

Honoris causa Shinya Yamanaka por la Universidad de Salamanca

Discurso: “Avances recientes en la investigación y aplicación de las células iPS”

Comunicación Universidad de Salamanca / 14/09/2023

Shinya Yamanaka

*Centro de Investigación y Aplicación de Células iPS (CiRA), Universidad de Kioto
Instituto Gladstone de Enfermedades Cardiovasculares
Fundación incorporada de interés público, Fundación CiRA*

Resumen:

Las células madre pluripotentes inducidas (iPS) pueden proliferar de forma casi indefinida y diferenciarse en múltiples linajes, lo que les confiere una gran variedad de aplicaciones médicas. Por ello, actualmente las iPSC se utilizan en nuevas terapias celulares, modelos de enfermedades y desarrollo de fármacos en todo el mundo.

Estamos llevando a cabo un proyecto para crear un banco de células iPS en el que se establecen clones de células iPS aptas para el uso clínico a partir de donantes sanos con haplotipos HLA homólogos para reducir el riesgo de rechazo del trasplante. Comenzamos distribuyendo las reservas de células iPS a distintas organizaciones de Japón, y se han iniciado estudios clínicos relacionados con la degeneración macular asociada a la edad (DMAE), la enfermedad de Parkinson, la deficiencia de células madre del epitelio corneal, la inmunoterapia contra el cáncer y otras enfermedades, con lo que se espera que la medicina regenerativa basada en células iPS se utilice ampliamente en el futuro.

Sin embargo, los donantes con HLA homocigoto son escasos. Se podría utilizar la tecnología de edición del genoma como alternativa para reducir el riesgo de rechazo del trasplante. De hecho, presentamos células iPS editadas con genes HLA que podrían ampliar la variedad de pacientes que se benefician de las terapias con células iPS más rápidamente que la estrategia que utiliza haplotipos HLA homólogos. Esta tecnología también se puede utilizar para prevenir o tratar enfermedades genéticas y suscita grandes esperanzas en los pacientes. Por último, estamos automatizando la producción de células iPS para reducir los costes de los trasplantes autólogos y ofrecer una medicina regenerativa más eficaz.

El genoma es el código de todo nuestro organismo. Determina el color de nuestro pelo, el tamaño de nuestra nariz y si nos parecemos más a nuestra madre o a nuestro padre. Hoy en día se sabe que una sola célula del cuerpo humano posee todos los genes necesarios para producir un organismo entero, pero no siempre ha sido así. Algunos experimentos científicos han sugerido que algunos genes se perdieron o inactivaron de forma permanente durante el desarrollo, de modo que las células solo podían disponer de los genes necesarios para su función. Sin embargo, un estudio pionero llevado a cabo por John Gurdon en 1962 demostraría lo contrario. Al insertar el núcleo de una célula intestinal de rana en un óvulo enucleado, Gurdon logró el crecimiento y desarrollo normal de un renacuajo, demostrando que el código genético completo de una sola célula intestinal era suficiente¹.

Unas décadas más tarde, los científicos descubrirían las células madre embrionarias². Estas células son extraordinarias, pero también controvertidas. Son extraordinarias porque tienen un gran potencial de desarrollo y son capaces de diferenciarse en casi cualquier tipo de célula del organismo adulto². Por ello, han entusiasmado a la comunidad científica y médica por las oportunidades que brindan en el estudio del desarrollo humano y las enfermedades. La existencia de células madre embrionarias ha permitido un avance considerable en la comprensión científica sobre cómo se desarrollan el cerebro, el corazón y otros órganos a partir de un embrión. Por otro lado, las células madre embrionarias resultan controvertidas porque se obtienen a partir de embriones humanos, un proceso que implica la destrucción del embrión. En respuesta, las leyes nacionales y las directrices internacionales han restringido el uso de células madre embrionarias frente a otros tipos de células humanas.

Teniendo en cuenta el trabajo de Gurdon, algunos investigadores plantearon la hipótesis de que cualquier célula podría transformarse en un estado similar al de las células madre embrionarias si se activaran e inactivaran las porciones adecuadas del genoma. Pero la pregunta seguía siendo: ¿qué partes? Aunque era seguro que no sería necesario manipular todos los miles de millones de pares de bases del genoma humano, determinar la combinación precisa parecía una tarea de gran envergadura. Y lo fue, pero la respuesta resultó ser mucho más sencilla de lo previsto.

