فهرست

پیشگفتار مولف ۶

پیشگفتار مترجمین ۷

فصل ۱: کاربرد iPSC در مدل‌سازی بیماری‌های تنفسی ۹

فصل ۲: ویرایش ژن در سلول‌های بنیادی پرتوان انسان: پیشرفت‌های اخیر برای درمان‌های بالینی ۲۷

فصل ۳: دیواره عروقی بعنوان منبع سلولهای بنیادی قابل تمایز به سلولهای اندوتلیال ۴۱

فصل ۴: نقش فیزیولوژیکی و درمانی نوروپپتید Y بر عملکردهای بیولوژیکی ۴۹

فصل ۵: Y/TAZ AP هدایت‌شده با سیگنال‌دهی مستقیم تنظیم Rho تشکیل کلنی‌های کروی سه بعدی را تقویت می‌کند و انعطاف‌پذیری سلول‌های بنیادی پارتوژنتیک را افزایش می‌دهد ۵۹

فصل ۶: درمان با سلول‌های بنیادی ترانس آمنیوتیک ۷۱

فصل ۷: پزشکی احیا کننده: درمان‌های مبتنی بر سلول‌های تزریقی و محصولات تایید شده ۸۷

فصل ۸: سلول‌های بنیادی درمانی برای سلول‌های کبدی کارسینوم: چشم‌اندازهای آینده ۱۰۳

فصل ۹: پتانسیل خواص تریبولوژیکی نانومواد فلزی در کاربردهای زیست‌پزشکی ۱۲۹

فصل ۱۰: تأثیر فرکانس پایین میدان الکترومغناطیسی بر انسان ۱۴۱

واژه‌یاب ۱۵۵

پیشگفتار مولف

فصل‌های این جلد چندین جنبه حیاتی از بازسازی بافت و اندام و بازیابی عملکرد در محیط‌های بالینی را پوشش می‌دهد.من از گونزالو کوردووا، دستیار ویراستار این مجموعه بسیار سپاسگزارم و از حمایت مستمر او قدردانی می کنم. همچنین مایلم از سارا آلمانز-هویزمن تشکر و قدردانی کنم. دستیار ویراستار، به دلیل تلاش‌های برجسته‌اش در کمک به رساندن این جلد به مراحل تولید.

تشکر ویژه از راتیکا رامکومار به دلیل تلاش برجسته او در تولید این جلد است.

در نهایت، صمیمانه از مشارکت کنندگان نه تنها به خاطر حمایتشان از سریال، بلکه برای بینش و تلاششان برای گرفتن پیشرفت‌ها و موانع باقیمانده در حوزه‌های تحقیقاتی‌شان، تشکر می کنم. من اعتماد دارم که خوانندگان مشارکت‌های خود را به اندازه من جالب و مفید خواهند یافت.

Kursad Turksen اتاوا، ON، کانادا

پیشگفتار مترجمین

پیامبر اکرم (ص) می‌فرمایند:

علم را، با نوشتن در بند کشید.

آرزوی ساخت اعضای بدن انسان یا ترمیم بافت‌ها و اندام‌ها، تاریخ دیرینه‌ای دارد و ردپای آن را می‌توان در انسان‌های کهن یافت. پزشکی بازساختی از دیدگاه علمی شاخه‌ای جدید از پزشکی است که با استفاده از دانش سلول‌های بنیادی و مهندسی بافت دو هدف اصلی را دنبال می‌کند. هدف اول بازسازی بافت آسیب دیده است تا این بافت بتواند به فعالیت فیزیولوژیک خود ادامه دهد. هدف دوم، تولید بافت، یا اندام‌هایی است که بتوانند به عنوان جایگزین بافت آسیب‌دیده پیوند شوند.

از آنجایی‌که استفاده از سلول‌های بنیادی و مهندسی بافت به عنوان روش‌های درمانی نوین، پنجره‌ی امیدی برای درمان بیماری‌های صعب‌العلاج یا لاعلاج باز کرده‌اند، ما کتابی را برای شما انتخاب و ترجمه کرده‌ایم که کامل‌ترین و به‌روزترین اطلاعات در رابطه با سلول‌های بنیادی از جمله جایگاه این سلول‌ها در پزشکی بازساختی را در بر داشته باشد. همچنین با خواندن این کتاب با دانش مهندسی بافت و دستاوردهای آن از گذشته تا به امروز در بازسازی بافت‌های آسیب‌دیده از جمله بافت عصبی، پوست و اورولوژی آشنا می‌شوید. از دیگر امتیازات این کتاب که باعث جلب توجه ما به آن شد، زبان روان کتاب است، بطوری‌که اگر شما خواننده محترم دانش اندکی از مهندسی بافت و سلول‌های بنیادی داشته باشید، مطالب را به طور کامل می‌توانید درک کنید.

