

УДК 576.3/.7; 577.017.22

# Мезенхимальные стволовые клетки в процессах роста и репарации тканей

Н. И. Калинина\*, В. Ю. Сысоева, К. А. Рубина, Е. В. Парфенова, В. А. Ткачук

Факультет фундаментальной медицины, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, 119192, Москва, Ломоносовский просп., 31, корп. 5

\*E-mail: n\_i\_kalinina@mail.ru

Поступила в редакцию 14.07.2011 г.

**РЕФЕРАТ** В последние десятилетия появились доказательства того, что физиологическое обновление и регенерация тканей в течение всей жизни животного и человека происходят благодаря стволовым клеткам. Важнейшей популяцией стволовых клеток взрослого организма являются мезенхимальные стволовые клетки (МСК). Впервые эти клетки были обнаружены и выделены из стромы костного мозга. Считалось, что МСК костного мозга служат источником для обновления и восстановления таких соединительных тканей, как костная, хрящевая и жировая. В настоящий момент аналоги МСК костного мозга обнаружены и во всех других тканях. Благодаря подходам, позволяющим идентифицировать МСК *in situ*, выделять их из тканей и наконец оценивать биологические свойства, появилась возможность пересмотреть роль МСК в различных органах и тканях. В настоящем обзоре суммированы собственные и опубликованные данные о роли МСК в процессах репарации и регенерации тканей. По нашим представлениям, МСК выполняют функцию сопряжения кровеносной, иммунной, гормональной и нервной систем с тканеспецифичными стволовыми клетками.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА** мезенхимальные стволовые клетки, регенерация тканей, дифференцировка, клеточная терапия.

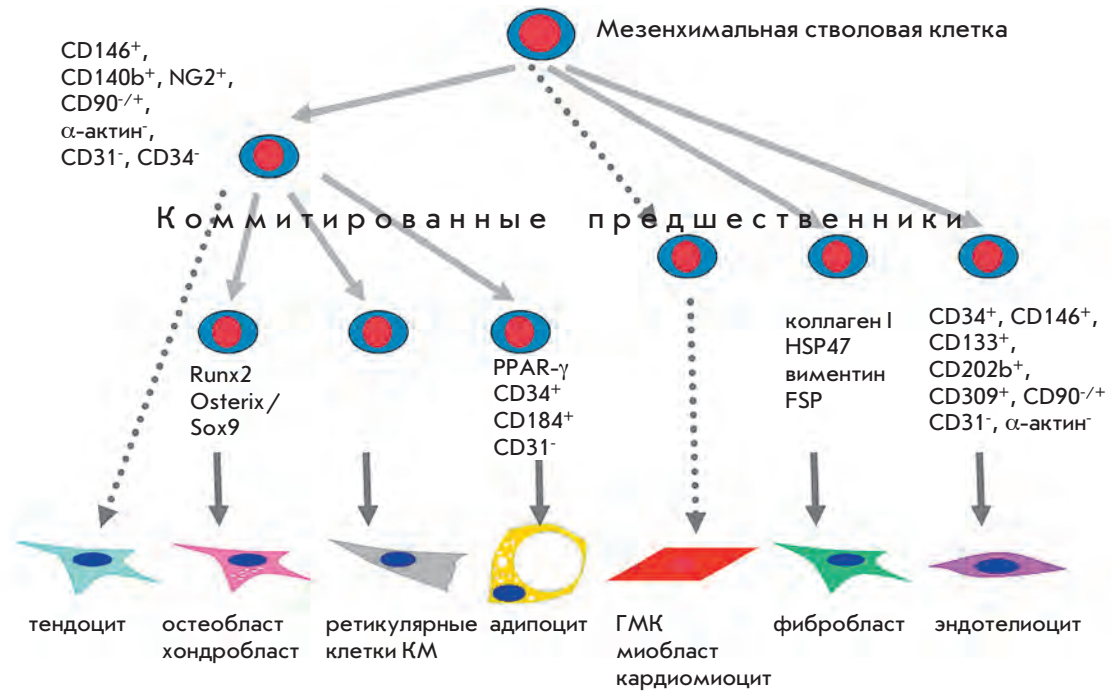
**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ** ГСК – гемопоэтические стволовые клетки; МСК – мезенхимальные стволовые клетки; ММСК – мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки; ТСК – тканеспецифичные стволовые клетки.

