



UNIVERSITY
OF TAMPERE

This document has been downloaded from
TamPub – The Institutional Repository of University of Tampere

 *Publisher's version* <http://urn.fi/URN:NBN:fi:uta-201512152544>

Author(s): Skottman, Heli; Uusitalo, Hannu
Title: Silmän kantasoluhoidot
Year: 2014
Journal Title: Duodecim
Vol and number: 130 : 19
Pages: 1991-1999
ISSN: 0012-7183
Discipline: Biomedicine
School /Other Unit: BioMediTech; School of Medicine
Item Type: Journal Article
Language: fi
URN: URN:NBN:fi:uta-201512152544
URL: <http://www.terveysportti.fi/xmedia/duo/duo11880.pdf>

All material supplied via TamPub is protected by copyright and other intellectual property rights, and duplication or sale of all part of any of the repository collections is not permitted, except that material may be duplicated by you for your research use or educational purposes in electronic or print form. You must obtain permission for any other use. Electronic or print copies may not be offered, whether for sale or otherwise to anyone who is not an authorized user.

Silmän kantasoluhoidot

Silmän rakenne ja silmäkirurgian jo käytössä olevat menetelmät mahdollistavat kantasolusiirtojen kehitystyön ja niiden kliinisen toteuttamisen. Useille yleisille silmäsairauksille on lisäksi tyypillistä yhden solutyypin toiminnanhäiriö tai solu-kuolema. Lisäksi eräiden tällaisten sairauksien kuten verkkokalvon ikärappeuman esiintyvyys tulee väestön ikääntymisen myötä lisääntymään merkittävästi. Tämän vuoksi kantasolusiirroilla uskotaan olevan huomattava merkitys tulevaisuuden silmäsairauksien hoidossa. Selvästi pisimmällä ovat sarveiskalvon ja verkkokalvon sairauksiin kehitettävät hoitomuodot. Paikallisiin kantasolusiirtoihin perustuvat solusiirrot ovat jo kliinisessä käytössä eräissä sarveiskalvon sairauksissa, ja kantasoluista erilaistettujen verkkokalvon pigmenttiepiteelisolujen siirrot ovat kliinisissä kokeissa. Kantasolujen silmäsovellukset mahdollistavat myös yksilöllisten sairausmallien kehittämisen ja lääkeainevaikutusten tarkemman yksilöllisen tutkimuksen.

Oppiminen, opiskelu, työ, vapaa-ajan harrasteet ja ikäihmisten omatoimisuus lisääntyneiden tietotekniikkasovellusten kanssa riippuvat yhä enemmän hyvästä näöstä. Pidentynyt elinikämme vaatii silmän ja näköjärjestelmän usein uusiutumiskyvyttömiltä soluilta ja rakenteilta, entistä pidempään kykyä ylläpitää omia ja ympäröivien solujen toimintoja. Monien iän mukana yleistyvien silmäsairauksien patogeneesiin liittyykin huonosti tai ei ollenkaan uusiutuvien solujen toiminnanhäiriö tai kuolema ja tästä käynnistyvä usein näkövammaisuuteen johtuva prosessi. Kudosteknologia ja kantasolusiirrot tarjoavatkin tällaisten silmäsairauksien hoitoon uusia hoitomahdollisuuksia, ja tämän vuoksi niitä onkin vii-

meisten vuosien aikana tutkittu intensiivisesti. Kantasoluja voidaan hyödyntää sairausmallien kehittämisessä ja lääkeaineiden tehon ja haittojen yksilöllisessä arvioinnissa pyrittäessä kohti henkilökohtaista lääketiedettä. Lisäksi silmällä on monia kudosteknologian ja kantasolusiirtojen kannalta merkittäviä etuja muihin elimiin verrattuna (TAULUKKO 1).

Sarveiskalvon rakenne ja tehtävä

Sarveiskalvo on halkaisijaltaan 12 mm:n kokoinen ja runsaan puolen mm:n paksuinen läpinäkyvä kiekko. Sen toiminnan kannalta tärkeimmät ominaisuudet ovat läpinäkyvyys ja rakenteen säännönmukaisuus, joiden avulla tällä silmän voimakkaimmin taittavalla linssillä voidaan saada aikaan hyvälaatuinen kuva mykiölle ja verkkokalvolle. Sarveiskalvon epiteelisoluja muodostavat limbaaliset kantasolut, ja käytännössä uusiutumattomat endoteelisolut ovat olleet kantasolututkijoiden erityisen mielenkiinnon kohteina. Sarveiskalvon eri solukerrokset (KUVA 1) kehittyvät kehitysbiologisesti eri lähteistä, sarveiskalvon epiteeli pintaektodermaalisesta kudoksesta ja sarveiskalvon strooma sekä endoteelit hermostopie-nasta (neural crest) erilaistuvan mesenkymaalisen kudoksen kautta (KUVA 2).

Sarveiskalvon epiteeli. Sarveiskalvon ulkopintaa verhoaa 5–6 solukerrosta paksu epiteelikerros, jonka basaaliset pylväsmäiset solut lepäävät hemidesmosomeilla tyvikalvoon kiinnittyneinä. Nämä solut uudistuvat hitaasti kovakalvon reunan päällä olevista limbaalisista kantasoluista ja migroituvat tyvikalvon pintaa pitkin kohti sarveiskalvon keskustaa (1). Limbaalisten kantasolujen jakautumisnopeus on normaalisti hyvin rauhallinen. Koko epiteelin on laskettu uusiutuvan noin 6–9 kuukauden kuluessa. Pintaepiteelin basaalisolujen jalkau-

TAULUKKO 1. Miksi silmä on hyvä kohde kantasolusiirroille (49).