امیدواریم خوانندگان پس از اتمام مطالعه کتاب، با دیدی وسیع‌تر و علاقه‌ای افزون‌تر پیگیر علوم پزشکی بازساختی شوند، تا گامی هرچند کوچک برای پیشرفت کشور عزیزمان ایران در زمینه درمان بوسیله‌ی روش‌های نوین برداشته باشیم.

پاییز ۱۴۰۱

فصل۱

کاربرد iPSC در مدل‌سازی بیماری‌های تنفسی

Ben A. Calvert and Amy L. Ryan (Firth)

چکیده

بیماری تنفسی یکی از علل اصلی بیماری و مرگ و میر در سراسر جهان با بروز فزاینده به عنوان جمعیت مسن غالب است. بسیاری از بیماری‌های ریه برای تسکین علامتی درمان می‌شوند، بدون هیچ درمانی در دسترس، نشان دهنده نیاز حیاتی به استراتژی‌های درمانی جدید است. چنین پیشرفت‌هایی با عدم درک چگونگی آغاز و پیشرفت آسیب‌شناسی ریه انسان مانع می‌شود. تحقیقات در مورد بیماری ریه انسان متکی بر انزوای سلول‌های اولیه از سلول‌های کاشته شده یا استفاده از سلول‌های جاودانه است، هر دو در ظرفیت خود برای نشان دادن تغییر پذیری ژنومیک و فنوتیپیک در میان جمعیت محدود هستند. اینانرا که در آن ما در حال تجاوز به سمت پزشکی دقیق استفاده از سلول‌های pluripotent القایی خاص بیمار (iPSC) برای تولید مدل، که در آن سلول‌ها و بافت‌های اولیه کافی کمیاب هستند، ظرفیت ما را برای درک فیزیوپاتولوزی ریه انسان افزایش داده است.

B. A. Calvert Hastings Center for Pulmonary Research, Division of Pulmonary, Critical Care and Sleep Medicine, Department of Medicine, University of Southern California, Los Angeles, CA, USA A. L. Ryan (Firth) (*) Hastings Center for Pulmonary Research, Division of Pulmonary, Critical Care and Sleep Medicine, Department of Medicine, University of Southern California, Los Angeles, CA, USA Department of Stem Cell Biology and Regenerative Medicine, University of Southern California, Los Angeles, CA, USA e-mail: amy.firth@med.usc.edu.

تمایز مستقیم IPSC به سمت ریه چالش اولیه را برای غلبه بر تولید سلول‌های اپی تیلیال ریه مشتق از IPSC را ارایه داد.از آن زمان پیشرفت‌های عمده‌ای در تعریف پروتکل‌های نسل ریه، با نسل اسفروئیدهای راه هوایی و اندامک‌های سلولی چند در حال حاضر ممکن است ساخته شده است. این پیشرفت تکنولوژیکی ظرفیت ما را برای تحقیقات ریه انسان و چشم اندازهایی برای سلول درمانی اتولوگ باز کرده است. این فصل بر کاربرد IPSC در مطالعه بیماری ریه انسان تمرکز خواهد کرد.

واژه‌های کلیدی

Differentiation · Human models · iPSC · Lung disease · NKX2.1 · Stem cell

اختصارها

کمبود ADA-SCID آدنوزین آمیناز ترکیبی شدید دارد نقص ایمنی

قدامی AFE اندودرم شکمی شکمی

رابط هوا مایع ALI

رگه اولیه بدوی APS

BMP پروتئین مورفوژنتیک استخوان

Homeobox نوع دمی CDX2

فیبروز کیستیک CF

غشای فیبروز کیستیک CFTR
COPD انسداد مزمن ریوی
بیماری
گیرنده کموکاین CXCR4 C-X-C نوع ۴
اندودرم قطعی DE
دیستروفی عضلانی DMD Duchenne
DMH-1 dorsomorphin homolog 1
سلول‌های بنیادی جنینی ESC
جریان FACS مرتب‌سازی سلول‌ها را فعال می‌کند
فاکتور رشد فیبروبلاست FGF-2
جعبه چنگال FOXA2 A2
پروتئین اتصال گاتا گاتا
بیماری GD Gaucher
سلولهای اپیتلیال برونش انسانی HBEC
HD بیماری هانتینگتون
فیبروز ریوی ایدیوپاتیک IPF
iPSC باعث ایجاد سلول‌های بنیادی پرتوان شد
ITGA6 یا
CD49f
اینتگرین آلفا ۶
دیابت نوع ۱ JDM نوجوانان
قهوه ای
KLF4 Kruppel مانند فاکتور ۴
سیتوکراتین KRT5
سلولهای پیش‌ساز اندودرمال ریه LP
mRNAها پیام رسان ریبونوکلئیک هستند
گیرنده فاکتور رشد عصبی NGFR
OCT4/
POU5F1
دامنه POU، کلاس ۵، فاکتور رونویسی ۱
PAX6 ژن جعبه جفت شده ۶
PAX8 ژن جعبه جفت شده ۸
دیسکینزی اولیه مژگانی PCD
بیماری پارکینسون PD
هومئوبوکس PDX1 لوزالمعده و اثنی‌عشر ۱
RA رتینوئیک اسید
RNA ریبونوکلئیک اسید
SBDS Shwachman-Bodian-Diamond
سندرم خارپشت شون سونیک
منطقه تعیین جنسیت SOX2 Y2

