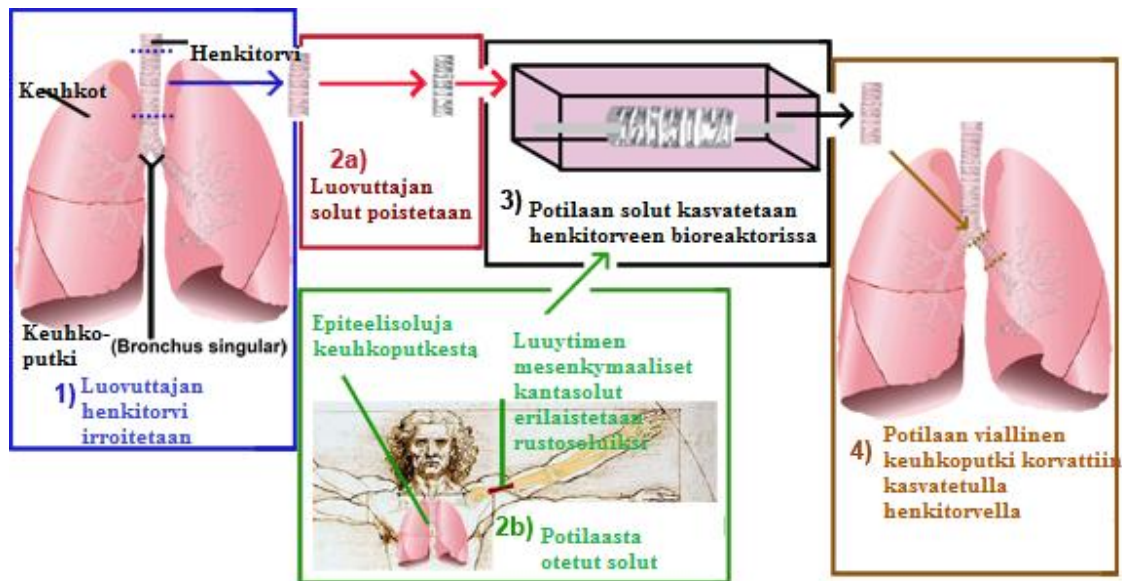
Diabetespotilailla taudin myöhemmässä vaiheessa haavat eivät enää parannu hyvin. Näihin haavoihin on käytetty joko potilaan omista soluista kasvatettuja ihosoluja tai ympärileikatulta poikavauvoilta saaduista kantasoluista kasvatettuja ihosiirteitä. Samaa hoitotapaa on käytetty palovammapotilaiden ihonsiirtoihin. Ihon kasvatus on kuitenkin aika hidasta, isot siirteet saattavat vaatia viikkojen kasvatuksen, jolloin vakavan infekti- on riski potilaassa kasvaa. Jörg Gerlachin tutkimusryhmä Saksassa on kehittänyt ns. ihoruiskun, joka on esitetty kuvassa 17. Potilaan omia ihosoluja kerätään, niistä eristetään kantasolut, joista tehdään vesiliuos, joka ruiskutetaan potilaan vaurioituneeseen kohtaan ihoa. Hartmannin julkaisemassa tutkimuksessa oli mukana 19 pahoja palovammoja saanutta ihmistä. Vaurioaluetta hoidettiin ennen kantasoluruiskutusta kollageeniä hajottavaa entsyymiä sisältävällä voiteella arpeutumisen estämiseksi. Kantasolujen määrä nesteessä oli $3,9\text{--}4,8 \times 10^6$ solua. Tulokset olivat lupaavia, ja tutkijat päättivätkin jatkaa hoitoa ilman kliinistä tutkimusta, jossa osa potilaista jäisi ilman hoitoa. Laite on käytössä toistaiseksi kokeiluna. (Mummery et al. 2011: 176–177, Hartmann et al. 2007)



Kuvio 17. Ihoruiskun prototyyppi, virtausnopeus kantasolususpensiolla 4,2 ml/min ja ilmalla 3,7 l/min. (Hartmann et al. 2007, suomennettu)

8.2 Onnistuneita elimiksi kasvatuskokeiluja

Espanjalaiselle potilaalle on Englannissa kasvatettu hänen omista kantasoluistaan luovuttajan henkitorven mallin päälle uusi henkitorvi. Kuten kuvasta 18 näkyy, luovuttajan henkitorvesta poistettiin luovuttajan solukko, jolloin jäljelle jäi vain solukehikko, joka toimii pohjana potilaan kantasoluille kasvaa henkitorveksi. Henkitorven pintapuolelle kasvatettiin kantasoluista erilaistettuja rustosoluja ja henkitorven sisäpinnalle siirrettiin epiteelisoluja kasvamaan. Noin kuukauden kuluttua kasvatetun henkitorven siirrosta oli siirteeseen kasvanut verisuonisto ja kahden kuukauden kuluttua rasiustesti antoi hengitykselle ikäryhmään kuuluvat hyvät arvot. Koska hoidossa oli käytetty potilaan omia luuytimen mesenkymaalisia soluja, välttyttiin hylkimisenesto lääkitykseltä ja hylkimiseltä, mikä nopeutti huomattavasti paranemista. Ruotsissa vuonna 2011 syövän sairastaneelle potilaalle siirrettiin biologisen, nanokomposiittisen mallin päälle rakennettu henkitorvi. Soluina keinoitekoisen mallin päällä käytettiin luuytimen kantasoluja. Kyseessä olivat potilaan omat solut ja syöpähoidot oli annettu ennen leikkausta. 5 kuukauden kuluttua leikkauksesta potilas oli tervehtynyt. (Mummery et al. 2011: 143-145, Hollander et al. 2009, Jungebluth et al. 2011)



Kuvio 18. Luovuttajan henkitorvesta poistetaan luovuttajan solut, siihen laitetaan kasvamaan potilaasta otetut epiteelisolut ja potilaan kantasoluista kasvatetut rustosolut bioreaktoriin. Kasvatuksen jälkeen henkitorvella korvataan potilaan viallinen keuhkoputki. (Rowland Teisha 2009)

On myös tehty kokeita, joiden tarkoitus on ollut kasvattaa ihmisen omista soluista läppä sydämeen. Toistaiseksi muutama läppä on siirretty lampaaseen. Harald Ott tutkimusryhmineen on valmistanut sykkivän rotan sydämen. Heidän keinonsa tehdä siirtoelin on poistaa siirrettävän elimen kaikki elävät solut, jolloin jää vain solumatriisi, jossa ei ole perimäainesta. Solumatriisi toimii tukirankana kasvatettavalle sydämelle. Käytettävät solut olivat sydän- ja endoteelisoluja. Koska kyseessä tässä tutkimuksessa oli rotan sydän, ei ollut mainintaa solujen alkuperästä. Sydän kasvaa bioreaktorissa, jossa sillä on lämpö, kosteus, ravintoaineet ja hiilidioksidi/happipitoisuudet kuin elimistössä. Rotan sydän kasvaa noin 4 päivää (ja ihmisen 12 päivää), jonka jälkeen ne operetaan lyömään, siis supistumaan tahdissa. Toistaiseksi ei ole julkaistua tietoa ihmisen sydämen onnistumisesta. Sydämenä tutkimuksissa tukirangaksi käytetään siirtoelimeksi kelpaamatonta sydäntä, tutkimussydämet eivät siten ole elinsiirtopotilailta pois. (Mummery et al. 2011: 177, Ott et al. 2008)

Kun Stephen Badylak tutkijoineen kokeili koirien sydämenkorjaukseen sian virtsarakon soluväliainejauhetta, hän huomasi selvän eron verrokkiryhmän hoitotapaan. Soluväliaine sisältää runsaasti signaalisoluja. Eniten niitä on virtsarakon kolmannessa solukerroksessa. Signaalisoluhoidot perustuvat siihen, että kantasolut ehtivät paikalle korjaamaan

vauriot ennen kuin arpeutumisen alkaa. Kun sian kuivatun virtsarakon soluainetta (UBM, the urinary bladder matrix) siirrettiin koirien sydämiin, niin 8 viikon kuluttua paraneminen oli tapahtunut. Tutkimuksessa ihmisillä UBM:ää käyttäen kohteena oli sotilas, joka oli vammautunut jalastaan niin, että suurin osa reiden lihaksistosta puuttuu. Vamma oli hoidettaessa kolme vuotta vanha, ja potilas oli käynyt kuntoutuksessa, mutta tunsikin heikkoutta jalassa. Hänen reitensä avattiin ja lihasten kohtaan laitettiin kerrosittain sian virtsarakkojauhetta. Neljän viikon kuluttua leikkauksesta kuntoutus jatkui ja neljän kuukauden kuluttua leikkauksesta jalkaan oli ilmaantunut voimaa ja kuvannuksessa todettiin uutta kudosta ilmaantuneen jalkaan. Tutkimus antaa uutta valoa vammautumisille, jotka ovat tähän asti olleet hoidettavuuden ulkopuolella. (Badylak et al. 2006, Mase et al. 2010)

