

Клеточная терапия сахарного диабета: НОВЫЙ прорыв — НОВЫЕ надежды

Сахарный диабет – самое распространенное эндокринное заболевание в мире: по данным Международной федерации диабета сегодня им страдает более 300 млн человек. Болезнь не обошла и семью Дугласа Мелтона, руководителя одной из исследовательских групп, занимающихся разработкой клеточной терапии диабета. Их работы вошли в список наиболее выдающихся научных достижений 2014 г. по версии журнала *Science*

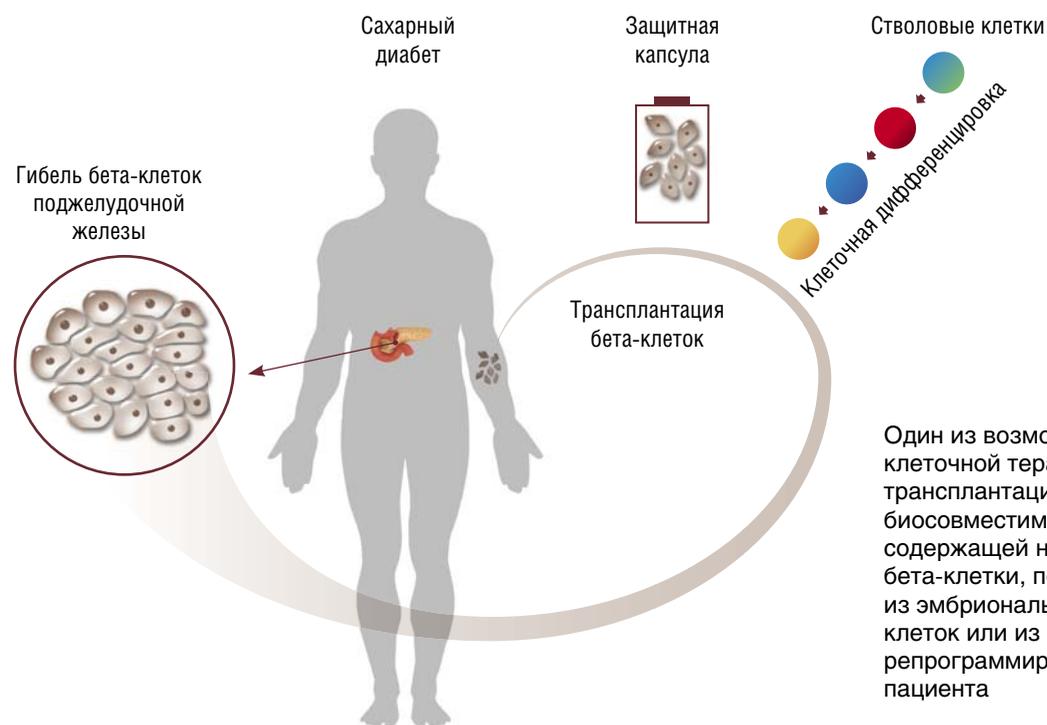
Сахарный диабет – болезнь, характеризующаяся стойким увеличением в крови концентрации глюкозы, – сегодня входит в тройку самых распространенных видов заболеваний. При диабете 2-го типа бета-клетки островков Лангерганса в поджелудочной железе

вырабатывают пептидный гормон инсулин, который регулирует уровень глюкозы в крови, но ткани организма теряют чувствительность к нему. Этот наиболее распространенный (до 80–90% случаев) тип сахарного диабета, который называют еще инсулинонезависимым, развивается преимущественно в пожилом возрасте и характеризуется относительно легким течением.

При диабете 1-го типа наблюдается аутоиммунное поражение бета-клеток поджелудочной железы, вырабатывающих гормон инсулин. Такой тип диабета приводит к полной пожизненной зависимости от инъекций инсулина – на данный момент это практически единственный способ терапии этого тяжелого заболевания. Больной должен постоянно следить за уровнем глюкозы в крови и в зависимости от «скачков» уровня

глюкозы самостоятельно корректировать дозы инсулина. При этом в любом случае у больного развиваются осложнения: дисфункция почек и сердечно-сосудистой системы, поражение глаз (диабетическая ретинопатия), некротическое поражение тканей. Результатом является существенное снижение качества жизни больных, а зачастую инвалидность и ранняя смерть.

