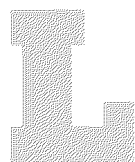


Staminali

Così ho visto “ringiovanire” le cellule umane

SHINYA YAMANAKA *



Le cellule staminali si definiscono tali per la loro capacità di generare moltissimi tipi diversi di cellule. Hanno due caratteristiche principali: multi potenzialità, appunto, e capacità di proliferare in modo virtualmente infinito. Come è noto, le cellule staminali embrionali derivano dagli zigoti e in particolare dalla zona interna della blastocisti che si forma dopo circa una settimana dalla fecondazione, quando essa s'impianta nell'utero.

Nel 1981 i ricercatori furono in grado di prelevare le cellule dalle blastocisti impiantate nell'utero e di espanderle in vitro nel topo. Pertanto, tali cellule sono utilizzate per scopi scientifici da ormai quasi trent'anni. Nel 1998 un professore dell'università del Wisconsin, James Thomson, riuscì a generare linee di cellule staminali embrionali da embrioni umani; dotate delle stesse caratteristiche delle cellule staminali embrionali di topo: capacità di espandersi all'infinito e diventare cellule di qualsiasi tipo in sistemi di coltura in vitro, dai neuroni alle cellule del sangue fino alle cellule del cuore.

In linea teorica, è quindi possibile, utilizzare le cellule somatiche differenziate derivate dalle cellule embrionali, per la terapia di diversi tipi di patologie degenerative, consentendo un recupero funzionale dell'organo affetto dalla

malattia. Sappiamo, però, che esistono due aspetti critici che disincentivano l'utilizzo di queste cellule: il primo è di tipo immunologico, poiché queste cellule non sono riconosciute come "proprie" dall'organismo in cui verranno iniettate, in quanto derivate da embrioni con corredo genetico diverso dall'organismo in cui si debbono impiantare; il secondo aspetto è di tipo etico: la generazione di linee cellulari da embrioni comporta infatti la manipolazione, se non la distruzione, degli embrioni stessi.

Ma veniamo ora all'oggetto della mia scoperta: le cellule staminali adulte riprogrammate, le staminali pluripotenti indotte (iPS). Nel 1999, quando ottenni il mio primo laboratorio come ricercatore indipendente, decisi di concentrare i miei sforzi sulla generazione di cellule simil-staminali embrionali derivanti dalle cellule adulte con capacità multidifferenziative, un processo che comporta una riprogrammazione nucleare.

L'intento che mi prefissai allora era successivo all'esperimento di clonazione della famosa pecora Dolly attraverso la tecnica del trasferimento nucleare, che implica il concetto che i nuclei delle cellule adulte, in determinati contesti, possono riprogrammarsi per diventare cellule embrionali e generare addirittura un organismo intero, come una pecora Dolly. All'epoca (...) non si aveva alcuna idea di quali potessero essere i meccani-

smi ed i geni implicati in questa trasformazione. In appena sette anni riuscimmo a centrare il nostro obiettivo: attraverso il trasferimento di soli quattro geni (...) all'interno di una cellula adulta, assistemmo alla trasformazione della cellula stessa in una simil-staminale, che denominammo "cellula staminale pluripotente indotta" (stem cell-iPS), per differenziarla da quella embrionale, che invece è "naturale". Nel 2006 siamo poi riusciti ad ottenere le iPS da fibroblasti della pelle dal topo; nel 2007 le abbiamo tratte dai fibroblasti della pelle di uomo. Successivamente,

siamo riusciti a ricavare le cellule staminali pluripotenti indotte con l'utilizzo di solo tre fattori di trascrizione piuttosto che con quattro, escludendo il gene myc, un potente oncogene in grado quindi di causare l'insorgenza di tumori.

A seguito di queste scoperte, l'università di Kyoto ha deciso di aprire un centro specializzato nella produzione e nell'utilizzo in terapia di questo nuovo tipo di cellule staminali. (...) Il centro

collabora anche molto con gli ospedali (...). E proprio l'importanza dell'interazione con i malati, ci ha spinto a creare all'interno dell'istituto un dipartimento che tratti le problematiche collegate all'applicazione di queste tecnologie alla salute dell'uomo.