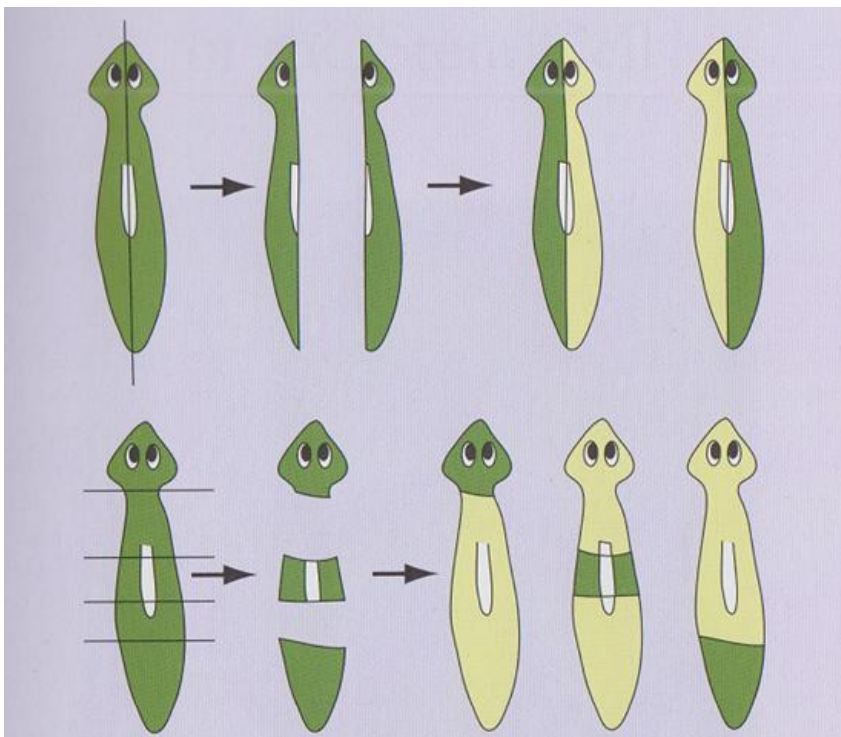
Anthony Atala tutkijoineen on kasvattanut ja siirtänyt potilaisiin virtsarakon potilaan omista soluista. Tutkimuksessa oli seitsemän poikaa, joiden virtsarakko oli toimimaton. Pojilta otettiin koepalat virtsarakosta, joista kasvatettiin maljalla virtsarakon kantasoluista lihassoluja ja virtsarakon pintasoluja. 7 viikon virtsarakon mallin, kollageenista tai polyglykolikollageenista, päällekasvatuksen jälkeen virtsarakot siirrettiin pojille. Useamman vuoden seurannan jälkeen tutkijat päättelivät omista soluista rakennetun virtsarakon olevan hyvä toimenpide kaikille. Keväällä 2011 Atala tutkijoineen onnistui rakentamaan maksan ja munuaisen printtitekniikalla. Tekniikka toimii kuin tulostin, musteen tilalla potilaan kantasoluista erilaistettuja soluja. Kerrokset kasataan ja kasvatetaan pari viikkoa bioreaktorissa. Tekniikka on kuitenkin vielä kaukana kliinisistä sovelluksista. (Atala et al. 2006, TEDtalks 2011)

8.3 Regeneraatiosta

Regeneraatiolla tarkoitetaan sitä, että kun eläimestä leikkautuu osa pois, elimistö osaa rakentaa itse osan uudelleen. Ihmisellä ei tätä mekanismia ole. Evoluution kautta on todettu kyvyn olevan poistettu ihmiseltä kauan sitten. Ihmisellä on arpeutumisen kyky, joka löytyy myös muilta nisäkkäiltä. Regeneraation taito on mm. monilla matelijoilla ja madoilla.

Salamanterin raajanmuodostusta ja elinten regeneraatiota on tutkittu, ja havaittu regeneraation liittyvän blasteeman muodostumiseen puuttuvan elimen tai raajan alueelle. Silmän korjaamiseen liittyy siihen erikoistunut blasteema, etujalan muodostumiseen omansa. Epäselvää on, mikä saa osan muodostumisen aikaan. Mielenkiintoista on myös se, miten korjaavat solut tietävät kasvaa oikean kokoisiksi, esimerkiksi raajat oikean mittaisiksi ja oikeaksi kudokseksi. Jos jo kasvun aloittanut raajantynkä siirretään hänen paikalle, se jatkaa raajanmuodostusta, ei vaihdu hännäksi. Solut eivät siis viesti ulkopuolelleen, tieto muodostettavasta elimestä on muodostunut kantasoluille jo blasteeman muodostuessa. (Mummery et al. 2011: 102–103, Hyun et al. 2012)

Mielenkiintoinen esimerkki on laakamadon kyky korjata kaikenlaiset vauriot. Miten sen regeneraatio tietää, mikä osa puuttuu, ja pystyy muodostamaan esimerkiksi halkileikatulle laakamadolle vain muutamassa päivässä toisen puoliskon. Tämän regeneraation on todettu johtuvan neoblasteista, joita laakamadossa on lähes kolmannes sen soluisista. Tutkimusta on tehty varsinkin sillä saralla, miten muodostuu pää, eikä toinen häntä, kun laakamadosta on jäljellä leikkauksen jälkeen vain keskiosa, kuten kuvassa 19 näytetään. (Mummery et al. 2011: 56,57)



Kuvio 19. Kuva laakamadon eri osien muodostumisesta puuttuvan osan tilalle oikein ja oikean kokoiseksi. (Mummery et al. 2011)

Kun saadaan ymmärrys, mikä signaali antaa tiedon muodostettavalle osalle, ehkä voidaan etsiä kyseistä toimintoa ihmisen kantasoluista. Ratkaisu piilee mahdollisesti laakamadon perimässä, joka on kartoitettu. Ongelma onkin ilmeisesti se, että solut, jotka osallistuvat salamanterin osien korjaamiseen, sammutetaan eli poistetaan käytöstä ihmisellä syntymän aikoihin. Samoja soluja ilmenee ihmisellä vain kasvainten muodossa, joten jos sama regeneraatiotaito saadaan ihmisellä päälle, miten kasvainten muodostuminen estetään? Onko laakamadon korjausmekanismi samantyyppinen kuin salamanterilla, aiheuttaako laakamadon korjaustaidon "päälle laitto" ihmisellä kasvaimia ja miten ne estetään? (Mummery et al. 2011: 56,57, 102,103)

Aiemmin Badylakin kohdalla mainittu UBM (the urinary bladder matrix) on hoitona kuin regeneraatio, sehän saa aikaan kantasolujen uudelleenrakentamisen poissaolevien osien rakentamiseksi, kuten jalan lihakset. (Turner & Badylak 2012)

8.4 Ongelmat

Kantasoluhoidojen ongelmien, joihin kuuluu teratoomien muodostus, välttämiseksi on kehitetty keinoja olla siirtämättä erilaistumattomia kantasoluja. Keinoja erottaa erilaisuneet solut on mm. fluoresoida mitokondrioita, joita on sydänsoluissa runsaasti, ja liittää sydänsolujen proteiineihin tarttuvia magneettisia helmiä, jolloin erilaistuneet solut on ollut helppo kerätä talteen. On myös kehitelty tappajageeniä, joka eliminoisi erilaistumattomat solut siirtämisen jälkeen, mutta tämä on arveluttava keino. Joka tapauksessa kaikki siirrosteet ovat riskejä, joten perushoitoa kantasoluhoidot eivät ole. (Mummery et al. 2011: 165,166,169)

Yksi ongelma varsinkin alkion kantasolujen kasvatuksessa on se, että kantasolukannat ovat samoja eri tutkimuksissa. Jopa puolet tutkijoista käyttää samoja kantoja, vain muutamaa erilaista, jolloin kantasolukannan soveltuvuus ei aina ole paras mahdollinen. Kuten alkion kantasolut, eivät iPS-solutkaan kasva samalla lailla joka kerta. Eri kasvatulinjoissa on suuria eroja. Vaihtelu näyttää johtuvan iPS-solujen kohdalla solun alkuperästä ja keräystavasta, mutta myös alkion kantasolujen tapaan kasvatusalustasta, kasvatusympäristöstä ja jakamisesta. Helpoimmin molemmat kantasolutyypit erilaistu-

vat hermosoluiksi ja vaikeimmin haiman β -soluiksi ja keuhkorakkuloiden soluiksi. Kasvatettaessa sydänlihassoluiksi erilaistuvia kantasoluja, syöttösolukon päällä kasvavat ja mekaanisesti jaetut kantasolut erilaistuvat nopeammin, noin viikossa, ja tekevät saarekkeita, joissa kaikissa on jotain kolmesta sydämen sykkivästä solutyypistä. Ensymaattisesti jaetut ja synteettisen alustan päällä kasvaneet kantasolut tarvitsevat kasvutekijöitä, joilla solukasvusta (embryoid bodies) saadaan sykkiviä sydänsoluja. Kuitenkin tässäkin oli solulinjaeroja. Suuri haaste onkin saada alkion kantasolut ja iPS-solut kasvamaan tasaisen varmasti ja erilaistumaan aina puhtaasti halutunlaisiksi soluiksi. (Mummery et al. 2011: 210,211,214,216,217, Levine 2011)

