

Tyypin 1 diabetes ja kantasoluhoito

LuK-tutkielma

Anni Lantta

2438706

Ekologian ja genetiikan yksikkö

Luonnontieteellinen tiedekunta

Oulun yliopisto

Avainsanoja: Tyypin 1 diabetes, sokeriaineenvaihdunta, kantasolujen erilaistaminen, kantasolusiirteet

Sisällysluettelo

1. Johdanto	2
2. Sokeriaineenvaihdunnasta.....	3
3. Tyypin 1 diabetes	4
3.1. Oireet ja liitännäissairaudet.....	7
4. Diagnosointi ja hoitaminen	8
4.1. Siirteet hoitokeinona	8
4.2. Immunoterapia	10
5. Kantasolut	11
5.1. Kantasolujen erilaistaminen.....	12
5.2. Kantasolujen siirtäminen.....	13
6. Lopuksi.....	15
Lähteet.....	17

1. Johdanto

Diabetes on yksi maailman yleisimmistä kansantaudeista. Siihen liittyy runsaasti erilaisia liitännäissairauksia ja sairaus johtaa hoitamattomana kuolemaan. Vuonna 2015 arvioitiin, että diabeetikkoja on maailmanlaajuisesti yhteensä 415 miljoonaa ja noin 5 miljoonaa ihmistä kuolee vuosittain diabeteksen ja sen liitännäissairauksien aiheuttamiin komplikaatioihin. Maailman terveysjärjestö WHO on arvioinut, että vuonna 2030 diabeetikkoja olisi jopa 552 miljoonaa. (Terveyden ja hyvinvoinnin laitos. 2015, You & Henneberg. 2016)

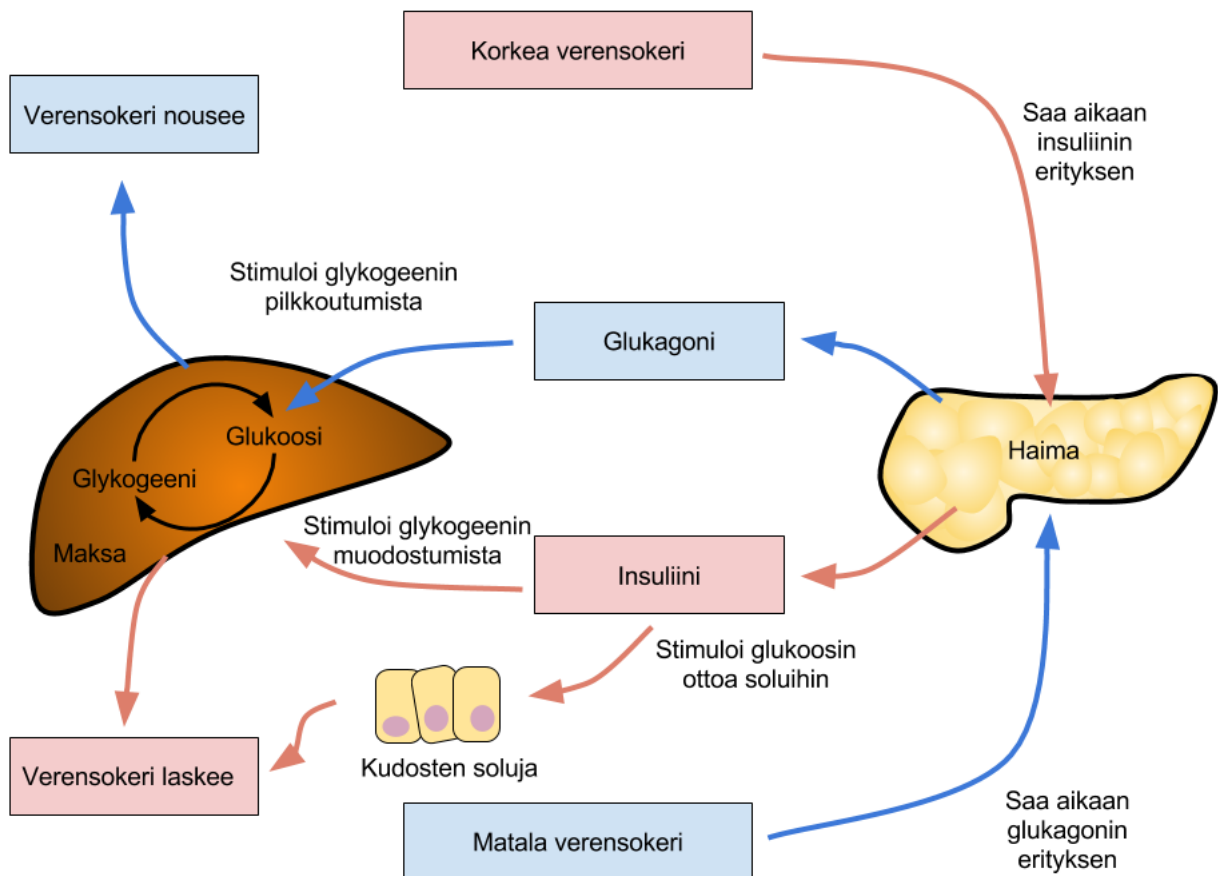
Tyypin 1 diabeteksen osuus kaikista diabetestapauksista on noin 5-10 %. Tyypin 1 diabetes on Suomessa yleisempää kuin missään muualla maailmassa. Sairastuneita on noin 50 000 ja vuosittain diagnosoidaan noin 60 uutta tapausta 100 000 asukasta kohti. Tyypin 1 diabeetikkojen määrä lisääntyy jatkuvasti. Diagnostiikan parantumisen lisäksi vaikuttavina taustatekijöinä on pidetty myös muun muassa elintapoja sekä eräitä virusinfektioita. Tyypin 1 diabeetikkoja onkin Suomessa nykyään viisi kertaa enemmän kuin 60 vuotta sitten ja perinnöllisen alttiuden vaikutus sairauden puhkeamiseen on vähäisempää kuin aikaisemmin. (Atkinson *et al.* 2014, Hyöty. 2016)

Tyypin 1 diabetes on parantumaton sairaus, joka heikentää sairastuneiden elämänlaatua ja eliniänodotetta merkittävästi. Perinteisen insuliinihoidon rinnalle on pyritty kehittämään uusia, tehokkaampia tapoja tarkkailla ja säädellä verensokeria. Yhä enemmän on tutkittu uusia verensokerin mittaustapoja sekä hoitomuotoja, joiden tavoitteena on saavuttaa tasainen verensokeri sekä itsenäinen insuliinintuotanto. (Vanikar *et al.* 2016)

Mahdollinen parannuskeino on korvata tuhoutuneet beetasolut toimivilla, insuliinia tuottavilla soluilla. Elimenluovuttajilta saatujen saarekesolusiirteiden käyttö on kehittynyt viime vuosien aikana, mutta ongelmaksi on muodostunut luovuttajien vähäinen määrä diabeetikoihin nähden sekä loppuelämän tarvittava hyljinnänestolääkitys. Optimaalinen hoitomuoto olisi siirtää potilaaseen mahdollisimman hyvin siedettyjä, toimivia beetasoluja. Kantasolututkimus onkin lisääntynyt viime vuosina ja esimerkiksi alkion kantasolujen erilaistaminen kypsiksi insuliinia tuottaviksi beetasoluiksi on edistynyt niin, että ensimmäisiä kokeita tyypin 1 diabeteksen kantasoluhoidosta on voitu tehdä. (Pellegrini *et al.* 2016)