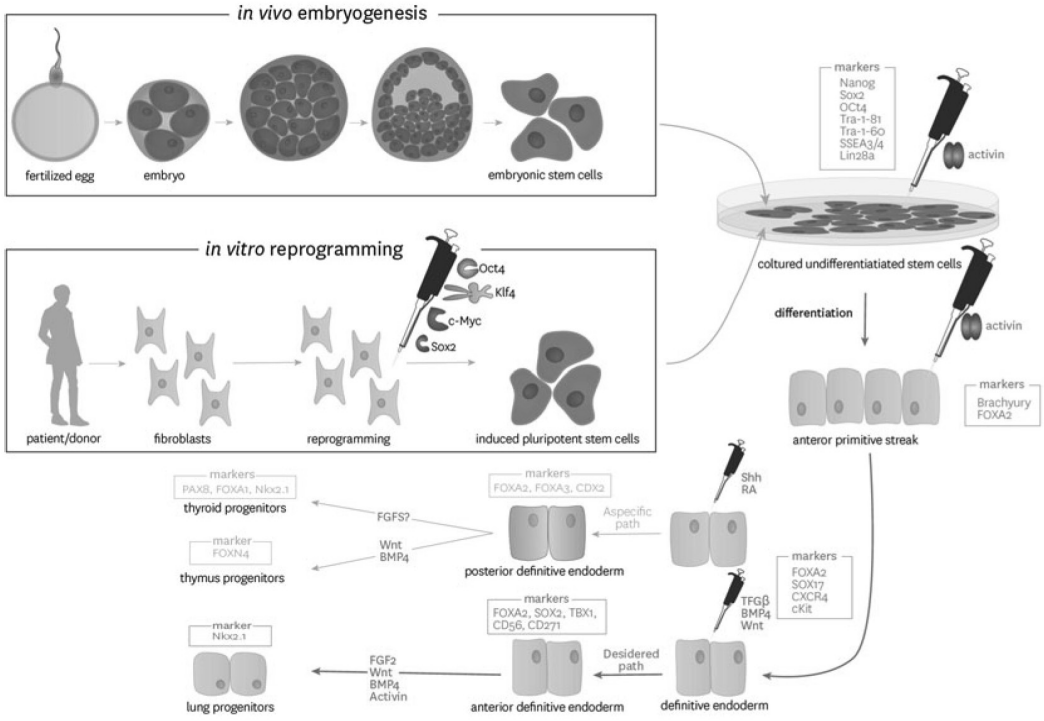
۱ مقدمه

بیماری‌های تنفسی در حال حاضر سومین علت اصلی مرگ و میر در سراسر جهان است (لوزانو و همکاران ۲۰۱۲). همچنین علت اصلی بستری شدن در کشورهای توسعه یافته است (هوبارد ۲۰۰۶)، که بارهای سنگین فردی و اقتصادی -اجتماعی را بر دوش سیستم‌های مراقبت‌های بهداشتی قرار می‌دهد. بیماری‌های تنفسی طیف وسیعی از اختلالات را شامل می‌شود که از بیماری‌های شایع‌تر مانند بیماری انسدادی مزمن ریوی (آسم) و آسم گرفته تا اختلالات ژنتیکی نادر از جمله کیستیک فیبروز (CF) و دیسکینزی مژگانی اولیه (PCD) را شامل می‌شود.

در حالی که هر یک از اختلالات تنفسی دارای اتیولوژی و پاتوفیزیولوژی خاص خود هستند، آنها اغلب دارای بسیاری از اشتراکات مربوط به بیماری هستند، مانند التهاب غیر طبیعی، افزایش حساسیت به عفونت و اپیتلیوم ناکارآمد یا آسیب دیده. در حال حاضر، بسیاری از بیماری‌های تنفسی بدون عارضه درمانی م managed ثر درمان می‌شوند. درک ما از شروع و پیشرفت بیماری از طریق فقدان مدلهای روبوستین در شرایط آزمایشگاهی که فنوتیپ بیماری را همانطور که در انسان برای تحقیقات تحقیقی و غربالگری داروها رخ می‌دهد، منعکس می‌کند. بسیاری از "ضربه"های درمانی کشف شده در مدل‌های موش به طور موفقیت‌آمیزی به انسان تبدیل نمی‌شود که منجر به میزان بالای شکست درمان‌های ریه در آزمایشات بالینی می‌شود (بارنز و همکاران ۲۰۱۵). در این بررسی، ما استفاده از سلول‌های بنیادی پرتوان القایی (iPSC) برای تحقیقات تنفسی و پتانسیل آنها برای کاربردهای درمانی در بیماری‌های تنفسی را ارزیابی می‌کنیم.

