تشکیل بانک سلول‌های بنیادی بندناف و کاربردهای درمانی آن

نیلوفرسادات کلاکی

سلول‌های بنیادی مزانشیمی جمعیتی سلولی هستند که نشانگرهای سطحی ویژه‌ای را بیان می‌کنند؛ شبیه فیبروبلاست‌اند و ماده‌ای زمینه‌ای تشکیل می‌دهند؛ چندتوان‌اند و توان تمایز به بافت‌های مزانشیمی، مثل مغز استخوان، غضروف، ماهیچه، تاندون و چربی را دارند

چکیده

یکی از یافته‌های جدید علم پزشکی شناسایی و جداکردن نوع جدیدی از سلول‌های درون بدن پستانداران است. این نوع سلول‌ها که سلول‌های بنیادی نام دارند، به علت داشتن توان بالا در زمینهٔ تقسیم شدن، تمایز به سلول‌های تخصصی بدن و نیز توانایی آن‌ها در ترمیم بافتی بسیار مورد توجه دانشمندان قرار گرفته‌اند. بیش از بیست سال قبل دانشمندان توانستند سلول‌های بنیادی را از جنین ابتدایی موش جدا کنند و با سال‌ها مطالعه روی جزئیات زیستی سلول‌های بنیادی موش توانستند به بسیاری از خصوصیات آن‌ها پی ببرند. در سال ۱۹۹۸ دانشمندان موفق به جدا کردن سلول‌های بنیادی جنینی از جنین انسان و رشد آن‌ها در محیط آزمایشگاه شدند و این سلول‌ها را سلول‌های بنیادی جنینی انسان نامیدند؛ اما با توجه به بروز برخی محدودیت‌ها در تولید و استفاده از سلول‌های بنیادی جنینی (که تلاش برای رفع آن‌ها کماکان ادامه دارد) در چند سال اخیر، موج جدیدی از تحقیقات روی سلول‌های بنیادی بالغ شروع شد که با جدیت تمام ادامه دارد.

فناوری سلول‌های بنیادی در مطالعات زیست‌شناسی تکوینی یا جنین‌شناسی، توسعهٔ داروسازی، ناهنجاری شناسی، سم‌شناسی و مطالعهٔ عملکرد ژن‌ها در موجود زنده دارای اهمیت است؛ اما مهم‌ترین ارزش این سلول‌ها در طب، پیوند است به گونه‌ای

که امید محققان آن است که بتوانند این سلول‌ها را برای درمان بسیاری از بیماری‌های صعب‌العلاج به کار ببرند.

دانشمندان با جداسازی سلول‌های بنیادی جنینی، سلول‌های بنیادی بند ناف و سلول‌های بنیادی بزرگسال از بدن انسان و کشت آن‌ها در محیط آزمایشگاه موفق به تولید بعضی از بافت‌های تخصصی بدن شدند که به واسطهٔ آن‌ها می‌توان بسیاری از بیماران را از مرگ نجات داد. همچنین با جداسازی سلول‌های بنیادی جنینی، سلول‌های بنیادی بند ناف و سلول‌های بنیادی بزرگسال از بدن انسان و کشت آن‌ها در محیط آزمایشگاه موفق به تولید بعضی از بافت‌های تخصصی بدن شدند. همچنین با استفاده از سلول‌های بنیادی بند ناف کودک، می‌توان همهٔ بیماری‌های او را در دوران بزرگسالی ۵۰٪ درصد بیماری‌های والدین و ۲۵٪ بیماری خواهران و برادران او را درمان کرد.

کلیدواژه‌ها: سلول‌های بنیادی، سلول‌های بنیادی بند ناف، سلول‌های بنیادی جنینی، کاربرد سلول‌های بنیادی، بانک خون بندناف.

مقدمه

سلول‌های بنیادی سلول‌هایی چندتوان هستند، یعنی توانایی تبدیل به انواع سلول‌ها را دارند؛ سلول‌های تخصصی نشده‌ای هستند که مشخصهٔ مهم آن‌ها توانایی تکثیر و افزایش تعداد برای مدت طولانی است و ممکن است در مسیر تمایز، مانند یاخته‌های عصبی، قابلیت تقسیم شدن را از دست بدهند. از سلول‌های بنیادی می‌توان در تولید سلول‌ها و نهایتاً بافت‌های مختلف نیز استفاده کرد. اخیراً استفاده از این سلول‌ها برای ترمیم بافت‌های آسیب‌دیده در حال گسترش است.

