

LANGERHANS-SZIGET-TRANSZPLANTÁCIÓ, MESTERSÉGES β -SEJT-TRANSZPLANTÁCIÓ 1-ES TÍPUSÚ DIABÉTESZBEN

Gerő László

az MTA doktora

Semmelweis Egyetem Általános Orvosi Kar I. sz. Belklinika, Budapest

gero@beli.sote.hu

Az 1-es típusú diabétesz kialakulásának oka a pankréasz β -sejtjeinek autoimmun eredetű pusztulása. Mivel így az endogén inzulintermelés megszűnik, e betegek a diagnózis pillanatától kezdve inzulinkezelést igényelnek. Általában ún. intenzív inzulinkezelést alkalmazunk: ennek egyik típusában a betegek a három főétkezés előtt gyorshatású, éjszakára pedig elhúzódó hatású készítményt használnak (egy másik terápiás változatban a betegek reggel és este is kapnak elhúzódó hatású inzulin). Az intenzív inzulinkezelés másik formáját az ún. *pumpakezelés* jelenti.

Az inzulinkezelés korlátai

Nem kétséges, hogy a fiziológiás endogén inzulinelválasztás leginkább az intenzív terápiás rezsimmel közelíthető meg. Ennek ellenére az átlagos vércukorszint (amint az a vércukorszint megelőző hat-nyolchetes átlagértékére jellemző Haemoglobin A_{1c} értékekből is megítélhető) e kezelés mellett is szignifikánsan magasabb, mint az egészséges személyeken. Ugyanakkor e betegek a vércukorszint napszaki ingadozásai, az átlagos szinttől való eltérések is lényegesen nagyobbak, mint az egészséges személyekben. Emiatt a betegek jelentős hányadán alakul ki hipo-

glikémiás rosszullét (kórosan alacsony vércukorszint), ami az esetek egy részében súlyos tünetekkel, akár eszméletvesztéssel is járhat, és elhárításához külső segítségre lehet szükség. Mindez a mikro- és makrovaszkuláris szövődmények kialakulásához és korai vaszkuláris (érrendszeri) halálhoz vezet.

Élettani körülmények között az endogén inzulinelválasztás szinte másodpercnyi pontossággal követi a vércukorszint emelkedését vagy süllyedését. Ez a finom és precíz szabályozás egyetlen exogén inzulinterápiás formával sem közelíthető meg, jelenleg ez csupán sikeres pankréasz- vagy Langerhans-sziget-transzplantációval érhető el.

A pankréásztranszplantáció korai eredményei

Az első pankréászátültetést William D. Kelly és Richard Lillehei végezték 1966-ban. A beültetést követően a beteg vércukorszintje ugyan jelentősen csökkent, de hamarosan szövődmények (tályog, láz) alakultak ki, majd a beteg harminc nap múlva szepszikus tünetek között elhunyt (Kelly et al., 1966). A következő tíz évben még közel száz pankréászátültetést végeztek, de az eredmények alig javultak, s mindössze egy esetben lehetett egy évet meghaladó grafftúlélést (inzulinmentességet) el-

érni. A sikertelenség hátterében elsősorban sebészi-technikai szövődmények álltak: varratelégtelenség, infekció, sipolyképződés, tályog.

Langerhans-sziget-transzplantáció – korai eredmények

Ebben az időben joggal merült fel a kérdés, hogy vajon szükség van-e a teljes pankreász átültetésére, mivel a pankreásztranszplantáció nagy, a betegre nézve kifejezetten megterhelő invazív beavatkozást jelent, ami számos műtéti szövődménnyel jár. Ugyanakkor a pankreásznak mindössze 3%-át képezi az endokrin sejttömeg. Amikor tehát az inzulintermelő sejtek bevitele céljából a teljes pankreászt ültetjük át, akkor 97%-ban felesleges biológiai szövetet transzplantálunk – annak minden műtétechnikai és immunológiai következményével (1. táblázat). Logikusnak látszott tehát az az elképzelés, hogy elég lenne a Langerhans-szigeteket bejuttatni a recipiens (befogadó) szervezetbe.

A Langerhans-szigetek a pankreáson belül az exokrin sejtektől elkülönülten, kötőszöveti nyálábokkal körülhatárolva helyezkednek el, izolálásukra már az 1960-as évek végén kidolgoztak megfelelő módszereket. Az első sikeres experimentális Langerhans-sziget-

transzplantációt 1972-ben végezték (Ballinger – Lacy, 1972), s ezt számos további sikeres experimentális átültetés követte. A korai eredmények biztatóak voltak: nemcsak a diabéteszes állatok vércukorszintjét sikerült normalizálni, hanem bizonyos szövődmények, például a vesében a mezangiális (erek körüli kötőszövet) szövet felszaporodásának progresszióját is sikerült megállítani (Federlin et al., 1976).