Kun kerrottiin mesenkymaalisten kantasolujen (MSC) muuttuneen laboratorioskasvatuksissa syövän tyyppiseksi, alettiin epäillä kantasolujen kykyä olla hyödyksi terapeuttisena hoitona. Muutamien laboratoriodien testattua solulinjansa ja todettua, että kontaminaatio oli tapahtunut muista syistä kasvatettavan syöpäsoluston kanssa, alkoi keskustelu ja toimenpiteet DNA-sormenjälkien standardin tyyppisesti käyttämistä varten, koska kontaminaation vaara on aina olemassa ja syöpäsolut kasvavat nopeammin kuin kantasolut. Koko solukasvatusten historian toiset solut ovat päässeet kontaminoimaan tutkittavia solulinjoja ja muuttamaan tutkimustuloksia. Nyt toivotaan, että rutiininomaisesti, säännöllisesti STR:n (Short tandem repeat) tutkimalla, saataisiin puhtaista kantasolulinjoista luotettavia tuloksia. Näin on ATCC:n (American type culture collection) paneeli standardin antaessaan toivonut. Näin tehden saavutettaisiin se hyöty, mikä monta vuotta kasvatetuilla ja tutkituilla soluilla on. Kun luin tutkimusartikkeleita, oli monessakin artikkelissa maininta siitä, että kantasolujen genomi oli tutkimuksessa tarkastettu. Turvallista tutkimusta on siis tehty monien tutkijoiden kohdalla jo ennen ATCC:n antamaa suositustakin. (Vogel 2010b)

9 Lainsäädäntö

Alkion kantasolulinjojen aikaansaaminen tuhoaa alkioita. Tämä tosiasia jakaa maailmaa niin uskonnolliselta kuin lainsäädännölliseltäkin kannalta joka puolella maailmaa. Yksi asia on se, missä kohdin tulevan ihmisen oletetaan olevan ihminen. Kristillinen uskonto katsoo hedelmöitymisen hetken tai ensimmäisen jakautumisen hetken olevan ihmisen muotoutumisen hetki, juutalaiset ja muslimit odottavat sielun ilmaantumisen, joka on

noin 40 päivän päästä. On myös katsantoja, jolloin kyseessä on ihminen, kun alkio tarttuu kohtuun, kun sikiölle muodostuu aivot (8. viikolla), tai kun sikiö alkaa muistuttaa ihmistä, eikä ole samanlainen sikiö kuin muilla eläimillä. On mietitty, onko blastokystin kannalta pahempi tulla tutkimuksen osaksi kuin vaan tuhotuksi, kun kyse on hedelmöityshoitojen ylijäämistä. Abortoitujen sikiöiden solut ovat lähinnä uskonnollisten kantojen vuoksi kuuma puheenaihe. Onko eettisempää tulla lääkekokeilujen kautta käytetyksi vai terapiakäyttöön, on yksi näkökanta lisää. Lisänä eettisessä keskustelussa ovat terapeuttiset kloonit, joissa kloonatulla alkion kantasoluilla on tarkoitus vain tuottaa terapiahoitoja. Kyseessä on siis kliinisesti hoidettavan potilaan erilaistuneen solun tuma, joka viedään munasoluun, jonka oma tuma on poistettu, tarkoituksena tuottaa potilaan solujen kanssa identtinen kantasoluviljelmä. Terapeuttisten kloonien teko on sallittua Australiassa, Kreikassa, Belgiassa ja Englannissa. Intiassa terapeuttisiin kloonien tarviin tarvitaan lupa, Suomessa terapeuttisille klooneille ei ole laissa määritelty kieltoa eikä lupaa ja Etelä-Koreassa terapeuttisia klooneja saa käyttää harvinaisten tautien hoitoon ja tutkimukseen. USA:n osavaltioista terapeuttisia klooneja saa valmistaa ja käyttää Marylandissa, Massachusettsissa, Montanassa, New Hampshirissa ja New Jerseyssä. Eettistä ajattelua herättelee myös se, että blastokysti voi jakaantua kahdeksi luonnollisesti, jolloin tuloksena ovat itsenäiset identtiset vauvat. Ei heitä kukaan yhdeksi kutsu, vaikka alkilainsäädännön kautta se olisi luontevaa. Tai kaksi alkiota voi sulautua yhdeksi, jolloin yhdessä vauvassa on kahdet DNA:t, mutta kukaan ei kuitenkaan kutsuisi häntä kahdeksi yksilöksi. (Mummery et al. 2011: 167–169, 179–182, The Hingston Group, Vogelstein, Alberts & Shine 2002)

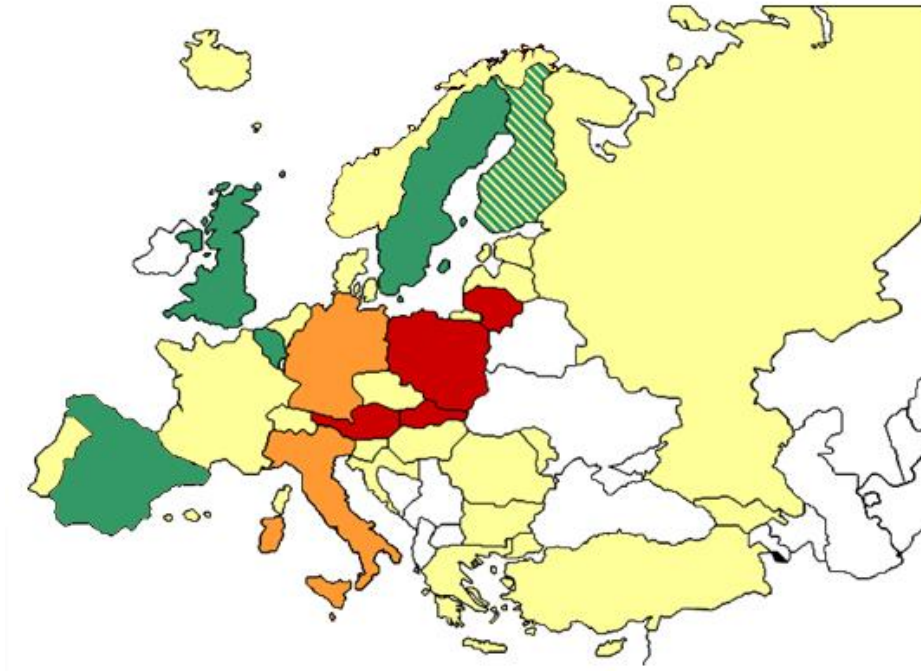
Pluripotenttien kantasolujen käyttö elinten kasvatuksessa on keskustelujen ja säädösten kohteena. Ihmisen kloonauksen on kielletty rikoslaisissa jo 1955 kaikissa maissa, minkä lisäksi useiden maiden omissa laeissa kloonauksen on kielletty. Keskustelu alkoi, kun IVF-menetelmä kehitettiin ja ylijääneet alkiot opittiin pakastamaan. Englanti johti keskustelua solujen käytöstä tutkimuksissa jo paljon ennen kuin ihmisen kantasolut saatiin kasvamaan laboratorioissa. Lait, toimintaohjeet ja raportit ovat olleet pohjana monen maan lainsäädännölle kantasolupolitiikassa. Ylimääräiset solut joko pakastettiin uusin-tahedelmöityksiä varten tai hävitettiin ja palattiin hiiritutkimuksiin. Parikymmentä vuotta myöhemmin onnistuttiin ihmisen kantasolujen solulinjojen teossa, ja hedelmöityshoidoista yli jääneiden alkioiden määrä oli kasvanut paljon. Kantasolulinjojen kasvatuk-

sessä onnistuminen sai eettisen keskustelun kantasolujen käytöstä taas esiin. Nyt keskusteltiin todellisella tilanteella, ei teoriasta. (Mummery et al. 2011: 74–76)