Говоря об альтернативной возможности терапии сахарного диабета, надо упомянуть о существовании достаточно успешной практики пересадки донорских бета-клеток. Их получают из тканей эмбрионального происхождения или берут у доноров посмертно. После такой трансплантации больной на несколько лет становится независимым от инъекций инсулина. Проблемы такого вида терапии связаны с качеством и количеством донорского материала, не говоря уже о тканевой несовместимости реципиента и донора. Ведь после пересадки больные вынуждены принимать препараты, подавляющие



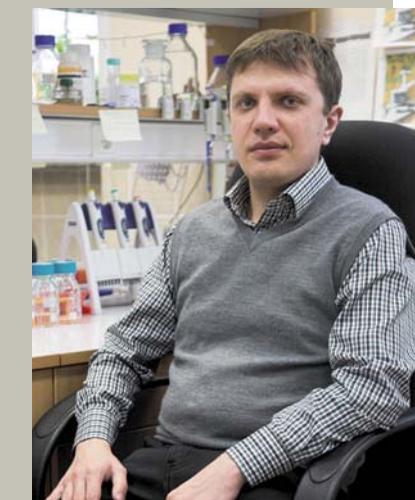
Один из возможных вариантов клеточной терапии диабета – трансплантация больному биосовместимой капсулы, содержащей незрелые бета-клетки, полученные из эмбриональных стволовых клеток или из собственных репрограммированных клеток пациента

Ключевые слова: сахарный диабет, клеточная терапия, плюрипотентные стволовые клетки, направленная дифференцировка клеток.
Key words: diabetes, cell therapy, pluripotent stem cells, directed cell differentiation