Ezt követően indultak el a humán beültetések. Bár az első klinikai transzplantációk sikeresnek látszottak, a betegek vércukorszintje csökkent, a C-peptid-szint (az endogén inzulintermelésre jellemző paraméter) nőtt, az inzulinkezelés átmenetileg felfüggeszthető volt (vagy legalábbis a napi inzulinigény csökkent), a késői eredmények már csalódást okoztak: a beültetett graftok csak átmenetileg és meglehetősen rövid ideig működtek (Scharp et al., 1990). Az *International Islet Transplant Registry* 1995-ben közzéadott adatai szerint az egy évet meghaladó inzulinmentesség alig érte el a 10%-ot.

A beavatkozásnak ugyan műtétechnikai szövődménye alig volt (a „transzplantáció” ma nem is sebész, hanem az intervenció radiológus végzi, aki képernyő alatt a máj legfontosabb visszérébe, a „portális” vénába

pankreász-transzplantáció	Langerhans-sziget-transzplantáció
nagy műtét számos szövődménnyel	kis beavatkozás minimális szövődményekkel
súlyos betegen nem végezhető	súlyos betegen is elvégezhető
donorhiány	jelentős szigetbank? sejttenyészet?
graft-előkezelés nem végezhető	graft-előkezelés (az antigenitás csökkentésére) elvben végezhető
immunbarrier nem alkalmazható	immunbarrier (enkapszuláció) alkalmazható

1. táblázat • A teljes pankreász sebészi beültetése és a Langerhans-sziget-transzplantáció előnyeinek és hátrányainak összevetése

helyezett katéteren át infúzióban juttatja be az izolált szigeteket a májba), de a grafftűködés az esetek többségében a beültetés után rövid idővel megszűnt. A funkció megszűnése a legtöbb esetben már a transzplantációt követő első hónapokban bekövetkezett.

A klinikai szigetátültetés sikertelenségének okai

A grafftűködés gyors megszűnésének okait keresve a kutatók két lehetséges okot is azonosítottak, amelyekre a korábbi kísérleti eredmények alapján nem számítottak:

1.) a humán szigetbeültetések során alkalmazott szigetek mennyisége túl kevés volt a szénhidrát-anyagcsere rendezéséhez. Mint ismert, egy pankréászból még a legjobb izoláló laboratóriumok is legfeljebb 400 000 szigetet képesek kinyerni, pedig ennek mintegy háromszorosára lenne szükség. Egyszerre azonban nem áll rendelkezésre három pankréász (ismételt sziget-transzplantáció ugyan elvileg lehetséges, de ennek hátrányos késői következményeire az edmontoni protokoll alkalmazásával kapcsolatban visszatérünk).

2.) Amikor az 1-es típusú cukorbetegbe beültetjük a Langerhans-szigeteket, és ezzel visszavisszük a betegséget kiváltó antigén(ek)et, akkor hiperakut autoimmun reakció alakul ki, amely a szokásos immunszuppresszív kezeléssel alig védhető ki. A reakció a beültetett szigetek korai kilökődéséhez vezet. Így érthető, hogy a klinikai transzplantációk során a szigetgraft funkciójának megszűnése az esetek jelentős hányadában már a beültetést követő első hónapokban bekövetkezett (Prowse et al., 1986, Gottlieb et al., 1990).

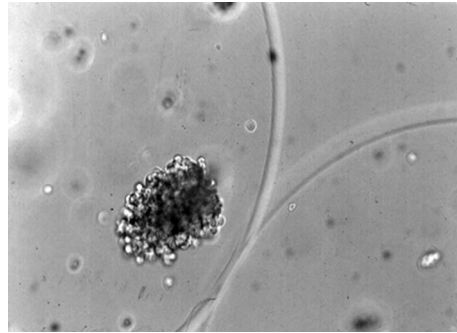
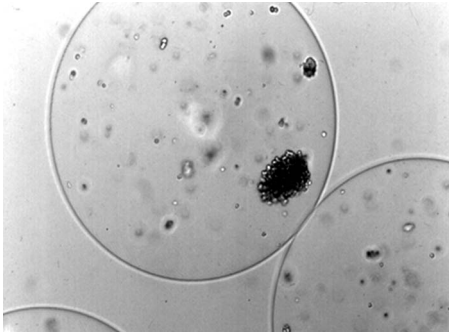
A Langerhans-szigetek immunizációja és transzplantációja

A fent leírt nehézségek egy részének áthidalására a 90-es években egyre szélesebb körben

kezdték alkalmazni a szigetek immunizációját. E módszer lényege az, hogy az izolált Langerhans-szigeteket olyan immunbarrierbe (kapszulába) zárják, amelyek pórusnagysága megengedi a glukóz, az inzulin és bizonyos tápanyagok szabad átjutását az izoláló mikro- vagy makrokapszula membránján, de már a legkisebb méretű immunglobulin sem juthat át a membránon, és természetesen nem juthatnak át sejtes elemek (limfociták, makrofágok) sem. Az esetek többségében a kapszulák membránjának ún. *cut-off* értéke 50 000 dalton volt, ami kb. az albumin molekulájának felel meg. A legkisebb immunglobulin mérete kb. 150 ezer dalton, azaz a membrán pórusnagysága kizárta az immunglobulinok penetrációját.