Etu	Esimerkki
Pieni määrä soluja tarvitaan.	Limbaalisissa siirroissa jopa 3 000 solun siirto voi johtaa onnistuneeseen lopputulokseen.
Solusiirrot voidaan tehdä tarkasti halutulle alueelle mikroskopian avulla.	Siirrettävät RPE-solut voidaan kohdentaa suoraan halutulle alueelle ja haluttuun solukerrokseen.
Ei-invasiiviset kuvaustekniikat mahdollistavat siirrettyjen solujen seuraamisen.	Solujen siirtoaluetta voidaan kuvantaa toistuvasti.
Silmän verisuonettomat kudokset ja silmän luonnolliset esteet ehkäisevät solujen vaeltamista muualle elimistöön.	Tällä hetkellä ei ole yhtään julkaisua siitä, että silmään siirretyt solut olisivat kulkeutuneet muualle elimistöön.
Silmän kudokset ovat osin immuunijärjestelmän ulkopuolella.	Allogeeniset solusiirteet onnistuvat hyvin ilman pitkäaikaista hyljinnänestolääkitystä.
Mahdolliset teratoomat voidaan huomata helposti, ja ne ovat poistettavissa.	Pienet kasvaimet voidaan helposti todentaa silmästä ja hätätilanteessa poistaa leikkauksella.
Pitkälle kehittynyt silmäkirurgia edistää silmän kliinisten sovellusten toteuttamista.	Leikkaushaavat ja leikkauksen jälkeiset traumat ovat yleensä pieniä ja leikkausriskit ovat suhteellisen vähäiset.

tumisnopeus on huomattavasti suurempi, ja epiteelin terminaalaisesti erilaistuneet solut uusiutuvat noin viikossa. Epiteelivaurio saa normaalisti aikaan nopean limbaalisten kantasolujen lähes kymmenkertaisesti nopeutuneen jakautumisen ja väliaikaisesti jakautuvien solujen (transient amplifying cells) muodostumisen, joka palautuu normaaliksi haavan umpeutuessa (2, 3).

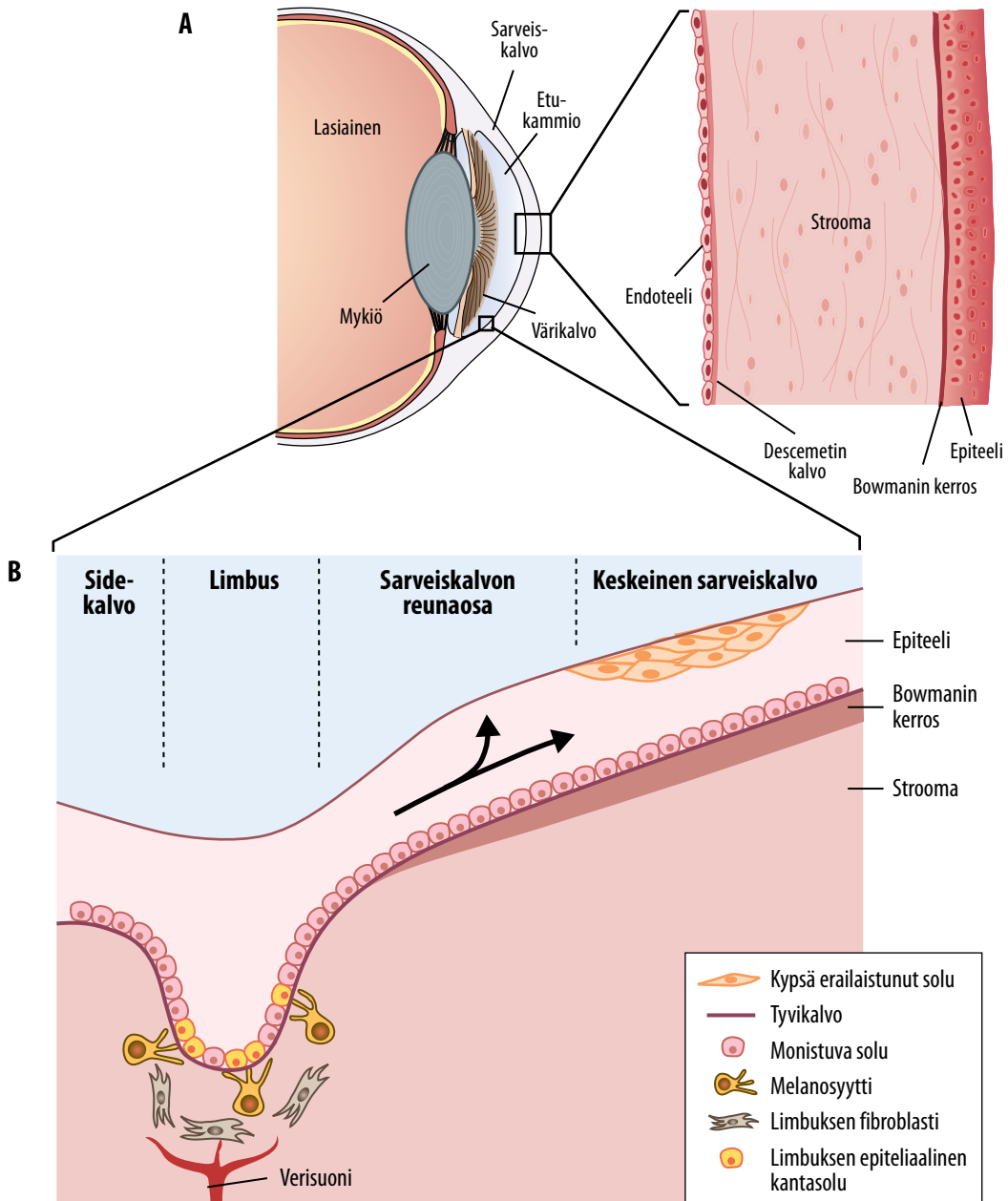
Sarveiskalvon epiteelihaavan paraneminen voi häiriintyä limbaalisten kantasolujen vaurioituessa esimerkiksi tulehdusprosessien tai kemiallisten vammojen seurauksena (4, 5). Krooninen sarveiskalvoaava aiheuttaa sarveiskalvon stroomaosan arpeutumisen ja verisuonittumisen ja heikentää silmän näkökykyä (6). Limbaalisten kantasolujen tuhoutumisesta johtuvaa sarveiskalvosairautta on hoidettu tekemällä limbaalisia kudossiirtoja potilaan toisesta silmästä (7, 8) tai tuoreesta luovuttajan silmästä (9, 10).