۲ توانمندی القایی

کشف این که سلول‌های سوماتیک کاملاً تمایز یافته/بالغ می‌توانند پرتوانی داشته باشند توسط Yamanaka و همکارانش. در سال ۲۰۰۶، دوره جدیدی از تحقیقات ژنتیکی و زیست شناسی سلولی را آغاز کرد (Takahashi and Yamanaka 2006). این کار مشخص کرد که حداقل ترکیبی از ۴ فاکتور رونویسی، Oct4، Klf4، Sox2 و c-Myc، در ترکیب با شرایط کشت خاص، برای برنامه‌ریزی مجدد سلول‌های تمایز یافته نهایی به حالت پرتوانی، مشابه سلول‌های بنیادی جنینی، کافی است. ESCها) در توده



شکل ۱ تمایز سلول‌های پرتوان به سلول‌های اولیه ریه. سلول‌های بنیادی پرتوان از طریق توده سلولی داخلی بلاستوسیست (سلول‌های بنیادی جنینی یا ESC) یا برنامه‌ریزی مجدد سلول‌های جسمانی از افراد (سلول‌های بنیادی پرتوان القایی یا iPSC) جدا شده و در شرایط آزمایشگاهی گسترش می‌یابند. به دنبال پروتکل تمایز گام به گام که مراحل کلیدی در جنین‌زایی را تقلید می‌کند، سلول‌ها از طریق FOXA2 متمایز می‌شوند.

سلولی داخلی بلاستوسیست یافت می‌شوند (Takahashi et al. 2007a, b; Okita et al. 2007) (شکل ۱). این سلول‌ها ظرفیت نامحدودی برای خود همانندسازی و تمایز به سلول‌ها و بافت‌ها از تمام لایه‌های زایایی، از جمله پیش سازهای ریه اندودرمی به دست آوردند. از آنجایی که iPSC با جداسازی سلول‌ها از بافت‌های بدنی تولید می‌شود، آنها مسائل اخلاقی مربوط به استفاده از ESCs را دور می‌زنند (Murugan 2009).iPSC انقلابی در ظرفیت ما برای انجام تحقیقات در سلول‌های انسانی مرتبط ایجاد کرده است که ابزاری استثنایی برای مدل‌سازی بیماری است، و همچنین دارای پتانسیل عظیمی برای درمان ترمیمی است. یاماناکا و همکاران در اصل iPSCbytransducingmouse fi broblastswithOct4، Sox2، Klf4 و c-Myc عوامل رونویسی را از طریق بردارهای رتروویروسی مبتنی بر pMX تولید کردند. از آن زمان، روشها و عوامل دیگری برای موفقیت موفقیت آمیز بودن پرتعداد در طیف وسیعی از سلولهای جسمی و ژرملین مورد استفاده قرار گرفته است، اینها در جدول ۱ آورده شده است. در ابتدا، انتی ویروس به دلیل قابلیت آلوده کردن سلولهای پس از میتوز و همچنین تقسیم سلولها، برتری بیشتری نسبت به رتروویروسها داشت. و امرمن ۲۰۰۶). انواع دیگر ویروس‌ها نیز مانند آدنوویروس و سندای ویروس مورد استفاده قرار می‌گیرند که به دلیل ماهیت غیر یکپارچه‌سازی آنها مورد توجه قرار گرفته است (Zhou and Freed 2009) و به حفظ یکپارچگی ژنومی میزبان با RNA ویروسی اصلی رقیق شده با هر تقسیم سلولی کمک می‌کند (Fusaki et al. 2009).

SOX17 بیان کننده اندودرم تعریف شده به اندودرم قدامی پیشانی روده و سپس NKX2.1 بیان کننده سازندگان اولیه ریه است. نماد پپیت بیانگر سایتوکاین‌ها و عوامل رشد اعمال شده در هر مرحله است. ژن‌های جعبه‌ای ژن‌های کلیدی بیان شده در هر مرحله را نشان می‌دهند. متن قرمز نشان دهنده سیگنال دهی است که باید سرکوب شود و متن سبز که باید فعال شود.

۳ iPSC و ظرفیت آنها برای مدل‌سازی بیماری

iPSCها به سرعت به عنوان یک فناوری تکامل یافته امکان مدل‌سازی موثر در بیماری‌های انسانی، با تجلیل از روشهای معمولی با استفاده از مدل‌های حیوانی و رده‌های سلولی جاودانه قادر شده‌اند. هر سیستم مدل مزایای خاص خود را دارد و محدودیت‌ها (خلاصه شده در جدول ۲). در حالی که مدلهای حیوانی بیماری‌های ریوی به طور قابل توجهی به دانش ما در زمینه بیولوژی بنیادی ریه کمک کرده‌اند، در ترجمه یافته‌ها به کلینیک برای استفاده انسان موفقیت چندانی حاصل نشده است. Ma et al. 2018).