A Langerhans-szigetek enkapszulációjára különböző módszereket dolgoztak ki, a részleteket illetően összefoglaló közleményekre utalunk (Lim – Sun, 1980, O’Shea – Sun, 1986). Egy munkacsoport sikerrel ültetett be alginátba enkapszulált humán Langerhans-szigeteket egy 1-es típusú diabéteszes férfibe, aki korábban már vesetranszplantációban, s ezt követően tartósan immunszuppresszív kezelésben részesült. A beteg az első alkalommal 10⁴/ts kg, majd kb. fél év múlva még 10²/ts kg szigetet kapott intraperitoneálisan (összesen kb. 1,2 millió szigetet). A beültetés után hosszú hónapokon át inzulinmentesség alakult ki, a korábban már minden kezeléssel dacoló diabéteszes neuropátia rohamosan javult, s négyéves szünet után a beteg ismét munkába állt. Kb. kilenc hónap után azonban a grafftűködés fokozatosan megszűnt, és vissza kellett térni az inzulinkezelésre (Soon-Shiong et al., 1994).

Más esetekben ennél rövidebb inzulinmentességet, az esetek többségében pedig csak a napi inzulinigény átmeneti csökkené-



1. ábra • Sertés Langerhans-szigetek alginát kapszulában (gyengébb és erősebb nagyításban)

sét sikerült elérni. Az ex-kapszulált szigetek szövettani feldolgozása során a kapszulák körül kiterjedt fibrózist (kötőszövet-felszaporodást), a szigeteken belül pedig jellegzetes centrális nekrozist találtak. A fibrózis arra utal, hogy az alkalmazott kapszulák membránja, minden próbálkozás és módosítás ellenére még mindig nem bizonyult eléggé biokompatibilisnak.

A centrális nekrozis kissé nehezebben volt értelmezhető, hiszen ha a szigeteket valamilyen immunológiai folyamat tette volna tönkre, akkor a szöveti károsodás először a szigetek külső felszínén alakult volna ki. Diabéteszessé tett egerekbe és patkányokba munkacsoportunk szintén sikerrel ültetett be enkapszulált (Ba-alginát membránba zárt) patkány-, sertés- és halszigeteket (illetve hal esetén szigetszervet, az ún. Brockmann-tesztskét) (1. ábra), és vizsgáltuk az enkapszulált szigetek tenyésztetőségét, inzulintermelését, valamint a szigeten belüli oxigéneloszlást. Azt találtuk, hogy az oxigén diffúziós távolsága túlságosan rövid, és így a szigetek centrális része (a felszíntől befelé már kb. 100 mikron mélységben) kifejezetten hipoxiás – ami magyarázat lehet a centrális nekrozis kialakulására (Schrezenmeir et al., 1992, Schrezenmeir et al., 1994). Vizsgálatainkból az is következik,

hogy az enkapszuláció elsősorban sejtes elemek immunizációjára és transzplantációjára használható, de teljes szigetekre (amelyek átmérője mintegy 150–200 mikron) már nem.

Az immunszuppresszív kezelést viszont még az enkapszuláció alkalmazása mellett sem lehetett teljesen elhagyni – egy munkacsoport a transzplantált enkapszulált szigetek elleni autoimmunitás fellángolását is leírta. A módszer tehát egyelőre nem váltotta be a hozzáfűzött reményeket, ennek ellenére a membránok további finomításán, a biokompatibilitás növelésén továbbra is számos munkacsoport dolgozik.

Az edmontoni protokoll

A szigetbeültetés új lendületet kapott 2000-ben, az ún. edmontoni protokoll bevezetésével. A kanadai munkacsoport több ponton is módosította az addig szokásos sziget-transzplantációs eljárást: megváltoztatták a tápoldat összetételét (elhagyták a „xenoproteinnek” számító főtális borjúszérumot), a kötőszövet emésztéséhez használt kollagenáz enzimcsoportot liberáz enzimkeverékre módosították, szteroidmentes immunszuppresszív kezelést vezettek be, és a hagyományos indukciós immunszuppresszív terápia (limfocitaellenes szérum az első öt napon) helyett monoklonális

antitestet (daclizumab) adtak a recipienseknek közvetlenül a beültetés előtt, majd a daclizumab injekció beadását a transzplantációt követően kéthetente megismételték.

A leírt módszert alkalmazva a szerzők hét felnőtt, 1-es típusú cukorbeteg „sikeres” sziget-transzplantációjáról számoltak be (Shapiro et al., 2000). A transzplantált betegek a beültetést követően négy-tizenöt hónappal inzulinkezelés nélkül is anyagcsere-egyensúlyban voltak. C-peptid szintjük (mind az éhomi, mind a posztprandiális érték) a normális tartományba került (2. táblázat). Ugyancsak normális tartományba került a HbA_{1c}-szint is, és jelentősen csökkent a vércukorszint napi ingadozása. Az inzulinmentesség stádiumában elvégzett orális glukóztolerancia teszt eredménye szerint a hét beteg közül már egy sem bizonyult diabéteszesnek.