2. Sokeriaineenvaihdunnasta

Hiilihydraatit, proteiinit ja rasvat ovat elimistön tärkeimpiä ravintoaineita. Ruoansulatusentsyymit pilkkovat ravintoaineita paremmin imeytyvään muotoon. Proteiinit ja hiilihydraatit imeytyvät elimistössä lähinnä aminohappoina ja monosakkarideina. Pilkkoutuneet ravintoaineet imeytyvät verenkiertoon joko suolistosta tai elimistön omista varastoista. Aterioiden välillä elimistö käyttää energianlähteenään solujen keräämiä energiavarastoja. Glukoosi eli rypälesokeri on solujen tärkein energianlähde. Ylimääräinen ravinnosta saatu glukoosi varastoidaan maksaan ja luustolihasiin glykokeeniksi, joka on pitkäketjuinen, haaroittunut polysakkaridi. Glykokeenivarastoja voidaan tarvittaessa pilkkoa jälleen glukoosiksi. Kun verensokeri laskee, haima alkaa erittää glukagonia, joka on maksan glykokeenin pilkkoutumista edistävä hormoni. Verensokerin säätelyn perusta on esitetty kuvassa 1. (Haug *et al.* 2012, 222)



Kuva 1. Verensokerin säätely. Veren sokeritason kohoaminen saa aikaan insuliinin erityksen haimasta. Insuliini edistää kudosten glukoosinottoa, jolloin verensokeri laskee glukoosin siirtyessä soluihin. Insuliini edistää glukoosin

varastomuodon, glykokeenin muodostumista maksassa. Verensokerin ollessa matala, haima alkaa erittää glukagonia, joka vaikuttaa maksaan kiihdyttäen varastoglykokeenin pilkkomista takaisin glukoosiksi ja verensokeri nousee jälleen. Alkuperäinen kuva: Marieb. 2001.

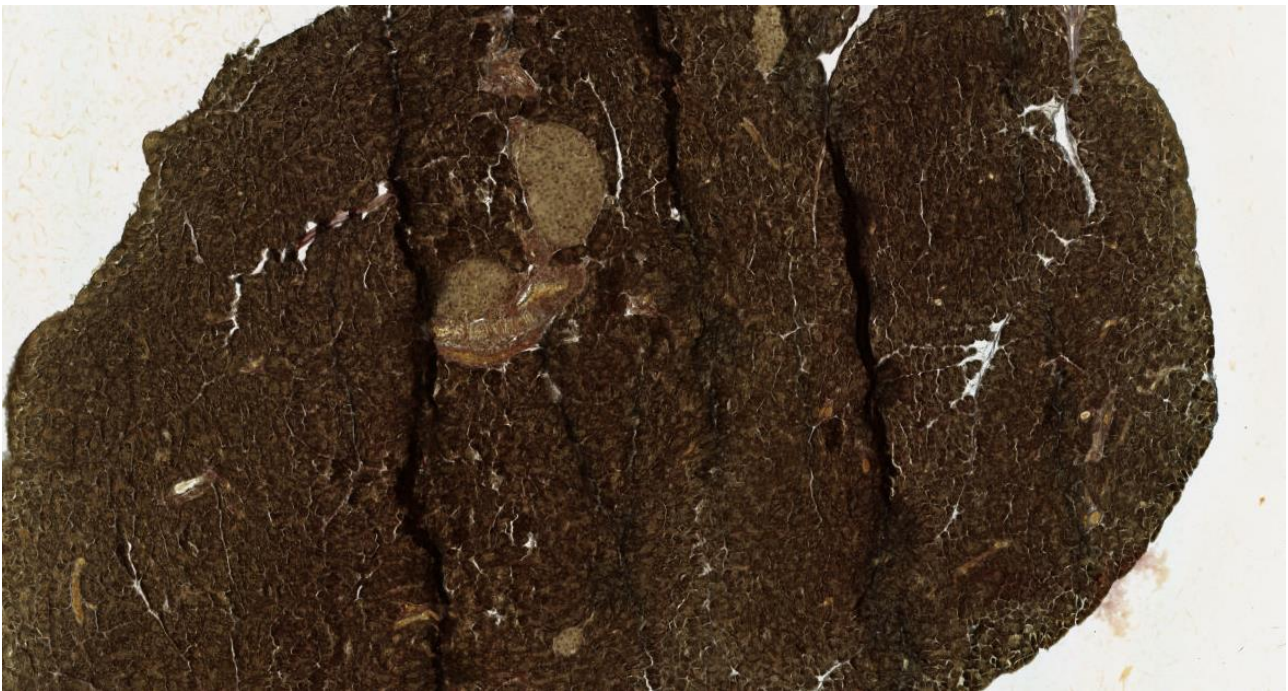
Insuliini on haiman beetasolujen tuottama peptidihormoni, jonka eritystä säädellään haiman läpi virtaavan veren glukoosipitoisuuden perusteella. Veren glukoosipitoisuuden ollessa korkea haima alkaa erittää insuliinia ja kun verensokeri laskee, insuliinin erityks estyy. Myös osa veressä olevista aminohapoista ja suoliston tuottamista hormoneista lisää insuliinin eritystä. Suoliston tuottamat hormonit erittyvät ja stimuloivat insuliinin tuotantoa heti ravinnon saapuessa maha-suolikanavaan, jo ennen kuin verensokeri on ehtinyt kohota. Myös autonominen hermosto osallistuu insuliinintuotannon säätelyyn, kun parasympaattinen hermosto aktivoituu ruokailun yhteydessä tehostaen suoliston hormonien eritystä. (Haug *et al.* 2012, 222)

Insuliinin tärkein tehtävä on auttaa soluja ottamaan ravintoaineita talteen verenkierrosta. Insuliini vaikuttaa solukalvojen kuljetusproteiineihin ja solunsisäisiin entsyymeihin. Glukoosi ja aminohapot ovat niin suurikokoisia molekyyliä, että ne eivät pääse solun sisään diffundoitumalla, vaan niitä varten tarvitaan kuljetusproteiineja. Kuljetusproteiinit sijaitsevat joko solukalvolla tai kalvon läheisyydessä solulimassa. Insuliini saa aikaan kuljetusproteiinien siirtymisen solulimasta solukalvolle, mahdollistaen ravintoaineiden siirtämisen solujen sisään. Insuliini lisää myös glukoosin ja aminohappojen pilkkomiseen osallistuvien entsyymien määrää tai tehostaa niiden toimintaa soluissa, mikä parantaa ravintoaineiden pilkkoutumista ja glykokeenin muodostumista. Insuliini vaikuttaa glukoosin kuljetukseen useissa kudoksissa, kuten luustolihaksissa ja rasvakudoksessa, mutta esimerkiksi aivojen ja maksan glukoosinotto ei vaadi insuliinia kudosten glukoosinsaannin turvaamiseksi. Lisäksi insuliini vaikuttaa rasvahappojen varastoitumiseen rasvakudoksessa. (Haug *et al.* 2012, 222-224)