Demostramos que la activación transitoria de solo cuatro genes (factores de Yamanaka) en células adultas es suficiente para reprogramarlas en células madre pluripotentes inducidas (iPS)³. Para mayor asombro, esos mismos cuatro genes generaron con éxito células iPS a partir de células adultas de varias especies⁴. Es destacable el grado en que las células iPS se comportan como células madre embrionarias, y años de estudio en laboratorios de todo el mundo han confirmado que las células iPS y las células madre embrionarias son funcionalmente equivalentes. Desde una perspectiva ética, el impacto de esta investigación es considerable, ya que podemos obtener células iPS a partir de las mismas muestras de sangre que uno puede donar a la Cruz Roja en lugar de obtenerlas de un embrión⁵.

Desde el punto de vista médico, las células iPS presentan dos características atractivas. En primer lugar, como ya se ha mencionado acerca de las células madre embrionarias, tienen la capacidad de diferenciarse en muchos tipos celulares. En segundo lugar, también al igual que las células madre embrionarias, se encuentra su capacidad de proliferación. El embrión es una

estructura en rápido crecimiento, en la que las células se replican y desarrollan constantemente. Las células iPS comparten esta característica. De este modo, a partir de una muestra relativamente pequeña de sangre humana, se puede generar un gran número de células iPS con las que podemos crear una gran variedad de tipos celulares.

Medicina regenerativa con células iPS

Las células iPS fueron descritas por primera vez en 2007. Sin embargo, en siete años, los productos celulares fabricados a partir de ellas ya se utilizaban como medicina regenerativa en ensayos con humanos, y desde entonces se han iniciado muchos más ensayos clínicos.

El primer trasplante en humanos se seleccionó tanto por sus notables logros científicos como por la relativa seguridad del tratamiento. Masayo Takahashi y su equipo de investigación prepararon láminas epiteliales retinianas elaboradas a partir de células iPS que trasplantaron a un ojo de un paciente que sufría degeneración macular asociada a la edad (Fig. 1)⁶.

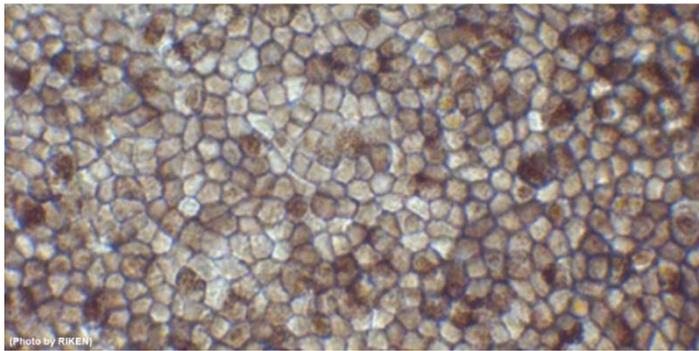


Fig. 1. Imágenes de las láminas epiteliales retinianas utilizadas en el primer ensayo con células iPS en

Esta enfermedad se puede tratar de forma sintomática con fármacos, pero se esperaba que el trasplante retrasara la degeneración, si no la detenía por completo. De hecho, varios años después, la visión del paciente se ha estabilizado y no se han registrado complicaciones graves.

Este estudio es un ejemplo de terapia celular autóloga puesto que las células iPS eran células

reprogramadas de pacientes. Sin embargo, este trabajo puso de manifiesto que la tecnología de reprogramación actual no es adecuada para las terapias autólogas basadas en células iPS a gran escala. El tiempo y el coste de reprogramar las células iPS, validar su seguridad y, por último, preparar el producto celular para la terapia (en este caso, láminas epiteliales retinianas) son demasiado elevados. Especialmente en el caso de enfermedades degenerativas, como la degeneración macular asociada a la edad, el tiempo es muy importante para el paciente.