A korábbiakhoz képest meglepően jó eredmények világszerte lelkesedést váltottak ki. Az eredmények ugrásszerű javulását általában az új protokollnak (elsősorban a szteroidmentes immunszuppresszióknak és a monoklonális antitest alkalmazásának) tulajdonították, és szinte „elsikkadt” az a tény, hogy a munkacsoport a hosszú távú jó eredmények érdekében minden esetben retranszplantációt alkalmazott. A leírás szerint, amikor egy transzplantált betegen az inzulinmentesség

már nyilvánvalóan megszűnt, és a vércukorszintek emelkedni kezdtek, akkor infúzióval újra bejuttattak a májba néhány százezer szigetet. Az első három-négy hónapban a hét beteg összesen tizenöt szigetsejt-infúzióban részesült (tizenhat donortól) (2. ábra). Az egy beteg egyetlen transzplantációjára jutó szigetszám átlagosan 370 ezer sziget, az egy betegbe a teljes megfigyelési periódusban bejuttatott szigetszám pedig átlagosan $11\,547 \pm 1604$ /ts kg volt.

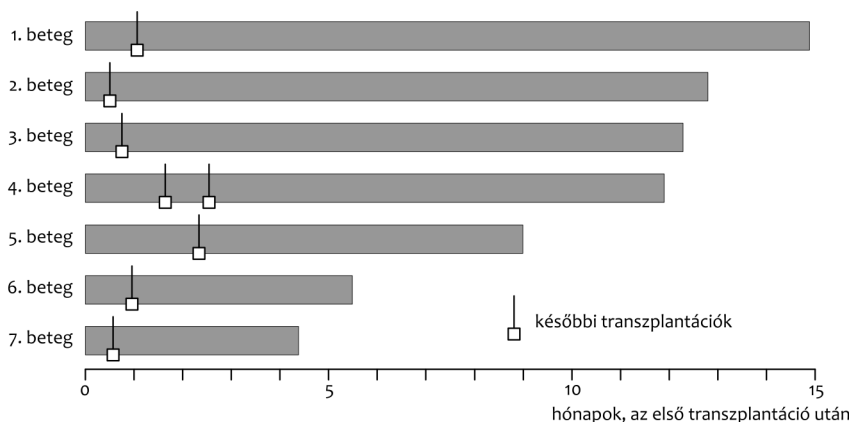
Ezt követően összehangolt nemzetközi szervezésben (Észak-Amerika mellett európai és ausztráliai centrumok bevonásával) további harminchat, 1-es típusú cukorbetegbe ültettek be Langerhans-szigeteket, úgy, hogy minden esetben az edmontoni protokollt alkalmazták. Egy év után e betegek 44%-a volt inzulinmentes, 28%-uknál legfeljebb reziduális graft működés, másik 28%-uknál a graftfunkció teljesen megszűnése volt megállapítható (Shapiro et al., 2006).

A Collaborative Islet Transplant Registry (CITR) 2010-es beszámolója szerint 1999–2009 között összesen 571 betegen történt szigetátültetés. Átmeneti (legalább tizennégy napos) inzulinmentességet a betegek 60%-án sikerült elérni, de a transzplantáció után öt évvel már a betegeknek több mint 90%-a igényelt (újra) inzulinkezelést (CITR, 2010).

éh C-peptid (3 hó)	éh C-peptid (6 hó)	PP C-peptid (3 hó)	PP C-peptid (6 hó)
2,4±0,3 ng/ml	2,5±0,2 ng/ml	5,7±0,9 ng/ml	5,7±0,6 ng/ml
vércukorszint- ingadozás a transzplantáció			
előtt	az első Tx után	a második Tx után	
11,1±1,8 mM/L	6,7±2,1 mM/L	2,8±1,7 mM/L	

2. táblázat • Az első edmontoni eredmények: a C-peptid-szintek változása a sziget-transzplantáció (Tx) (és az inzulinmentesség elérése) után, illetve 3 és 6 hónappal később.

A vércukorszint fluktuációjának változása (mM/L) az első és második Tx után.



2. ábra • Retranszplantáció az edmontoni protokoll alkalmazása során.
A hét beteg összesen tizenöt sziget-transzplantációban részesült (tizenhat donortól)

Fény derült az ismételt sziget-transzplantáció késői mellékhatásaira is. A különböző donoroktól származó szigetinfúziókkal olyan mértékben „immunizálták” a szervezetet, hogy később egyéb szerv (pl. vese) beültetéséhez gyakorlatilag lehetetlen volt kompatibilis donort találni. Emiatt a retranszplantációt az edmontoni munkacsoport is elhagyta.

Figyelembe kell azt is venni, hogy a donor pankreászok száma igen kicsi, még a sebészi (teljes pankreász) beültetéshez is kevés, pedig ott egy betegnek egy donorra van szüksége. Így a sikeres sziget-transzplantációhoz betegenként szükséges mintegy három pankreász kifejezetten „luxusnak” számít.