مطالعات مدل حیوانی در مورد بیماری‌های انسانی اغلب در

جدول ۱ روشهای برنامه‌ریزی مجدد سلولهای سوماتیک به iPSC

Method	Vector	Genomic integration	Advantages	Disadvantages	References
Viral	Lentivirus, retrovirus	Integrating	High efficiency stable expression can be inducible	Tendency for insertional mutagenesis	(Takahashi et al. (2007b), Yu et al. (2007), Ohnuki et al. (2014), Carey et al. (2009), Hotta et al. (2009), Sommer et al. (2009) and Liao et al. (2008)
Viral	Sendai, adenovirus	Non-integrating	High efficiency Non-integrating	Tendency to carry host genome	Zhou and Freed (2009), Fusaki et al. (2009), Fujie et al. (2014) and Suzuki et al. (2008)
Non-viral	Episomal vectors	Non-integrating	Virus free Single transfection	Lower efficiency	Okita et al. (2011), Yu et al. (2009) and Hu and Slukvin (2013)
Non-viral	PiggyBac transposon	Non-integrating	Evidence for more rapid reprogramming	Labour intensive and relatively low efficiency Inefficient excision	Yusa et al. (2009) and Stadtfeld and Hochedlinger (2009)
Non-viral	Mini-circle vectors	Non-integrating	Virus free. Higher efficiency of transfection	Longer ectopic expression	Narsinh et al. (2011) and Jia et al. (2010)
Non-viral	Plasmid	Non-integrating	Virus free	Low efficiency Multiple rounds of transfection	Kim et al. (2016), Dowey et al. (2012), Karow et al. (2011), Si-Tayeb et al. (2010) and Okita et al. (2010)
Non-viral	Protein	Non-integrating	No genetic material, direct protein delivery	Very slow reprogramming kinetics, very low efficiency	Tammam et al. (2016), Nemes et al. (2014), Thier et al. (2012) and Thier et al. (2010)

جنبه‌های بیماری‌زای بیماری محدود است که آنها را به طور دقیق تجدید می‌کند. به عنوان مثال، تلقیح بلئومایسین از مدلهای حیوانی اغلب برای ایجاد مدلهای in vivo مدلهای بیماری‌های فیدیوپاتیک ریه استفاده می‌شود، اما شروع یا انتشار بیماری را به طور دقیق نشان نمی‌دهد. در حالی که برخی جنبه‌ها را به ما اطلاع می‌دهند، این مدل‌ها همیشه علت شناسی و پاتوژنز بیماری مورد مطالعه را تکرار نمی‌کنند. سلولهای جدا شده اولیه انسانی به سختی می‌توانند در کالچر بدون از دست دادن فنوتیپ خود با گذر گسترش پیدا کنند (SchillerandBittner 1995). بعلاوه، در دسترس بودن بافت انسان می‌تواند محدود باشد و اغلب پس از مرگ به دست می‌آید.

این منجر به تعداد نامحدودی از سلول‌ها برای تحقیقات از جمعیت محدود بیماران می‌شود، که می‌تواند به استفاده محدود در تحقیقات با توان بالا و غربالگری دارو منجر شود. همچنین، تحقیقات در مورد سلولهای اولیه پس از میتوز، مانند سلولهای عصبی (FradeandOvejero-Benito2015)، محدود به تعداد سلولهایی است که می‌توانند در ابتدا جدا شوند. این امر همچنین مطالعه انتشار بیماری و عدم ایجاد بیماری در حالت عادی پیشرفته را محدود می‌کند. iPSCها یک ابزار تحقیق جایگزین و رایگان ارائه می‌دهند که می‌تواند بر محدودیت‌های متعددی از مدلهای حیوانی، سلولهای اولیه و نامیرا انسان غلبه کند. محدودیت‌های استفاده از رده‌های سلولی اولیه و نامیرا به دلیل گسترش کلونال نامحدود آنها در شرایط خاص کالچر با ظرفیت تمایز به چند نوع سلول شامل بدن انسان برطرف می‌شود (کوگوت و همکاران ۲۰۱۴؛ فرث و همکاران ۲۰۱۵؛ منون و همکاران ۲۰۱۵؛ وارد و گیلاد ۲۰۱۹؛ Hnatiuk و Mercola 2019؛ میجر و همکاران ۲۰۱۹؛ Fyfe 2019؛ فیوروتو و همکاران ۲۰۱۹؛ هوشینا و همکاران ۲۰۱۸؛ موچی و همکاران ۲۰۱۸؛ تان و همکاران ۲۰۱۸) از جمله سلولهای داخل دستگاه تنفسی. iPSC بنابراین، این پتانسیل را دارد که منبع ظاهراً نامحدودی از سلولهای اختصاصی بیمار/بیماری ارائه دهد. این گزینه‌های متعدد جدیدی را برای تحقیق و درمان درمانی آینده نگر باز می‌کند. .(Ebertetal.2012) این فصل بر کاربرد آنها در مطالعه بیماری ریه انسان متمرکز خواهد شد.