تکنولوژی سلول‌های بنیادی علاوه بر استفاده از این سلول‌ها جهت درمان بیماری‌ها و ترمیم و نوسازی بافت‌ها، اخیراً روی تولید این سلول‌ها نیز متمرکز شده است. سلول‌های بنیادی به سه دسته اصلی تقسیم‌می‌شوند:

- جنینی
- بالغ
- بندناف(خون و بافت)

سلول‌های بنیادی جنینی از تودهٔ سلولی داخلی جنین ۱۶ ـ ۱۴ روزه گرفته می‌شوند و قادرند تمام سلول‌ها و بافت‌های یک فرد کامل را بسازند.

سلول‌های بنیادی بالغ پس از تولد از بافت‌های مختلف فرد بالغ جدا می‌شوند و شامل سلول‌های بنیادی مستقر در مغز استخوان، مغز، کبد و سایر بافت‌ها هستند که قدرت تمایز به برخی از بافت‌ها را دارند.

سلول‌های بنیادی بندناف از سه منبع اصلی تأمین می‌شوند: خون بند ناف، بافت بند ناف و منطقهٔ پوشش اطراف عروق بند ناف.

خون بند ناف خونی که در سیاهرگ نافی بعد از قطع بند ناف باقی می‌ماند، منبع مناسبی از سلول‌های بنیادی خون‌ساز و سلول‌های بنیادی مزانشیمی است.

بافت بند ناف بافت همبند اطراف سیاهرگ و سرخرگ بند ناف منبع فراوان سلول‌های بنیادی مزانشیمی است.

منطقهٔ اطراف عروق بند ناف این منطقه در سراسر رگ‌های بند ناف واقع شده و حاوی بالاترین غلظت از سلول‌های بنیادی مزانشیمی است.

بند ناف

اولین پیوند خونِ بند ناف در جهان اکتبر ۱۹۸۸ در فرانسه برای کودکی ۵ ساله که دچار نوعی کم‌خونی مادرزادی شده بود، انجام گرفت. این کار با پیوند سلول‌های بنیادی خون بند ناف خواهر تازه متولد شدهٔ او انجام شد. سلول‌های بنیادی خون‌ساز می‌توانند به گویچه‌های سرخ، گویچه‌های سفید و پلاکت‌ها تبدیل شوند.

سلول‌های بنیادی مزانشیمی جمعیتی سلولی هستند که نشانگرهای سطحی ویژه‌ای را بیان می‌کنند؛ شبیه فیبروبلاست‌اند و ماده‌ای زمینه‌ای تشکیل می‌دهند؛ چندتوان‌اند و توان تمایز به بافت‌های مزانشیمی، مثل مغز استخوان، غضروف، ماهیچه، تاندون و چربی را دارند. این سلول‌ها مشابه سلول‌های مغز استخوان‌اند، اما نسبت به آن‌ها تکثیر سریع تر و ساده‌تری دارند. از ویژگی‌های متمایز این سلول‌ها می‌توان به این موارد اشاره کرد:

- قابلیت جداسازی در مقادیر زیاد
- رشد موفقیت‌آمیز و قابلیت منجمد شدن برای استفاده‌های بعدی
- توانایی بیان پروتئین‌های اگزوژنز
- فاقد نشانگرهای هماتوپوئتیک CD34، CD45، و CD14
- فاقد نشانگرهای اندوتلیالی CD34، CD31 و VWF (فاکتور ون- ویلبراند)

هستند و این ویژگی جداسازی آن‌ها را تا حدود زیادی راحت‌تر می‌کند.

- توان گریز از دستگاه ایمنی را دارند و پاسخ ایمنی را مهار می‌کنند که این ویژگی از نکات مهم در پیوند و سلول درمانی است.

سلول‌های بنیادی مغز استخوان در مقایسه با بند ناف

مغز استخوان و بند ناف هر دو واجد سلول‌های بنیادی خون‌سازند که به بازسازی مجدد دستگاه خونی و نیز دستگاه ایمنی بدن کمک می‌کنند. مهم‌ترین مزیت سلول‌های بنیادی مغز استخوان در این است که بالاترین درصد از سلول‌های بنیادی خون‌ساز را دارند (۱ تا ۳درصد)، در حالی که خون بند ناف دارای ۰/۶ تا ۱ درصد سلول‌های بنیادی خون‌ساز است.

از معایب آن نیز کاهش قابل توجه تعداد سلول‌های بنیادی مغز استخوان همراه با افزایش سن است و نیز بین دهنده و گیرندهٔ پیوند باید شباهت HLA[1] بالایی وجود داشته باشد.