Sarveiskalvon strooma ja endoteelit. Strooman keratosyyttien paikallisia kantasoluja on löydetty sarveiskalvon ja kovakalvon rajalta (11), ja niillä on arveltu olevan osuutta sarveiskalvolle erittäin tärkeässä angiogeneesin säätelyssä. Lisäksi mesenkymaalaisia kantasoluja tutkitaan tällä hetkellä aktiivisesti sarveiskalvon stroomasolujen lähteenä (12, 13, 14). Sarveiskalvon endoteelia on totunnaisesti

pidetty uusiutumiskyvyttömänä solukkona. Sen vaurioituessa sairauden tai vammojen seurauksena solut suurenevat kooltaan paikatakseen syntyneet vauriot. Uusimpien tutkimusten valossa endoteelin ja kammiokulman trabekkelisolujen yhteisiä kantasoluja näyttäisi olevan sarveiskalvon ja kovakalvon rajalla, ja näistä soluista voidaan erilaistaa endoteelisoluja (15). Lisäksi pluripotentteja kantasoluja on onnistuttu ainakin jossain määrin erilaistamaan sarveiskalvon endoteelisolueksi (16). Kantasoluista erilaistettu endoteelisolukko voisi soveltua erittäin hyvin jo nyt käytettyyn ja vainajien sarveiskalvon endoteelisiin siirtoon perustuvaan DSAEK (Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty) -leikkaukseen (17).

Sarveiskalvon epiteelisolusiirtojen menetelmät

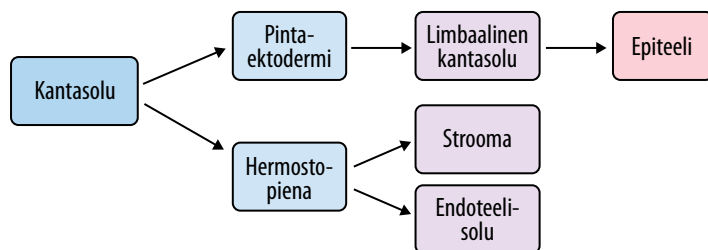
Pellegrini julkaisi työtovereineen ensimmäisen varsinaiseen kudosteknologiaan perustuvan menetelmän sarveiskalvon kemiallisen vamman aiheuttamaan limbaaliseen kantasoluvaurioon vuonna 1997 (18). Tässä CLET (cultivated limbal epithelial transplantation) -menetelmässä limbaalisia kantasoluja kasvatetaan kudosisviljelyolosuhteissa vesikalvon (amnionkalvo) päällä ja syntynyt epiteelisolukko



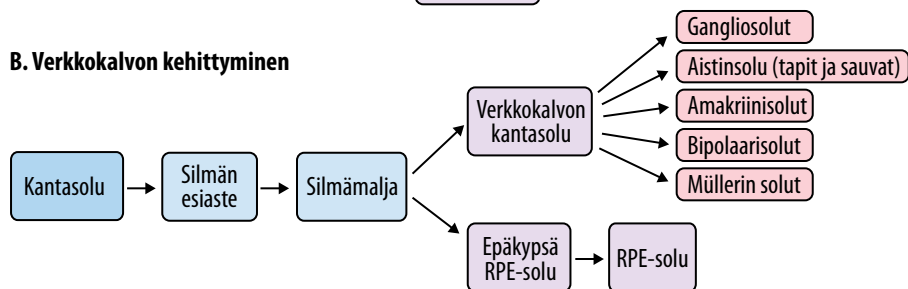
KUVA 1. A) Sarveiskalvon rakenne ja **B)** limbuksen alue.

Sarveiskalvon epiteelisolut uudistuvat kovakalvon reunan päällä limbuksessa niin sanotuista limbaalisista kantasoluista ja migroituvat tyvikalvon pintaa pitkin kohti sarveiskalvon keskustaa. Epiteelin basaaliset solut jakautuvat joko symmetrisesti molempien solujen jäädessä tyvikalvolle tai epäsymmetrisesti, jolloin toinen jakautuneista soluista irtoaa tyvikalvosta muuntuen pysyvästi erilaistuneeksi siipisoluksi. Siipisolut nousevat uusien solujen syntymisen myötä lähemmäksi epiteelin pintaa muuntuen tiukasti toisiinsa liittyneiksi levyepiteelisoluiksi. Lopulta solut menettävät desmosomivälitteisen kiinnityksensä ja irtoavat pintaa peittävään kyynelnesteeseen. (Kuvan lähteet: yläkuva Duodecim, alakuva www.stembook.org/node/588)

A. Sarveiskalvon kehittyminen



B. Verkkokalvon kehittyminen



KUVA 2. A) Sarveiskalvon solujen kehittyminen. B) Verkkokalvon solujen kehittyminen.

siirretään vaurioituneen sarveiskalvon päälle kirurgisesti. Menetelmällä on saatu hyviä hoitotuloksia (76,6 %) erityisesti kemiallisen vamman aiheuttamissa yhden silmän sarveiskalvovaurioissa (19). Molempien silmien vaurioituessa joko vammojen tai sairauden aiheuttamana limbaalisia kantasoluja ei potilaalta yleensä saada viljeltäväksi. Tämän vuoksi Nishida työtoverineen kehitti COMET (cultivated oral mucosal epithelial cell transplantation) -menetelmän suun limakalvon epiteelisolujen kasvattamiseksi ja siirtämiseksi sarveiskalvon pinnalle (20). Suun limakalvon epiteelisoluja on siirretty myös vesikalvon päälle kasvatettuna (21). Menetelmien kliiniset tutkimukset ovat olleet lupaavia. Monissa tapauksissa hyvinkin pahoin vaurioituneen sarveiskalvon tilaa ja näkökykyä on voitu parantaa oleellisesti. COMET-menetelmän ongelmia ovat muun muassa eläinperäisten materiaalien käyttö solujen tuotantoprosessin aikana. Ne voivat solujen tuotantoprosessissa aiheuttaa eläinperäisten patogeeneiden siirtymistä ihmiselle sekä lisätä mahdollista solusiirteen hyljintäriskiä. Omalla tutkimuksellamme olemme pyrkineet löytämään tähän ratkaisuja, joilla solut voidaan tuottaa ilman eläinsoluja ja seerumia (22).