3. Tyypin 1 diabetes

Haima koostuu eksokriinisestä eli avoeritteisestä ja endokriinisestä eli umpieritteisestä osasta. Kuvassa 2 on haiman histologinen näyte, jossa näkyy eksokriinisen ja endokriinisen kudoksen suhde ja sijoittuminen haimakudoksessa. Eksokriininen haima tuottaa ravintoaineita pilkkovia ruoansulatusentsyymejä, kuten hiilihydraatteja pilkkovaa amylaasia, lipidejä pilkkovia lipaaseja ja proteiineja pilkkovia peptidaaseja. Endokriininen osa muodostuu insuliinia tuottavista beetasoluista, glukagonia tuottavista alfasoluista ja somatostatiinia tuottavista deltasoluista. Deltasolujen tuottama

somatostatiini on ruoansulatuskanavan toiminnan säätelyyn osallistuva peptidihormoni, jota erittyy haiman lisäksi mahalaukusta ja hypothalamuksesta. Somatostatiini vaikuttaa nostamalla mahalaukun pH:ta ja tehostamalla nesteen imeytymistä suolistosta. Näiden lisäksi haima tuottaa myös pieniä määriä ruokahaluun vaikuttavaa greliiniä. Endokriiniset solut muodostavat haimassa soluryppäitä, joita kutsutaan Langerhansin saarekkeiksi. Beetasolut sijaitsevat saarekkeiden keskellä ja muodostavat suurimman osan saarekkeen soluista. Alfasolut ja deltasolut sijaitsevat saarekkeiden laidoilla. (Broglio *et al.* 2003, Kim *et al.* 2016)



Kuva 2. Histologinen näyte haimasta. Haiman endokriinisen osan muodostavat Langerhansin saarekkeet näkyvät näytteessä vaaleina soluryppäinä eksokriinisen osan keskellä. Tummmaksi värjäytynyt eksokriininen kudos muodostaa rauhaskammioita, joiden välissä on sidekudosta ja verisuonten poikkileikkauksia. Kuva: Histologian opetusnäytteet, ekologia ja genetiikka, Oulun yliopisto.

Tyypin 1 diabeetikon beetasolujen insuliinintuotanto on häiriintynyt tai beetasolujen tuhouduttua loppunut kokonaan. Tyypin 1 diabetes on yksi yleisimmistä lapsuusiän sairauksista ja se puhkeaa yleensä alle 40 vuoden iässä, tyypillisesti 5-7-vuotiaana tai teini-iässä, minkä vuoksi siitä käytetään myös nimitystä lapsuus- tai nuoruusiän diabetes. Tyypin 1 diabeteksen puhkeamiseen vaikuttavat sekä geenit että ympäristö. Myös tiettyntyyppiset virusinfektiot voivat edistää beetasolujen tuhoutumista. Erään enterovirusryhmän viruksia on pidetty todennäköisimpänä virusaltistajana, sillä ryhmän viruksia on löydetty tyypin 1 diabetekseen sairastuneiden henkilöiden haimanäytteistä. Nämä virukset kykenevät infektoimaan beetasoluja siten, että elimistön oma immuunipuolustus tuhoaa ne. (Atkinson *et al.* 2014, Hyöty. 2016)

Tyypin 1 diabeteksen aiheuttaa autoimmuunireaktio, jossa elimistön oma immuunipuolustus tuhoaa haiman insuliinia tuottavat beetasolut. Autoimmuunireaktioiden syitä ja toimintaa ei vielä tunneta, mutta useissa tutkimuksissa on löydetty yhteyksiä muun muassa varhaislapsuuden ravitsemukseen ja suolistomikrobeihin. Esimerkiksi altistuminen joillekin vieraille proteiineille, kuten lehmän maidon tai viljojen proteiineille, ennen suoliston riittävää kehittymistä on liitetty kohonneeseen sairastumisriskiin. Lehmänmaidon sisältämän insuliinin on arveltu aiheuttavan insuliiniin kohdistuvan immuunivasteen syntymistä suoliston ollessa vielä epäkypsä ihmisen ensimmäisten elinkuukausien aikana. (Hedman *et al.* 2011, 324)

Sairauden perinnöllinen alttius on yhdistetty yhteisvallitsevasti molemmilta vanhemmilta periytyvään HLA-alueeseen (human leukocyte antigen), joka vastaa immuunipuoluksesta ja sisältää yksilölliset kudostyyppivasta-aineet, joiden samankaltaisuutta tarkastellaan muun muassa elin- ja kantasolusiirtojen yhteydessä hyljinnän välttämiseksi. Osa HLA-alueen geneistä koodaa niin kutsuttuja HLA-molekyylejä, jotka jaetaan yleisesti kahteen pääryhmään. Luokan I molekyylejä löytyy lähes kaikkien tumallisten solujen pinnalta ja ne kykenevät sitomaan itseensä 8-10 aminohapon pituisia peptidejä, jotka voivat olla osia joko solun omista proteiineista tai solun infektoineista mikrobeista. Immuunipuolustuksen sytotoksiset T-solut tunnistavat HLA-molekyylien esittelemät vieraat peptidit ja tappavat infektoituneet tai jostain muusta syystä muuttuneita proteiineja tuottavat solut. Luokan II HLA-molekyylit ilmestyvät soluissa, jotka osallistuvat immuunivasteen käynnistykseen ja esittelevät vieraita antigeenejä auttaja-T-soluille. Tällaisia soluja ovat T-soluja aktivoivat dendriittisolut, makrofagit sekä B-lymfosyytit, jotka kykenevät fagosytoimaan, eli ottamaan sisäänsä mikrobeja tai vieraita rakenteita. Tyypin 1 diabeteksen lisäksi HLA-alueen genejä on yhdistetty myös riskiin saada jokin muu autoimmuunisairaus, kuten keliakia, punahukka tai MS-tauti. (Hedman *et al.* 2011, 73-75)

Tyypin 1 diabeteksen aiheuttajana pidetään soluvälitteistä autoimmuunireaktiota, jossa puolustusreaktion taustalla ovat solut, eivätkä liukoiset vasta-aineet. Potilaiden verestä voidaan havaita B-lymfosyyttien tuottamia saarekesolujen autovasta-aineita jopa vuosia ennen sairauden puhkeamista ja sairastuneilla on havaittu soluvälitteistä immunitettä beetasolujen autovasta-aineita kohtaan. Toistaiseksi ei kuitenkaan tiedetä, miten beetasoluvasta-aineita havaitsevia T-lymfosyyttejä pääsee syntymään ja kypsyään beetasoluja tuhoaviksi soluiksi, sillä T-soluja seulotaan kypsyamisprosessin aikana useita kertoja sen varalta, etteivät ne reagoisi liikaa kehon omiin kudoksiin. Tyypin 1 diabetes on yhdistetty erityisesti luokan II HLA-geeneihin, mutta taustalla voi olla myös jokin HLA-alueen ulkopuolinen geeni, esimerkiksi insuliinigeeni. Muutokset

insuliinigeenissä voivat vaikuttaa insuliinin imeytymiseen kateenkorvassa, jossa T-solujen kehitys ja kypsyminen tapahtuu. (Hedman *et al.* 2011, 322-323)

3.1. Oireet ja liitännäissairaudet

Tyypin 1 diabeteksen tyypillisiä oireita ovat lisääntynyt virtsaneritys, jatkuva jano, painon putoaminen ja väsymys. Oireet alkavat sairauden puhjettua melko nopeasti. Tyypin 1 diabetekseen liittyy myös erilaisia liitännäissairauksia, joita esiintyy varsinkin verenkiertoelimistössä, hermostossa ja munuaisissa. Yleisimpiä liitännäissairauksia ovat muun muassa diabeettinen retinopatia, joka on näköä heikentävä verkkokalvon sairaus, diabeettinen nefropatia, jossa virtsaan erittyy proteiinia ja diabeettinen neuropatia eli diabetekseen liittyvät hermovauriot, joita voi ilmetä sekä somaattisessa eli tahdonalaisessa hermostossa että autonomisessa eli tahdosta riippumattomassa hermostossa. Vakavimpia yksittäisiä komplikaatioita ovat muun muassa sydäninfarktit ja kuoliot. Hoitamattomana sairaus johtaa kuolemaan noin 2-4 vuoden sisällä puhkeamisesta. Liitännäissairauksien takia diabeetikkojen eliniänodote on edelleen lyhyempi insuliinihoidosta huolimatta. (Haug *et al.* 2012, 223)