Összefoglalva a klinikai szigetsejt-transzplantáció mintegy két évtizedes tapasztalatait azt mondhatjuk, hogy az eredmények – bár a kezdetekhez képest javuló tendenciát mutatnak – még a 2010-es években is messze elmaradtak a várakozástól. Az ötéves inzulinmentesség 10% alatt volt. Ugyanakkor az időközben már diadalútját járó sebészi pankreászbeültetés – elsősorban a szimultán végzett pankreász- plusz vesetranszplantáció

mellett – az ötéves grafftúlélés már ebben az időben 90% felett volt (Gruessner, 2011). A sziget-transzplantáció során a fő gondot továbbra is a donorhiány, valamint az autoimmun reakció fellángolása jelentette.

Új lehetőségek a sejtranszplantációban: mesterséges β -sejt előállítás

Az utóbbi másfél évtizedben a humán genetika, az őssejt kutatás és a genetikai hátterű betegségek gyógyítása nagy lépésekkel haladt előre. Az új kutatási eredmények ismeretében felmerült az a lehetőség, hogy talán szomatikus (testi) sejtekből vagy pluripotens őssejtből elő lehetne állítani olyan mesterséges β -sejtet, amelynek ultrastruktúrája hasonló (esetleg azonos) a humán β -sejtével, glukózdependens módon termel és választ el inzulint, transzplantálható, de nem vált ki autoimmun reakciót. Ha az ilyen sejteket sikerülne sejtenyészetben szaporítani, akkor esetleg megoldódna a donorhiány problémája is.

Mesterséges β -sejtet, illetve mesterséges Langerhans-szigeteket elvben kétféle módon lehet előállítani:

1.) a pankréász (mind az exokrin, mind az endokrin állomány) endodermális eredetű. Ma már bizonyított, hogy létezik transzdiffrenciáció, amikor egy, már látszólag „véglegesen” differenciálódott sejtből egy másfajta differenciálódott sejt alakul ki, anélkül, hogy a fejlődési soron újra végig kellene mennie (Uher, 2013). Ez elsősorban az azonos csíralemezből származó szövetek között lehetséges. Így elvben lehetőség van arra, hogy az azonos csíralemezből (jelen esetben az endodermából) származó szövetek sejtjeit (például májsejteket vagy az exokrin pankréász dukális sejtjeit) át alakítsuk a Langerhans-sziget endokrin sejtjeivé. Ezen az úton akár sziget-újdonszövetképződés is előidézhető, és olyan β -sejt-szerű sejtek is kialakíthatók, amelyekben megvan az inzulin termelésének és glukózdependens szekréciójának képessége, kifejeződnek („expresszálódnak”) bennük a β -sejtre jellemző transzkripciós faktorok, ultrastruktúrájuk megegyezik a valódi β -sejtével stb., de antigén tulajdonságaik nem azonosak a β -sejtekével, így transzplantációjuk remélhetően nem vált ki autoimmun reakciót.

2.) a másik lehetőség az őssejtek fejlődésének olyan irányítása, hogy a pluripotens sejtekből – megfelelő transzkripciós és növekedési faktorok hozzáadásával – β -sejt fejlődjön ki, a fent részletezett tulajdonságokkal (a Langerhans-szigetek kifejlődésében irányító szerepet játszó legfontosabb transzkripciós faktorokat a 3. táblázatban foglaltuk össze).

A sejtek átalakítása elvben *in vivo* és *ex vivo* egyaránt végrehajtható.

Májsejtek átalakítása β -sejtté

Mint említettük, a májsejtek – a pankréászhoz hasonlóan – endodermális eredetűek. Képesek a glukózanyagcserében fontos szerepet játszó vegyületek, így a glukóz-transzporter-2

és a glukokináz expressziójára, rendelkeznek bizonyos glukózreszponzív elemekkel. Ugyanakkor nem képesek a proinzulin átalakítására, és nem rendelkeznek szekretoros granulámmal, így nem képesek az inzulint tárolni.

Bernard E. Tuch-nak és munkatársainak már több mint tíz évvel ezelőtt sikerült májsejtekből álló tumor sejtvonalat (HUH7) genetikailag úgy módosítani, hogy a sejtek képesek voltak a proinzulint (az inzulin előanyagát) szintetizálni és hasítani, majd az inzulint a sejtekben kialakult szekretoros granulámmal tárolni. Glukóz, Ca^{++} vagy teofillin hatására prompt inzulin kiáramlás következett be. A sejt vonal transzplantálhatóvá bizonyult, és diabéteszes egerekbe ültetve azok vércukorszintjét normalizálta. A fontosabb transzkripciós faktorok közül a sejtek NeuroD-1-et tartalmaztak, de PDX-1-et nem, ez azonban a funkciót nem befolyásolta (Tuch et al., 2003).