2000-luvun alussa myös monissa Euroopan maissa kantasolulinjojen teko alkion kantasoluista oli kiellettyä. Siksi monet alkoivat tutkia aikuisten kantasoluja, varsinkin veren ja sukusolujen kantasoluja. Vuonna 2004 17 uutta kasvatuslinjaa oli saatu kasvaamaan lähes yhtä helposti kuin hiiren alkion kantasolut. 2005 ISCI (The international stem cell initiative) päätti rahoittaa ihmisen alkion kantasolulinjojen rekisteröimistä samaan paikkaan, jotta menetelmien ja tutkimusten vertailu helpottuu. Ratkaisua etsitään siihen, miksi kantasolut käyttäytyvät eri lailla ja jakaantuvat erilailla toisinaan. Englanti, Australia, Singapore, Ruotsi, Suomi, Israel, Korea ja Tšekin tasavalta, myöhemmin myös Espanja, Kiina ja Alankomaat, ottivat sallivamman kannan kantasolututkimuksiin, ja niissä kantasolulinjojen kasvatus alkion ylijäämäkantasuista tai varta vasten tutkimuskäyttöön kasvatetuista kantasoluista on luvallista. Saksassa, Irlannissa ja Italiassa on käännytty aikuisten kantasolujen ja iPS-solujen kannalle muuten rajoitetun kantasolututkimuksen vuoksi. (Mummery et al. 2011: 76,81)

9.1 Euroopan maakohtaiset säädökset kantasolututkimuksessa

Euroopan alkion kantasolututkimukset sallivat maat kuvan 20 kartan mukaan ovat Belgia, Englanti, Espanja ja Ruotsi. Kantasolututkimusta vähän rajoittavia maita ovat Bulgaria, Kroatia, Kypros, Tšekin tasavalta, Tanska, Viro, Ranska, Georgia, Kreikka, Unkari, Islanti, Latvia, Moldova, Hollanti, Romania, Portugali, Venäjä, San Marino, Slovenia, Sveitsi ja Turkki. Suomi tavallaan kuuluu molemmille listoille, koska Suomelta puuttuu SCNT (Somatic Cell Nuclear Transfer) -solujen asetus. Enemmän rajoittavat ehdot kantasolututkimukselle antavat Saksa ja Italia. Kantasolututkimuksen kieltäviä maita ovat Itävalta, Liettua, Puola ja Slovakia. Euroopan maista kieltoa rikkovien sakko- tai vankeusrangaistuksia ovat määränneet Suomi, Saksa ja Venäjä. (The Hingston Group, Tiitinen 2001)



Kuvio 20. Kartta Euroopan kantasolututkimuksen sallivista ja kieltävistä maista. Vihreällä merkityt maat sallivat kantasolututkimuksen, keltaisella vähän kantasolututkimusta rajoittavat ja oranssilla kantasolututkimusta enemmän rajoittavat maat. Punaisella on merkitty kantasolututkimuksen kieltävät maat. Valkoisena merkittyjä ovat maat, joilla ei ole erityistä kantaa kantasolututkimukselle. (The Hingston Group)

EU:n direktiivi vuodelta 1998 kieltää patentit alkion solujen teolliseen tai kaupalliseen käyttöön. Koska alkion kantasolut ovat alkiosta peräisin, ne kuuluvat mainitun direktiivin alle. Poikkeusta direktiiviin on hakenut neurotutkija Oliver Brustle, joka muutti ES-solut neuroneiksi ja haki tekniikalleen patenttia 1999. Hänen asianajajansa mukaan direktiivi ei koske kyseistä patenttia, koska kyseessä on alkion soluista tuotetut solut. Vuonna 2005 EU päätti rahoittaa kantasolututkimusta, kun kyseessä ovat ihmisen kantasolut. Tutkimusten on oltava oman maansa lakien mukaista ja vastattava EU:n eettisiä sääntöjä. Alkion kantasolututkimukselle tarvitaan lisäksi EU:n tieteellisen komitean lupa. Rahoitusta ei saa alkionkantasolujen tuotolle vain tutkimusta varten, kloonaukselle eikä perimän vaihdolle alkiossa. 2011 Euroopan tuomioistuin päätti, ettei alkion kantasoluista tehtyjä tekniikoita voi patentoida. Päätös perustuu aiempaan direktiiviin ja tuomitsee alkion kantasolujen käytön epämoraalisena tekona. Tutkijat pelkäävät nyt alkion kantasoluihin perustuvien hoitojen rahoituksen katoavan. Patentin voi hakea USA:ssa, mutta siellä joutuu paljastamaan koko menetelmän saadakseen patentin. Valitettavaa on myös se, että monet ihmiset eivät erota kantasoluja toisistaan, jolloin

rahoitus on muillekin kantasolututkimuksille hankalampaa. (Europa 2005, News of the week 2011, Moran 2011)

Kartassa kuvassa 20 Suomi on merkitty keltaisen ja vihreän raidoilla, koska Suomi ei ole erikseen säätänyt asetusta tai lakia SCNT-solujen (Somatic Cell Nuclear Transfer) eli terapeuttisten solujen valmistukselle ja käytölle. Suomessa ihmisalkioiden käyttö lääketieteellisissä tutkimuksissa on sallittu hedelmöityshoitojen luovutetuista ylijäämäalkioista. Alkioiden tuotto tutkimuskäyttöön on siis kielletty. Kantasolujen varastointi on kielletty, solut on viljeltävä kahden viikon sisällä luovutuksesta. Syväjäädetyksiaikaa ei lasketa kahden viikon rajaan, mutta syväjäädetyttynä solut eivät saa olla yli 15 vuotta. Alkioiden käyttö kantasolututkimukseen on rajoitettu vakavien sairauksien parantamiseen tai ehkäisemiseen johtaviin tutkimuksiin. (Bioteknologia.info, The Hingston Group)

Suomen lisäksi kahden viikon kantasolulinjoiksi viljelyn sääntöä edellyttävät Ruotsi, Islanti ja Kreikka. Ruotsissa ei ole EU:n säännösten lisäksi muita rajoitteita. Kreikan asetuksissa alkion parantaminen elinkykyiseksi alkiksi on sallittu vain lapsettomille tai vakavan sairauden poistoon geenin siirrolla. 5 vuoden säilytyksen jälkeen luvan voi saada tutkimuksiin ja terapeuttisten hoitojen käyttöön. Islannissa alkion tutkimus on rajattu lapsettomuuden, vakavan sairauden ehkäisyn ja keskenmenojen tutkimuksiin. (The Hingston Group)

Bulgaria on EU:n säädösten lisäksi kieltänyt kantasolujen kohdalla vain ihmisen kloonauksen, terapeuttisen kloonauksen ja yksilöön johtavan kantasolututkimuksen. Bulgarian lisäksi saman kannan on ottanut useampi Euroopan valtio: Itävalta, Latvia, Liettua, Moldova, Slovakia, Slovenia, Romania, Turkki, Unkari, Kroatia, Kypros ja Viro. Portugali on muuten samoilla linjoilla mutta antanut luvan ihmisen kantasolujen tutkimukseen, mikä ilmeisesti kattaa aikuisen ja iPS-solut. (The Hingston Group)

Muuten kantasolujen käytön kieltäneitä maita mutta alkion elinmahdollisuuksia nostavien toimenpiteiden luvan antaneita on muutama. Belgiassa on alkion parantaminen ja terapeuttiset kloonit sallittu. Italiassa alkiotutkimusta ei saa tehdä yleisellä hyötymisen tasolla vaan alkiotutkimuksessa on sallittua vain istutettavan alkion tutkiminen ja parantaminen. Puolassa on aborttikielto, ja ehkä nojaten terveenä syntymisen mahdoli-

suuksien parantamiseen, myös Puolassa on lupa parantaa kyseistä alkiota. Tanskassa lupa alkiotutkimukseen on vain alkion parantamista koskeva. (The Hingston Group)