Концепция возобновления тканей за счет самоподдерживаемого пула стволовых клеток была впервые сформулирована более 100 лет назад при изучении кроветворения [1]. Однако существование гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), дающих начало всем клеткам крови, получило экспериментальное подтверждение только в середине XX века [2]. До этого времени считалось, что восполнение клеточного состава тканей постнатального организма обусловлено делением специализированных (дифференцированных) клеток. Обновление за счет активности стволовых клеток рассматривалось как механизм, присущий исключительно клеткам крови – уникальной, быстро обновляющейся ткани, содержащей множество функционально гетерогенных типов клеток. В настоящий момент доказано, что поддержание и возобновление клеточного состава практически всех тканей организма человека, включая эпителий кожи и кишечника, печень, скелетные мышцы и миокард, происходят благодаря пролиферации и дифференцировке соответствующих тканеспецифичных стволовых клеток (ТСК). Однако наряду с ТСК в тканях млекопитающих обнаружены и другие стволовые клетки, названные мезенхимальными (МСК).

Первые данные, свидетельствующие о присутствии в костном мозге не только гемопоэтических клеток, но и еще одной популяции постнатальных стволовых клеток, были получены с помощью нескольких подходов. Во-первых, в экспериментальных моделях при интраперитонеальной трансплантации культивированной на носителе стромы костного мозга возникали очаги остеогенеза [3]. Во-вторых, из костного мозга была выделена популяция клеток, отличных от ГСК, но обладающих свойствами стволовых. Эти клетки образовывали клоны (колонии фибробластов) при культивировании [4], сохраняя способность к дифференцировке в нескольких направлениях (в остеобласты, адипоциты и хондроциты) [5].

По аналогии с ГСК предполагалось, что во главе мезенхимальной иерархии стоит МСК костного мозга (модель «мезенгиума») [6, 7] (рис. 1). Было высказано предположение о том, что в течение жизни потомки этой клетки проходят через дискретные стадии дифференцировки, давая начало различным клеткам соединительных тканей, а именно костной и жировой ткани, сухожилиям, хрящам и гладким мышцам [8]. Позднее клетки, совпадающие с МСК костного мозга по своим фенотипическим характеристикам

**Рис. 1.** Модель мезенхимальной иерархии. Гипотетическая схема, согласно которой МСК проходят через дискретные стадии дифференцировки, давая начало разным клеткам соединительных тканей в течение всей жизни организма.



и дифференцировочному потенциалу, выделены практически из всех эмбриональных и постнатальных тканей млекопитающих, птиц и амфибий [9, 10]. На основании этих наблюдений возникла теория о том, что костный мозг служит депо постнатальных стволовых клеток как гемопоэтических, так и мезенхимальных. Однако предположение о том, что восстановление соединительных тканей всего организма определяется активностью МСК костного мозга, не получило твердых доказательств до сих пор [11].

**КУЛЬТИВИРУЕМЫЕ МУЛЬТИПОТЕНТНЫЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ**

Идентифицировать МСК и анализировать их непосредственно в тканях очень сложно, поэтому большинство выводов о биологических свойствах этих клеток сделано на основании изучения выделенных из различных тканей популяций стромальных клеток, способных прикрепляться к культуральному пластику и дифференцироваться *in vitro* в остео-, адипо- и хондрогенном направлениях [12]. Несмотря на то что по способности к самообновлению и дифференцировке в различных направлениях такие клетки представляют собой весьма гетерогенную популяцию [13], их также называли МСК. Для того чтобы отличить такие культивируемые клетки от МСК *in situ*, Международное общество клеточной терапии (ISCT, Ванкувер, Канада) предложило использовать термин «мультипотентная мезенхимальная стромальная клетка» (ММСК). Согласно выработанным ISCT минимальным критериям, ММСК должны прикрепляться к пластику при культивировании в стандартных условиях; экспрессировать на поверхности маркерные антигены CD105, CD73 и CD90, но при этом не содержать CD45, CD34, CD14 или CD11b, CD79α или CD19 и HLA-DR, а также дифференцироваться в остеобласты, адипоциты и хондробласты *in vitro* [14].

Наиболее перспективными источниками ММСК для изучения их биологических свойств и применения в регенеративной медицине в настоящий момент считаются костный мозг и жировая ткань. Однако эти клетки могут быть выделены и из других тканей, включая кожу, тимус, селезенку и эндометрий [15]. Необходимо учитывать, что ММСК, полученные из различных постнатальных и эмбриональных тканей, даже при культивировании в одних и тех же условиях отличаются друг от друга по способности формировать колонии, экспрессии генов и дифференцировочному потенциалу [9, 15–18]. Эти различия вызывают вопросы о том, насколько клетки, выделенные по их способности прикрепляться к культуральному пластику и расти в стандартных условиях культивирования, биологически эквивалентны друг другу, и являются ли наблюдаемые различия следствием различных биологических функций МСК в соответствующих тканях [12]?