Come otteniamo dunque le cellule staminali pluripotenti indotte? Per generare le iPS abbiamo semplicemente bisogno di una piccola biopsia cutanea. Queste biopsie vengono poste nella piastra per le colture all'interno della quale si lasciano crescere le cellule. I geni che inducono la ri-

programmazione sono introdotti nelle cellule durante la fase di espansione con vettori retro virali. Una volta "infettate", queste cellule diventano iPS nel giro di circa quattro settimane. Per espanderle abbiamo bisogno poi di altre due settimane e, infine, di altre quattro per differenziarle. Come detto, queste cellule possono differenziare verso qualsiasi tessuto, tra cui i cardiomiociti (cellule della contrattilità miocardica) riconoscibili già in coltura (...). Uno degli aspetti più significativi delle iPS è che, in caso di necessità, si possono generare dallo stesso paziente, quindi cellule con un identico corredo genetico del paziente in cui s'inietteranno. (...) Ad esempio, in soggetti colpiti da una malattia cardiaca, le cellule iPS possono dare origine a cardiomiociti sani. In altre parole, è possibile generare cellule sane da soggetti malati. E le applicazioni sono svariate: si possono impiegare le iPS per differenziarle in

neuroni. Proprio questi esperimenti hanno dimostrato che i neuroni iPS-derivati (sia di topo sia di uomo) hanno la stessa capacità dei neuroni ottenuti da cellule staminali embrionali di curare, o comunque di migliorare, lo stato di menomazione per danno spinale (...). Quello che stiamo facendo attualmente è utilizzare le cellule neuronali derivanti dalle iPS umane in modelli di danno

spinale di scimmia.

Con ulteriori modifiche alla nostra tecnologia iniziale, abbiamo costruito nuovi vettori che non entrano nel genoma dell'ospite per trasportare i fattori necessari alla conversione dei fibroblasti in iPS. È noto infatti che l'introduzione di materiale genetico in prossimità di oncogeni, causa tumori.

Bisogna considerare però che la produzione di iPS per uso clinico comporta costi elevati, poiché sono necessari ambienti asettici, molto costosi da mantenere. Un problema non secondario per l'impiego delle iPS in terapia è legato anche ai tempi di ottenimento delle cellule differenziate. Il danno spinale necessita di terapia cellulare immediata, mentre sono necessari quattro-sei mesi prima di ottenere neuroni da fibroblasti dello stesso paziente. È pertanto essenziale avere cellule da impiantare nell'arco al massimo di otto giorni dalla lesione midollare, come dimostrato nel topo. Per questo motivo, il nostro centro sta creando una banca di iPS da volontari sani. Immaginatela come una banca del sangue cui si ricorre quando non è possibile utilizzare il sangue del paziente. Allo stesso modo, le cellule staminali pluripotenti indotte verranno mantenute in un archivio e utilizzate quando e se necessario (...). Così come esistono vari gruppi sanguigni compatibili con i vari pazienti, allo stesso modo anche in questo campo si dovrà condurre una ricerca sulla compatibilità. La sfida è ambiziosa poiché mentre i gruppi sanguigni sono quattro, le combinazioni di cellule sono più di diecimila, per cui l'obiettivo primario è quello di trovare una sorta di "gruppo 0" che possa creare le condizioni di massima compatibilità con il maggior numero di pazienti.

Abbiamo calcolato che con 150 tipi di iPS è possibile coprire il 90% della popolazione. (...) Nel nostro istituto abbiamo stabilito la Facility for iPS Therapy, in cui creeremo cloni di cellule iPS che coprono tutto il sistema di istocompatibilità (HLA) nella popolazione giapponese (...). Altra interessante applicazione delle iPS è la genera-

zione di modelli in vitro di malattia umana. Molti gruppi hanno generato neuroni da cellule iPS da pazienti con sclerosi laterale amiotrofica, causata dalla degenerazione dei motoneuroni. (...)

Rimangono comunque da risolvere diverse problematiche, come impedire che nell'organismo ospite siano trapiantate cellule non completamente differenziate, processo che potrebbe generare dei teratomi, tumori embrionali derivanti dalle cellule staminali. Si deve tenere presente infatti che la riprogrammazione ha molti aspetti in comune con i meccanismi molecolari del cancro: il tumore è proprio una riprogrammazione del nucleo (...). In conclusione, siamo ancora agli inizi di questa affascinante prospettiva e abbiamo ancora molto da lavorare prima che queste cellule diventino una realtà clinica per i prossimi anni.

*Kyoto University
Premio Nobel Medicina 2012

© RIPRODUZIONE RISERVATA



Lo studio/1

LA TERAPIA INTENSIVA RIDUCE LA MORTALITÀ

La mortalità postoperatoria a livello europeo è in aumento ma questa viene ridotta in modo significativo se all'intervento segue il ricovero in un reparto di terapia intensiva, soprattutto per i pazienti a rischio di complicanze cardiovascolari, respiratorie o metaboliche. Sono queste le conclusioni di una ricerca pubblicata sulla rivista *The Lancet*, che ha analizzato prospetticamente più di 46.000 pazienti di 500 ospedali in 28 paesi europei, tra cui l'Italia. Nello studio sono stati valutati sia la mortalità intra-ospedaliera che il ruolo della terapia intensiva per migliorare la sopravvivenza dei pazienti sottoposti a chirurgia non cardiaca. La mortalità postoperatoria intra-ospedaliera è risultata in media del 4%, quasi il doppio di quanto si conosceva, ma con divario significativo (dal 1,2% al 21,5%) tra i diversi paesi, specialmente quelli dell'Est. In Italia la mortalità è risultata essere del 5,3%, mentre nel Regno Unito del 3,6%, in Francia del 3,2% ed in Germania del 2,5% «La causa principale di questo aumento», dice Paolo Pelosi, autore dello studio e direttore