Liian korkea tai matala verensokeri aiheuttaa diabeetikoille komplikaatioita. Hyperglykemia eli liian korkea verensokeri laskee verenpainetta ja heikentää verenkiertoa muun muassa aivoissa. Hyperglykemiasta puhutaan yleensä tilanteissa, joissa verensokeri on ylittänyt 15 mmol/l. Insuliinin puuttuessa veren rasvahappopitoisuus kasvaa, kun vapaiden rasvahappojen varastointi rasvakudokseen heikentyy. Elimistön pH laskee, kun happojen määrä elimistössä nousee. Tällöin syntyvä ketoasidoosi eli happomyrkytys johtaa tajuttomuuteen, diabeettiseen koomaan ja lopulta kuolemaan. Hypoglykemialla puolestaan tarkoitetaan liian matalaa verensokeria, jossa verensokeri on tyypillisesti alle 4 mmol/l. Hypoglykemia johtuu diabeetikoilla useimmiten liian suuresta insuliiniannoksesta, mutta hypoglykemian syntymiseen voivat vaikuttaa myös muun muassa runsas liikunta, vähäinen syöminen tai runsas alkoholinkäyttö. Tällöin aivot saavat liian vähän glukoosia ja oireina esiintyy tajunnan tason laskua, kouristuksia, tajuttomuutta ja lopulta vakavia aivovaurioita. (Atkinson *et al.* 2014, Tang & Desai. 2016)

Sairauden kurissapitäminen veren glukoositasoja tarkkailemalla ja insuliinia pistämällä on haastavaa. Keinotekoisella insuliinilla ei saada matkittua terveen haiman saarekesolujen toimintaa ja insuliinihoidosta huolimatta sairaus yleensä etenee ja potilaalle kehittyy pikkuhiljaa liitännäissairauksia. Viime vuosina onkin ryhdytty miettimään helpompia verensokerin

mittausmenetelmien ja veren glukoositasoja jatkuvasti monitoroivien laitteiden lisäksi insuliinia tuottavia soluja sisältävien siirteiden käyttöä sairauden hoitamiseksi. (Okere *et al.* 2016)

4. Diagnosointi ja hoitaminen

Luotettavin tapa diagnosoida tyypin 1 diabetes on mitata verensokerin lisäksi veressä olevan C-peptidin määrä. C-peptidi on haiman saarekesolujen tuottama esihormoni, josta insuliini muodostuu verenkiertoon eritettäessä. Mikäli C-peptidin määrä seerumissa on vähäinen, voidaan olettaa, että saarekesolujen toiminnassa on häiriöitä. Normaali paastoverensokeri on noin 4-6 mmol/l ja paastoarvon ylittäessä 6 mmol/l on syytä tehdä tarkempia tutkimuksia. Seerumista voidaan tarkastella myös merkkejä autoimmuunisairaudesta, joita ovat tyypin 1 diabeteksen tapauksessa muun muassa beetasolujen vasta-aineet sekä irralliset saarekesolut. (Atkinson *et al.* 2014)

Suurimmalta osalta vastadiagnosoiduista potilaista löytyy verestä yksi tai useampi autovasta-aine, joita ovat muun muassa insuliinivasta-aine (IAA), glutamiinihappodekarboksylaasi (GADA) sekä insulinooma-antigeeni 2 (IA2A). (Vanikar *et al.* 2016) Tyypin 1 diabetekselle on löydetty useita altistavia HLA-alleeliyhdistelmiä, jotka voidaan todeta geenitestien avulla tukemaan esimerkiksi verestä löytyneitä vasta-ainehavaintoja. (Hedman *et al.* 2011; 323)

Tyypin 1 diabetekselle ei tunneta ehkäisy- tai parannuskeinoja. Sairautta hoidetaan tarkkailemalla verensokeria ja pistämällä insuliinia tarpeen mukaan. Potilaan hiilihydraattien saanti pyritään pitämään mahdollisimman tasaisena. Ruokailujen yhteydessä pistetään nopeasti vaikuttavaa insuliinia ja taustalla käytetään pitkävaikutteista insuliinia, joka tasaa verensokeria öisin ja aterioiden välillä. Insuliinitasoja voidaan säädellä myös insuliinipumpun avulla. Pumppu annostelee nopeavaikutteista insuliinia ihon alle automaattisesti ja se säädetään annostelevaan insuliinia yksilökohtaisen, ympärivuorokautisen tarpeen mukaan. (Atkinson *et al.* 2014, Suomen Diabetesliitto ry)

4.1. Siirteet hoitokeinona

Elin- ja kantasolusiirteiden yhteydessä tarkastellaan sekä luovuttajan että vastaanottajan HLA-alueita. HLA-molekyylit osallistuvat elimistön puolustusjärjestelmään havaitsemalla poikkeavia rakenteita ja tarvittaessa käynnistämällä immuunipuolustuksen. Jos luovuttajan ja vastaanottajan HLA-molekyylit eroavat toisistaan rakenteellisesti, vastaanottajan immuunipuolustus tunnistaa

siirteet poikkeaviksi ja käynnistää immuunireaktion siirrettä vastaan. Ennen elinsiirtoa on myös tärkeää testata, ettei vastaanottaja ole muodostanut vasta-aineita luovuttajan solutyyppejä vastaan jo aiemmin esimerkiksi verensiirron, raskauden tai aiemman elinsiirron seurauksena. (Hedman *et al.* 2011, 86)

Koko haiman siirtäminen vaatii suuren leikkaustoimenpiteen ja voimakkaan hyljinnänestolääkityksen. Kokonaisen, toimivan elimen siirtäminen on toistaiseksi ollut muita hoitokeinoja toimivampi tapa saavuttaa itsenäisen insuliinintuotanto. Haiman siirtoja tehdään lähinnä niille potilaille, jotka tarvitsevat myös munuaissiirteen nefropatian takia. Vuoden jälkeen leikkauksesta 80-85 % potilaista on säilyttänyt itsenäisen insuliinintuotannon ja yli puolella siirteen saaneista insuliinintuotanto on jatkunut vähintään viisi vuotta. Vaikka useat potilaat ovat saaneet apua haimansiirrosta, leikkaus on vaativa ja kuolleisuus 10 vuoden sisällä leikkauksesta jopa 22 %. Kajoavan ja haastavan toimenpiteen lisäksi siirteen saaneilla potilailla on esiintynyt myös diabeteksen uusiutumista ja 30 % potilaista on tarvinnut uuden leikkauksen puolen vuoden sisällä siirteen saamisesta. (Corritore *et al.* 2016, Vanikar *et al.* 2016)

Haimasta eristettyjen saarekesolujen siirtäminen on helpompi toimenpide ja saarekesolusiirteen saaneista potilaista noin 44 % selviää ilman lääkainsuliinia vielä kolmen vuoden jälkeen toimenpiteestä. Tehokkaamman hyljinnänestolääkityksen ansiosta siirteiden säilyminen toimintakykyisinä on parantunut entisestään. (Corritore *et al.* 2016) Edmontonin protokollan mukaan saarekesolut eristetään mekaanisesti ja entsyymaattisesti luovuttajan haimasta. Tämän jälkeen solut puhdistetaan ja ruiskutetaan vastaanottajan maksaan porttilaskimon kautta. Siirteet kiinnittyvät hyvin ja niihin kehittyy nopeasti verenkierto. Tutkimusten mukaan ne potilaat, jotka saavat siirteitä useammalta luovuttajalta, saavuttavat parhaat tulokset. Vaikka tulokset ovat vaikuttaneet 12 kuukauden seurantajaksojen aikana hyviltä, vain noin 10 % potilaista säilyttää itsenäisen insuliinintuotannon viiden vuoden jälkeen toimenpiteestä. Osalla insuliinintuotanto on osittaista ja osalla siirteet kuolevat kokonaan. (Tang & Desai. 2016)