Наиболее перспективными источниками ММСК для изучения их биологических свойств и применения в регенеративной медицине в настоящий момент считаются костный мозг и жировая ткань. Однако эти клетки могут быть выделены и из других тканей, включая кожу, тимус, селезенку и эндометрий [15]. Необходимо учитывать, что ММСК, полученные из различных постнатальных и эмбриональных тканей, даже при культивировании в одних и тех же условиях отличаются друг от друга по способности формировать колонии, экспрессии генов и дифференцировочному потенциалу [9, 15–18]. Эти различия вызывают вопросы о том, насколько клетки, выделенные по их способности прикрепляться к культуральному пластику и расти в стандартных условиях культивирования, биологически эквивалентны друг другу, и являются ли наблюдаемые различия следствием различных биологических функций МСК в соответствующих тканях [12]?

**МУЛЬТИПОТЕНТНОСТЬ ММСК**

Помимо способности дифференцироваться в остеобласты, хондробласты и адипоциты *in vitro* [7], ММСК дают начало кости или хрящу после эктопической

трансплантации *in vivo* на животных моделях [3], а также опосредуют регенерацию костной ткани после травм [11] и при генетических дефектах остеогенеза (*osteogenesis imperfecta*) [19]. Более того, многие исследования показали, что ММСК также способны дифференцироваться во многие другие типы клеток мезодермального, эктодермального и энтодермального происхождения, включая эндотелиальные клетки [20], кардиомиоциты [21], гепатоциты [22] и нейральные клетки [23]. Однако некоторые авторы, признавая способность ММСК дифференцироваться в трех основных направлениях мезенхимальной дифференцировки – в остеобласты, хондробласты и адипоциты, ставят под сомнение способность ММСК дифференцироваться в клетки других зародышевых листков (энтодермального и эктодермального) как *in vitro*, так и *in vivo* [12]. Так, показано, что ММСК костного мозга после трансплантации способны встраиваться в ткани реципиента скорее за счет слияния с резидентными клетками [24], чем путем дифференцировки в клетки, характерные для данной ткани.

Различия в оценке дифференцировочного потенциала культивируемых ММСК могут объясняться неодинаковым количественным и качественным составом прогениторных клеток в тканях, из которых они были получены. Во-первых, выделенная популяция МСК гетерогенна и содержит по морфологии различные клетки, отличающиеся пролиферативными и дифференцировочными способностями *in vitro* и *in vivo* [25, 26]. Кроме того, мультипотентность ММСК может исчезать по мере их культивирования [25]. Так, клоны ММСК из пуповины, отличающиеся друг от друга интенсивностью самообновления и дифференцировочным потенциалом *in vitro*, дают дочерние клоны, которые постепенно утрачивают мультипотентность [25].

Во-вторых, свежесделенные популяции ММСК могут содержать прогениторные клетки, уже коммитированные в различных направлениях дифференцировки. Так, результаты цитометрического анализа показали, что жировая ткань содержит по крайней мере 5 типов клеток-предшественников, отличающихся по экспрессии маркерных антигенов: субэндотелиальные прогениторные клетки (CD146<sup>+</sup>, CD140b<sup>+</sup>, NG2<sup>+</sup>, CD90<sup>+/+</sup>, α-актин<sup>-</sup>, CD31<sup>-</sup>, CD34<sup>-</sup>), супраадвентициальные прогениторные клетки (NG2<sup>+</sup>, CD90<sup>+</sup>, CD34<sup>+</sup>, CD146<sup>-</sup>, α-актин<sup>-</sup>, CD31<sup>-</sup>) и транзиторные прогениторные клетки (CD146<sup>+</sup>, CD34<sup>+</sup>, NG2<sup>+</sup>, CD90<sup>+</sup>, CD31<sup>-</sup>), а также предшественники преадипоцитов (CD34<sup>+</sup>, CD184<sup>+</sup>, CD31<sup>-</sup>) и эндотелиальные прогениторные клетки (CD34<sup>+</sup>, CD146<sup>+</sup>, CD133<sup>+</sup>, CD202b<sup>+</sup>, CD309<sup>+</sup>, CD31<sup>-</sup>, CD90<sup>+/+</sup>, α-актин<sup>-</sup>) [26]. Этим, по нашему мнению, и объясняется частое присутствие в первичной культуре ММСК островков эндотелия

(которые исчезают по мере культивирования), колоний сферической формы, сформированных мелкими, быстро делящимися, округлыми клетками, а также очень медленно делящихся, крупных, распластаных клеток [27].