Legutóbb *Dario Gerace és munkatársai* foglalták össze mindazokat a növekedési és fontosabb transzkripciós faktorokat, amelyek a májsejtből „ β -sejt” képződéséhez szükségesek (Gerace et al., 2015). Egyúttal áttekintették a vektorális átvitel lehetőségeit, a megfelelő virális vektorokat. Mindezek (vagy legalábbis a fontosabb transzkripciós és növekedési faktorok) bevitelével akár *in vivo* körülmények között is kiváltható mesterséges β -sejt- vagy Langerhans-sziget-képződés.

*Langerhans-sziget-neogenezis májszövetben *in vivo**

Rongying Li és munkatársai a közelmúltban az emberi T1DM egyik modellállat-típusában, NOD (non-obese diabetic) -egerekben Ngn3 (neurogenin3) transzporternek virális vektor segítségével történő bevitelével a májon belül Langerhans-sziget-neogenezist idéztek elő.

Minden egyes állatba 10^{11} víruspartikulát juttattak be intravénásan, s az állatok egyes csoportjaiba vagy Ngn3+Btc (betacellulin: a béta sejtek növekedését és szaporodását elősegítő polipeptid), vagy e két faktor+PD-L1 (az effektor limfociták apoptózisát [elpusztítását] növelő, és így celluláris immuntoleranciát elősegítő faktor) bevitelét végezték intravénásan. Egy harmadik állatcsoport csak immuntolerancia-faktort kapott.

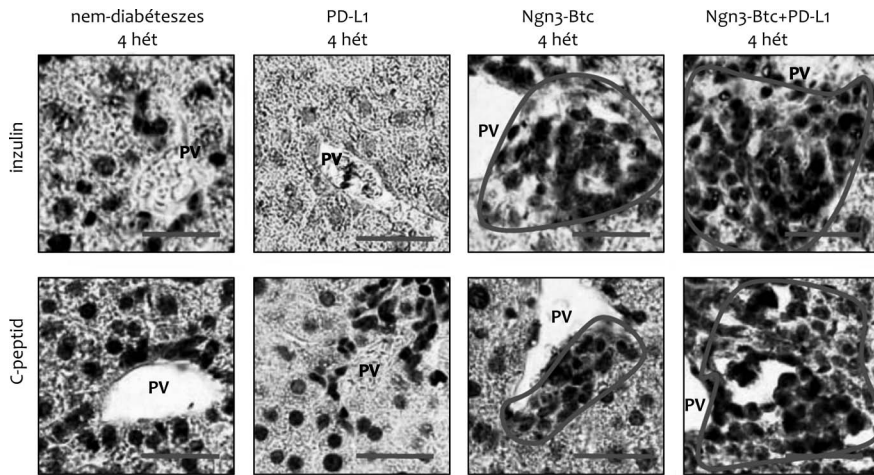
A bevittelt követően periportálisan (a májvéna porta körüli régiójában) sziget-neogenezis indult el (amint azt később a leölt állatok májában a szövettani vizsgálat is igazolta). Az állatok vércukorszintje gyakorlatilag normalizálódott (a kiindulási $11,0$ mmol/l körüli értékről $5,0$ – $6,0$ mmol/l közötti szintre csökkent) és a tizenöt hetes megfigyelés során végig a normális szinten maradt. Glukózterhelésre az állatokban normális inzulinválasz és szabályos vércukorgörbe alakult ki. Meg

kell azonban jegyezni, hogy mindez csak abban az állatcsoportban volt így, amelyik a két növekedési faktor (Ngn3+Btc) mellett még a limfocitaellenes toleranciafaktort (PD-L1) is kapta, a másik két állatcsoportban sem a vércukor-, sem az inzulinszintek nem normalizálódtak. Az utólagos szövettani feldolgozás és hisztokémiai festés szerint a legtöbb inzulin- és C-peptid-pozitív sejt is abban a csoportban volt kimutatható, amelyik mindhárom faktort kapta (3. ábra).

A leírtakon kívül a toleranciafaktort is kapó csoportban a CD4+ limfociták számának csökkenését, valamint kisebb mértékű interferon- és TNF-alfa-termelést, egyúttal az interleukin vegyületcsoport csökkent keletkezését lehetett igazolni. Fontos megjegyezni, hogy mindez csak a májból származó limfoid sejtekre nézve volt igaz, a lépéből kinyertekre nem. Ezek az eredmények amellet szólnak, hogy az immuntoleranciát kiváltó

a faktor rövid neve	a faktor csoportja	a faktor szerepe
FoxA-1 és A-2	forkhead box	endodermális lemez kifejlődése
HB9 faktorok		pankreász „bud” kialakulása
*PDX-1 és	homeobox faktorok	ventrális és dorzális „bud” fúziója
PBX-1 és PBX-2	homeobox faktorok	a korai pankreász sejtjeinek differenciálódása
Neurog3 és Hes1	<i>helix-loop-helix</i> faktorok	endokrin és exokrin pankreász differenciálódása, az α -, β -, δ - és PP-sejtek elkülönülése
NeuroD-1	transzkripció faktor	endokrin sejtek megőrzése, stabilizálása
Nkx2.2		β -sejtek végleges kialakulása
**MafA	leucin zipper	β -sejtek működésének megtartása
Pax6 és Pax4	páros homeobox faktorok	α - és β -sejtek differenciálódása