Ongelmana sekä haiman että saarekesolujen siirtämisessä on kuitenkin taustalla oleva autoimmuunireaktio, joka voi kohdistua myös siirteisiin, mikä osaltaan vaikuttaa tulosten pysyvyyteen. Sekä saarekesolusiirteet että haiman siirto vaativat loppuelämän kestävän hyljinnänestolääkityksen, joka heikentää immuunipuolustusta ja lisää infektioiden ja pahanlaatuisten solumuutosten määriä sekä vaurioittaa sisäelimiä. Suuri ongelma on myös diabeetikkojen valtava määrä suhteessa elimenluovuttajiin; Yhdysvalloissa diagnosoidaan

vuosittain noin 30 000 uutta diabetestapausta ja haimanluovuttajia on vain noin 1000. (Tang & Desai. 2016)

4.2. Immunoterapia

Immunoterapian avulla pyritään muuttamaan potilaan immuunivastetta tukemalla immuunijärjestelmän toimintaa taudinaiheuttajia vastaan tai hillitsemällä elimistölle haitallista, liian aktiivista puolustusreaktiota. Immunoterapiaa käytetään yleensä elinsiirtojen yhteydessä ja autoimmuunisairauksien hoidossa. Immunosuppression avulla pyritään hillitsemään ja estämään haitallisia immuunireaktioita esimerkiksi kudossiirteiden yhteydessä, joita elimistö hylkii yleensä tulehdusreaktioiden avulla. (Hedman *et al.* 2011, 371)

Tyypin 1 diabeteksen aiheuttavassa autoimmuunireaktiossa elimistön immuunipuolustuksen solut tuhoavat haiman beetasoluja. Autoimmuunireaktioiden hillitsemiseksi on kokeiltu useita erilaisia immunoterapiamuotoja, kuten T-lymfosyyttejä aktivoivia vasta-aineita ja luuydinsiirtoja. Autoimmuunisairauksia sairastavien potilaiden regulatoristen T-solujen (T_{reg}) on havaittu olevan puutteellisia. Regulatoristen T-solujen tehtävänä on hillitä muita immuunipuolustuksen soluja ja estää niiden reagoimista elimistön omiin kudoksiin. Regulatoriset T-solut hillitsevät myös normaaliin, patogeneisiin kohdistuvien vastereaktioiden kasvamista liian voimakkaiksi. Ne osallistuvat myös immuunivasteiden lopetukseen infektioiden jälkeen. Regulatorisiin T-soluihin ja niiden tukemiseen pyrkivä hoitomuoto voisikin olla askel kohti tyypin 1 diabeteksen parantamista. (Bluestone *et al.* 2015)

Mesenkymaalisten kantasolujen käytöstä immunologisten reaktioiden säätelyssä on saatu lupaavia tuloksia. Mesenkymaaliset kantasolut vaikuttavat elimistön T- ja B-soluvasteeseen sekä hillitsevät tulehdusreaktioita muun muassa vähentämällä solujen tuhoamista ja sytokiinin eritystä ja kasvattamalla regulatoristen T-solujen ja dendriittisolujen määrää. Mesenkymaaliset kantasolut lisäävät B-solujen elinkelpoisuutta ja vaikuttavat vasta-aine-eritykseen sekä estävät dendriittisolujen kypsymistä, aktivaatiota ja antigeenien esittelyä vähentäen näin immuunireaktioita. (Uccelli *et al.* 2007)

5. Kantasolut

Kantasolut ovat erilaistumattomia soluja, jotka voivat erilaistua miksi tahansa ihmiskehon solutyypiksi. Kantasoluilla sanotaan olevan kaksi ominaisuutta: kyky tuottaa itsensä kaltaisia kantasoluja tai erilaistua joksikin muuksi solutyypiksi. Hedelmöittyneen munasolun solut ovat totipotentteja eli kaikkikykyisiä, eli ne voivat erilaistua mihin tahansa solutyyppeihin ja kykenevät muodostamaan kokonaan uuden yksilön. Alkionkehityksen edetessä blastokysti- eli alkiorakkulavaiheeseen alkion sisemmät solut ovat pluripotentteja eli monikykyisiä, erilaistumattomia soluja, jotka voivat jakautua rajattomasti ja erilaistua alkion kolmeksi eri solukerrokseksi: endodermiksi, mesodermiksi ja ektodermiksi. Sisimmän solukerroksen, endodermin soluista muodostuvat myöhemmässä vaiheessa ruoansulatuskanavan solut sekä keuhkojen ja hengitysteiden epiteelisolut. Mesodermin eli keskimmäisen solukerroksen soluista muodostuvat veren, lihasten ja sidekudoksen solut sekä mesodermistä muodostuvien kudosten kantasolut, joita kutsutaan mesenkymaaliseksi kantasoluiksi. Alkion uloimman solukerroksen, ektodermin soluista muodostuvat hermosolut ja ihon epiteelisolut. Alkiorakkulavaiheen jälkeen pluripotentteja kantasoluja löytyy epiblastisolukosta ja ituradan solukosta. (Sariola *et al.* 2015, 74-76)

Myös aikuisen ihmisen elimistöstä löytyy kantasoluja, jotka eivät kuitenkaan ole pluripotentteja, vaan multi- tai unipotentteja sen perusteella, kuinka montaa eri solutyyppeä niistä muodostuu. Esimerkiksi luuytimen kantasolut voivat erilaistua miksi tahansa verisoluksi ja ovat multipotentteja, samoin kuin mesenkymaaliset kantasolut. Munasarjojen ja kivesten kantasolut ovat unipotentteja, sillä niistä voi tulla vain munasoluja tai siittiöitä. Jatkuvaan jakautumiseen ja erilaistumiseen kykeneviä kantasoluja on löydetty muun muassa keskushermostosta sekä kaikista uusiutumiskykyisistä kudoksista, kuten luuytimestä, joka tuottaa uusia veri- ja luusoluja sekä ihosta ja suolistosta, joiden pinnat uusiutuvat jatkuvasti. Tällaisia niin kutsuttuja kudostantasoluja löytyy lähes jokaisesta kudoksesta. Aikuisen ihmisen erilaistuneita soluja voidaan ohjelmoida takaisin pluripotentteiksi kantasoluiksi pakottamalla ne ilmentämään varhaisen alkionkehityksen aikaisia transkriptiotekijöitä. (Sariola *et al.* 2015, 18-19, 76)

Kantasolujen jakautuminen tapahtuu joko symmetrisesti tai asymmetrisesti. Symmetrisessä jakautumisessa syntyvät tytärsolut ovat keskenään identtisiä, joko kantasoluja tai erilaistuneita soluja ja asymmetrisessä jakautumisessa toinen syntyvistä tytärsoluista on kantasolu ja toinen johonkin solutyyppeihin erilaistunut solu. Kantasolujen määrää saadaan lisättyä vain symmetrisen

jakautumisen kautta. Jakautumistapaan vaikuttavat sekä solunulkoiset että -sisäiset tapahtumat. Asymmetrisen jakautumisen taustalla olevia sisäisiä syitä ovat muun muassa tilanteet, joissa RNA tai säätelyproteiinit ovat jakautuneet epätasaisesti tytärsolujen kesken, mitoosissa esiintyvän sukkulan epätavallinen suuntautuminen tai DNA:n kahdentumisen aikana tapahtuneet virheet. Ulkoisiin syihin vaikuttavat kudokantasolujen sijainti sekä liitokset viereisten solujen kanssa. (Sariola *et al.* 2015, 76)