В-третьих, во всех тканях, помимо выделяемых МСК, содержатся минорные субпопуляции плюрипотентных клеток, обладающих более широким спектром дифференцировочных способностей, такие, как «очень мелкие эмбрионально-подобные клетки» (*very small embryonic-like [VSEL] cells*) [28], а также «мультипотентные постнатальные прогениторные клетки» (*multipotent adult progenitor cells, MAPC*) [29] и «устойчивые к стрессу клетки, способные к дифференцировке в нескольких направлениях» (*multilineage differentiating stress-enduring [MUSE] cells*) [30]. Наши данные свидетельствуют о присутствии «очень мелких эмбрионально-подобных клеток» в свежесделенной популяции ММСК, однако вклад этих минорных популяций в дифференцировочный потенциал культуры ММСК остается спорным, поскольку не известно, поддерживается ли их рост и дифференцировка в условиях культивирования.

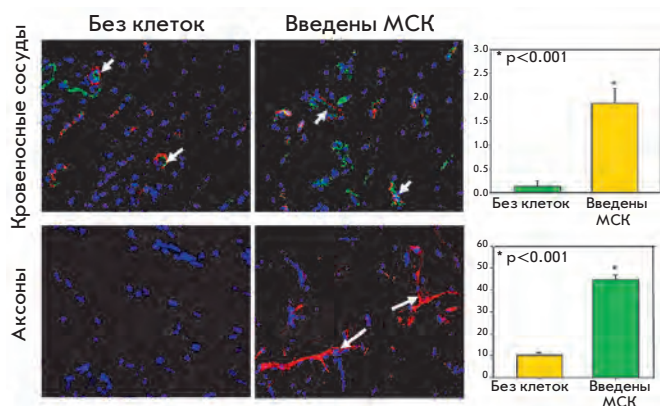
И, наконец, разногласия при анализе мультипотентности ММСК также могут быть обусловлены использованием разных методов выделения, культивирования и критериев оценки дифференцировки.

### ММСК И РОСТ ТКАНЕЙ

Трансплантация ММСК стимулирует регенерацию тканей, включая кость, скелетную мускулатуру, миокард, кожу, печень и периферические нервы. Согласно нашим данным, этот эффект обусловлен как интеграцией трансплантированных ММСК в ткани реципиента, так и секреторной активностью этих клеток [31]. Мы показали, что трансплантированные МСК встраиваются в эндотелиальную выстилку растущих капилляров, а также в периэндотелиальное пространство вновь образующихся сосудов и стабилизируют их.

МСК служат важнейшим источником факторов роста и цитокинов, принимающих участие в регуляции регенерации тканей. Так, в костном мозге именно МСК продуцируют факторы, необходимые для самоподдержания гемопоэтических стволовых клеток и удержания их в нише, включая SDF-1α (фактор стромы-1α), SCF (фактор стволовых клеток), ангиопоэтин-1 и интерлейкин-7 [32]. В нашей лаборатории было установлено, что МСК продуцируют ангиогенные и нейротрофные факторы роста, включая VEGF (фактор роста сосудистого эндотелия), bFGF (основной фактор роста фибробластов), HGF (фактор роста гепатоцитов), ангиопоэтин, NGF (фактор роста нервов), BDNF (нейротрофный фактор головного





**Рис. 2.** Стимуляция роста кровеносных сосудов и аксонов под действием МСК. МСК жировой ткани были трансплантированы сингенным мышам в составе подкожных имплантатов матригеля. Плотность кровеносных сосудов (верхний ряд) и аксонов (нижний ряд) оценивали с помощью иммунофлуоресцентного окрашивания замороженных срезов подкожных имплантатов антителами против маркеров эндотелия (CD31, зеленое окрашивание) и перицитов (NG2, красное окрашивание) или белка цитоскелета аксонов (NF200, красное окрашивание). Ядра клеток докрашены DAPI. Короткими стрелками отмечены зрелые кровеносные сосуды, длинными стрелками – аксоны. На диаграммах приведены результаты морфометрического анализа суммарной длины кровеносных сосудов (верхний ряд) и аксонов (нижний ряд) [33, 34].

мозга) и GDNF (нейротрофный фактор глиальных клеток) [33, 34]. Ангиогенные факторы роста, продуцируемые ММСК в области трансплантации, стимулируют деление эндотелиальных клеток, их миграцию и формирование сосудов. Кроме того, факторы, продуцируемые ММСК, способствуют мобилизации из костного мозга эндотелиальных предшественников, участвующих в образовании новых сосудов [34, 35]. В то же время нейротрофные факторы, продуцируемые ММСК, стимулируют рост и восстановление нервных окончаний [33]. Таким образом, МСК могут опосредовать координированную регуляцию роста кровеносных сосудов и нервов в процессах регенерации и ремоделирования тканей (рис. 2).

Нами получены данные, свидетельствующие о том, что ММСК продуцируют необходимые для функционального созревания сосудов и их стабилизации факторы, включая bFGF, PDGF-BB (фактор роста тромбоцитов-BB) и TGF- $\beta$  (трансформирующий фактор роста- $\beta$ ) [18, 34, 36]. Так, PDGF-BB вызывает ветвление растущих кровеносных сосудов и привлечение к ним перицитов, гладкомышечных и мезенхимальных клеток, а TGF- $\beta$  стимулирует диффе-

ренцировку гладкомышечных клеток и продукцию компонентов внеклеточного матрикса сосудистой стенки [37].