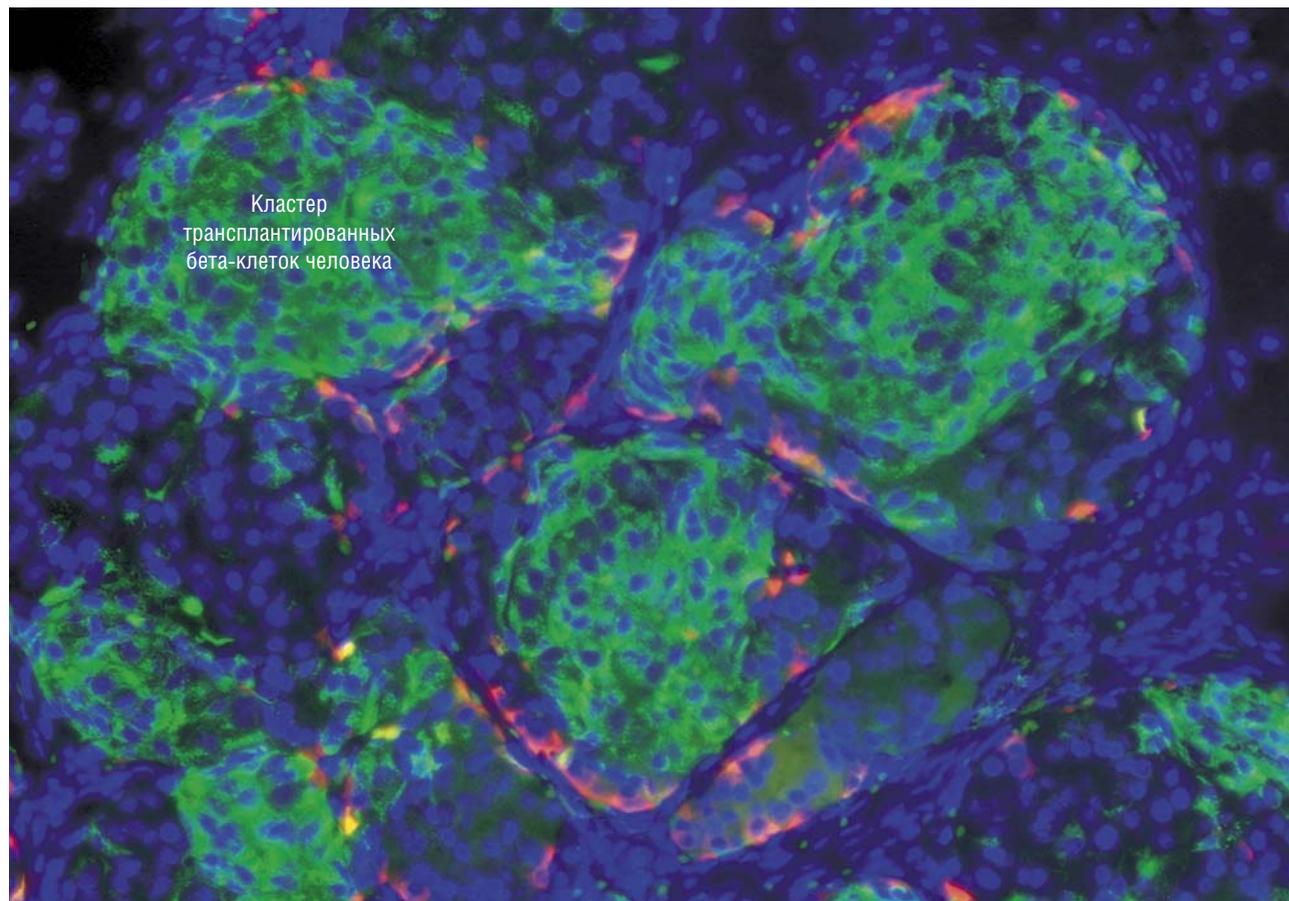
© С. М. Закиян, С. П. Медведев, 2015



ЗАКИЯН Сурен Минасович – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией эпигенетики развития Института цитологии и генетики СО РАН, заведующий лабораторией молекулярной и клеточной медицины Новосибирского научно-исследовательского института патологии кровообращения им. академика Е. Н. Мешалкина, заведующий лабораторией стволовой клетки Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН. Автор и соавтор 215 научных работ, 5 патентов и 3 монографий



МЕДВЕДЕВ Сергей Петрович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института цитологии и генетики СО РАН и Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск), ведущий научный сотрудник Новосибирского научно-исследовательского института патологии кровообращения им. академика Е. Н. Мешалкина. Автор и соавтор 14 научных работ



активность иммунной системы, к тому же через какое-то время все равно происходит отторжение трансплантата. Еще одно препятствие – проблемы этического характера, связанные с использованием тканей эмбрионов.

Выход из ситуации в принципе есть: бета-клетки поджелудочной железы можно получать *in vitro* (в лабораторных условиях) из клеточных культур. Их источником могут быть плюрипотентные стволовые клетки человека, т. е. «первичные» недифференцированные клетки, из которых происходят все клетки наших органов и тканей. Для получения бета-клеток можно использовать как стволовые клетки эмбрионов, так и индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, которые получают из обычных соматических клеток взрослого человека путем их «перепрограммирования».

Технологии получения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток известны и достаточно хорошо разработаны. Но вот получить из них зрелые бета-клетки гораздо сложнее, так как для этого необходимо буквально в чашке Петри воспроизвести сложнейшие процессы, происходящие во время эмбрионального развития человека, используя сигнальные молекулы и химические соединения, направляющие развитие клеток в нужную сторону.

В список выдающихся научных исследований прошлого года, опубликованный журналом *Science*, как раз и вошли работы двух исследовательских

Эта фотография сделана спустя две недели после имплантации в почечную капсулу (волоконный слой соединительной ткани вокруг почки) лабораторной мыши, «больной диабетом», бета-клеток, полученных «в пробирке» из эмбриональных стволовых клеток человека. Видно, что трансплантированные клетки сформировали кластеры и начали производить гормон инсулин. Инсулин и глюкагон (гормон альфа-клеток островков Лангерганса поджелудочной железы) окрашены антителами в зеленый и красный цвет, соответственно; ДНК клеточных ядер – флуоресцентным красителем DAPI в синий. Флуоресцентная микроскопия. Фото предоставлено Д. Мелтоном (США)