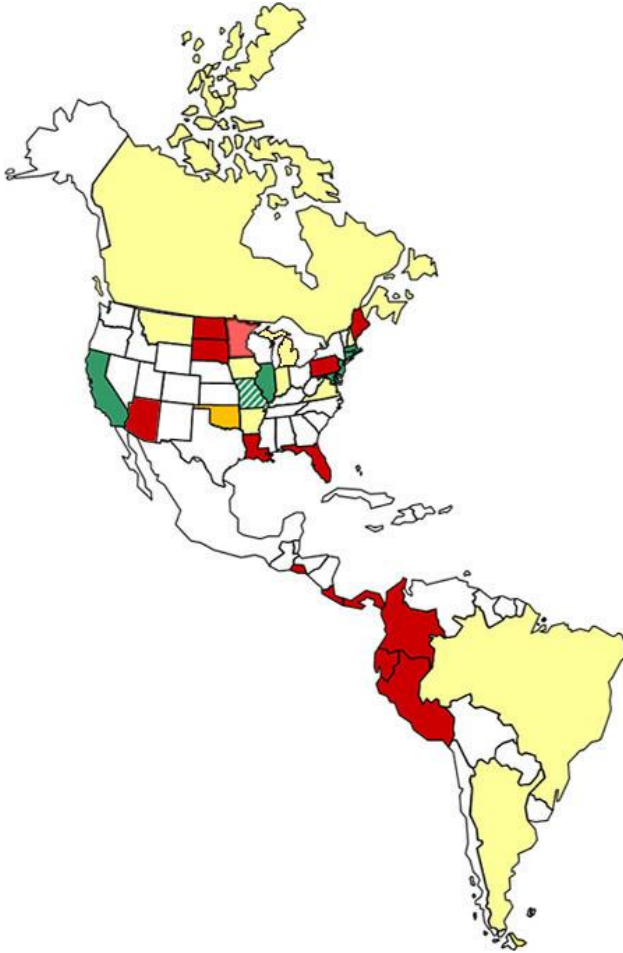
Kantasolututkimuksen sallivista maista Englanti kieltää alkioiden kantasolujen tutkimukseen tuottamisen ja eläinten kanssa fuusioitavien solujen tuoton. Vuodelta 2007 olevan asetuksen myötä Englannissa saa käyttää kantasoluja alkion kehitystutkimukseen, tautien ennaltaehkäisyyn tutkimukseen sekä hoitoihin tähtäävään tutkimukseen. Espanjassa elinkyvottomien alkioiden käyttö on sallittu lääketieteellisissä tutkimuksissa ja terapeuttisessa kloonauksessa. Lisäksi kantasolujen tuottamiseen tarvitaan erillinen valtuutus. Vuodelta 2007 olevassa päätöksessä Espanjassa kielletään alkion kantasolujen tuotto vain tutkimuskäyttöön mutta ihmisen kantasolututkimus on ilman rajoitteita, siis aikuisen ja iPS-solujen. (Mummery et al. 2011: 76,81, The Hingston Group)

Sveitsin kantasoluasetuksista löytyy kloonauksien kieltojen ja tutkimukseen tuotettujen alkion kantasolujen kiellon lisäksi alkion perimän muuntelun kiellot. Sen sijaan ainoana maana Sveitsi edellyttää kaikista tutkimuksista vapaasti saatavana olevaa tietoa. Norjassa alkion tutkimukseen saa käyttää vain luovutettuja alkion solua, alkion tuotto tutkimuksiin ja ihmisen kloonaukselle on kielletty. Hollanti edellyttää sukusolujen tai alkion olevan luovutettuja, alkion soluja saa käyttää lääketieteen ja biotekniikan opetus- ja tutkimuskäytössä. Ranskassa asetus vuodelta 2011 edellyttää luovutettujen kantasolujen tutkimukselta tuloksellisuutta, tutkimuksen on oltava sellainen, ettei tuloksia voi muilla keinoilla saavuttaa. Myös Saksa vaatii alkion kantasolututkimukselta ei muuten saavutettava hyötyä ja sen lisäksi Saksa edellyttää alkion solujen olevan muualta tuotuja mutta ei ostettuja. Jos tutkimus ei johda raskauteen, tutkimus on rangaistava. Myös Tšekin tasavallassa on luvanvaraisesti tehtävä kantasolututkimus tehtävä vain tuoduista kantasoluista. Venäjällä on kielletty vain kloonaukselle ja kloonien tuonti maahan rangaistuksen uhalla. Tämän lisäksi kartassa valkoisena oleva Irlanti ei ole antanut muuta tietoa kannastaan kuin tuomarin lausunnon, jossa hän ei ota kantaa koeputkessa olevan solukasauman inhimillisyydestä. (The Hingston Group)

9.2 Amerikan mantereen säädökset kantasolututkimuksesta

Amerikan mantereen valtioista suurin osa on ottanut kantaa kantasolututkimukseen enemmän kuin ihmisen kloonauksen kieltävänä. Yhdysvaltojen muutama osavaltio on

ottanut asiakseen parantaa kansalaistensa hyvinvointia kantasoluhoitoihin tähtäävän tutkimuksen myötä. Kuten kartasta kuvassa 21 näkyy, on Amerikan mantereella kielletyn kannan kantasoluhoitoihin ottaneita valtioita ja osavaltioita useampi kuin Euroopan valtioista. Kantasolututkimuksen osittain sallivat valtiot ovat Kanada, Argentiina ja Brasilia. (The Hingston Group)



Kuvio 21. Amerikan mantereen kantasolututkimukseen kantaa ottaneet valtiot ja osavaltiot eri väreillä ja kantaa ottamattomat valtiot ja osavaltiot valkoisina. (The Hingston Group)

Yhdysvalloissa eri osavaltioilla on täysin erilaiset asenteet kantasolututkimukseen. Yhdysvaltojen kansallisessa laissa ei ole Suomen kaltaisesti mitään mainintaa SCNT-solujen käytöstä. Sallivista osavaltioista Kalifornia, Iowa ja Missouri mainitsevat osavaltioidensa olevan velvollisia tarjoamaan kansalaisilleen parhaan mahdollisen hoidon, joka käsittää myös kantasoluhoidon terapeuttisilla klooneilla. Kieltävistä osavaltioista rajuimmat kiellot ovat Louisianalla, Nebraskalla ja Etelä-Dakotalla, joissa abortistakin

voi saada kymmeniä tuhansia dollareita sakkoa tai vuosia vankeutta. (The Hingston Group)

USA:ssa kiistellään lähinnä valtion rahoituksesta hESC (human Embryo Stem Cell) – tutkimuksessa. Kaikki alkoi vuonna 1996, kun annettiin muutosehdotus Clintonin hallinnon päätökselle sallia kantasolututkimus. Muutosehdotuksessa kiellettiin kaikenlainen kantasolujen tuhoaminen, hylkääminen tai vakavan loukkaantumisen tai kuoleman aiheuttaminen. Presidenttien vaihtuessa ja kongressin puuttuessa lainsäädäntöön useaan kertaan monet tutkijat kääntyivät yksityisten rahoittajien puoleen. Monet loukkaantumisen tai perinnöllisen sairauden vaivaamat yksityiset ihmiset lahjoittivat tutkimusrahaa kantasoluterapiahoitoihin. Bushin päätös vuonna 2001 rajasi tutkimuslinjoja tiettyyn päivään aloitetuista kantasolututkimuksista rahoitettaviksi. Ajatuksena ”presidentin listassa” oli 78:n vireillä olevan tutkimuksen rahoitus, mutta suurin osa tutkimuksista ei onnistunut ja listalle jäi vain 21 tutkimusta. Heinäkuussa 2006 senaatti antoi lakiesityksen, että hedelmöityshoitojen ylijääneet ja lahjoitetut alkiosolut saisi ottaa tutkimuskäyttöön. Bush tyrmäsi esityksen. Maaliskuussa 2009 Obama antoi luvan tukea ja rahoittaa hyvän tutkimustavan mukaista kantasolututkimusta. Tämäkään ei parantanut tilannetta, koska nyt tutkijat nostivat syytteitä toisiaan vastaan kantasolututkimuksessa. Asiaa käsitellään nyt edestakaisin USA:n oikeusistuimissa ja aika kuluu. Obaman aikakausi on tuonut toivoa, mutta uudet tutkimukset eivät ole vielä rahoitusta saaneet. Tutkimusrahoitus on taas puheenaiheena Yhdysvaltojen presidentinvaalien kampanjoissa. (Mummery et al. 2011: 75–79, 81, Vogel, Couzin-Frankel 2010)

Valtion rahoituksen sääntelyn päätösten viipyessä oikeusasteissa monet tutkijat ovat siirtyneet täysin yksityisen rahoituksen puoleen kantasolututkimuksessa tai tutkimaan, miten aikuisen solut saisi muuntumaan kantasolutyypiksi. USA:ssa on lähes sata alkion kantasolulinjaa, joille yksityinen rahoitus kerättiin Bushin aikakaudella. Vaikka presidentti Obama on lieventänyt rajoituksia, suurin osa tutkimuksesta tulee jatkamaan ainakin osittain yksityisen rahoituksen turvin. Merkittävimmät yksityiset ovat Harvardin yliopiston HSCI (Harvard Stem Cell Institution) ja New Yorkin kantasoluyhdistys NYSC, jotka tekevät yhteistyötä. Kaliforniassa toimii myös yksi kantasoluyhdistys, jonka rahoitus kulkee CIRN:n (California Institute for Regenerative Medicine) kautta. Tulevaisuus näyttää, ovatko hoidoissa vallitsevana tekijänä alkion kantasolut vai jotkin uusista kantasolulöydöistä vai saadaanko aikuisen kantasolut ja varsinkin iPS-solut toimimaan ha-

lutulla tavalla. (Mummary et al. 2011: 81, 193–195 , Vogel, Couzin-Frankel 2010, Blendon, Kim & Benson 2011)