اختلالات ژنتیکی نمونه بارز این مورد است که در آن iPSC نسبت به مدل‌سازی مرسوم بیماری در شرایط آزمایشگاهی سود می‌برد. بیماری‌های ژنتیکی اغلب نادر هستند و دارای زیرگونه‌های متعددی هستند، مانند مواردی که در CF دیده می‌شود (مارسون و همکاران ۲۰۱۶). در حالی که جهش‌های خاص این زیرگونه‌ها قابل استناد هستند، دسترسی به مواد خاص بیمار محدود است،

Table 2 Possible iPSC derived models for lung disease

Model	Species	Model usage	Benefits	Limitations	References
Organoid	Human	Lung structural development	Multiple cell types, spatially organized 3D system	Unsuitable for specific pathway analysis. No air interface	Dye et al. (2015), Wilkinson et al. (2018) and Chen et al. (2017)
Air liquid Interface	Human mouse	Epithelial barrier formation and function	Physiologically relevant air interfacing system, high throughput potential, TEER measurement	No presence of mesenchymal niche cells	Firth et al. (2014), Wong et al. (2012) and Hawkins et al. (2017)
Transplant	Human mouse	Cell engraftment and in vivo regeneration	Study engraftment potential of cell-based therapy, In vivo niche	Long-term human studies lacking, immune suppression	Shafa et al. (2018) and Okuyama et al. (2019)
Spheroid	Human mouse	Cellular and structural modelling, functional assays	Suitable for stringent pathway analysis, functional swelling	No air interface, usually lacks niche cells	Konishi et al. (2016), Gotoh et al. (2014), Dye et al. (2015) and Jacob et al. (2017)

TEER Trans Epithelial Electrical Resistance

و به شدت مانع مطالعات آسیب‌شناسی بیماری می‌شود. در عوض، iPSC خود تجدیدپذیر می‌تواند جهش ژنتیکی را با استفاده از تکنولوژی پیشرفته ویرایش ژن ایجاد کند، مانند تکرار پالیندرومیک متناوب Qi) (CRISPR)/Cas9) و همکاران ۲۰۱۳؛ Haurwitz و همکاران ۲۰۱۰؛ وانگ و همکاران ۲۰۱۳؛ کنگ و همکاران ۲۰۱۳). یک تلاش هماهنگ در طول دهه گذشته، تکامل پروتکل‌هایی را برای تمایز iPSC به سلولهای اپیتلیوم تنفسی مشاهده کرده است (Firth et al. 2014؛ Wong et al. 2012؛ Green et al. 2011؛ Cheng et al. 2012؛ Hawkins et al. . 2017). این فناوری در حال حاضر باعث می‌شود که اختلالات ژنتیکی نادر در یک سیستم سلولی مرتبط و انسانی مدل شوند. چندین حالت بیماری با موفقیت در iPSC ایجاد شده است، از جمله کمبود آدنوزین دی آمیناز با نقص ایمنی شدید ترکیبی (ADA-SCID)، سندرم شوآمان-بودیان-دایموند(SBDS)، بیماری گوچر (GD) نوع III، دیستروفی عضلانی دوشن (DMD)، بیماری پارکینسون (PD)، بیماری هانتینگتون (HD)، شروع نوجوانان، دیابت نوع ۱ (JDM) (پارک و همکاران ۲۰۰۸). در اینجا مفهوم توسعه خط iPSC و القاء فنوتیپ بیماری در سلولها با حذف/در ژنهای خاص یا به چالش کشیدن سلولها با عواملی است که ممکن است باعث شروع بیماری شوند. حوزه علوم اعصاب به ویژه از استفاده از iPSC (Wang and Doering 2012) سود گرفته است، زیرا بدست آوردن بافت اولیه عصبی به ویژه چالش برانگیز است. چنین بیماری‌هایی شامل بیماری آلزایمر (Kondo و همکاران ۲۰۱۳)، بیماری هانتینگتون (Kaye and Finkbeiner 2013) و اسکیزوفرنی (Brennand et al. 2011) است. ارتباط این پارادایم این است که iPSC مشتق شده از جمعیت بیمار با اختلالات ژنتیکی نادر، می‌تواند با استفاده از همان فناوری ویرایش ژن اصلاح ژن شود. در حالی که کنترلهای ایزوژنیک برای ارزیابی in vitro ارائه می‌شود، این امر علاوه بر این، امکان درمانهای مبتنی بر سلولهای اتولوگ را نیز کاهش می‌دهد که نیاز به سرکوب سیستم ایمنی و احتمال رد بافت را کاهش می‌دهد. در حوزه تنفسی، مطالعات اثبات شده ثابت کرده است که تنظیم کننده غشای کیستیک سیبروز (CFTR) در iPSC مشتق از CF، که متعاقباً در عملکرد سلولهای اپیتلیال متمایز شده است (Firth و همکاران ۲۰۱۵؛ کرین و همکاران ۲۰۱۵). ارائه مبنایی برای درمانهای جدید مبتنی بر iPSC برای بیماران CF در آینده.