di anestesia e terapia intensiva al S. Martino- Ist di Genova, «è da ricercare nella mancanza di un'assistenza in terapia intensiva, non sempre disponibile, specialmente per i pazienti ad elevato rischio di complicanze. Inoltre la presenza di una terapia sub-intensiva (step-down) post-operatoria migliora la sopravvivenza complessiva del 15%» (a. f. d. r.)

Lo studio/2

MALATTIA DI GAUCHER VERSO LA CURA ORALE

Positivi risultati per la terapia orale nella malattia di Gaucher di tipo 1 (la più diffusa). Lo studio Engage, in fase 3 (40 pazienti) su eliglustat tartrato (Genzyme) segnala miglioramenti del volume della milza e dei livelli di emoglobina, piastrine e volume del fegato rispetto ai soggetti trattati con placebo. Attualmente i malati utilizzano la terapia per infusione endovenosa. La malattia di Gaucher è una condizione ereditaria che colpisce meno di 10.000 persone in tutto il mondo. Questi pazienti non possiedono quantità sufficienti di un enzima preposto a scindere una specifica molecola di natura lipidica. Così le cellule sovraccariche di lipidi (denominate cellule di Gaucher) si accumulano in diverse parti dell'organismo (milza, fegato e midollo osseo)

Lo scienziato giapponese, Nobel per la Medicina *insieme al collega inglese*, spiega la tecnica usata per creare, dalla pelle, unità biologiche pluripotenti "riprogrammate" in grado di produrre tessuto nervoso, muscolare, osseo e qualunque altro organo del corpo. Come per il sangue, l'idea di una "banca"

ZIGOTE

La cellula in cui i Dna dello spermatozoo e dell'ovulo si sono fusi. Da questa derivano tutte le cellule del corpo



BLASTOCISTI

È l'agglomerato di 16 cellule ancora tutte uguali formatesi dai primi quattro cicli di duplicazione dello zigote



ESPANSIONE

La moltiplicazione delle cellule che si ottiene anche fuori del corpo grazie alla coltura in vitro con nutrienti e fattori di crescita



SOMATICHE

Cellule del corpo "adulte" che hanno concluso il processo di maturazione e compongono pelle, cuore, ossa...



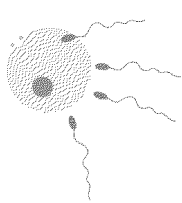
VETTORI

Virus manipolati in modo da contenere dei geni, entrare in una cellula e inserirli nel Dna, senza danneggiarlo

I DIVERSI TIPI DI STAMINALI

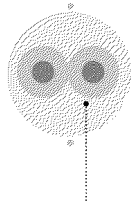
Le staminali sono cellule primitive non specializzate capaci di trasformarsi in diversi altri tipi di cellule

Ovocito fecondato



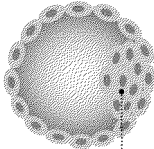
Dopo la fecondazione l'ovocito comincia a replicarsi e si forma lo zigote

Zigote



Staminali totipotenti
Sono cellule embrionari in grado di dar vita a tutti i tipi di tessuti dell'organismo adulto

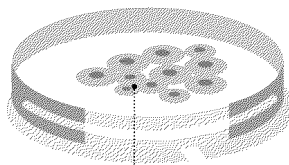
Blastocisti



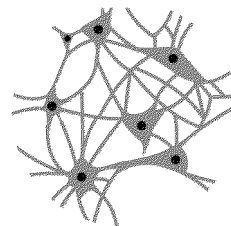
Staminali pluripotenti
Sono più mature delle totipotenti, possono dar vita solo ai tessuti che derivano da uno dei primi tre grandi strati cellulari differenziati (foglietti germinativi)

Cellule adulte

Sono cellule mature già specializzate

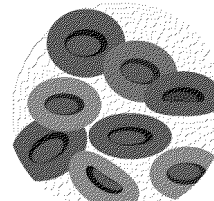
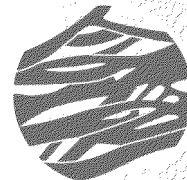


Le cellule multipotenti possono essere coltivate in vitro per creare tessuti di tutto il corpo



Cellule del sistema nervoso

Cellule di organi diversi



Cellule del sangue

