О Нобелевской премии по физиологии и медицине 2012 года

Нобелевская премия по физиологии и медицине 2012 года присуждена Джону Бертрану Гёрдону и Шинии Яманаке «за открытие того, что зрелые клетки могут быть репрограммированы в плюрипотентные».

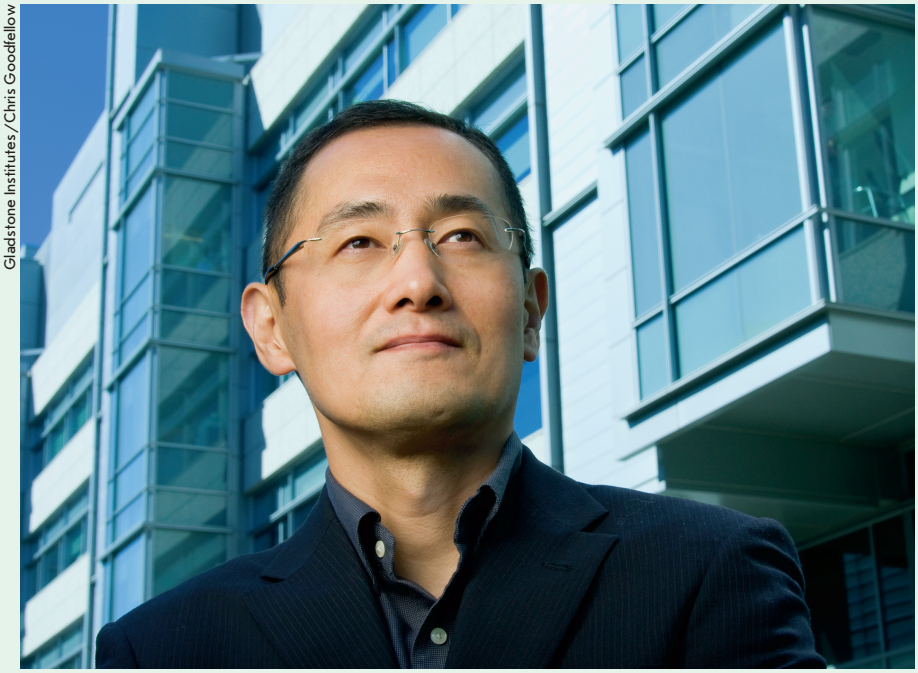
История длиной в 50 лет начала развиваться в 1962 году (в год рождения Яманаки), когда Джон Гёрдон путем пересадки ядер показал способность клеток кожи и кишечника лягушки давать начало новому организму, принципиально доказав, таким образом, что стволовые характеристики, утерянные в ходе развития амфибии, могут быть клеткам возвращены (Gurdon, 1962). Естественно, что ни о каких терапевтических приложениях открытия в то время речь не шла. Более чем 40 лет спустя Шиния Яманака опубликовал статью, в которой впервые показал, что соматические клетки млекопитающих также могут быть репрограммированы в плюрипотентное[1] состояние (Takahashi и Yamanaka, 2006). За эти 40 с лишним лет прошла череда менее громких, но также важных событий, без которых достижение Яманаки было бы невозможным. Так, Мартин Эванс в 1981 году впервые получил первые эмбриональные стволовые (ЭС) клетки мыши (Evans и Kaufman, 1981), что не только открыло широкую возможность для изучения функций генов методами генного нокаута (Нобелевская премия за 2007 год), но и выдвинуло на передний план первый из известных типов плюрипотентных клеток, перспективных с точки зрения тканезамещения. Несмотря на значительные усилия, ЭС-клетки человека были получены значительно позже, только в 1999 году (Thomson et al., 1998), что обратило взоры многих исследователей к возможности тканезаместительной терапии у человека. Надо отметить и такое важное событие, как клонирование Oct4 (Okamoto et al., 1990; Scholer et al., 1990) – одного из центральных генов, необходимого не только для поддержания клеточной плюрипотентности, но, как позже показал Яманака, и для ее возникновения.

Gladstone Institutes/Chris Goodfellow

Джон Гёрдон

Следующей после работ Гёрдона важной вехой в области клеточного репрограммирования явилось клонирование овцы, доказавшее принципиальную возможность превращения соматических ядер млекопитающих

[1] *Плюрипотентностью обозначают способность клеток к самоподдержанию и дифференцировки во все клеточные типы тканей взрослой мыши (за исключением двух внезародышевых клеточных типов – трофэктодермы и первичной эндодермы).*



Gladstone Institutes/Chris Goodfellow

Шиния Яманака

в тотипотентное[1] состояние. Достигалось такое репрограммирование путем подсадки ядер в цитоплазму ооцитов (Campbell et al., 1996). Стоит отметить в этой связи и ряд работ, в которых репрограммирование достигалось путем спонтанного или индуцированного слияния соматических клеток с ЭС-клетками (Matveeva et al., 1998; Tada et al., 2001; Terada et al., 2002; Ying et al., 2002). Стало очевидным, что специализация клеточных типов в ходе развития млекопитающих является обратимым процессом.