Mesenkymaalisia kantasoluja on käytetty kokeellisesti hoidettaessa sarveiskalvosairauksia ja vammoja osin niiden tulehduksista ehkäisevien ja angiogeneesiä säätelevien ominaisuuksien vuoksi (12). Epäselvää on kuitenkin edelleen, kykenevätkö nämä kantasolut erilaistumaan epiteelisoluiksi. Myös ihmisen pluripotentteja kantasoluja tutkitaan sarveiskalvon epiteelisolujen lähteenä (23). Indusoituihin kantasoluihin (iPS-solut) liittyvät tekniikat tarjoavat mahdollisuuden tuottaa esimerkiksi sarveiskalvon epiteelisoluja molemminpuolisen vaikean silmävamman vuoksi henkilön omista soluista. Vastaavasti vakavan systeemisairauden ollessa kyseessä näitä soluja voidaan tulevaisuudessa mahdollisesti käsitellä geeninsiirron avulla tai käyttää terveen luovuttajan kudosta iPS-solujen ja sarveiskalvon epiteelisolujen tuottamiseksi (24).

Verkkokalvon rakenne ja tehtävä

Verkkokalvo on kerrostunut kudos, joka sisältää useita eri solutyyppiä (KUVA 3). Sen tehtävänä on muuttaa valo sähköiseksi energiaksi, joka näköhermon välityksellä siirtyy näköaivokuorelle kuvan muodostumista varten.

Verkkokalvo on metabolisesti erittäin aktiivinen kudos, jota sen pigmenttiepiteelisolukko (RPE) monin tavoin säätelee (TAULUKKO 2). Rakenteellisesti tämä erittäin polarisoitunut yksisoluihin solukerros on soluväliaineista koostuvan Bruchin kalvon päällä. Verkkokalvo on erityisesti makulan alueella erittäin altis monille stressitekijöille kuten valolle, valon aiheuttamalle lämpöstressille, fototoksisuudelle ja oksidatiiviselle stressille. Yhdistettynä muille altistaville tekijöille (kuten geneettinen alttius) tämä stressi auttaa esimerkiksi RPE-solujen vahingoittuvuutta eliniän aikana (25, 26).

Kehitysbiologisesti, verkkokalvo saa alkunsa neuroektodermaalista kudoksesta, joka kehittyy silmäaiheeksi ja jakautuu myöhemmin silmämaljaksi. Tässä kehitysvaiheesta erilaistuminen jakautuu kahteen osaan, RPE solukerros muodostamaan ulkoiseen osaan ja hermostollisen verkkokalvon muodostamaan sisäosaan. Hermostollisen verkkokalvon kehittyminen jatkuu kahdessa aallossa, ensimmäisenä erilaistuvat gangliosolut, tappisolut, amakriinisolut sekä horisontaalisolut ja toisessa vaiheessa sauvasolut, bipolaarisolut sekä Müllerin solut (27). Verkkokalvon solujen erilaistuminen kantasoluista tapahtuu saman reitin mukaisesti (KUVA 2). Pääpaino kantasolututkimuksessa on ollut ihmisen pluripotenttien kantasolujen hyödyntämisessä mutta myös muita kantasolulähteitä on tutkittu mukaan lukien verkkokalvon omat kantasolut (28, 29). Lisäksi sikiön, napanuoran sekä luuytimen kantasoluja tutkitaan parhaillaan myös kliinisessä hoitokokeessa (30). Nähtäväksi jää, voidaanko näitä soluja hyödyntää laajemmin tulevaisuuden soluhoidoissa.

Verkkokalvon solusiirrot

RPE solusiirrot. RPE-solujen tärkeän roolin ja toisaalta RPE-solukerros yksinkertaisen rakenteen vuoksi pääpaino soluterapiaan tähtäävässä tutkimuksessa on ollut RPE-solujen siirroissa. Tätä on auttanut monien vuosien kokemus autologisista RPE-siirteistä, joissa perifeerisen verkkokalvon alueelta siirretään RPE-soluja tarkan näkemisen alueelle (31), ja

TAULUKKO 2. RPE-solujen päätehtävät verkkokalvon toiminnan tukemiseksi (50).

Näkösyklissä tarvittavan retinolin kierrätys.

Ravintoaineiden, hapen ja metabolisten hajoamistuotteiden välitys verkkokalvolle ja verkkokalvolta pois.

Auringon valolta suojaava vaikutus pigmentin avulla.

Tärkeiden kasvutekijöiden tuottaminen (mukaan lukien VEGF ja PEDF).

Näköaistinsolujen (tappi ja sauvasolut) ulkosegmenttien hajoamisjätteen hajoitus eli fagosytoosi. Yksi RPE-solu huulehtii jopa kahdenkymmenen aistinsolujen hyvinvoinnista elinikänsä aikana fagosytoiden yli 100 miljoona ulkosegmentin osaa.

Muodostaa osan verkkokalvoa suojaavasta veri-verkkokalvoesteestä.