Продукция факторов роста и цитокинов в МСК многократно возрастает при повреждении органов и тканей. Гипоксия вызывает координированное изменение экспрессии генов в ММСК: содержание мРНК проангиогенных факторов, включая VEGF, PlGF, HGF, bFGF, PDGF-BB и TGF- $\beta$ , возрастает в 2–4 раза, а мРНК антиангиогенных факторов, таких, как PAI-1, ангиостатин и тромбоспондин, снижается более чем в 2 раза [34]. ММСК также секретируют нейротрофические факторы, включая NGF, BDNF и GDNF, которые обуславливают стимуляцию роста и регенерации нервных волокон, вызванную трансплантацией этих клеток [33, 38].

Секреторная активность ММСК также влияет на их иммуномодулирующие свойства. На нескольких животных моделях показано, что инъекции культивируемых ММСК вызывают иммуносупрессию *in vivo* [39]. В основе иммуносупрессорного действия ММСК лежит подавление функции иммунных клеток: активации Т-клеток, дифференцировки дендритных клеток, пролиферации В-клеток, а также цитолитической активности натуральных киллеров. Иммуносупрессорные свойства этих клеток опосредованы как секрецией растворимых факторов, включая интерлейкин-10, простагландин-E<sub>2</sub>, оксид азота, TGF- $\beta$ <sub>1</sub>, а также галектины-1 и -3, так и непосредственным межклеточным контактом ММСК с иммунными клетками [40]. Кроме того, ММСК могут способствовать дифференцировке наивных Т-хелперов в регуляторные Т-клетки, а также привлекать зрелые регуляторные Т-клетки [39, 40]. Колокализация МСК костного мозга с дендритными клетками и циркулирующими В-клетками в перисинусоидальном пространстве [41, 42] позволяет предположить, что МСК принимают участие в регуляции функциональной активности и созревания иммунных клеток.

### ММСК И ОПУХОЛЕВЫЙ РОСТ

Примером патологического ремоделирования тканей является рост опухоли и опухолевый ангиогенез. Известно, что мезенхимальные клетки могут взаимодействовать с опухолевыми клетками как поддерживая, так и подавляя рост опухолей *in vitro* и *in vivo*. Так, было показано, что *in vitro* ММСК костного мозга стимулируют пролиферацию клеток рака поджелудочной железы [43], в то время как ММСК из подкожной жировой клетчатки подавляют пролиферацию клеток первичного лейкоза [44]. На животных моделях обнаружено, что ММСК стимулируют приживание и рост опухолей при совместном введении с клетками меланомы [45–47], рака молочной

железы [48], предстательной железы [49] и кишечника [50, 51], а также повышают вероятность формирования метастазов [52]. По-видимому, стимулирующее влияние ММСК обусловлено секрецией хемокинов (CCL5, SDF-1 $\alpha$ ) и ангиогенных факторов роста (VEGF), а также антиапоптотическим действием на опухолевые клетки. Кроме того, ММСК способны мигрировать в опухолевую ткань и участвовать в формировании ее стромы. Так, ММСК в опухолях дифференцируются в фибробласты, эндотелиальные клетки и перициты, что и стимулирует опухолевый рост [46, 53]. Кроме того, ММСК способны секретировать цитокины, факторы роста и ангиогенные факторы [34, 43], что также стимулирует рост опухолей за счет повышения их васкуляризации.

Однако в этих же и других моделях ММСК при определенных условиях могут также подавлять опухолевый рост. В основе такого действия ММСК могут лежать такие механизмы, как стимуляция воспалительной реакции в организме реципиента в случае рака толстого кишечника [50], активация сигнальных путей Akt и Wnt – в клетках саркомы Капоши, гепатомы и рака молочной железы [54–56], арест в G1-фазе клеточного цикла – в клетках рака поджелудочной железы, гепатомы и лимфомы [44, 57], индукция апоптоза опухолевых и эндотелиальных клеток – в гепатоме и неходжкинской лимфоме [44, 58], а также подавление ангиогенеза на модели меланомы мыши B16F10 [57]. Системное введение ММСК экспериментальным животным с индуцированным сформировавшимся раком поджелудочной железы приводило к апоптозу опухолевых клеток *in vitro* и подавлению роста опухоли *in vivo* [57].

Данные, полученные при изучении влияния МСК на рост опухолей, свидетельствуют о том, что активация МСК, их направленная миграция и дифференцировка в клетки соединительной ткани и кровеносных сосудов, а также взаимодействие с иммунными клетками являются важными составляющими процессов онкогенеза.