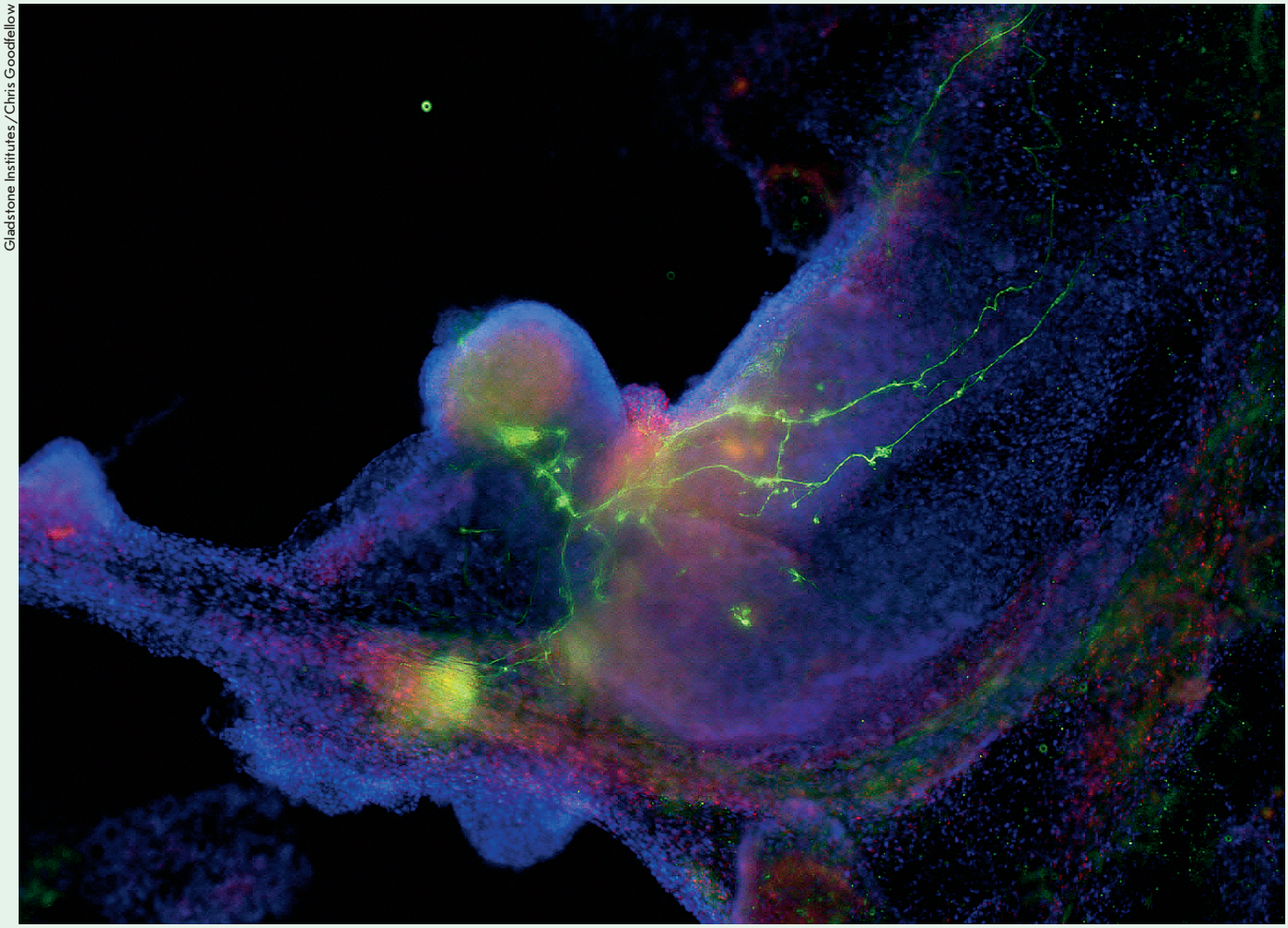
С другой стороны, на передний план вышли очевидные недостатки ЭС-клеток, связанные как с их получением, требующим умерщвления эмбрионов, так и с проблемой высокого риска иммунного отторжения дифференцированных производных от ЭС-клеток в теле реципиентов[2]. Таким образом, в начале 2000-х годов возник вопрос о получении плюрипотентных стволовых клеток из соматических клеток, что устранило бы моменты как этического, так и практического плана, присущие ЭС-клеткам. Несколько исследовательских групп, поверивших в возможность репрограммирования соматических клеток в плюрипотентное состояние при помощи форсированной генной экспрессии, в том числе и моя (в то время работавшая в Институте им. Макса Планка во Фрайбурге), трудились на этой почве, придумывая хитроумные системы скрининга факторов репрограммирования и селекции на плюрипотентность. Точку в этой гонке положил Яманака, который путем простого перебора 24 факторов, экспрессирующихся в ЭС-клетках мыши, вывел минимальную комбинацию транскрипционных факторов, достаточных для индукции плюрипотентности в фибробластах мыши: Oct4, Sox2, Klf4 и c-Myc, так называемого «коктейля Яманаки» (Takahashi и Yamanaka, 2006). Полученные в результате репрограммирования клетки, названные индуцированными плюрипотентными стволовыми (ИПС от англ. iPS) клетками, обладали практически неотличимыми от ЭС-клеток характеристиками.