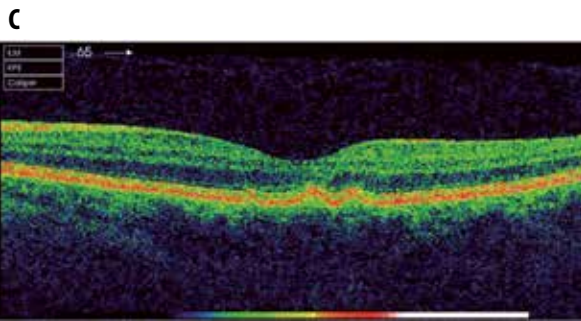
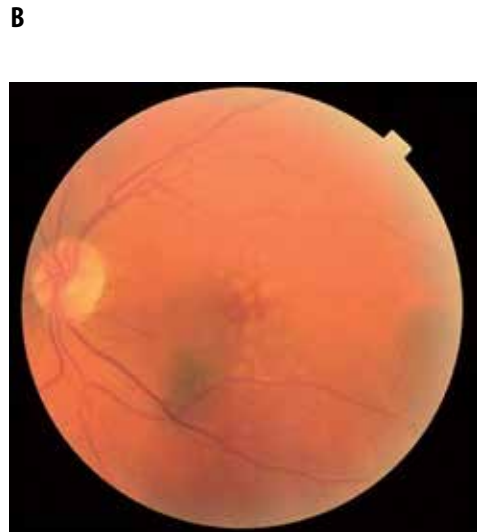
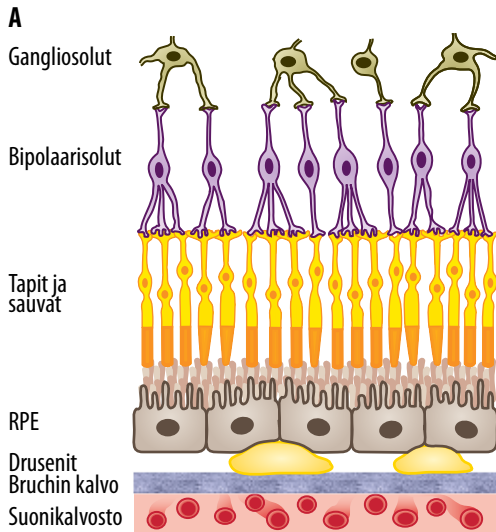
Nestetasapainon ja ionitasapainon ylläpito.

VEGF = vascular endothelial growth factor

PEDF = pigment epithelium derived factor

täten tulokset ovat luoneet pohjan myös kantasoluista erilaistettujen RPE-solujen käytölle. Verkkokalvon ikärappeumaan, Stargardin tautiin ja verkkokalvorappeumaan ei tällä hetkellä ole olemassa parantavia hoitomuotoja, ja siksi ne ovat esimerkki potentiaalisimmista soluterapiakohteista.

Ikärappeuma on yleisin näkökyvyn menetyksen syy yli 65-vuotiailla. Ikärappeuma vaikuttaa erityisesti verkkokalvon makulan alueelle ja vaikuttaa näin keskeiseen näöntarkkuuteen. Ikärappeumaa on kahta muotoa niin sanottua kuivaa ja nesteistä ikärappeumaa. Yksi ikärappeuman ensimmäisistä merkeistä on verkkokalvon pigmentin epätasaisuus ja solunulkoisten proteiinikertymien eli drusenien kasautuminen (KUVA 3). Myös RPE-solujen alla oleva Bruchin kalvo paksuntuu iän myötä ja hidastaa ravintoaineiden ja hajoamistuotteiden kulkeutumista edelleen, mikä edistää ikärappeuman kehitystä (32). Ikärappeuman kosteassa muodossa verkkokalvon takaa suonikalvosta kasvaa hauraita uudisverisuonia ja tämä aiheuttaa verkkokalvon turpoamisen ja oireiden nopean etenemisen. Kosteaan muotoon on olemassa lasiaisen sisäisiä lääkehoitoja, jotka tehoavat vain, mikäli ne annetaan taudin varhaisvaiheessa. Hoitoja joudutaan kuitenkin toistamaan, ja ne eivät paranna var-



KUVA 3. A) Verkkokalvon rakenne. B) Silmänpohjan kuva, jossa näkyvissä drusenien muodostumista. C) OCT-kuva, jossa drusenit näkyvät punaisen kerroksen (RPE-solut) poimuuntumisena. (Kuvan lähteet: A) (25) B) ja C) Prof. Hannu Uusitalo.

sinaista tautia. Ikarapueuman kuivassa muodossa ei esiinny uudisverisuonitusta, mutta siihen ei myöskään ole olemassa toistaiseksi tehokasta hoitoa.

Stargardin tauti on perinnöllinen erityisesti lapsilla esiintyvä verkkokalvosairaus. Sen takana ovat useat eri geenimutaatiot, joista osa vaikuttaa myös RPE-solujen normaaliin toimintaan.

Verkkokalvorappeuma puolestaan vaikuttaa useimmin sauvasoluihin ja ilmenee ensin hämäräsokeutena ja etenee niin sanotuksi putkinäköksi. Tappisolujen tauti on harvinaisempi. Näiden sairauksien takaa löytyy monia eri geenivirheitä, ja osa niistä vaikuttaa RPE-solujen toimintaan (kuten RPE65- tai MERTK-geenien mutaatiot). RPE-solujen korvaaminen terveillä RPE-soluilla onkin yksi mahdollinen ja paljon tutkittu terapiamuoto näissä verkkokalvosairauksissa.

Monet tutkimusryhmät ovat onnistuneet erilaistamaan RPE-soluja sekä alkion kantasoluista, että iPS-soluista (33). Monet menetelmistä eivät kuitenkaan ole optimaalisia solujen terapeuttien käytön kannalta. Solujen soveltuvuus kliiniseen käyttöön on huomattavasti vaikeampaa myös lupamenettelyjen osalta, jos solujen tuotantoprosessissa on käytetty esimerkiksi eläinperäisiä aineita (30). Tutkimusryhmämme on kehittänyt RPE-solujen erilaistusmenetelmän, joka perustuu täysin tunnettuihin aineisiin eikä sisällä mitään eläinperäisiä ainesosia (34). Lisäksi olemme osoittaneet usein eri menetelmin, että kantasoluista tuotetut RPE-solut ovat ominaisuuksiltaan hyvin luontaisten RPE-solujen kaltaisia (34, 35, 36). Monien vuosien kokeellinen tutkimustyö (37) on johtanut siihen, että kliiniset kokeet alkion kantasoluista erilaistetuilla RPE-soluilla on aloitettu. Ensimmäiset tutkimustulokset

näistä kokeista ovat osoittaneet, että ainakaan mitään siirteisiin liittyviä turvallisuusongelmia ei ole havaittu (38). Jatkutuloksia kokeista kuitenkin odotetaan vielä saapuvaksi vuoden 2014 aikana. Lisäksi useita muita vastaavia kliinisiä kokeita on jo rekisteröity WHO:n kliinisten kokeiden rekisteriin.