Por este motivo, se ha investigado la fabricación de reservas de células iPS aptas para el uso clínico. No obstante, como en cualquier trasplante, el rechazo inmunitario siempre es motivo de preocupación. Por lo tanto, para preparar reservas que sirvan a una amplia población, en Japón, la Fundación CiRA ha estado cooperando con la Sociedad Japonesa de la Cruz Roja (JRCS, por sus siglas en inglés) para reclutar donantes HLA homocigotos. En comparación con los donantes HLA heterocigotos, las células de estos donantes tienen una mayor probabilidad de compatibilidad

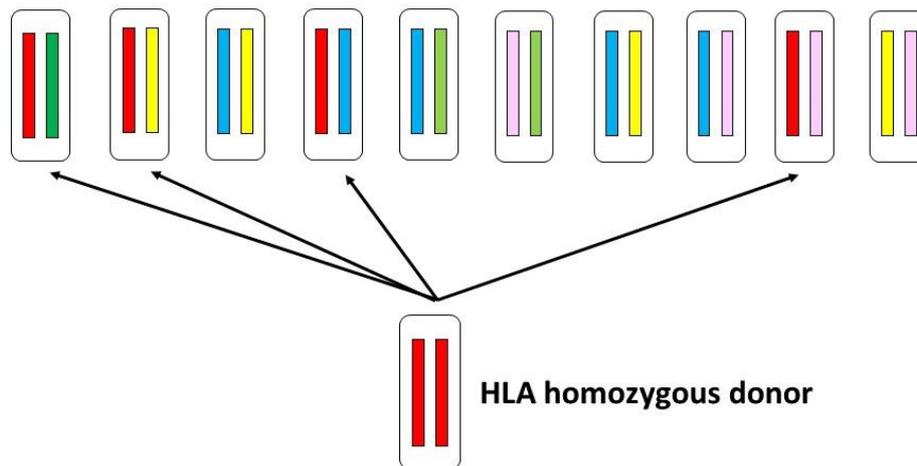


Fig. 2. Mientras que un donante HLA heterocigoto debe coincidir con ambos haplotipos HLA del paciente, un donante HLA homocigoto solo necesita coincidir con un haplotipo para minimizar el riesgo de rechazo inmunitario.

inmunológica (Fig. 2).

Esta estrategia no elimina por completo el riesgo, por eso casi todas las terapias de trasplante basadas en células iPS se acompañan de inmunosupresores, pero por ahora se considera la mejor opción si se tienen en cuenta las limitaciones de tiempo y coste. La Fundación CiRA, junto con la JRCS, trabaja con bancos de sangre de cordón umbilical para encontrar más donantes HLA homocigotos.

Una vez que consigue estos donantes, la Fundación CiRA reprograma las células sanguíneas en células iPS y garantiza una elevada calidad de forma homogénea. Hasta la fecha, la Fundación CiRA ha fabricado y distribuido las reservas de células de donantes HLA homocigotos para 9 ensayos clínicos en curso, y tiene planificados muchos más (Fig. 3). Además, las reservas se están distribuyendo a institutos de todo el mundo que están trabajando en el desarrollo de terapias basadas en células iPS. Incluso el antes citado proyecto sobre la degeneración macular asociada a la edad ha cambiado a esta estrategia de células iPS alogénicas utilizando células iPS