Specification of Primordial Lung Progenitors from iPSC

تمایز مستقیم iPSC به اندودرم ریه مجموعه‌ای از چالش‌های خاص خود را دارد که این زمینه طی دهه گذشته پیشرفت قابل ملاحظه‌ای در جهت روشن شدن آن داشته است (Firth et al. 2014؛ Hannan et al. 2015؛ Wong and Rossant 2013). ریه‌ها یک سیستم ارگان ماهر و پیشرفته هستند که از ساختارهای پیچیده و بیش از ۴۰ نوع مختلف سلول تشکیل شده است. آنها شامل عروق پیچیده، نوآوری عصبی سمپاتیک و پاراسمپاتیک، حمایت ساختاری و اپیتلیوم تنفسی تخصصی هستند. برای افزودن به این پیچیدگی، ساختار مجاری تنفسی تغییر می‌کند تا نیازهای عملکردی خود را در امتداد محور پروگزیمال-دیستال برآورده کند. مشابه روده، سیستم تنفسی همچنین دارای یک میکروبیوتای هموستاتیک طبیعی است که می‌تواند در زمان بیماری و استرس به شدت تغییر کند (دانگ

و مارسلند ۲۰۱۹؛ من و همکاران ۲۰۱۷) و یک اندام داخلی است که در معرض محیط بیرونی قرار می‌گیرد و پتانسیل اصلاح ژنتیکی را افزایش می‌دهد (Sakurada 2010؛ هاگود ۲۰۱۴). همه این ویژگیها باید هنگام ایجاد یک مدل آزمایشگاهی بیماری تنفسی در نظر گرفته شوند و مزایا و محدودیتهای هر سیستم مدل مشخص شود. iPSC این پتانسیل را دارد که مکانیسم‌های رشد ریه انسان را مورد بررسی قرار دهد و بینش مسیرهای تمایز سلول بنیادی تا بافت‌های کاملاً متمایز را ارائه دهد. علاوه بر این، آنها فرصتی برای معکوس کردن فنوتیپ بیماری و بررسی مکانیسم‌های شروع بیماری را فراهم می‌کنند. اولین روشهایی که تمایز مستقیم اپیتلیوم تنفسی را از iPSC توصیف می‌کند، عمدتا بر مشخص شدن اندودرم ریه متمرکز بود (چنگ و همکاران ۲۰۱۲؛ Kadzik و Morrisey 2012؛ Longmire و همکاران ۲۰۱۲a). متعاقباً، سه مقاله پیشگام منتشر شد که سلولهای متمایز کننده را به سلولهای بالغ‌تر در اپیتلیوم تنفسی متمایز می‌کند (Wong et al. 2012؛ Kadzik and Morrisey 2012؛ Firth et al. 2014). این مطالعات به منظور توسعه سلولهای غدد درون‌ریز در ظرفی به سمت آندودرم مشخص (DE) و به دنبال آن قدامی شدن اندودرم شکم پیشانی (AFE) به NKX2.1 اولیه که بیانگر سلولهای آندودرمال ریه (LP) است، انجام شد. این سلولها قابلیت تمایز به سلولهای مشابه با ریه انسان بالغ شامل سلولهای چماقی، جام، چند لایه، پایه، آلوئولار و سلولهای عصبی -عصبی را دارند. درک رشد ریه برای کارآمدترین حرکت سلولهای بنیادی و سلولهای تشکیل دهنده ریه انسان بسیار مهم است. هنوز دانش کمی در مورد توسعه ریه انسان وجود دارد و بسیاری از اطلاعات ما از مدل‌های تراریخته موش‌ها برای ردیابی مشخصات نسب به دست می‌آید (Bellusci et al. 1997a، b؛ Weaver et al. 1999، 2003؛ Okubo and Hogan 2004؛ Rawlins et al. al. 2009a، b) ارگانوژنز ریه در دوره جنینی با برآمدگی‌های مستقل دیواره شکمی در اندودرم اولیه شکم آغاز می‌شود که درک رشد ریه برای کارآمدترین حرکت سلولهای بنیادی و سلولهای تشکیل دهنده ریه انسان بسیار مهم است. هنوز دانش کمی در مورد توسعه ریه انسان وجود دارد و بسیاری از اطلاعات ما از مدل‌های تراریخته موش‌ها برای ردیابی مشخصات linegea به دست می‌آید (Bellusci et al. 1997a، b؛ Weaver et al. 1999، 2003؛ Okubo and Hogan 2004؛ Rawlins et al. al. 2009a، b) ارگانوژنز