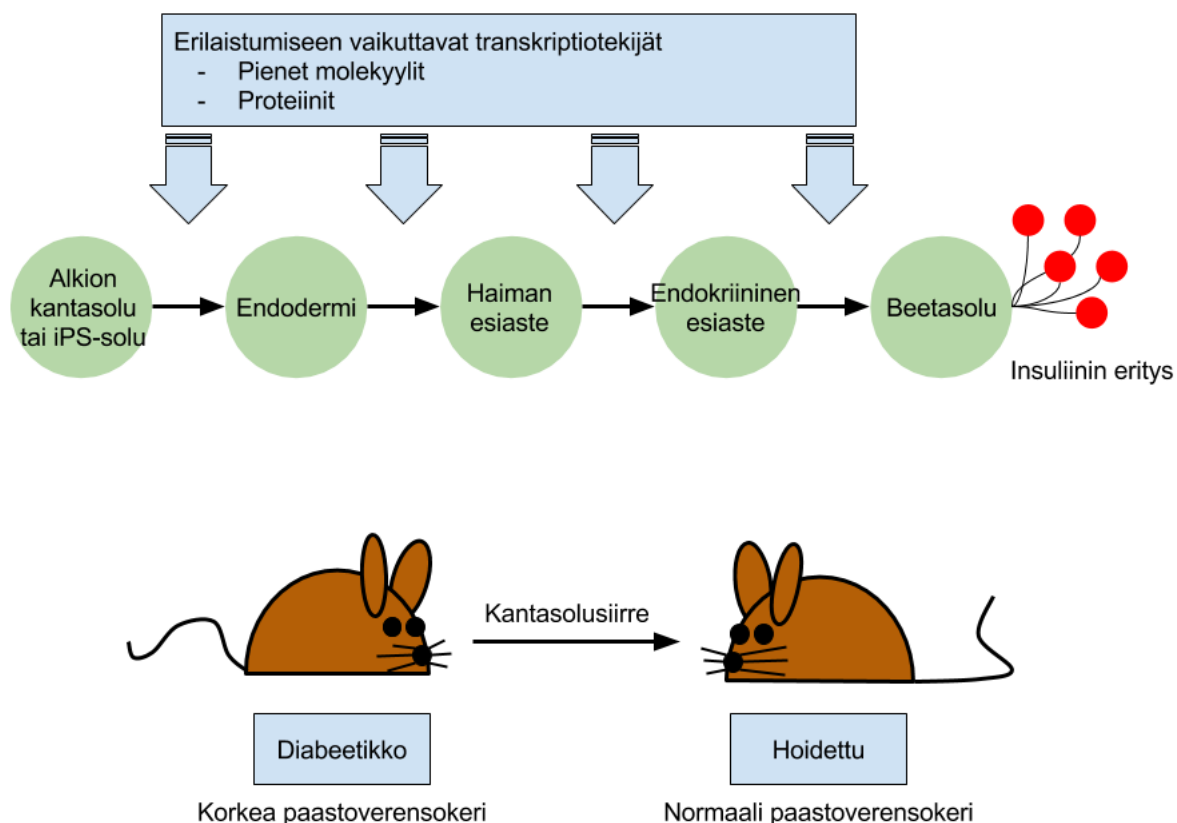
Insuliinia tuottavien haiman beetasolujen kehittäminen tarjoaisi mahdollisuuden kehitellä sekä testata uudenlaisia lääkkeitä ja kantasolutekniikoita diabeteksen hoidossa. Elintenluovuttajilta saatujen saarekesiirteiden vähäinen määrä ja huono laatu ovat rajoittaneet sekä potilaisiin tehtävien siirteiden että oikeilla kudoksilla tehtyjen tutkimusten määrää. Ongelmana on pitkään ollut se, että ihmisen pluripotentista kantasoluista erilaistetuista beetasoluista on puuttunut useita aidoille beetasoluille ominaisia tekijöitä. Viime vuosina on kuitenkin saatu aikaan myös toimivia beetasoluja, jotka ilmentävät aitojen beetasolujen merkkigeenejä, reagoivat glukoosiin, pakkaavat insuliinia eritysrakkuloihin ja erittävät rakkulat solujen ulkopuolelle. Ihmisen kantasoluista erilaistetut beetasolut on myös saatu toiminaan ja erittämään insuliinia, kun ne on siirretty koe-eläimenä käytettyihin, tyyppi 1 diabetesta sairastaviin hiiriin. (Pagliuca *et al.* 2014)

5.1. Kantasolujen erilaistaminen

Alkiorakkulan sisälaidalle syntyvän sisäsolumassan solut ovat pluripotentteja ja ne voidaan kerätä ja ottaa soluviljelyyn. Kantasoluviljelmiä voidaan kasvattaa rajattomasti. Pluripotentteja kantasoluja voidaan eristää esimerkiksi blastokystivaiheen alkion tai 5-9 viikon ikäisen alkion itusoluista. Alkion kantasolulinja saadaan aikaan erottamalla noin viiden päivän ikäisen blastokystin epiblastikudosta soluviljelyyn. Tällaiset kantasolut voidaan stimuloida erilaistumaan kaikiksi aikuisen ihmisen solutyypeiksi. (Sariola *et al.* 2015, 74-75)

Alkion kantasolut ja aikuisen ihmisen kantasoluista indusoidut pluripotentit kantasolut saadaan erilaistumaan haiman soluiksi matkimalla normaalia alkionkehitystä laboratorio-olosuhteissa. Vuosien kuluessa erilaistamiseen on kehitelty useita käytäntöjä, joiden avulla erilaistaminen kohti haiman endokriinista osaa onnistuu parhaiten. Alkion kantasoluista tai aikuisen ihmisen soluista indusoitujen kantasolujen erilaistaminen beetasoluiksi on esitetty kaavamaisesti kuvassa 3. Käytännöllä on yhteisiä toimintatapoja, joihin kuuluvat muun muassa erilaiset käsittelyt, kuten käsittely retinoidihapolla, transformoivalla kasvutekijä beetalla (TGF- β), nikotiiniamidilla,

keratinosyyttikasvutekijällä, fibroblastisella kasvutekijällä, insuliinilla sekä sonic hedgehog - antagonistilla. Erilaistuminen tapahtuu noin 3-4 viikon inkubaation jälkeen. Erilaistamisen aikana kantasolut käyvät läpi tyypillisiä haiman kehitysvaiheita, kunnes beetasolumerkkiaineet alkavat ilmentyä. Jyrsijäkokeissa on saatu aikaan insuliinia tuottavia soluja, jotka ohjelmoituvat kypsiksi beetasoluiksi noin 3-4 kuukauden aikana. (Corritore *et al.* 2016)



Kuva 3. Kantasolujen erilaistaminen beetasoluiksi. Ihmisen alkion kantasoluista tai indusoiduista kantasoluista eristetyt kantasolut saadaan käymään läpi alkioaikana tapahtuva erilaistuminen kohti beetasoluja. Kantasoluja käsitellään alkionkehityksen aikana kuhunkin vaiheeseen osallistuvilla transkriptiotekijöillä. Kantasolut käsitellään erilaistumaan ensin kohti alkion endodermiä, minkä jälkeen ne ohjataan kehittymään kohti haimaa ja haiman endokriinistä osaa. Lopulta solut erilaistetaan kypsiksi beetasoluiksi, jotka reagoivat glukoosipitoisuuden muutoksiin ja tuottavat sekä vapauttavat insuliinia. Alkuperäinen kuva: Pagliuca *et al.* 2017.