групп: из Гарвардского института стволовых клеток (США) и Медицинской школы Массачусетского университета в Вустере (США) под руководством Д. Мелтона и из Университета провинции Британская Колумбия (Канада) и компании *BetaLogics* (США) под руководством Т. Кифера, посвященные технологиям получения *in vitro* бета-клеток поджелудочной железы (Pagliuca *et al.*, 2014; Rezania *et al.*, 2014). Взяв в качестве исходного материала стволовые клетки человеческого эмбриона, в итоге ученые получили клетки, проявляющие все основные качества бета-клеток. То есть в них «работали» определенные гены и присутствовали специфические белки, так что эти клетки были способны продуцировать инсулин в ответ на присутствие глюкозы. Пересаженные лабораторным мышам из чистой линии, служащей экспериментальной моделью сахарного диабета, эти клетки нормально функционировали и компенсировали первоначальное отсутствие инсулина!

Огромное преимущество этого метода в том, что с его помощью можно получать функционирующие бета-клетки в довольно большом количестве. В финале процесса из одного флакона для культивирования объемом 0,5 л можно получить до 300 млн клеток – этого числа вполне достаточно, чтобы компенсировать недостающий инсулин у одного человека весом около 70 кг. Или для проведения скрининга среди 30 тыс. отдельных химических соединений – потенциальных лекарственных веществ, если использовать клетки не по «прямому назначению», а для фармакологических исследований.

Безусловно, описанные технологии нуждаются в совершенствовании. В частности, необходима разработка детальных протоколов получения бета-клеток из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток. Это позволит не только в любой период жизни пациента и практически из любых клеток его собственного организма при необходимости получить необходимое количество бета-клеток, но и разрешит проблему иммунологической несовместимости донора и реципиента.

Однако остается другая проблема: поскольку диабет 1-го типа – это аутоиммунное заболевание, то новые бета-клетки будут опять атакованы иммунной системой, как когда-то свои «родные» клетки пациента. Поэтому пересаженные клетки надо научиться защищать! Только в этом случае подобное лечение может стать доступным и широко применимым, ведь использование иммунодепрессантов оправдано только в самых тяжелых случаях.

Сейчас разрабатываются разные варианты подобной защиты. Например, можно покрыть клетки специальным гидрогелем, однако в этом случае их будет гораздо труднее удалить из организма при необходимости. К тому же пока не существует способа воспрепятствовать их инкапсуляции (заклучению в соединительнотканную оболочку) подобно другим чужеродным телам в организме, что перекроет пересаженным клеткам приток питательных веществ. Сейчас идет поиск химических веществ, пригодных для изготовления гидрогеля, который не будет вызывать такого эффекта.

Другое решение предложили конкуренты команды Мелтона – американская компания *ViaCyte*. Суть его в том, чтобы поместить пул незрелых бета-клеток внутрь тела в биологически совместимой оболочке: предполагается, что предшественники бета-клеток будут там постепенно созревать и успешно функционировать. Такое устройство уже создано; более того, в компании уже запустили первый этап клинических испытаний. Но хотя результаты аналогичных исследований на животных выглядят многообещающе, есть опасения относительно эффективности этого способа.

В любом случае, уже сейчас имеющиеся технологии внушают надежду, что проблема лечения сахарного диабета будет в скором времени решена. Использование бета-клеток, произведенных из стволовых клеток пациентов, даже при условии постоянного приема иммунодепрессантов может стать огромным облегчением для больных тяжелыми формами диабета, которые постоянно сталкиваются с опасными для жизни изменениями уровня сахара в крови.

Литература

Pagliuca F. W., Melton D. A. *How to make a functional β -cell.* // *Development*. 2013. V. 140. N. 12. P. 2472–83. DOI: 10.1242/dev.093187.

Pagliuca F. W., Millman J. R., Gürtler M., et al. *Generation of functional human pancreatic β cells in vitro.* // *Cell*. 2014. V. 159. N. 2. P. 428–39. DOI: 10.1016/j.cell.2014.09.040.

Rezania A., Bruin J. E., Arora P., et al. *Reversal of diabetes with insulin-producing cells derived in vitro from human pluripotent stem cells.* // *Nat. Biotechnol.* 2014. V. 32. N. 11. P. 1121–33. DOI: 10.1038/nbt.3033.

Ledford H. *Stem-cell success poses immunity challenge for diabetes.* // *Nature*. 2014. V. 514. N. 7522. P. 281. DOI: 10.1038/514281a.