### ИДЕНТИФИКАЦИЯ МСК *IN VIVO*

Распределение МСК в тканях долгое время оставалось не изученным [13, 32], поскольку доля этих клеток в тканях весьма невелика, а уникальный иммунофенотип, позволяющий отделить их от остальных клеток, не был определен. Новые маркерные антигены МСК были установлены благодаря оценке способности клеток, выделенных из тканей на основании экспрессии тех или иных белков, к самообновлению и дифференцировке *in vivo*.

Недавно обнаружили, что в костном мозге мыши критериям МСК соответствуют клетки, экспрессирующие Sca-1 (антиген стволовых клеток-1) и PDGFR $\alpha$

(рецептор фактора роста тромбоцитов  $\alpha$ ). Эти клетки формировали костную ткань и функциональную строму для ГСК при гетеротопической трансплантации под кожу, а также образовывали остеобласты, ретикулярные клетки и адипоциты в костном мозге после системной трансплантации облученному реципиенту [13]. С помощью аналогичного подхода установили, что маркером МСК костного мозга может служить и нестин [32], поскольку экспрессирующие нестин клетки обладали способностью к самообновлению *in vitro* и *in vivo*, дифференцировались в остеобласты и хондроциты в костном мозге *in vivo*, а также формировали гемопоэтическое микроокружение при трансплантации под кожу [59].

С помощью новых маркерных антигенов (CD146, Sca-1 и PDGFR $\alpha$ ) показано, что МСК *in situ* локализуются в непосредственной близости от кровеносных сосудов, в частности в адвентиции артерий, кровоснабжающих костный мозг. Более того, клетки, выделенные на основании их периваскулярной локализации и экспрессии маркеров перицитов – NG2 (хондротинсульфат протеогликан), CD146 и PDGFR $\beta$ , из различных органов и тканей человека, включая фетальную и постнатальную кожу, поджелудочную железу, сердце, мозг, легкие, костный мозг и плаценту, обладали способностью к самоподдержанию, дифференцировочным потенциалом и экспрессионным профилем, присущим МСК [60].

В настоящее время считается, что клетки, несущие маркерные антигены МСК и перицитов *in vivo*, обнаруживаются вблизи кровеносных сосудов, в жировой ткани и пульпе зуба [61, 62].

Несмотря на сходство в локализации и экспрессии поверхностных маркеров, способности дифференцироваться *in vitro* в остеобласты, хондроциты, адипоциты, миоциты и гладкомышечные клетки, а также формировать очаги эктопического остеогенеза *in vivo* [60], вопрос о биологической эквивалентности МСК и перицитов по-прежнему остается открытым.

Так, не ясно, способны ли МСК *in vivo* выполнять все функции перицитов, включая стабилизацию капилляров, фагоцитоз, а также регуляцию проницаемости и тонуса кровеносных сосудов, в том числе и за счет рецепции сигналов симпатической нервной системы [63]. Скорее всего, периваскулярное пространство кровеносных сосудов содержит гетерогенные популяции клеток. При этом, по-видимому, только часть перицитов действительно может представлять собой МСК *in vivo*. Периваскулярная локализация не уникальна для МСК, ранее она была описана для резидентных стволовых или прогениторных клеток: ГСК, преадипоцитов и стволовых клеток скелетных мышц в костном мозге, жировой ткани и скелетных мышцах [64–67]. Локализация МСК в пери-

эндотелиальном пространстве свидетельствует о том, что эндотелий является важным компонентом ниши этих клеток, способным регулировать их функциональную активность [68].

### **МСК – КОМПОНЕНТЫ НИШИ ТКАНЕСПЕЦИФИЧНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

В настоящий момент активно изучается функция МСК в различных тканях. В костном мозге МСК не только обеспечивают обновление стромы, но и служат важнейшим регулятором кроветворения и функции ГСК. ГСК в костном мозге располагаются в определенном микроокружении (нишах), состоящем из негемопоэтических клеток, растворимых факторов и белков внеклеточного матрикса, которые регулируют гемопоэз [69]. В самом начале изучения МСК показали, что *in vivo* эти клетки источник остеобластов, адипоцитов и ретикулярных клеток – компонентов ниши для ГСК, участвующих в регуляции гемопоэза [3]. Кроме того, МСК первыми заселяют участки фетального гемопоэза, они передают регуляторные сигналы, привлекающие туда ГСК [70]. Культивируемые ММСК костного мозга также способны поддерживать выживание и пролиферацию ГСК *ex vivo* [70].