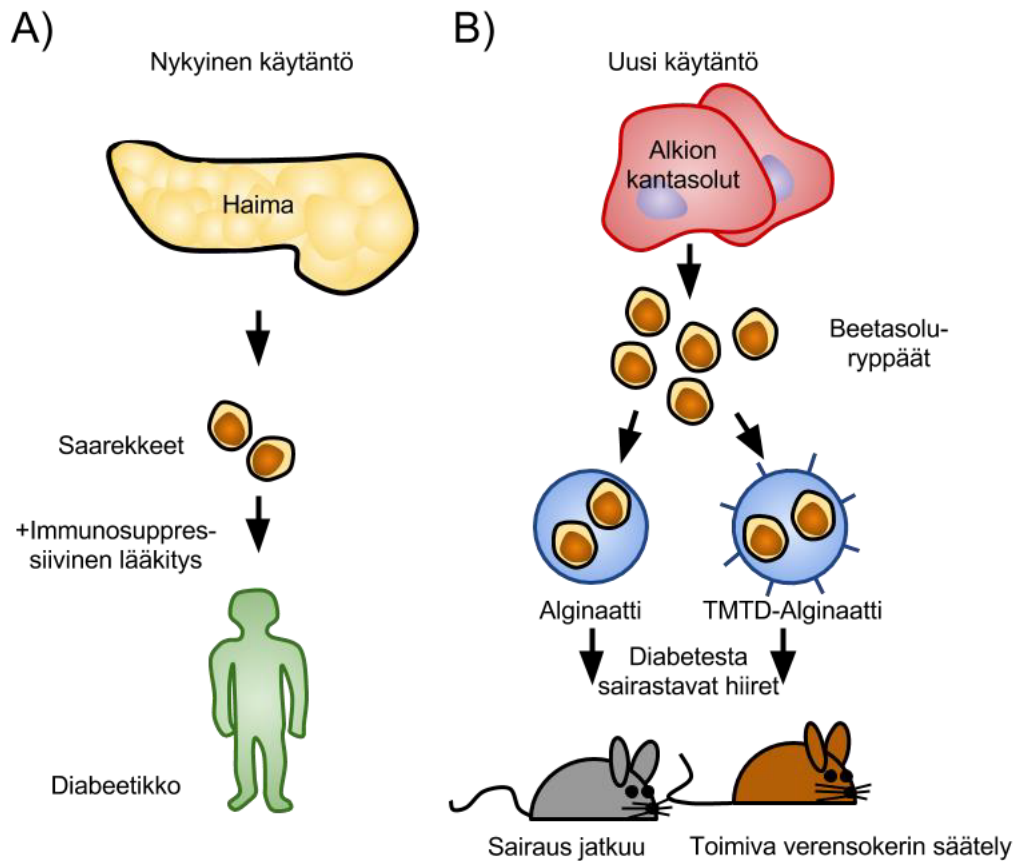
5.2. Kantasolujen siirtäminen

Rezanian ym. kokeessa ihmisen alkion kantasoluista erilaistettuja beetasoluja on siirretty sekä terveisiin että tyypin 1 diabetesta sairastaviin hiiriin. Hiiret alkoivat tuottaa ihmisen C-peptidiä ja

taso nousi kahdessa viikossa yli 1 ng/ml. Tilastollisesti merkitsevä ihmisen C-peptidin tuotanto alkoi kuuden viikon kuluttua siirteestä sekä terveillä että sairailta hiirillä. Diabetesta sairastavien hiirten veren glukoosipitoisuus laski siten, että 16 päivää beetasolujen siirtämisestä verensokerissa ei ollut enää merkitsevää muutosta suhteessa ennen sairauden indusoimista mitattuun verensokeriin. Sairaat hiiret saavuttivat normaalin paastoverensokerin, kun beetasolujen siirrosta oli kulunut 40 päivää. 60 päivän päästä siirrosta verensokeritaso oli merkitsevästi alempi kuin ennen diabetesta. Kun siirteet poistettiin, ihmisen C-peptidi hävisi seerumista ja korkea verensokeri palautui kahden vuorokauden kuluessa. (Rezania *et al.* 2014)

Hiirillä on myös tehty kokeita, joissa kantasoluista tuotetut insuliinia tuottavat solut on laitettu kapselin sisään. Puoliläpäisevän kapselin on tarkoitus läpäistä happea ja ravinteita sekä glukoosia ja insuliinia, mutta suojella sisällä olevia soluja elimistön immuunipuolustukselta. Tarkoituksena on, että kapselin ansiosta potilaan ei tarvitsisi syödä voimakkaita hyljinnänestolääkkeitä kapselin suojellessa siirrettä. Tutkimuksissa on keskitytty lähinnä alginaatilla päällystettyihin, haimasta eristettyihin saarekkeisiin. Toimenpidettä pidetään turvallisena, mutta pitkäkestoista hyötyä ei ole saavutettu. Suuri osa saarekesoluista kuolee hapenpuutteeseen, sillä kapseli estää verisuonten kasvamisen siirteisiin. Kapseli voi myös heikentää beetasolujen nopeutta reagoida verensokerin kohoamiseen diffuusiomatkojen ollessa pidempiä. Suurena haasteena ovat myös elimistön reaktiot kapselin rakenteita kohtaan. Luontainen immunitetti havaitsee vieraat rakenteet ja estää niiden ravinteidensaannin. Siirteissä tapahtuu fibroosia, eli niihin alkaa muodostua sidekudosta ja lopulta siirre joutuu kuolioon. Vastaavia tuloksia on ilmennyt myös siirrettäessä kapseleissa muista lajeista eristettyjä saarekkeita tai haiman esiasteen soluja. (Vegas *et al.* 2016)

Immuunipuolustukselta suojautumiseen voi vaikuttaa muun muassa siirrettävän partikkelin koko ja kapselin materiaali. Vegasin ym. kokeissa havaittiin, että kemiallisesti muokatut alginaatit, kuten triatsoli-tiomorfoliinidioksidi (TMTD), voivat estää fibroosin syntymistä. Hiirillä tehdyissä kokeissa (kuva 4) TMTD:llä kapseloidut siirteet ruiskutettiin vatsaonteloon, jossa ne kiinnittyivät tehokkaasti ja reagoivat veren glukoosipitoisuuden kohoamiseen erittämällä insuliinia pidempikestoisesti, ilman tarvetta hyljinnänestolääkitykselle. (Vegas *et al.* 2016)



Kuva 4. Tyypin 1 diabeteksen hoitaminen nyt ja tulevaisuudessa. A) Elimenluovuttajien haimoista eristetään saarekesoluja, jotka siirretään vastaanottajan maksan porttilaskimoon. Siirteet vaativat loppuelämän kestävän hyljinnänestolääkityksen. B) Uusimmissa kokeissa verensokerin säätely on saatu tasattua ihmisalkion kantasoluista erilaistetuilla beetasoluilla, jotka ympäröidään muokatuilla alginaattikapseleleilla ja siirretään vatsaonteloon. Alkuperäinen kuva: Tang & Desai. 2016.