تهیهٔ بانک سلول‌های بنیادی بند ناف

اساساً تهیهٔ بانک سلول‌های بنیادی بند ناف شامل سه بخش مهم جمع‌آوری، پردازش و انجماد است.

جمع‌آوری خون بند ناف: بلافاصله بعد از زایمان، هر دو طرف بند ناف کودک گیره می‌خورد و قطع می‌شود. یک طرف آن را باز و لوله ای به رگ بریده شدهٔ بند ناف برای

جمع آوری خون وصل می‌کنند. سپس آن را به یک کیسهٔ خون استریل دارای مادهٔ ضد انعقاد، شبیه دستگاه مورد استفاده در جمع‌آوری خون کامل منتقل می‌کنند.

تست‌های آزمایشگاهی: قبل از پردازش بافت و خون بند ناف، آزمایش‌هایی برای اندازه‌گیری زیستایی سلول‌های بنیادی و غربالگری بیماری‌های ویروسی انجام می‌شود. از جمله مواردی که در خون مادر بررسی می‌شود: HIV1/2، سفلیس، هپاتیت B و C، سیتومگالوویروس و ویروس لنفوتروفیک T انسانی. اگر خون مادر برای هر یک از بیماری‌های عفونی مثبت بود، از آن استفاده نمی‌شود.

در خون بند ناف زیستایی سلول‌ها، CD34، Rh، ABO بررسی و پس از آن بند ناف برای جداسازی و شناسایی سلول‌های بنیادی پردازش می‌شود. برای پردازش خون بند ناف: 70 cc تا ۸۰ نمونه جمع‌آوری می‌شود. برخی از بانک‌ها گویچه‌های سرخ خون را جدا می‌کنند؛ اما برخی ترجیح می‌دهند آن‌ها را هم حفظ کنند.

انجماد خون بند ناف: حجم برابر از محلول سرمادهندهٔ حاوی پلاسما اتولوگ و مادهٔضد انجماد DMSO[۲] به آرامی به آن اضافه می‌شود. با استفاده از یک فرآیند کنترل سرعت انجماد به آرامی دما تا ۱۸۰- °C کاهش می‌یابد. در پایان انجماد، سلول‌ها در فریزر نیتروژن مایع با دمای ۱۹۶- سانتیگراد ذخیره می‌شوند. در صورتی که بخواهند آن را مورد استفاده قرار دهند، خون بند ناف منجمد را از حالت منجمد خارج می‌کنند و از مواد شیمیایی پاک و از طریق رگ به بیمار تزریق می‌کنند. از این روش به‌عنوان درمان آلوژنیک نام برده می‌شود.

مهم‌ترین مزیت سلول‌های بنیادی مغز استخوان در این است که بالاترین درصد از سلول‌های بنیادی خون‌ساز را دارند

بافت بند ناف

بند ناف و نه خون آن، بهترین انتخاب برای جداسازی سلول‌های بنیادی مزانشیمی برای برنامه‌های آینده است. خون بند ناف منبع غنی از سلول‌های بنیادی خون‌ساز است و پیش‌ساز مزانشیمی را شامل نمی‌شود. این سلول‌ها حتی پس از انجماد و نگهداری طولانی مدت شکل‌پذیری و بسط بالایی دارند.

جمع‌آوری و پردازش سلول‌های مزانشیمی

۱. برش و انتقال بند ناف به محیط استریل
۲. برش بافت در ابعاد ریز
۳. خارج کردن لخته‌های خون از رگ‌ها
٤. خارج کردن بافت‌های رگ‌ها
۵. حذف رگ‌های خونی از قطعات بافت بند ناف
٦. خرد کردن بافت بند ناف با استفاده از گیرهٔ استیل. این کار سلول‌ها را به محلول آزاد می‌کند.
۷. اضافه کردن مخلوط آنزیم‌های هیالورونیداز، ترپسین و کلاژناز
۸. سانتریفوژ آن با سرعت ۲۵۰ دور به مدت ۵ دقیقه
۹. فیلتر کردن از منافذ ۷۰-۱۰۰ میکرولیتر
۱۰. انتقال سوسپانسیون حاصل به پلیت پلاستیکی محتوی هیالورونیک‌اسید
۱۱. افزودن محیط کشت با سرم کم (سرم جنین گاو (FBS) برای رشد سلول‌های مزانشیمی انسان بسیار مناسب است)
۱۲. انتقال به انکوباتور (۳۷ °C، مرطوب و حاوی ۵٪ CO_2)
۱۳. تعویض محیط کشت یک روز در میان
۱٤. دادن پاساژ حدوداً ۲ هفته بعد برای توسعهٔ بیشتر
۱۵. یک هفته بعد از کشت، سلول‌های مزانشیم بین سلول‌های اندوتلیال مشاهده می‌شوند؛ اما به دلیل اینکه شرایط محیط کشت برای رشد EC نامناسب است، گسترش این سلول‌ها ضعیف است و عملاً تکثیر نمی‌شوند. در هفتهٔسوم، یک لایهٔ همگن سلول MSC کل سطح را اشغال می‌کند.
۱٦. شست‌وشو با محلول ترپسین EDTA ۰/۲۵٪
۱۷. اضافه کردن محیط کشت تازه جهت خنثی کردن ترپسین و سانتریفیوژ مجدد
۱۸. انتقال سلول‌ها به پلیت جدید حاوی هیالورونیک‌اسید
۱۹. انتقال به تانک‌های ازت و فریز کردن سلول‌ها