Остеобласты представляют собой необходимый компонент гемопоэтического микроокружения [71, 72]. Количество остеобластов в костном мозге положительно коррелирует с количеством ГСК [73] – около 14% ГСК располагаются в непосредственной близости от эндоста (endosteum), выстланного остеобластами [65]. Способность остеобластов регулировать самоподдержание и активацию ГСК до сих пор окончательно не доказана, однако, получен ряд данных *in vitro* о том, что эти клетки регулируют дифференцировку ГСК в гранулоциты и В-лимфоциты посредством секреции растворимых факторов роста и цитокинов, включая LIF-1 (фактор-1, ингибирующий лейкоз), GM-CSF (гранулоцитарный колоние-стимулирующий фактор), SDF-1 и интерлейкин-6 [69]. Наряду с остеобластами, строма костного мозга содержит адипоциты, также происходящие из МСК. Интересно, что адипоциты функционируют в костном мозге как отрицательные регуляторы гемопоэза, действуя по не известным пока молекулярным механизмам [74]. Следовательно, в костном мозге МСК служат источником двух типов клеток, проявляющих антагонистические свойства в отношении регуляции ГСК, остеобластов и адипоцитов. Остается не известным, что обуславливает выбор между коммитированностью МСК в том или ином направлении, и как баланс между продукцией остеобластов и адипоцитов влияет на гемопоэз [12].

МСК также могут регулировать гемопоэтическое микроокружение, организуя сосудистую сеть в кост-

ном мозге – необходимый структурный и функциональный компонент ниш ГСК [69]. В двух независимых исследованиях показано существование «двойственных ниш стволовых клеток», в которых два типа стволовых клеток, ГСК и МСК, непосредственно взаимодействуют в периваскулярных пространствах костного мозга. В частности, установлено, что большинство ГСК располагается на расстоянии не более 30 мкм (~ 5 диаметров ГСК) от ретикулярных клеток, продуцирующих большое количество SDF-1 $\alpha$ , а также содержащих нестин [13, 32]. Как уже сказано, эти клетки являются МСК или их ближайшими потомками, поскольку они способны к самоподдержанию и дифференцировке в остеогенном и адипогенном направлениях *in vitro* и *in vivo*.

Нестинположительные МСК экспрессируют факторы, необходимые для удержания ГСК в нише и их самоподдержания, в количестве в 50–700 раз больше, чем остальные стромальные клетки костного мозга. Кроме того, нестинсодержащие МСК поддерживают рост колоний ГСК *in vitro*, а их удаление вызывает резкое уменьшение количества ГСК *in vivo*.

К отличительным особенностям нестинэкспрессирующих МСК костного мозга относятся экспрессия  $\beta$ 3-адренорецепторов и способность отвечать на сигналы нервной системы. Агонисты  $\beta$ 3- и  $\beta$ 2-адренорецепторов вызывают подавление экспрессии SDF-1 $\alpha$ , SCF, ангиопоэтина-1 и интерлейкина-7 в нестинэкспрессирующих МСК, что, в свою очередь, вызывает мобилизацию ГСК. Таким образом осуществляется регуляция гемопоэза нервной системой.

Со времен Вирхова было известно, что перициты, имеющие периэндотелиальную локализацию, могут служить мишенями для окончаний аксонов и тем самым играть ключевую роль в сопряжении нервной и сосудистой систем [75]. Как уже подчеркивалось выше, часть перицитов представлена МСК. В этой связи выполняемая МСК функция сопряжения компартмента ГСК и нервной системы хорошо согласуется с их периваскулярной локализацией (рис. 3).

МСК костного мозга служат также мишенью для клеток врожденного иммунитета, таких, как макрофаги. В отличие от стимулирующего мобилизацию действия нервной системы, макрофаги костного мозга способствуют удержанию ГСК в нише [76].

Являются ли МСК других тканей компонентом ниш для тканеспецифичных резидентных стволовых клеток и опосредуют ли в этих нишах влияние нервной системы, остается неясным. Так, МСК, выделенные из миокарда, оказались способны стимулировать выживание и пролиферацию стволовых клеток сердца *in vitro* [77], однако, взаимодействие этих клеток с тканеспецифичными стволовыми клетками *in vivo* остается невыясненным [78]. В тонком





**Рис. 3.** Схема взаимодействия МСК с аксонами, эндотелиальными клетками, лейкоцитами и тканеспецифичными стволовыми клетками (см. пояснения в тексте).