Tällä välin on tehty tutkimuksia ihmisten asenteista ja huomattu, että amerikkalaisista uskonnollisista ihmisistä yli puolet ja eurooppalaisista uskonnollisista ihmisistä puolet, on alkion kantasolujen tutkimuksen hyväksyvällä kannalla. USA:ssa tiedusteltiin vielä tarkemmin ja saatiin tietää, että suurin osa ihmisistä haluaa päättää itse, ei totella puoluetta, hallitusta tai kirkkoa. Ihmisen kloonamista ei kuitenkaan hyväksytty missään sosiaalisessa yhteiskuntaluokassa tai kirkollisessa katsannossa. Demokraattien kanta on sallivampi kantasolututkimukselle kuin republikaanien. Yleisen mielipiteen kannatuksen Yhdysvalloissa saivat terapeuttinen kloonaus, iPS-solujen ja hedelmöityshoitojen ylijääneiden alkiosolujen käyttö. (Blendon, Kim & Benson 2011, Evans, Kelley 2011)

9.3 Muiden maailman valtioiden kantoja kantasolututkimukseen

Itäiset maat kuten Australia, Kiina ja Intia sekä Japani ja Korea, ovat sallivalla kannalla kantasolututkimuksiin (kuva 22). Luvanvaraista tutkimus on Australiassa ja Taiwanissa. Terapeuttiset kloonaukset ovat sallittuja Japanissa, se on luvanvaraista Intiassa ja Etelä-Koreassa täytyy olla rekisteröitynyt terveysministeriölle. (The Hingston Group)



Kuvio 22. Kartassa näkyy kantasolututkimuksen sallivat valtiot vihreällä ja pääasiallisesti sallivat keltaisella. (The Hingston Group)

Lähi-idän ja Afrikan maista vain harvat ovat ottaneet kantaa kantasolututkimukseen (kuva 23). Iran sallii kantasolututkimuksen hedelmöityshoitojen ylijääneistä alkioista. Israelissa luvanvaraisesti sallittua on kantasolututkimus hedelmöityshoitojen ylijääneistä alkioista ja terapeuttisten kloonien teko. Saudi-Arabiassa on kantasolututkimus sallittua paitsi luvattomista aborteista saaduista tai tarkoituksellisesti tutkimukseen tehdyistä alkioista ja terapeuttinen kloonauus on kielletty. Etelä-Afrikassa terapeuttinen kloonauus napanuoran soluista ja alkion tutkimus ovat luvanvaraisia. Tunisiassa on sallittu vain sulusolujen tai alkoiden säilytys terapeuttisista syistä omaan myöhempään käyttöön. (The Hingston Group)



Kuvio 23. Afrikan maista Etelä-Afrikka on ottanut sallivan kannan Israelin kanssa kantasolututkimukseen. Rajoitteita ovat asettaneet Saudi-Arabia ja Iran. Ainoa kielteisen kannan julkaisut on Tunisia. (The Hingston Group)

10 Mietelmiä

Kantasolujen rajaton kyky muuntua ja erilaistua ei ole vain siunaus, ilmentyessään väärässä paikassa se on myös kirous. Tämä koskee alkion kantasoluja ja osin myös IPS-soluja. Ikuista elämää ei ole kantasoluilla korjaten tarjolla mutta terve on mahdollinen.

Monien uusien kantasolumuotojen löytyessä myös hoitojen variaatiot lisääntyvät. Kun tutkimus aikuisen kantasoluista vahvistuu, myös kantasoluhoidojen hylkimisreaktioista päästään kokonaan eroon siirtoelinten kohdalla, kun ne ovat omista soluista rakennettuja. Koko ajan turvallisemmaksi kantasoluhoidomuodoksi on muotoutumassa omien kantasolujen käyttö, joko siirrettävinä soluina, korvaukselinten rakennusaineina tai paikalle houkuteltuina korjaamaan vauriota.

Tehdessäni tätä insinööriötä oli suurin ongelma rajata aineistoa. Pysin nostamaan esiin erilaisia kantasoluja, niin tutkimuksina erilaisten kantasolujen olemassaolosta kuin niiden käyttömahdollisuuksista. Mielenkiintoista ja loogistakin olivat tutkimukset siitä, että IPS-soluilla on muisti, ne siis aikuisen kantasolujen mukaisesti tietävät, mitä soluja ovat olleet. Omien solujen ja mielellään sieltä otettujen, mihin uusi elin tai siirrettävät solut siirretään, puolesta puhuu myös elinten rakennusta jo vuosikymmeniä tehnyt Anthony Atala.

Löysin vasta loppuvaiheessa, kun suurin osa työstä oli jo valmiina, Anthony Atalan ja Stephen Badylakin ja muutaman muun kuuluisan tutkijan tekemiä yhteenvetoja oman alansa historian merkittävistä löydöistä ja tutkimuksista. Niiden viitetietoja tutkiessani huomasin kuitenkin ilokseni, että olin löytänyt monta samaa tutkimusta kuin heidänkin lähteinään oli. Mielenkiintoisimmiksi tässä tutkimuksia kartoittavassa työssä ovatkin osoittautuneet niiden tutkijoiden aikaansaannokset, jotka ovat vuosia etsineet keinoa, millä ihmisten elämän saisi paremmaksi.

Lähteet

- Amit, M., Shariki, C., Margulets, V. & Itskovitz-Eldor, J. 2004. Feeder layer- and serum-free culture of human embryonic stem cells. *Biology of reproduction*, vol. 70, no. 3. s. 837-845.
- Andrews, P.W. 2011. Toward safer regenerative medicine. *Nature biotechnology*, vol. 29, no. 9. s. 803-805.
- Atata, A., Bauer, S.B., Soker, S., Yoo, J.J. & Retik, A.B. 2006. Tissue-engineered autologous bladders for patients needing cystoplasty. *The Lancet* vol. 367, no. 9518. s.1241-1246.
- Badylak, S.F., Kochupura, P.V., Cohen, I.S., Doronin, S.V., Saltman, A.E., Gilbert, T.W., Kelly, D.J., Ignatz, R.A. & Gaudette, G.R. 2006. The use of extracellular matrix as an inductive scaffold for the partial replacement of functional myocardium. *Cell transplantation*, vol. 15 Suppl 1. s. S29-40.
- Bioteknologia.info. Kantasolut; Lait ja säätely. Verkkodokumentti.
<http://www.bioteknologia.info/etusivu/terveys/Kantasolut/fi_FI/lait_ja_saately/> Luettu 9.4.2012.
- Blendon, R.J., Kim, M.K. & Benson, J.M. 2011. The public, political parties, and stem-cell research. *The New England journal of medicine*, vol. 365, no. 20. s. 1853-1856.
- Bloomberg 2009. ReNeuron Group plc RENE Publication of papers in peer . Verkkodokumentti.
<<http://www.bloomberg.com/apps/news?pid=newsarchive&sid=aM.zzE8VXtyk>> Päivitetty 11.08.2009. Luettu 23.4.2012.
- Bu, L., Jiang, X., Martin-Puig, S., Caron, L., Zhu, S., Shao, Y., Roberts, D.J., Huang, P.L., Domian, I.J. & Chien, K.R. 2009. Human ISL1 heart progenitors generate diverse multipotent cardiovascular cell lineages. *Nature*, vol. 460, no. 7251. s. 113-117.
- Bukovsky, A., Caudle, M.R., Svetlikova, M., Wimalasena, J., Ayala, M.E. & Dominguez, R. 2005. Oogenesis in adult mammals, including humans: a review. *Endocrine*, vol. 26, no. 3. s. 301-316.
- Chang, H. & Gregory, R.I. 2011. MicroRNAs and reprogramming. *Nature biotechnology*, vol. 29, no. 6. s. 499-500.
- Chou, B.K., Mali, P., Huang, X., Ye, Z., Dowey, S.N., Resar, L.M., Zou, C., Zhang, Y.A., Tong, J. & Cheng, L. 2011. Efficient human iPS cell derivation by a non-integrating plasmid from blood cells with unique epigenetic and gene expression signatures. *Cell research*, vol. 21, no. 3. s. 518-529.