3. táblázat • A pankreász, illetve a β -sejtek kialakulásához szükséges transzkripció faktorok és szerepük a β -sejtek kifejlődésében • *aktiválásában a HNF-3 β , HNF-1 α és az SP1/3 faktorok is részt vesznek; **a PDX-1 és a NeuroD1 faktorokkal együtt (Gerace et al., 2015 alapján)



3. ábra • Az újonnan képződött szigetek hisztokémiai vizsgálata: a legtöbb inzulin- és C-peptid-pozitív sejt abban a csoportban volt, amelyik mind a három faktort kapta (Ngn3+Btc+PD-L1)

hatás erősíti és elnyújtja a mesterségesen kialakított új „Langerhans-szigetek” funkcióját, másrészt az újonképződő szigetek funkcióját segítő immunszuppresszív hatás csak lokális, és nem általános (Li et al., 2015).

Mesterséges β-sejt kialakítása pluripotens ősejtéből

Felicia W. Pagliuca és munkatársai humán embrionális pluripotens őssejtekből többlépcsős tenyésztés során (amelynek egyes fázisaiban különböző növekedési faktorokat és transzkripciós faktorokat adtak a sejtenyésztéshez) végül „stem cell eredetű β-sejteket (SC-β)” nyertek. Ezek a sejtek ismételt glukózzstimulusra (amikor a tápfolyadék glukózkonzentrációját ismételten 2,0 mM és 20,0 mM között változtatták) prompt inzulinválasztással reagáltak, és ez a reakciókészség megmaradt akkor is, amikor e sejteket NOD-egérbe transzplantálták. Elektronmikroszkópos vizsgálat szerint a SC-β-sejtek szabályos inzulin-

granulumokat tartalmaztak, és tartalmazták a főbb transzkripciós faktorokat is.

A szerzők értékelése szerint módszerükkel hasonló sejtek százmillió nagyságrendben állíthatók elő laboratóriumi körülmények között. A kezdeti eredmények biztatóak, de egyelőre experimentális szintűek. Klinikai eredmények még nem állnak rendelkezésre.

Az eredmények összefoglalása

1-es típusú diabéteszben a normoglikémia elérése csak „visszacsatolós” inzulinbevitellel, *closed-loop* rendszerű inzulinpumpával vagy sikeres pankréász-, illetve Langerhans-sziget-beültetéssel lehetséges. Bár a teljes pankréász sebészi beültetésével kapcsolatban már igen jók az eredmények, ez a beavatkozás ma is nagy műtétnek számít, a betegre igen nagy megterhelést jelent, és előrehaladott nagyérszövődmények, például makrovaszkuláris szövődmények (így obliteratív, érlumen elzáródást okozó perifériás artériás ateroszkle-

rózis) esetén végzése kontraindikált. A sokkal kisebb megterhelést jelentő és lényegesen kevesebb szövődémmel járó Langerhans-sziget-transzplantáció széleskörű alkalmazásának korlátot szab egyrészt a donorhiány, másrészt a viszonylag rövid grafttúlélés. E nehézségek részben áthidalhatók lennének olyan „mesterséges” β -sejtek alkalmazásával, amelyek nagy (korlátlan?) mennyiségben állíthatók elő, strukturális és funkcionális tulajdonságaik azonosak a természetes β -sejtekével, és e tulajdonságaikat transzplantáció után is megtartják.

A fent leírt eredmények példázzák, hogy experimentális körülmények között lehetsé-

ges mesterséges β -sejtek előállítására vagy sziget-neogenezis előidézésére. Mind a mesterséges β -sejtek, mind az újonnan képzett szigetek képesek a glukózdependens inzulinszekrécióna, ultrastruktúrájuk egyezik a természetes β -sejtekével, s transzplantáció után normalizálják a diabéteszes állatok anyagcseréjét. Kérdés természetesen, hogy a fenti eljárások alkalmazhatók-e humán beteganyagban, klinikai körülmények között is. Erre nézve egyelőre nem állnak rendelkezésünkre adatok.

Kulcsszavak: 1-es típusú diabétesz, Langerhans-sziget, mesterséges β -sejtek, pluripotenciális őssejt, transzplantáció