انواع بانک‌های بند ناف

عمومی: نمونه‌ها به طور خیرخواهانه برای ثبت‌نام‌کننده‌های کمک ملی و بین‌المللی اهدا می‌شوند یا برای تحقیقات کاربرد دارند.

خصوصی: خون را فقط برای خود نوزاد یا خانواده او نگهداری می‌کند و در قبال مراحل نگهداری، جمع‌آوری و ذخیره‌سازی هزینه از خانواده نوزاد دریافت می‌کند. تقریباً در حدود ۲۰۰۰ تا ۲۲۰۰ دلار در مراحل ثبت نام از شما پول دریافت خواهد کرد. به علاوه هزینهٔ سالانه در حدود ۱۰۰ تا ۱۵۰ دلار برای نگهداری آن.

ترکیبی: هر دو نوع فعالیت را دارد و از هزینه‌های دریافتی در قسمت خصوصی نیازهای مالی خود در بانک عمومی را رفع می‌کند. در آینده در صورت انصراف والدین در بخش خصوصی نمونه خون آن خانواده با رضایت شخصی آن‌ها برای استفاده عموم به بخش عمومی انتقال می‌یابد.

نتایج و یافته‌ها

در ایران سه بانک عمومی‌خون بندناف درپژوهشگاه رویان، سازمان انتقال خون و مرکز پیوند مغز استخوان بیمارستان شریعتی و یک بانک خصوصی بند ناف در شرکت بن‌یاخته‌های رویان مشغول به فعالیت‌اند. در حال حاضر، در کشورمان فقط بیماری‌هایی که منشأ خونی دارند، از جمله تالاسمی، سرطان خون و کم‌خونی‌ها با استفاده از سلول‌های بنیادی خون بند

قبل از پردازش بافت و خون بند ناف، آزمایش‌هایی برای اندازه‌گیری زیستایی سلول‌های بنیادی و غربالگری بیماری‌های ویروسی انجام می‌شود

ناف قابل درمان هستند.

موارد استفاده از سلول‌های بنیادی خون بند ناف

بند ناف دارای طیف گسترده‌ای از کاربردها است، اما پیوند سلول‌های بنیادی خون‌ساز هنوز بیشترین استفاده را دارد. پس از بیش از یک دهه تجربهٔ بالینی، اخیراً پذیرفته شده است که پیوند UCB، مرتبط و غیر مرتبط، معادل و یا قابل مقایسه با پیوند مغز استخوان (BM)، به ویژه در کودکان است. اکثریت قریب به اتفاق از گیرندگان کودکان با وزن متوسط ۲۰ کیلوگرم بوده‌اند. با این حال، در حال حاضر بیش از ۵۰۰ پیوند UCB در بزرگسالان هم انجام شده است.

مطالعات نشان داده‌اند که پیوند خون بند ناف می‌تواند بیش از ۷۰ بیماری مختلف را درمان کند. به طور کلی بیماری‌های قابل درمان به سه دسته تقسیم می‌شوند:

بیماری‌های بدخیم ۴۷٪

بیماری‌های خوش‌خیم ۲۹٪

کاربردهای بازساختی ۲۴٪

موارد استفاده از سلول‌های بنیادی بافت بند ناف

در شرایط آزمایشگاهی سلول‌های بنیادی موفق بوده و انعطاف‌پذیری بالایی از خود نشان داده‌اند و توانایی تبدیل شدن به انواع سلول‌های مختلف را دارند. این سلول‌ها می‌توانند به استخوان، غضروف، عصب، چربی، قلب، عضله صاف، کبد و سلول‌های پوست تمایز پیدا کنند. آیندهٔ آن‌ها در پزشکی بازساختی نیز بسیار امیدوارکننده است.