- Clinical trials Verkkosivu <<http://clinicaltrials.gov/ct2/home>> Luettu 5.5.2012.
- De Coppi, P., Bartsch, G., Jr, Siddiqui, M.M., Xu, T., Santos, C.C., Perin, L., Mostoslavsky, G., Serre, A.C., Snyder, E.Y., Yoo, J.J., Furth, M.E., Soker, S. & Atala, A. 2007. Isolation of amniotic stem cell lines with potential for therapy. *Nature biotechnology*, vol. 25, no. 1. s. 100-106.
- Delaney, C., Heimfeld, S., Brashem-Stein, C., Voorhies, H., Manger, R.L. & Bernstein, I.D. 2010. Notch-mediated expansion of human cord blood progenitor cells capable of rapid myeloid reconstitution. *Nature medicine*, vol. 16, no. 2. s. 232-236.
- EmCell Verkkosivu <<http://www.emcell.com/>> Luettu 10.4.2012.
- Europa, P.r. 2005. How does the European Commission deal with ethical issues within its Framework Programme for Research and Development? Verkkodokumentti <<http://europa.eu/rapid/pressReleasesAction.do?reference=MEMO/05/121&format=HTML&aged=1&language=EN&guiLanguage=en>> Päivitetty 17.5.2005. Luettu 26.4.2012.
- Evans, M.D. & Kelley, J. 2011. US attitudes toward human embryonic stem cell research. *Nature biotechnology*, vol. 29, no. 6. s. 484-488.
- Fameda. Lapsivesi- ja istukatutkimukset. <<http://www.fameda.fi/lapsivesi-ja-istukatutkimukset>> Luettu 1.5.2012.
- Geddes, Linda 2011. Ethical and plentiful stem cells from milk. *New Scientist*, 19.11.2011.
- Genes and Development 2002. Verkkodokumentti. <<http://genesdev.cshlp.org/content/16/10/1209/F2.expansion>> Luettu 11.4.2012.
- Gilbert, P.M., Havenstrite, K.L., Magnusson, K.E., Sacco, A., Leonardi, N.A., Kraft, P., Nguyen, N.K., Thrun, S., Lutolf, M.P. & Blau, H.M. 2010. Substrate elasticity regulates skeletal muscle stem cell self-renewal in culture *Science (New York, N.Y.)*, vol. 329, no. 5995. s. 1078-1081.
- Granovsky, D. 2010. ReNeuron – PRESENTS NEW DATA – STEM CELLS REPAIR BRAIN DAMAGE. Verkkodokumentti. <<http://repairstemcell.wordpress.com/2010/07/19/reneuron/>> Päivitetty 12.7.2010. Luettu 5.5.2012.
- Han, J.W. & Yoon, Y.S. 2011. Induced pluripotent stem cells: emerging techniques for nuclear reprogramming. *Antioxidants & redox signaling*, vol. 15, no. 7. s. 1799-1820.
- Hartmann, B., Ekkernkamp, A., Johnen, C., Gerlach, J.C., Belfekroun, C. & Kuntscher, M.V. 2007. Sprayed cultured epithelial autografts for deep dermal burns of the face and neck. *Annals of Plastic Surgery*, vol. 58, no. 1. s. 70-73.

- Hassitou, F. 2012. New discoveries in human milk (stem cells). Verkkodokumentti <<http://www.medela.com/IW/en/breastfeeding/for-professionals/congress2012/abstracts.html>> Päivitetty 20-21.4.2012. Luettu 27.4.2012
- Hollander, A., Macchiarini, P., Gordijn, B. & Birchall, M. 2009. The first stem cell-based tissue-engineered organ replacement: implications for regenerative medicine and society. *Regenerative medicine*, vol. 4, no. 2. s. 147-148.
- Honda, A., Hirose, M., Hatori, M., Matoba, S., Miyoshi, H., Inoue, K. & Ogura, A. 2010. Generation of induced pluripotent stem cells in rabbits: potential experimental models for human regenerative medicine. *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 285, no. 41. s. 31362-31369
- Huangfu, D., Osafune, K., Maehr, R., Guo, W., Eijkelenboom, A., Chen, S., Muhlestein, W. & Melton, D.A. 2008. Induction of pluripotent stem cells from primary human fibroblasts with only Oct4 and Sox2. *Nature biotechnology*, vol. 26, no. 11. s. 1269-1275.
- Hukkanen, V. & Hyypiä, T. 2003. *Mikrobiologia ja infektiosairaudet osa 1; "3.55 Virukset geenihoidon välineinä"*. 1.painos, Duodecim.s. 601-607.
- Hwang, W.S., Ryu, Y.J., Park, J.H., Park, E.S., Lee, E.G., Koo, J.M., Jeon, H.Y., Lee, B.C., Kang, S.K., Kim, S.J., Ahn, C., Hwang, J.H., Park, K.Y., Cibelli, J.B. & Moon, S.Y. 2004. Evidence of a pluripotent human embryonic stem cell line derived from a cloned blastocyst. *Science (New York, N.Y.)*, vol. 303, no. 5664. s. 1669-1674.
- Hyun, J.S., Chung, M.T., Wong, V.W., Montoro, D., Longaker, M.T. & Wan, D.C. 2012. Rethinking the blasteema. *Plast Reconstr Surg*. vol.129, no. 5. s.1097-1103. Vain tiivistelmä
- Jungebluth, P., Alici, E., Baiguera, S., Le Blanc, K., Blomberg, P., Bozoky, B., Crowley, C., Einarsson, O., Grinnemo, K.H., Gudbjartsson, T., Le Guyader, S., Henriksson, G., Hermanson, O., Juto, J.E., Leidner, B., Lilja, T., Liska, J., Luedde, T., Lundin, V., Moll, G., Nilsson, B., Roderburg, C., Stromblad, S., Sutlu, T., Teixeira, A.I., Watz, E., Seifalian, A. & Macchiarini, P. 2011. Tracheobronchial transplantation with a stem-cell-seeded bioartificial nanocomposite: a proof-of-concept study. *The Lancet*, vol. 378, no. 9808. s. 1997-2004.
- Kaaro, J. 2005. Täällä kasvaa kantasoluja. Verkkodokumentti. <http://www.tiede.fi/artikkeli/497/taalla_kasvaa_kantasoluja> Päivitetty 10.3.2005. Luettu 27.11.2011
- Kim, K., Zhao, R., Doi, A., Ng, K., Unternaehrer, J., Cahan, P., Huo, H., Loh, Y.H., Aryee, M.J., Lensch, M.W., Li, H., Collins, J.J., Feinberg, A.P. & Daley, G.Q. 2011. Donor

- cell type can influence the epigenome and differentiation potential of human induced pluripotent stem cells. *Nature biotechnology*, vol. 29, no. 12. s. 1117-1119.
- Laughlin, M.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. *The New England journal of medicine*, vol. 344, no. 24. s. 1815-1822.
- Lee, A.S., Xu, D., Plews, J.R., Nguyen, P.K., Nag, D., Lyons, J.K., Han, L., Hu, S., Lan, F., Liu, J., Huang, M., Narsinh, K.H., Long, C.T., de Almeida, P.E., Levi, B., Kooreman, N., Bangs, C., Pacharinsak, C., Ikeno, F., Yeung, A.C., Gambhir, S.S., Robbins, R.C., Longaker, M.T. & Wu, J.C. 2011. Preclinical derivation and imaging of autologously transplanted canine induced pluripotent stem cells. *The Journal of Biological Chemistry* vol. 286, no. 37, s. 32697-32704.
- Levine, A.D. 2011. Access to human embryonic stem cell lines. *Nature biotechnology*, vol. 29, no. 12. s. 1079-1081.
- Mase, V.J., Jr, Hsu, J.R., Wolf, S.E., Wenke, J.C., Baer, D.G., Owens, J., Badylak, S.F. & Walters, T.J. 2010. Clinical application of an acellular biologic scaffold for surgical repair of a large, traumatic quadriceps femoris muscle defect. *Orthopedics*, vol. 33, no. 7. s. 511.
- Mohr, S., Portmann-Lanz, C.B., Schoeberlein, A., Sager, R. & Surbek, D.V. 2010. Generation of an osteogenic graft from human placenta and placenta-derived mesenchymal stem cells. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif.)*, vol. 17, no. 11. s. 1006-1015.
- Montserrat, N., Bahima, E.G., Batlle, L., Hafner, S., Rodrigues, A.M., Gonzalez, F. & Izpisua Belmonte, J.C. 2011. Generation of pig iPS cells: a model for cell therapy. *J.Cardiovasc.Transl.Res.*, vol. 4, no. 2. s. 121-130.
- Moran, N. 2011. European court bans embryonic stem cell patents. *Nat.Biotechnology*, vol. 29, no. 12. s. 1057-1059.
- Mummery, C., Wilmut, I., van de Stolpe, A. & Roelen, B.A.J. 2011 *Stem cells; Scientific facts and fiction*. Elsevier.
- News of the week 2011. E.U. Patents for Embryonic Stem Cell Tech in Doubt. *Science* vol. 331. s. 1370.