С момента открытия индуцированной плюрипотентности прошло 6 лет, в свет вышло почти пять тысяч статей, описывающих альтернативные комбинации транскрипционных факторов, новые способы получения ИПС-клеток у разных видов (включая человека), предлагающих различные способы доставки (вирусный, плазмидный, транспозонный, белковый, РНКовый), использующих различные исходные соматические клеточные типы, и т.д. За это время появился и ряд работ, выявивших недостатки ИПС-клеток, такие, как низкая эффективность их получения, неопределенность эпигенетического статуса, хромосомная нестабильность, повышенный по сравнению с ЭС-клетками уровень точечных мутаций и др. Указанные недостатки отодвигают перспективу использования ИПС-клеток в тканезамещении у человека. Однако уже сейчас ясно, что ИПС-клетки совершенно незаменимы как при создании *in vitro*-моделей широкого спектра заболеваний человека, так называемых «болезней в чашке Петри», так и при *in vitro*-скрининге лекарственных препаратов для лечения этих заболеваний.

Весьма ожидаемая и несомненно заслуженная Нобелевская премия 2012 года, таким образом, обозначила данный Гёрдоном старт и осуществленный Яманакой финиш 50-летней марафонской гонки за плюрипотентностью. Без всяких сомнений, результаты этой гонки сулят здоровью людей огромные выгоды. ●

[1] *То есть способное дать начало всем зародышевым и внезародышевым типам клеток; известны два тотипотентных типа клеток млекопитающих – зигота и ранние бластомеры.*

[2] *Создание банков охарактеризованных ЭС-клеток, охватывающих все возможные гистотипы, не осуществлено и по сей день.*



Gladstone Institutes/Chris Goodfellow

Свойства индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПС) сходны со свойствами эмбриональных стволовых (ЭС) клеток: на рисунке изображены ИПС-клетки, дифференцировавшиеся в нервные клетки (показаны зеленым цветом) и в клетки сердечной мышцы (показаны красным цветом)

Campbell K.H., McWhir J., Ritchie W.A., Wilmut I. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line // Nature. 1996. V. 380. P. 64–66.

Evans M.J., Kaufman M.H. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos // Nature. 1981. V. 292. P. 154–156.

Gurdon J.B. Adult frogs derived from the nuclei of single somatic cells // Developmental Biology. 1962. V. 4. P. 256–273.

Matveeva N.M., Shilov A.G., Kaftanovskaya E.M., Maximovsky L.P., Zhelezova A.I., Golubitsa A.N., Bayborodin S.I., Fokina M.M., Serov O.L. *In vitro* and *in vivo* study of pluripotency in intraspecific hybrid cells obtained by fusion of murine embryonic stem cells with splenocytes // Molecular Reproduction and Development. 1998. V. 50. P. 128–138.

Okamoto K., Okazawa H., Okuda A., Sakai M., Muramatsu M., Hamada H. A novel octamer binding transcription factor is differentially expressed in mouse embryonic cells // Cell. 1990. V. 60. P. 461–472.

Scholer H.R., Dressler G.R., Balling R., Rohdewohld H., Gruss P. Oct-4: a germline-specific transcription factor mapping to the mouse t-complex // EMBO J. 1990. V. 9. P. 2185–2195.

Tada M., Takahama Y., Abe K., Nakatsuji N., Tada T. Nuclear reprogramming of somatic cells by *in vitro* hybridization with ES cells // Curr. Biol. 2001. V. 11. P. 1553–1558.

Takahashi K., Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors // Cell. 2006. V. 126. P. 663–676.

Terada N., Hamazaki T., Oka M., Hoki M., Mastalerz D.M., Nakano Y., Meyer E.M., Morel L., Petersen B.E., Scott E.W. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion // Nature. 2002. V. 416. P. 542–545.

Thomson J.A., Itskovitz-Eldor J., Shapiro S.S., Waknitz M.A., Swiergiel J.J., Marshall V.S., Jones J.M. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts // Science. 1998. V. 282. P. 1145–1147.

Ying Q.L., Nichols J., Evans E.P., Smith A.G. Changing potency by spontaneous fusion // Nature. 2002. V. 416. P. 545–548.

А.Н. Томилин,
член-корреспондент РАН