سلول‌های بنیادی مزانشیمی برای درمان بیماری‌هایی مانند دیابت، کم‌خونی، اوتیسم، سیروز کبدی، ترمیم غضروف، کاردیومیوپاتی و کولیت اولسراتیو در حال مطالعه‌هستند.

مطالعات اخیر مهندسی بافت با سلول‌های بنیادی، موفقیت در ایجاد دریچه‌های مصنوعی و مویرگ‌ها را نشان داده است. در حال حاضر در حال آزمایش سلول‌های بنیادی به‌عنوان حامل در زمینه ژن‌درمانی تحویل عوامل ضد تومور برای درمان سرطان هستند و همچنین نامزدی آرمانی برای درمان بالینی مبتنی بر سلول شمرده می‌شوند.

سلول‌های مزانشیمی بند ناف هنوز به‌عنوان یک روش درمانی برای انسان‌ها مورد استفاده قرار نمی‌گیرند. اگر چه توان درمانی سلول‌های بنیادی مورد مطالعه قرار گرفته است؛ اما الزامات و شرایط برای تمایز مستقیم به بافت مورد نظر یک چالش باقی مانده است.

جمع‌بندی

بافت بند ناف غنی از سلول‌های بنیادی است که قابلیت استفادهٔ بالایی دارد در این بین علی‌رغم توان بالاتر سلول‌های مزانشیمی بافت بند ناف، از خون بند ناف بیشتر استفاده می‌شود. این به چند دلیل اتفاق افتاده است، جمع‌آوری سلول‌های مزانشیمی به مراتب زمان برتر و دشوارتر از سلول‌های خون‌ساز است و اینکه مطالعه و بررسی روی سلول‌های مزانشیمی به تازگی شدت گرفته است. با این حال آیندهٔ روشنی برای استفاده از این سلول‌های پرتوان در درمان بیماری‌ها پیش‌بینی می‌شود.

پی‌نوشت‌ها

1. Human leukocyte antigen 2. dimethylsufoxide 3.Allogeneic

منابع

1. YURI A. ROMANOV, VERONIKA A. SVINTSITSKAYA, VLADIMIR N. SMIRNOV Searching for Alternative Sources of Postnatal Human Mesenchymal Stem Cells: Candidate MSC-Like Cells from Umbilical Cord STEM CELLS 2003;21:105-110
2. David T. Harris, PhD Collection, Processing, and Banking of Umbilical Cord Blood Stem Cells for Clinical Use in Transplantation and Regenerative Medicine
3. Sanberg PR, Willing Aeet al . Umbilical cord blood-derived stem cells and brain repair Ann N Y Acad Sci. 2005 May;1049:67-83
4. Ruhil S, Kumar V, Rathee P Umbilical cord stem cell: an overview. Curr Pharm Biotechnol. 2009 Apr;10(3):327-34.
5. Goldstein G, Toren A, Nagler Atransplantation and other uses of human umbilical cord blood and stem cells. Curr Pharm Des. 2007;13(13):1363-73.
6. Brown JA, Boussiotis VA. Umbilical cord blood transplantation: basic biology and clinical challenges to immune reconstitution. Clin Immunol. 2008 Jun;127(3):286-97
7. Cohen Y, Nagler A., Umbilical cord blood transplantation--how, when and for whom?
8. Seshareddy K, Troyer D, Weiss ML. Method to isolate mesenchymal-like cells from Wharton's Jelly of umbilical cord.Methods Cell Biol. 2008;86:101-19
9. Bojanić I, Golubić Cepulić B.Umbilical cord blood as a source of stem cells
10. Khushnuma Cooper and Chandra Viswanathan, Establishment of aMesenchymal Stem Cell Bank, Stem Cells International Volume 2011, Article ID 905621, 8 pages
11. van de Ven C, Collins D et al. The potential of umbilical cord blood multipotent stem cells for nonhematopoietic tissue and cell regeneration. Exp Hematol. 2007 Dec;35(12):1753-65. Epub 2007 Oct 18.
12. Mariane Secco a,1, Eder Zucconi a, et al. stem cells from umbilical cord: Do not discard the cord! Neuromuscular Disorders 18 (2008) 17–18
13. Nelson J. Chao, Stephen G. Emerson, and Kenneth I. Weinberg. Stem Cell Transplantation (Cord Blood Transplants)
14. María Carmen Arufe, Alexandre De la Fuente, et al. Umbilical cord as a mesenchymal stem cell source for
15. treating joint pathologies World J Orthop 2011 June 18; 2(6): 43-50 16. http://www.stemcellgf.org/index.aspx 17. http://www.buzzle.com/
18. http://www.insception.com/