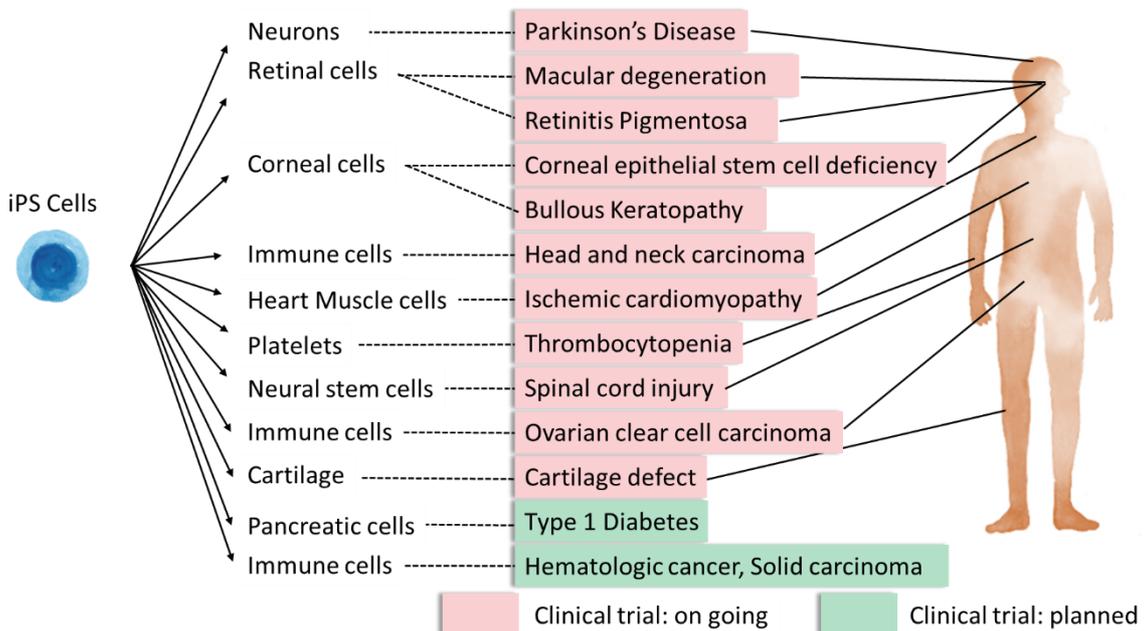


Fig. 3. Listado de toda la medicina regenerativa basada en células iPS en Japón a fecha de mayo de 2022. Todos los proyectos utilizan células iPS procedentes de la Fundación CiRA, excepto el proyecto sobre carcinoma de cabeza y cuello.

proporcionadas por la Fundación CiRA.

Las enfermedades degenerativas no son los únicos objetivos de la medicina regenerativa basada en células iPS. Koji Eto y su equipo han desarrollado una tecnología para producir un producto celular como alternativa a las transfusiones de plaquetas actuales⁷⁾. Dependiendo del país, anualmente se realizan varios millones de transfusiones de plaquetas⁸⁾. Todas estas transfusiones requieren donantes, pero con el envejecimiento de la población mundial, muchos países prevén una grave escasez de donantes. Además, las plaquetas son especialmente difíciles de conservar porque solo tienen una vida útil de unos pocos días. Por lo tanto, el modelo actual exige un suministro constante de donantes. Como solución práctica, el Dr. Eto y su equipo están trabajando en la imitación de la trombopoyesis natural para producir plaquetas a partir de células iPS⁷⁾. Siguiendo su esquema de células iPS, las células progenitoras se pueden fabricar a partir de las reservas de células iPS de donantes HLA homocigotos y almacenar durante muchos meses, y las plaquetas se producen a partir de las progenitoras almacenadas únicamente cuando se necesitan. Actualmente se está realizando un ensayo en humanos con estas plaquetas.

Otro ejemplo es el del cáncer. Después de la quimioterapia y la radioterapia, el tratamiento de última generación contra el cáncer es la inmunoterapia, en la que las células inmunitarias del paciente se procesan y trasplantan. Los estudios sobre inmunoterapia han obtenido muchos resultados prometedores, pero en última instancia el estado del paciente es un factor importante en el resultado. Como solución, el Dr. Shin Kaneko y su equipo están combinando las tecnologías de células iPS y receptores de antígenos quiméricos (CAR, por sus siglas en inglés) para fabricar células inmunitarias contra el cáncer para la próxima generación de inmunoterapia. De este modo, la tecnología CAR determina la eficacia del tratamiento al atacar específicamente a las células cancerosas pero sin afectar a las células sanas, mientras que la tecnología de células iPS garantiza la calidad y abundancia de las células. Una vez adoptada la CAR dirigida al glicoproteo-3 (GPC3), el equipo de investigación tiene previsto iniciar una terapia