6. Lopuksi

Kiinnostus tyypin 1 diabeteksen parantamiseen on herännyt viime vuosina. Sairaus koskettaa erityisesti nuoria ja vaikuttaa heidän päivittäiseen elämäänsä. Tavoitteena on palauttaa ja normalisoida itsenäinen verensokerin säätely sekä saada kuriin tautiin liittyvät liitännäissairaudet. Mahdollisuuksia sairauden ennaltaehkäisyyn geneettisesti alttiilla henkilöillä tutkitaan myös.

Kantasolut tarjoavat loputtoman määrän materiaalia haiman saarekesolujen tuottamiseksi sekä tutkimuksia että potilaisiin tehtäviä siirteitä varten. Alkion kantasoluja pidetään yleisesti somaattisista soluista indusoituja kantasoluja soveltuvampina tutkimuskäyttöön, erityisesti niiden

nopeamman jakautumistahdin takia. Kantasoluhoidot ovat lisääntyneet huomattavasti viimeisen vuosikymmenen aikana ja kantasolujen käyttö tuhoutuneiden beetasolujen korvaamisessa on suurimmaksi osaksi peittänyt alleen ajatuksen saarekesiirteistä. Kantasoluhoidot tyypin 1 diabeteksen parantamiseksi ovat kuitenkin vasta alkutekijöissään ja haasteita on vielä edessä. Kantasoluista erilaistettujen beetasolujen tulee kyetä itsenäiseen insuliinintuotantoon veren glukoosipitoisuuden perusteella ja niiden on kudostyypiltään vastattava potilaan kudostyyppiä mahdollisimman hyvin.

Aiheesta on tehty paljon tutkimuksia ja kokeita, mutta ensimmäisiin, ihmisellä tehtäviin kliinisiin kokeisiin on vielä matkaa. Toistaiseksi eläimilleillä tehdyt kokeet eivät ole tuottaneet riittävää hoitovastetta. Kantasoluhoidoihin liittyy runsaasti erilaisia huomioita otettavia tekijöitä ja erityisesti alkion kantasolujen käyttöön liittyy painavia eettisiä kysymyksiä. Kasvaimet ovat edelleen merkittävä kantasolujen käyttöön liittyvä huolenaihe ja kokeissa onkin ilmennyt ylimääräistä mesodermin muodostumista. Useille syöpätyypeille on tyypillistä sikiönkehityksen aikana vaikuttavien geenien aktivoituminen. (Sariola *et al.* 2015, 19)

Kantasolututkimuksen lisäksi immunoterapia, immuunipuolustukselta suojaavien kapselien kehitys ja siirteiden verenkierron turvaaminen ovat tärkeitä tulevaisuuden tutkimusaiheita. Erityisesti autoimmuunireaktioiden syntyyn ja ehkäisyyn liittyvää tutkimustietoa tarvitaan lisää. Tyypin 1 diabetes on monimutkainen sairaus, johon liittyy useita toistaiseksi melko tuntemattomiakin geneettisiä ja ympäristöön liittyviä tekijöitä. Taustalla olevien syiden selvittäminen ja sairauden puhkeamiseen vaadittavien mekanismien ymmärtäminen on ensimmäinen askel kohti tyypin 1 diabeteksen parantamista.

- Atkinson MA, Eisenbarth GS & Michels AW. (2014) Type 1 diabetes. *Lancet* 383(9911): 69-82.
- Bluestone JA, Buckner JH, Fitch M, Gitelman SE, Gupta S, Hellerstein MK, Herold KC, Lares A, Lee MR, Li K, Liu W, Long SA, Masiello LM, Nguyen V, Putnam AL, Rieck M, Sayre PH & Tang Q. (2015) Type 1 diabetes immunotherapy using polyclonal regulatory T cells. *Sci Transl Med* 7(315).
- Broglio F, Gottero C, Benso A, Prodam F, Volante M, Destefanis S, Gauna C, Muccioli G, Papotti M, Van Der Lely, A J & Ghigo E. (2003) Ghrelin and the Endocrine Pancreas. *Endocrine* 22(1): 19-24.
- Corritore E, Lee Y, Sokal EM & Lysy PA. (2016) Cell Replacement Sources for Type 1 Diabetes: a Focus on Pancreatic Ductal Cells. *Ther Adv Endocrinol Metab* 7(4): 182-199.
- Haug E, Sjaastad yV, Sand O, Sjaastad yV, Toverud KC & Sillman K. (2012) *Ihmisen Fysiologia*. Helsinki: Sanoma Pro.
- Hedman K, Heikkinen T, Huovinen P, Jrvinen A, Meri S & Vaara M. (2011) *Immunologia : Mikrobiologia, Immunologia Ja Infektiosairaudet, Kirja 2*.
- Hyöty H. (2016) Viruses in type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes* 17: 56-64.
- Kim Y, Kim H, Ko UH, Oh Y, Lim A, Sohn J-, Shin JH, Kim H & Han Y-. (2016) Islet-like organoids derived from human pluripotent stem cells efficiently function in the glucose responsiveness in vitro and in vivo. *Sci Rep* 6.
- Marieb, E. N. (2001). *Human anatomy & physiology*. San Francisco, Benjamin Cummings.
- Okere B, Lucaccioni L, Dominici M & Iughetti L. (2016) Cell therapies for pancreatic beta-cell replenishment. *Ital J Pediatr* 42: 62.
- Pagliuca F, Millman J, Gürtler M, Segel M, Van Dervort A, Ryu J, Peterson Q, Greiner D & Melton D. (2014) Generation of Functional Human Pancreatic β Cells In Vitro. *Cell* 159(2): 428-439.
- Pellegrini S, Cantarelli E, Sordi V, Nano R & Piemonti L. (2016) The state of the art of islet transplantation and cell therapy in type 1 diabetes. *Acta Diabetol* 53(5): 683-691.
- Rezania A, Bruin JE, Arora P, Rubin A, Batushansky I, Asadi A, O'Dwyer S, Quiskamp N, Mojibian M, Albrecht T, Yang YHC, Johnson JD & Kieffer TJ. (2014) Reversal of diabetes with insulin-producing cells derived in vitro from human pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol* 32(11): 1121-1133.
- Sariola H, Sariola H, Frilander M & Ripatti T. (2015) *Kehitysbiologia : Solusta Yksilöksi*. Helsinki: Duodecim.
- Tang Q & Desai TA. (2016) Approaching a cure for type 1 diabetes. *Nat Med* 22(3): 236-237.
- Terveiden ja hyvinvoinnin laitos. (2015) *Diabeteksen yleisyys*. <https://www.thl.fi/fi/web/kansantaudit/diabetes/diabeteksen-yleisyys>. Viitattu 18.05.2017
- Uccelli A, Pistoia V & Moretta L. (2007) Mesenchymal stem cells: a new strategy for immunosuppression? *Trends Immunol* 28(5): 219-226.
- Vanikar AV, Trivedi HL & Thakkar UG. (2016) Stem cell therapy emerging as the key player in treating type 1 diabetes mellitus. *Cytotherapy* 18(9): 1077-1086.
- Vegas AJ, Veiseh O, Grtler M, Millman JR, Pagliuca FW, Bader AR, Doloff JC, Li J, Chen M, Olejnik K, Tam HH, Jhunjunwala S, Langan E, Aresta-Dasilva S, Gandham S, McGarrigle JJ, Bochenek MA, Hollister-Lock J, Oberholzer J, Greiner DL, Weir GC, Melton DA, Langer R & Anderson DG. (2016) Long-term glycemic control using polymer-encapsulated human stem cell-derived beta cells in immune-competent mice. *Nat Med* 22(3): 306-311.
- You W & Henneberg M. (2016) Type 1 diabetes prevalence increasing globally and regionally: the role of natural selection and life expectancy at birth. *BMJ Open Diabetes Research & Care* 4(1).