- Okita, K., Nakagawa, M., Hyenjong, H., Ichisaka, T. & Yamanaka, S. 2008. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. *Science (New York, N.Y.)*, vol. 322, no. 5903. s. 949-953.
- Olson, J.L., Atala, A. & Yoo, J.J. 2011. Tissue engineering: current strategies and future directions. *Chonnam medical journal*, vol. 47, no. 1. s. 1-13.
- Ott, H.C., Matthiesen, T.S., Goh, S.K., Black, L.D., Kren, S.M., Netoff, T.I. & Taylor, D.A. 2008. Perfusion-decellularized matrix: using nature's platform to engineer a bio-artificial heart. *Nature medicine*, vol. 14, no. 2. s. 213-221.
- Oulun yliopisto & Veripalvelu. 2008. Kantasolututkimus tehostuu Pohjois-Suomessa. Verkkodokumentti.
<http://www.bioteknologia.info/uutiset/biolaaketiede/fi_FI/Kantasolututkimus_tehostuu_Pohjois_Suomessa/> Päivitetty 1.12.2008. Luettu 26.4.2012.
- Papapetrou, E.P., Lee, G., Malani, N., Setty, M., Riviere, I., Tirunagari, L.M., Kadota, K., Roth, S.L., Giardina, P., Viale, A., Leslie, C., Bushman, F.D., Studer, L. & Sadelain, M. 2011. Genomic safe harbors permit high beta-globin transgene expression in thalassemia induced pluripotent stem cells. *Nature biotechnology*, vol. 29, no. 1. s. 73-78.
- Porkka, K. 2004, "Duodecim : Kantasolujensiirrot", , no. 11. s. 1391-1399.
- Prentice, D.A.P.D. 2004. Testimony. Verkkodokumentti.
<<http://www.stemcellresearch.org/testimony/20040929prentice.htm> > Päivitetty 29.9.2004. Luettu 4.9.2012.
- Regea, R.S. 2009. Luuvaurioiden kantasoluhoidot ovat onnistuneet hyvin. Verkkodokumentti.
<http://www.bioteknologia.info/uutiset/biolaaketiede/fi_FI/Luuvaurioiden_kantasoluhoidot_ovat_onnistuneet_hyvin/> Päivitetty 9.10.2009. Luettu 26.4.2012.
- ReNeuron . Clinical trials. Verkkosivu < <http://www.reneuron.com/the-pisces-clinical-trial-in-disabled-stroke-patients>> Luettu 5.5.2012.
- Rota, C., Imberti, B., Pozzobon, M., Piccoli, M., De Coppi, P., Atala, A., Gagliardini, E., Xinaris, C., Benedetti, V., Fabricio, A.S., Squarcina, E., Abbate, M., Benigni, A., Remuzzi, G. & Morigi, M. 2011. Human Amniotic Fluid Stem Cell Preconditioning Improves Their Regenerative Potential. *Stem cells and development*. 23.12.2011.
- Rouhi, A. & Buske, C. 2011. Stem cells and beyond: report on the 40th Annual Scientific Meeting of the International Society of Experimental Hematology. England. Luettu 11.1.2012

- Rowland, Teisha. 2009. Bioengineering organs and tissues with stem cells: Recent breakthroughs. Verkkodokumentti <<http://www.allthingsstemcell.com/2009/10/bioengineering-organs-breakthroughs/>> Päivitetty 11.10.2009. Luettu 23.4.2012.
- Sariola, H., Frilander, M., Heino, T., Jernvall, J., Partanen, J., Sainio, K., Salminen, M. & Thesleff, I. 2003. Kehitysbiologia; solusta yksilöksi. Jyväskylä: Kustannus oy Duodecim, 1. painos.
- Shao, L. & Wu, W.S. 2010. Gene-delivery systems for iPS cell generation. Expert opinion on biological therapy, vol. 10, no. 2, s. 231-242.
- Soldner, F., Laganieri, J., Cheng, A.W., Hockemeyer, D., Gao, Q., Alagappan, R., Khurana, V., Golbe, L.I., Myers, R.H., Lindquist, S., Zhang, L., Guschin, D., Fong, L.K., Vu, B.J., Meng, X., Urnov, F.D., Rebar, E.J., Gregory, P.D., Zhang, H.S. & Jaenisch, R. 2011. Generation of isogenic pluripotent stem cells differing exclusively at two early onset Parkinson point mutations. Cell, vol. 146, no. 2. s. 318-331.
- SPR Veripalvelu. 2010. Istukkaveren luovutus. Verkkosivu <<http://www.veripalvelu.fi/modules/system/stdreq.aspx?P=2757&VID=default&SID=519691178138649&S=3&A=closeall&C=29251>> Päivitetty 7.6.2010. Luettu 9.4.2012.
- SRxA. 2010. Spinal Cord injury therapy - One small step closer. Verkkodokumentti <<http://srxa.wordpress.com/2010/10/13/>> Päivitetty 13.10.2010 Luettu 23.4.2012.
- Stadtfield, M., Nagaya, M., Utikal, J., Weir, G. & Hochedlinger, K. 2008. Induced pluripotent stem cells generated without viral integration. Science, 2008, vol.322, no.5903. s.945-949.
- Stanford School of Medicine. 2007. Reprogramming and Somatic Cell Nuclear Transfer (SCNT). Verkkosivu <<http://hesc.stanford.edu/research/programs/scnt.html>> Luettu 3.5.2012.
- Stem cell information. Human embryonic stem cells and Human embryonic germ cells. Verkkosivu <<http://stemcells.nih.gov/info/2001report/appendixC.asp>> Luettu 14.2.2012
- Stem cell setback. Science, vol. 212, no. 2839. s. 6.
- Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K. & Yamanaka, S. 2007. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell, vol. 131, no. 5. s. 861-872.

- Tampereen yliopisto. Susanna Miettinen; Aikuisen kantasolujen ryhmä. Verkkosivu. <<http://www.uta.fi/ibt/institute/research/miettinen/indexfi.html> > Päivitetty 10.11.2011. Luettu 9.4.2012.
- Tang, C., Lee, A.S., Volkmer, J.P., Sahoo, D., Nag, D., Mosley, A.R., Inlay, M.A., Ardehali, R., Chavez, S.L., Pera, R.R., Behr, B., Wu, J.C., Weissman, I.L. & Drukker, M. 2011. An antibody against SSEA-5 glycan on human pluripotent stem cells enables removal of teratoma-forming cells. *Nature biotechnology*, vol. 29, no. 9. s. 829-834.
- TEDtalks. 2011. Verkkovideo. Anthony Atala: Printing a human kidney. Katsottu 3.5.2012
- The Hingston Group. An International consortium on Stem cells, ethics & law. Verkko dokumentti < <http://www.hinxtongroup.org/wp.html> > Luettu 23.4.2012.
- Thomson, J.A., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, S.S., Waknitz, M.A., Swiergiel, J.J., Marshall, V.S. & Jones, J.M. 1998. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science (New York, N.Y.)*, vol. 282, no. 5391. s. 1145-1147.
- Tiitinen, A. 2001. Duodecim; Laki alkiotutkimuksesta on astunut voimaan. vol. 117, no. 5. s. 469-470.
- Turner, N.J. & Badylak, S.F. 2012. Regeneration of skeletal muscle. *Cell and tissue research*. vol. 347, no. 3. s. 759-774.
- Turner, N.J., Johnson, S.A. & Badylak, S.F. 2010. A histomorphologic study of the normal healing response following digit amputation in C57bl/6 and MRL/MpJ mice. *Archives of Histology and Cytology*, vol. 73, no. 2. s. 103-111.
- Vogel, G. & Couzin-Frankel, J. 2010. Science and the law. With stem cells in court, a history primer. *Science (New York, N.Y.)*, vol. 329, no. 5998, s. 1450-1451.
- Vogel, G. 2010a. New technique RiPS open stem cell field. *Science*, vol. 330. s. 162.
- Vogel, G. 2010b. To scientists' dismay, mixed-up cell lines strike again. *Science*, vol. 329. s. 1004.
- Vogelstein, B., Alberts, B. & Shine, K. 2002. Genetics: Please don't call it cloning!. *Science (New York, N.Y.)*, vol. 295, no. 5558. s. 1237.
- Wadugu, B. & Kuhn, B. 2012. The role of neuregulin/ErbB2/ErbB4 signaling in the heart with special focus on effects on cardiomyocyte proliferation. *American journal of physiology. Heart and circulatory physiology*.
- White, Y.A., Woods, D.C., Takai, Y., Ishihara, O., Seki, H. & Tilly, J.L. 2012. Oocyte formation by mitotically active germ cells purified from ovaries of reproductive-age women. *Nature medicine*, vol. 18, no. 3. s. 413-421.

Williams, D.A. & Thrasher, A.J. 2011. Out of harm's way. *Nature biotechnology*, vol. 29, no. 1. s. 41-42.

Wu, G., Liu, N., Rittelmeyer, I., Sharma, A.D., Sgodda, M., Zaehres, H., Bleidissel, M., Greber, B., Gentile, L., Han, D.W., Rudolph, C., Steinemann, D., Schambach, A., Ott, M., Scholer, H.R. & Cantz, T. 2011. Generation of healthy mice from gene-corrected disease-specific induced pluripotent stem cells. *PLoS biology*, vol. 9, no. 7. s. e1001099.