Tällä hetkellä käynnissä olevissa kliinisisä kokeissa, alkion kantasoluista erilaistettujen RPE-solujen siirretään solususpensiona injektion avulla verkkokalvolle aistinsolujen ja RPE-solukerroksen välissä olevaan subretinaaliseen tilaan (38). Suspensiona verkkokalvon alle ruiskutettavat solut eivät kuitenkaan välttämättä integroidu kunnolla, kun siirto tehdään iäkkäälle potilaalle, jolla on usein ongelmia myös Bruchin kalvon toiminnan kanssa. Siirrettävät solut eivät tämän vuoksi pääse integroitumaan kohdekudokseen kunnolla, eivätkä täten muodosta alueelle tiukkaa RPE-epiteeliä vaan kuolevat vähitellen pois. Oma solusiirtostrategiamme on ollut kasvattaa ehjä ja valmiiksi toiminnallinen RPE-solukerros biomateriaalista valmistetun tukirakenteen päälle (39) ja siirtää yhdistelmä verkkokalvon tarkan näkemisen alueen alle. Näyttäisi siltä, että tutkimus maailmallakin keskittyy jatkossa pääsääntöisesti tähän strategiaan (40, 41).

Tutkimus iPS-soluista erilaistettujen RPE-solujen hyödyntämiseksi on edennyt yllättäväkin vauhtia ja jopa siinä määrin, että japanilainen tutkimusryhmä on myös aloittanut niillä kliiniset kokeet (42). Tämä on yllättävää, koska tutkimustyö alkion ja iPS-solujen yhtäläisyyksien ja eroavaisuuksien selvittelyssä jatkuu. Lisäksi geneettisesti muunneltuihin iPS-soluihin liittyy myös muita turvallisuus-kysymyksiä. Tutkimustuloksia ensimmäisistä kokeista odotetaan, sillä sen lisäksi että nähdään, ovatko solusiirteet turvallisia ja toiminnallisia, tulokset tulevat kertomaan, miten immunologisesti siedettyjä kantasolulähtöiset siirteet ovat potilaalle, sillä autologisten iPSC-solujen immunogeenisyys on herättänyt keskustelua (30). Mikäli iPS-RPE-soluja voitaisiin hyödyntää autologisina siirteinä, välttyttäisiin luultavasti solujen immunogeenisuuteen liittyviltä ongelmilta. Toisaalta huolta aiheuttavat autologisten solujen potentiaaliset

YDINASIAT

- ▶ Silmä on erinomainen kohde kantasolusovellusten kehitystyössä ja kliinisten hoitojen toteuttamisessa.
- ▶ Sarveiskalvon osalta pisimmällä ollaan pintaepiteelin hoitosovelluksissa.
- ▶ Verkkokalvon osalta kliinisiin tutkimuksiin asti on edetty kantasolupohjaisilla pigmenttiepiteeli (RPE)-solusiirroilla.
- ▶ Kantasolusiirtojen lisäksi erilaistettuja soluja hyödynnetään yksilöllisissä sairauksimalleissa ja lääkeainekehityksessä.

riskit, sillä elimistön oma suojausmekanismi ei ehkä tunnista tällaisia soluja silloinkaan, jos jokin menee pieleen, ja tämä suurentaisi muun muassa kasvainriskiä. Lisäksi autologiset iPS-solut eivät tarjoa hoitomahdollisuutta sellaisiin verkkokalvon sairauksiin, jotka aiheutuvat tietyistä geenivirheistä, sillä iPS-solut sekä niistä erilaistettujen solujen kantavat genomissaan samaa geenivirhettä. Täten tutkimusta tehdään myös näiden solujen geenikorjauksessa (30). On kuitenkin ymmärrettävää, että tällainen geenikorjausstrategia voi toimia vain sellaisten tautien osalta, jotka aiheutuvat yksittäisestä tai korkeintaan muutamasta spesifisestä geenimutaatiosta (43).

Kun RPE-solut eivät riitä. RPE-solujen siirto ei kuitenkaan auta siinä vaiheessa, kun aistinsolut ovat kuolleet esimerkiksi pitkälle edenneen ikä- tai verkkokalvorappeuman vuoksi. Tällaisessa tapauksessa, ainoastaan uusien aistinsolujen siirtäminen voisi palauttaa näkökyvyn, mikä edellyttää, että muu neurallinen verkkokalvo ei ole vielä tuhoutunut. Eriytyisenä kudosteknologisena haasteena nähdään siirrettävien aistinsolujen oikea orientaatio ja yhteyksien muodostuminen muiden verkkokalvon hermosolujen kanssa. Tätä on tutkittu paljon kokeellisesti sikiön verkkokalvon soluilla ja myös kliinisiä hoitokokeita on jo tehty (44, 45). Pluripotentteja soluja on

myös erilaistettu aistinsoluiksi (30). Tällaisten solujen selviäminen solusiirtojen jälkeen on kuitenkin ollut rajallista. Onkin arvioitu, että useamman eri solutyypin yhtäaikainen siirto (esimerkiksi aistinsolujen esiasteet ja RPE-solut) voisivat johtaa parempaan lopputulokseen (46). Nähtäväksi jää, toteutuuko tulevaisuudessa kolmiulotteisen rakenteen omainen verkkokalvosiirre, joka koostuu erityyppisistä soluista ja soluväliaineen rakenteista. Tutkimusta tähän suuntaan tehdään paljon (47).