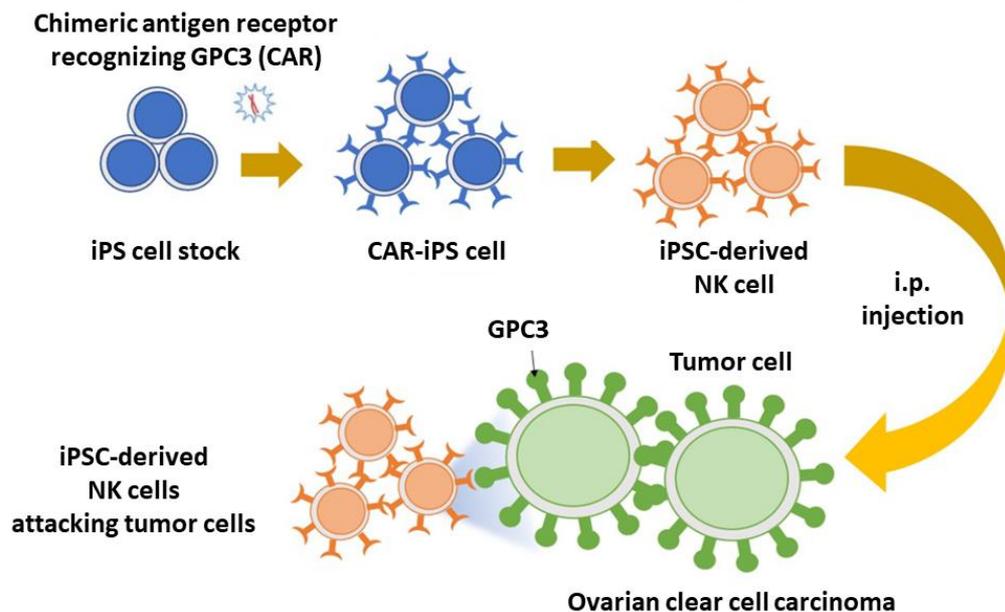


Fig. 4. Inmunoterapia reciente que combina las tecnologías de células iPS y CAR. Dado que las células iPS son más fáciles de replicar que otros tipos celulares, el CAR se incorpora genéticamente a ellas. En este ejemplo, en la inmunoterapia contra el carcinoma de células claras de ovario las células iPS con CAR dirigidas a GPC3 se diferencian en células antitumorales (en este caso, células NK).

contra el carcinoma de células claras de ovario (Fig. 4).

Otras células iPS para uso clínico

En la actualidad, las reservas de células iPS de la Fundación CiRA son compatibles con aproximadamente el 40% de la población japonesa, lo que supone un avance encomiable en tan solo unos años. Sin embargo, para disponer de un banco que coincida con toda la población, y más adelante con toda la población mundial, la tarea se complica de forma exponencial, y encontrar donantes para haplotipos HLA muy poco comunes es casi imposible.

Una solución podría ser la tecnología de edición genética denominada CRISPR-Cas. En lugar de intentar captar donantes con haplotipos HLA homocigóticos, algunos científicos están editando los genes HLA para aumentar el porcentaje de la población para la que se dispone de productos de células iPS. En este caso, se eliminan los HLA-A y HLA-B, pero se conserva el HLA-C para evitar una respuesta inmunitaria innata. Además de manipular estos genes HLA de clase I, estamos eliminando el coactivador trans C2TA para suprimir todos los genes HLA de clase II¹⁰⁾ (Fig. 5). Si se consigue, se calcula que con solo 10 líneas de células iPS creadas mediante este método de edición del genoma se cubrirá de forma suficiente a la mayor parte de la población mundial.

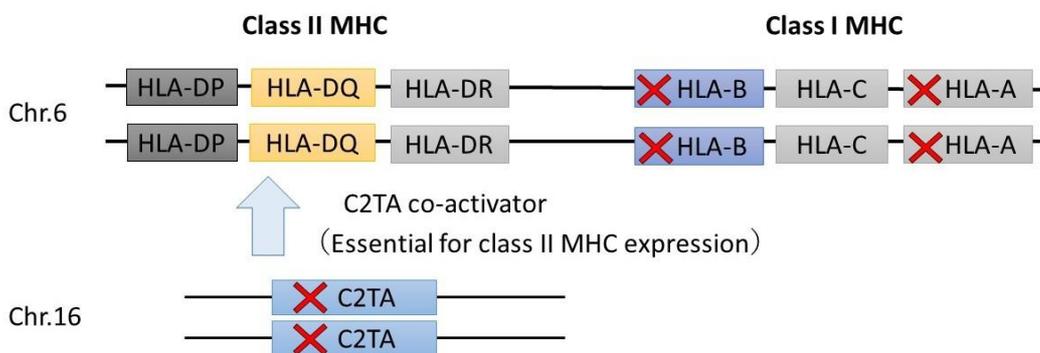


Fig. 5. Edición génica CRISPR-Cas de HLA para aumentar la probabilidad de compatibilidad donante-paciente. Los genes HLA de clase I se suprimen en el cromosoma 6 y el C2TA se suprime en el cromosoma 16.

Por último, aunque las células iPS autólogas son actualmente inviables, son ideales, ya que las células del propio paciente presentan el menor riesgo de desencadenar una respuesta inmunitaria. No obstante, el coste (alrededor de 400 000 dólares por línea de células iPS) descarta esta opción. La automatización es una forma de reducir los costes, al menos en cierta medida. Aunque merece la pena considerar la automatización en cualquier proceso de fabricación, la tecnología de células iPS se encuentra en sus inicios y presenta muchas incógnitas que requieren más estudio. Por tanto, hay que dedicar un esfuerzo igual o mayor a la investigación básica antes de comprometerse plenamente con la producción. No obstante, la Fundación CiRA sigue adelante con el proyecto "my iPS", cuyo objetivo es reducir el coste de una línea de células iPS a solo 10 000 dólares. Siendo optimistas, este servicio se inaugurará a principios de 2025.