IRODALOM

- Ballinger, Walter F. – Lacy, Paul E. (1972): Transplantation of Intact Pancreatic Islets in Rats. *Surgery*. 7–2, 175–186.
- CITR (2010): *Collaborative Islet Transplant Registry* (CITR) • <https://web.emmes.com/study/isl>
- Federlin, Konrad – Bretzel, R. G. – Schmidtchen, U. (1976): Islet Transplantation in Experimental Diabetes in the Rat. V.: Regression of Glomerular Lesions in Diabetic Rats After Intraportal Transplantation of Isogenic Islets. *Hormone And Metabolic Research*. 8, 404–406.
- Gerace, Dario – Martiniello-Wilks, R. – O'Brien, B. A. et al. (2015): The Use of β -Cell Transcription Factors in Engineering Artificial β Cells from Non-pancreatic Tissue. *Gene Therapy*. 22, 1–8. DOI: 10.1038/gt.2014.93 • <http://www.nature.com/gt/journal/v22/n1/full/gt201493a.html>
- Gottlieb, Peter A. – Berrios, J. P. – Mariani, G. et al. (1990): Autoimmune Destruction of Islets Transplanted into RT6-Depleted Diabetes-resistant BB/wor Rats. *Diabetes*. 39, 643–645. DOI:10.2337/diab.39.5.643 • <http://diabetes.diabetesjournals.org/content/39/5/643.long>
- Gruessner, Angelika C. (2011): 2011 Update on Pancreas Transplantation: Comprehensive Trend Analysis of 25 000 Cases Followed up Over the Course of Twenty-four Years at the International Pancreas Transplant Registry (IPTR). *Rev Diabet Stud*. 8, 6–16. DOI: 10.1900/RDS.2011.8.6 • http://www.soc-bdr.org/content/tds/archive/8/1_spring/reviews/2011_iptr_update/?showfulltext=1
- Kelly, William D. – Lillehei, R. C. , – Merkel, F. K. et al. (1966): Allotransplantation of the Pancreas and Duodenum along with the Kidney in Diabetic Nephropathy. *Surgery*. 1, 827–837.
- Li, Rongying – Lee, J. – Kim, M. S. et al. (2015): PD-L1-Driven Tolerance Protects Neurogenin3-induced Islet Neogenesis to Reverse Established Type 1 Diabetes in NOD Mice. *Diabetes*. 64, 529–540. DOI: 10.2337/db13-1737
- Lim, Franklin – Sun, Anthony M. (1980): Microencapsulated Islets as a Bioartificial Pancreas. *Science*. 201, 980–990. DOI:10.1126/science.6776628
- O'Shea, Geraldine M. – Sun, Anthony M. (1986): Encapsulation of Rat Islets of Langerhans Prolongs Xenograft Survival in Diabetic Mice. *Diabetes*. 5, 943–946. DOI:10.2337/diab.35.8.943 • <http://diabetes.diabetesjournals.org/content/35/8/943.long>
- Pagliuca, Felicia W. – Millman, J. R. – Gürtler, M. et al. (2014). Generation of Functional Human Pancreatic β Cells In Vitro. *Cell*. 159, 428–439. DOI: 10.1016/j.cell.2014.09.040 • http://hsci.harvard.edu/files/hsci/files/pagliuca_et_al_cell_2014.pdf
- Prowse, Stephen J. – Bellgrau, D. – Lafferty, K. (1986): Islet Allografts Are Destroyed by Disease Occurrence in the Spontaneously Diabetic BB Rat. *Diabetes*. 35, 110–114. DOI:10.2337/diab.35.1.110
- Scharp, David W. – Lacy, P. E. – Santiago, J. V et al. (1990): Insulin Independence after Islet Transplan-

- tation into a Type 1 Diabetic Patient. *Diabetes*. 39, 515–518. DOI:10.2337/diab.39.4.515 • <http://diabetes.diabetesjournals.org/content/39/4/515.long>
- Schrezenmeir, Jürgen – Kirchgessner, J. – Gerö, L. et al. (1994): Relation between Secretory Function and Oxygen Supply in Isolated Islet Organs. *Transplantation*. 57, 1–6.
- Schrezenmeir, Jürgen – Gerö, L. – Laue, Ch. – Kirchgessner, J. et al. (1992): The Role of Oxygen in Islet Transplantation. *Transplantation Proceedings*. 24, 2925–2929.
- Shapiro, James – Lakey, J. R. – Ryan, E. A. et al. (2000): Islet Transplantation in Seven Patients with Type 1 Diabetes Mellitus Using a Glucocorticoid-free Immunosuppressive Regimen. *The New England Journal of Medicine*. 343, 230–238. DOI: 10.1056/NEJM200007273430401 • <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM200007273430401#t=article>
- Shapiro, James – Ricordi, C. – Hering, B. J. (2006): International Trial of the Edmonton Protocol for Islet Transplantation. *The New England Journal of Medicine*. 355, 1318–1330. DOI: 10.1056/NEJMoa061267 • <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa061267#t=article>
- Soon-Shiong, Patrick – Heintz, R. E. – Merideth, N. et al. (1994): Insulin Independence in a Type 1 Diabetic Patient after Encapsulated Islet Transplantation. *The Lancet*. 343, 950–951.
- Tüch, Bernard E. – Szymanska, B. – Yao, M. et al. (2003): Function of Genetically Modified Human Liver Cell Line That Stores, Processes and Secretes Insulin. *Gene Therapy*. 10, 490–503. DOI:10.1038/sj.gt.3301911 • <http://www.nature.com/gt/journal/v10/n6/full/3301911a.html>
- Uher, Ferenc (2013): A szöveti összegek programozott átalakulásai – lehetséges-e a transzdifferentiáció? *Magyar Tudomány*. 174, 6, 670–677. • <http://www.matud.iif.hu/2013/06/05.htm>