Voidaanko tuhoutuneet gangliosolut korvata? Näköhermon vaurioituminen voi tapahtua sairauden tai vamman seurauksena. Yleisin näkövammaisuutta aiheuttava silmäsairaus on glaukooma, jolle on tyypillistä gangliosoluaksonien vaurioituminen näköhermon pään tasolla. Koska näköhermoon kohdistuvat vauriot aiheuttavat näkökenttäpuutoksien ja huonontuneen keskeisen näkökyvyn vuoksi huomattavaa arkipäivän haittaa potilaalle, näköhermon kantasolusiirtoja on tutkittu aktiivisesti. Erilaistettuja gangliosoluja voidaan siirtää, ja ne näyttävät integroituvan näköhermoon ja muodostavan toiminnallisia liitoksia (48). Korvattaessa vaurioitunutta näköhermoa solujen tulisi kuitenkin pystyä luomaan uudelleen menetetyt yhteydet verkkokalvon

sisempien solujen ja talamuksen ulomman polvitumakkeessa olevien solujen kanssa. Matka verkkokalvolta talamukseen on pitkä ja mutkikas, samoin varmasti myös kliinisten sovellusten toteutus.

Silmäsairauksien mallinnus kantasolujen avulla

iPS-solujen myötä myös erilaisten silmätauti-
mekanismien tutkimus on edennyt merkittävästi. Sairausspesifisiä iPS-kantasoluja on tuotettu ja käytetty tutkimuksissa muun muassa verkkokalvorappeumapotilaista (43). Täten teknologia on jo osoittanut mahdollisuutensa tutkittaessa silmäsairauksien yksilöllistä patogeneesiä ja kehitettäessä yksilöllisesti vaikuttavia lääkehoitoja silmäsairauksien hoitoon.

Lopuksi

Kantasolujen käyttö silmäsairauksien tutkimuksessa sekä kantasoluhoidojen kehitystyö on edennyt viime vuosina huimaa vauhtia. Lähivuosina nähdään, kuinka paljon kantasoluja voidaan hyödyntää soluterapiamuotona. Tässä silmätutkimus ja silmä toimivat esimerkkinä ja suunnan näyttäjänä muille kudoksille. ■

HELI SKOTTMAN, FT, dosentti
BioMediTech, Tampereen yliopisto

HANNU UUSITALO, silmätautiopin professori, ylilääkäri
Silmätaudit, SILK, lääketieteen yksikkö, Tampereen
yliopisto
Tays Silmäkeskus

SIDONNAISUUDET

Heli Skottman: Ei sidonnaisuuksia
Hannu Uusitalo: Ei sidonnaisuuksia

Summary

Stem cell therapy of the eye

The structure of the eye and the currently available methods of ophthalmic surgery enable the development work on stem cell transplantations and their clinical implementation. For example the frequency of occurrence of age-related macular degeneration will increase significantly with the ageing population. Stem cell transplantations are therefore expected to be of considerable significance in the future treatment of ocular diseases. Clearly the farthest advance has been achieved with treatments developed for diseases of the cornea and the retina. Cell transplantations based on local stem cell transplantations are already in clinical use in some corneal diseases, and transplantations of retinal pigment epithelial cells differentiated from stem cells are being used in clinical studies.