En resumen, para ampliar el número de pacientes que pueden beneficiarse de las células iPS, se están siguiendo tres vías paralelas para generar células iPS aptas para el uso clínico. La primera y más avanzada es la reprogramación de células procedentes de donantes HLA homocigotos. La segunda consiste en la edición genética de los genes HLA y otros relacionados. La última consiste en un sistema en el que las personas pueden reprogramar y almacenar sus propias células para futuros tratamientos autólogos.

Referencias

1. Gurdon, J. B. (1962). The developmental capacity of nuclei taken from intestinal epithelium cells of feeding tadpoles. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 10: 622–640.
2. Thomson, JA., Itskovitz-Eldor, J., Shapiro, SS., Waknitz, MA., J. Swiegiel, JJ., Marshall, VS. and Jones, LM. (1998) Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 282, 1145-7
3. Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., and Yamanaka, S. (2007) Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell* 131, 861-872.
4. Takahashi, K. & Yamanaka, S. (2006) Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126, 663–676.
5. Okita, K., Yamakawa, T., Matsumura, Y., Sato, Y., Amano, N., Watanabe, A., Goshima, N., and Yamanaka, S. (2013) An Efficient Non-viral Method to Generate Integration-Free Human iPSC Cells from Cord Blood and Peripheral Blood Cells. *Stem Cells* 31, 458-466.
6. Masayo ENJM Mandai, M., Watanabe, A., Kurimoto, Y., Hiram, Y., Morinaga, C., Daimon, T., Fujihara, M., Akimaru, H., Sakai, N., Shibata, Y., Terada, M., Nomiya, Y., Tanishima, S., Nakamura, M., Kamao, H., Sugita, S., Onishi, A., Ito, T., Fujita, K., Kawamata, S., Go, M.J., Shinohara, C., Hata, K., Sawada, M., Yamamoto, M., Ohta, S., Ohara, Y., Yoshida, K., Kuwahara, J., Kitano, Y., Amano, N., Umekage, M., Kitaoka, F., Tanaka, A., Okada, C., Takasu, N., Ogawa, S., Yamanaka, S., and Takahashi, M. (2017) First-in-human Clinical Study of Transplantation of Autologous iPSC-Retinal Pigment Epithelial Cell Sheet for Wet Age Related Macular Degeneration. *The New England Journal of Medicine* 376, 038-1046
7. Ito Y, Nakamura S, Sugimoto N, Shigemori T, Kato Y, Ohno M, Sakuma S, Ito K, Kumon H, Hirose H, Okamoto H, Nogawa M, Iwasaki M, Kihara S, Fujio K, Matsumoto T, Higashi N, Hashimoto K, Sawaguchi A, Harimoto KI, Nakagawa M, Yamamoto T, Handa M, Watanabe N, Nishi E, Arai F, Nishimura S, Eto K. (2018) Turbulence activates platelet biogenesis to enable clinical scale ex vivo production. *Cell*, 174, 636-648.
8. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6986537/>
9. Ueda T, Kumagai A, Iriguchi S, Yasui Y, Miyasaka T, Nakagoshi K, Nakane K, Saito K, Takahashi M, Sasaki A, Yoshida S, Takasu N, Seno H, Uemura Y, Tamada K, Nakatsura T, Kaneko S. (2020) Non-clinical efficacy, safety, and stable clinical cell processing of iPSC-derived anti-GPC3 CAR-expressing NK/ILC cells. *Cancer Science*, 111, 1478-1490.
10. Xu H, Wang B, Ono M, Kagita A, Fujii K, Sasakawa N, Ueda T, Gee P, Nishikawa M, Nomura M, Kitaoka F, Takahashi T, Okita K, Yoshida Y, Kaneko S, and Hotta A. (2019) Targeted disruption of HLA genes via CRISPR-Cas9 generates iPSCs with enhanced immune compatibility. *Cell Stem Cell*, 24, 566-578.e7.

VNiVERSiDAD D SALAMANCA

Área de
Comunicación

Edificio Rectorado (2ª planta)
Patio de Escuelas Mayores s/n
37008 Salamanca (España)

saladeprensa.usal.es
comunicacion@usal.es
+34 923 294 412