ریه در دوره جنینی با برآمدگی‌های مستقل دیواره شکمی در اندودرم اولیه شکم آغاز می‌شود که درک رشد ریه برای کارآمدترین حرکت سلولهای بنیادی و سلولهای تشکیل دهنده ریه انسان بسیار مهم است. هنوز دانش کمی در مورد توسعه ریه انسان وجود دارد و بسیاری از اطلاعات ما از مدل‌های تراریخته موش‌ها برای ردیابی مشخصات linegea به دست می‌آید (Bellusci et al. 1997a، b؛ Weaver et al. 1999، 2003؛ Okubo and Hogan 2004؛ Rawlins et al. al. 2009a، b) ارگانوژنز ریه در دوره جنینی با برآمدگی‌های مستقل دیواره شکمی در اندودرم اولیه شکم آغاز می‌شود که کشیده شده و به مزانشیم اطراف منشعب می‌شوند. مزانشیم تنفسی در بسیاری از فرایندهای تکاملی و هموستاتیک داخل ریه بسیار مهم است. این لیگاندهای سیگنالینگ کلیدی را برای ترویج توسعه ساختارهای ریه، از جمله آلوئولارژنز، انشعاب راه هوایی و عروق فراهم می‌کند. مزانشیم منبع اصلی تغییر فاکتور رشد بتا (TGFβ) است .ریه در حال توسعه (مک کاللی و همکاران ۲۰۱۵؛ وایت و همکاران ۲۰۰۶). این جزء جدایی ناپذیر برای توسعه طبیعی است و مطالعات حذف شده TGFβ اختلال در رشد ریه را نشان می‌دهد (سانفورد و همکاران ۱۹۹۷). مزانشیم منبع اصلی سیگنال دهی Wnt را فراهم می‌کند، کلیدی برای انشعاب مورفوژنز اپیتلیوم راه هوایی (میلر و همکاران ۲۰۱۲) (شکل ۱). DE باعث ایجاد ریه‌ها، تیروئید، لوزالمعده، کبد و روده می‌شود و از خط اولیه بدوی (APS) مشخص شده است، که از سلول‌های پرتوان ناشی از فعال شدن قوی اعلان گره‌ای و متعارف ناشی می‌شود، از نظر هیدروژنیک در طول گاستروولاسیون فعال می‌شود. این در محیط کشت با استفاده از اکتیوین A و Wnt3a یا آگونیست Wnt CHIR99021 تقلید می‌شود (Kubo و همکاران ۲۰۰۴). APS را می‌توان از طریق فعال‌سازی مداوم سیگنالینگ گره‌ای و مهار مورفوژنتیک پروتئین استخوان (BMP)، با استفاده از DMH-1، از بین بردن مشتق از مزودرم به DE منتقل کرد (Green et al. 2011؛ Ogaki et al. 2013). ویژگی DE از mesendoderm بهینه شده است و منجر به کارآیی بالای سلولهای DE از iPSC می‌شود (Mfopou و همکاران ۲۰۱۰). در تکامل جنینی سیگنال دهی Wnt نقش مهمی در بسیاری از عملکردهای سلولی از جمله تمایز و تکثیر دارد، در شرایط Vitro Wnt3A از سیگنال دهی برای انحراف از SOX2 بیان کننده اکتودرم و ترویج تمایز اندودرمال استفاده می‌شود. DE همچنین نشانگرهای سطحی سلول‌ها CXCR4، گیرنده کیمیوکاین مهم در تکثیر سلولی و cKit را بیان می‌کند که می‌تواند DE را از طریق مرتب‌سازی FACS تصفیه کند (Wong et al. 2010؛ Wang et al.(۲۰۱۲) (شکل ۲).

به نظر می‌رسد که قدام یابی دژنراسیون پیش از روده، از طریق سلول‌های بیان کننده SOX2 و FOXA2 به طور جدی به سیگنال دهی Activin A/TGF-β بستگی ندارد. مهار TGFβ به حرکت کردن AFE کمک می‌کند (گرین و همکاران ۲۰۱۱) و مهار سیگنال‌های Wnt- و BMP در بهینه‌سازی این انتقال حیاتی است. FOXA2 یک فاکتور رونویسی ضروری برای رشد ریه است، FOXA2 / موش‌ها ریه ایجاد نمی‌کنند (Wan et al. 2004؛ Aubin et al. 1997). رتینوئیک اسید (RA)، که معمولاً در پروتکل‌های تمایز ریه استفاده می‌شود، دارای اثرات دوگانه است و می‌تواند باعث ایجاد سلول‌های اثنی عشر پانکراس با PDX1 مثبت شود. بنابراین،