KIRJALLISUUTTA

1. Schermer A, Galvin S, Sun TT. Differentiation-related expression of a major 64K corneal keratin in vivo and in culture suggests limbal location of corneal epithelial stem cells. *J Cell Biol* 1986;103:49–62.
2. Cotsarelis G, Cheng SZ, Dong G, Sun TT, Lavker RM. Existence of slow-cycling limbal epithelial basal cells that can be preferentially stimulated to proliferate: implications on epithelial stem cells. *Cell* 1989;57:201–9.
3. Lavker RM, Wei ZG, Sun TT. Phorbol ester preferentially stimulates mouse fornical conjunctival and limbal epithelial cells to proliferate in vivo. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:301–7.
4. Huang AJ, Tseng SC. Corneal epithelial wound healing in the absence of limbal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:96–105.
5. Chen JJ, Tseng SC. Corneal epithelial wound healing in partial limbal deficiency. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1990;31:1301–14.
6. Dua HS. The conjunctiva in corneal epithelial wound healing. *Br J Ophthalmol* 1998;82:1407–11.
7. Tsai RJ, Sun TT, Tseng SC. Comparison of limbal and conjunctival autograft transplantation in corneal surface reconstruction in rabbits. *Ophthalmology* 1990;97:446–55.
8. Kenyon KR, Tseng SC. Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. *Ophthalmology* 1989;96:709–22.
9. Tsubota K. Ocular surface management in corneal transplantation, a review. *Jpn J Ophthalmol* 1999;43:502–8.
10. Tan DT, Ficker LA, Buckley RJ. Limbal transplantation. *Ophthalmology* 1996;103:29–36.
11. Pinnamaneni N, Funderburgh JL. Concise review: stem cells in the corneal stroma. *Stem Cells* 2012;30:1059–63.
12. Yao L, Bai H. Review: mesenchymal stem cells and corneal reconstruction. *Mol Vis* 2013;19:2237–43.
13. Zhang S, Espandar L, Imhof KM, Bunell BA. Differentiation of human adipose-derived stem cells along the keratocyte lineage in vitro. *J Clin Exp Ophthalmol* 2013;4(270).
14. Ma XY, Bao HJ, Cui L, Zou J. The graft of autologous adipose-derived stem cells in the corneal stroma after mechanic damage. *PLoS One* 2013;8:e76103.
15. Yu WY, Sheridan C, Grierson I, ym. Progenitors for the corneal endothelium and trabecular meshwork: a potential source for personalized stem cell therapy in corneal endothelial diseases and glaucoma. *J Biomed Biotechnol* 2011;2011:412743.
16. Zhang K, Pang K, Wu X. Isolation and transplantation of corneal endothelial cell-like cells derived from in-vitro-differentiated human embryonic stem cells. *Stem Cells Dev* 2014;23:1340–54.
17. Melles GR, Wijdh RH, Nieuwendaal CP. A technique to excise the descemet membrane from a recipient cornea (descemetorhexis). *Cornea* 2004;23:286–8.
18. Pellegrini G, Traverso CE, Franzl AT, Zingirian M, Cancedda R, De Luca M. Long-term restoration of damaged corneal surfaces with autologous cultivated corneal epithelium. *Lancet* 1997;349:990–3.
19. Rama P, Matuska S, Paganoni G, Spinelli A, De Luca M, Pellegrini G. Limbal stem-cell therapy and long-term corneal regeneration. *N Engl J Med* 2010;363:147–55.
20. Nishida K, Yamato M, Hayashida Y, ym. Corneal reconstruction with tissue-engineered cell sheets composed of autologous oral mucosal epithelium. *N Engl J Med* 2004;351:1187–96.
21. Nakamura T, Inatomi T, Sotozono C, Amemiya T, Kanamura N, Kinoshita S. Transplantation of cultivated autologous oral mucosal epithelial cells in patients with severe ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol* 2004;88:1280–4.
22. Ilmarinen T, Laine J, Juuti-Uusitalo K, ym. Towards a defined, serum- and feeder-free culture of stratified human oral mucosal epithelium for ocular surface reconstruction. *Acta Ophthalmol* 2013;91:744–50.
23. Ahmad S, Stewart R, Yung S, ym. Differentiation of human embryonic stem cells into corneal epithelial-like cells by in vitro replication of the corneal epithelial stem cell niche. *Stem Cells* 2007;25:1145–55.
24. Mikhailova A, Ilmarinen T, Uusitalo H, Skottman H. Small-molecule induction promotes corneal epithelial cell differentiation from human induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports* 2014;2:219–31.
25. Kaarniranta K, Seitsonen S, Paimela T, Meri S, Immonen I. Silmänpohjan ikärappeuman patogeneesi. *Duodecim* 2009;125:145–53.
26. Seitsonen S, Onkamo P, Immonen I, Järvelä I. Silmänpohjan ikärappeuman altiusgeenien tunnistaminen – molekyylligeneetiikan menestystarina. *Duodecim* 2009;125:2360–4.
27. Wang SW, Mu X, Bowers WJ, Klein WH. Retinal ganglion cell differentiation in cultured mouse retinal explants. *Methods* 2002;28:448–56.
28. Salero E, Blenkinsop TA, Corneo B, ym. Adult human RPE can be activated into a multipotent stem cell that produces mesenchymal derivatives. *Cell Stem Cell* 2012;10:88–95.
29. Yu H, Vu TH, Cho KS, Guo C, Chen DF. Mobilizing endogenous stem cells for retinal repair. *Transl Res* 2014;163:387–98.
30. Ramsden CM, Powner MB, Carr AJ, Smart MJ, da Cruz L, Coffey PJ. Stem cells in retinal regeneration: past, present and future. *Development* 2013;140:2576–85.
31. da Cruz L, Chen FK, Ahmado A, Greenwood J, Coffey P. RPE transplantation and its role in retinal disease. *Prog Retin Eye Res* 2007;26:598–635.
32. de Jong PT. Age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006;355:1474–85.
33. Rowland TJ, Buchholz DE, Clegg DO. Pluripotent human stem cells for the treatment of retinal disease. *J Cell Physiol* 2012;227:457–66.
34. Vaajasaari H, Ilmarinen T, Juuti-Uusitalo K, ym. Toward the defined and xeno-free differentiation of functional human pluripotent stem cell-derived retinal pigment epithelial cells. *Mol Vis* 2011;17:558–75.
35. Juuti-Uusitalo K, Vaajasaari H, Ryhänen T, ym. Efflux protein expression in human stem cell-derived retinal pigment epithelial cells. *PLoS One* 2012;7:e30089.
36. Juuti-Uusitalo K, Delporte C, Grégoire F, ym. Aquaporin expression and function in human pluripotent stem cell-derived retinal pigmented epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:3510–9.
37. Carr AJ, Smart MJ, Ramsden CM, Powner MB, da Cruz L, Coffey PJ. Development of human embryonic stem cell therapies for age-related macular degeneration. *Trends Neurosci* 2013;36:385–95.
38. Schwartz SD, Hubschman JP, Heilwell G, ym. Embryonic stem cell trials for macular degeneration: a preliminary report. *Lancet* 2012;379:713–20.
39. Subrizi A, Hiidenmaa H, Ilmarinen T, ym. Generation of hESC-derived retinal pigment epithelium on biopolymer coated polyimide membranes. *Biomaterials* 2012;33:8047–54.
40. Diniz B, Thomas P, Thomas B, ym. Subretinal implantation of retinal pigment epithelial cells derived from human embryonic stem cells: improved survival when implanted as a monolayer. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013;54:5087–96.
41. Stanzel BV, Liu Z, Somboonthanakit S, ym. Human RPE stem cells grown into polarized RPE monolayers on a polyester matrix are maintained after grafting into rabbit subretinal space. *Stem Cell Reports* 2014;2:64–77.
42. Kamao H, Mandai M, Okamoto S, ym. Characterization of human induced pluripotent stem cell-derived retinal pigment epithelium cell sheets aiming for clinical application. *Stem Cell Reports* 2014;2:205–18.
43. Cramer AO, MacLaren RE. Translating induced pluripotent stem cells from bench to bedside: application to retinal diseases. *Curr Gene Ther* 2013;13:139–51.
44. MacLaren RE, Pearson RA, MacNeil A, ym. Retinal repair by transplantation of photoreceptor precursors. *Nature* 2006;444:203–7.
45. Pearson RA, Barber AC, Rizzi M, ym. Restoration of vision after transplantation of photoreceptors. *Nature* 2012;485:99–103.
46. Zhu D, Deng X, Spee C, ym. Polarized secretion of PEDF from human embryonic stem cell-derived RPE promotes retinal progenitor cell survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52:1573–85.
47. Eiraku M, Takata N, Ishibashi H, ym. Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture. *Nature* 2011;472:51–6.
48. Kador KE, Montero RB, Venugopalan P, ym. Tissue engineering the retinal ganglion cell nerve fiber layer. *Biomaterials* 2013;34:4242–50.
49. Evelevth DD. Cell-based therapies for ocular disease. *J Ocul Pharmacol Ther* 2013;29:844–54.
50. Strauss O. The retinal pigment epithelium in visual function. *Physiol Rev* 2005;85:845–81.