кишечнике и коже также обнаружены популяции МСК, ответственных за регуляцию трофики и восстановления этих тканей при повреждении. Однако насколько важно их взаимодействие с тканеспецифичными стволовыми клетками для процессов обновления тканей еще предстоит выяснить. По крайней мере в костном мозге МСК – это необходимый компонент периваскулярной ниши тканеспецифичных

резидентных стволовых клеток (в данном случае – ГСК), позволяющий интегрировать сигналы нервной и иммунной систем и периферического кровотока.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные результаты позволяют нам предположить, что в организме существуют два типа МСК: циркулирующие в крови МСК костномозгового происхождения, которые принимают участие в репарации тканей при повреждении, и резидентные МСК, локализованные периваскулярно во всех органах и тканях, которые регулируют физиологическое обновление тканей и поддержание тканевого гомеостаза. МСК считаются важнейшими участниками процессов обновления и регенерации тканей. Во-первых, эти клетки осуществляют регуляцию самоподдержания и дифференцировки тканеспецифичных стволовых клеток. Во-вторых, МСК стимулируют рост и осуществляют стабилизацию кровеносных сосудов и нервов в процессах репарации тканей. В-третьих, взаимодействие МСК с лимфоцитами, эндотелиальными клетками и аксонами позволяет интегрировать нейрогуморальные сигналы, регулирующие обновление и репарацию тканей. ●

*Работа выполнена в рамках Государственного контракта № 16.512.12.2005 и при поддержке гранта РФФИ № 11-04-12107-офи-м-2011.*

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Maximov A.A. // Folia Haematologica. 1909. V. 8. P. 125–134.
- Becker A.J., Mc C.E., Till J.E. // Nature. 1963. V. 197. P. 452–454.
- Friedenstein A.J., Piatetzky S., Petrakova K.V. // J. Embryol. Exp. Morphol. 1966. V. 16. P. 381–390.
- Friedenstein A.J., Chailakhjan R.K., Lalykina K.S. // Cell Tissue Kinet. 1970. V. 3. P. 393–403.
- Weissman I.L. // Cell. 2000. V. 100. P. 157–168.
- Caplan A.I. // Clin. Plast Surg. 1994. V. 21. P. 429–435.
- Prockop D.J. // Science. 1997. V. 276. P. 71–74.
- Caplan A.I. // J. Orthop. Res. 1991. V. 9. P. 641–650.
- da Silva Meirelles L., Chagastelles P.C., Nardi N.B. // J. Cell Sci. 2006. V. 119. P. 2204–2213.
- Young H.E. // Curr. Top. Microbiol. Immunol. 2004. V. 280. P. 71–109.
- Giannoudis P.V., Goff T., Roshdy T., Jones E., McGonagle D. // Injury. 2010. V. 41. P. 1099–1102.
- Nombela-Arrieta C., Ritz J., Silberstein L.E. // Nat. Rev. Mol. Cell. Biol. 2011. V. 12. P. 126–131.
- Morikawa S., Mabuchi Y., Kubota Y., Nagai Y., Niibe K., Hiratsu E., Suzuki S., Miyauchi-Hara C., Nagoshi N., Sunabori T., et al. // J. Exp. Med. 2009. V. 206. P. 2483–2496.
- Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop D., Horwitz E. // Cytotherapy. 2006. V. 8. P. 315–317.
- Mosna F., Sensebe L., Krampera M. // Stem Cells Dev. 2010. V. 19. P. 1449–1470.
- Panepucci R.A., Siufi J.L., Silva W.A., Jr., Proto-Siquiera R., Neder L., Orellana M., Rocha V., Covas D.T., Zago M.A. // Stem Cells. 2004. V. 22. P. 1263–1278.
- Lee R.H., Kim B., Choi I., Kim H., Choi H.S., Suh K., Bae Y.C., Jung J.S. // Cell Physiol. Biochem. 2004. V. 14. P. 311–324.
- Ефименко А.Ю., Старостина Е.Е., Рубина К.А., Калинина Н.И., Парфенова Е.В. // Цитология. 2010. Т. 52. С. 144–154.
- Li F., Wang X., Niyibizi C. // Bone. 2010. V. 47. P. 546–555.
- Konno M., Hamazaki T.S., Fukuda S., Tokuhara M., Uchiyama H., Okazawa H., Okochi H., Asashima M. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 2010. V. 400. P. 461–465.
- Tan G., Shim W., Gu Y., Qian L., Chung Y.Y., Lim S.Y., Yong P., Sim E., Wong P. // Differentiation. 2010. V. 7. P. 260–271.
- Banas A., Teratani T., Yamamoto Y., Tokuhara M., Takeshita F., Osaki M., Kato T., Okochi H., Ochiya T. // J. Gastroenterol. Hepatol. 2009. V. 24. P. 70–77.
- Park B.W., Kang D.H., Kang E.J., Byun J.H., Lee J.S., Maeng G.H., Rho G.J. // J. Tissue Eng. Regen. Med. 2011, in press, doi: 10.1002/term.404.
- Alvarez-Dolado M., Pardo R., Garcia-Verdugo J.M., Fike J.R., Lee H.O., Pfeffer K., Lois C., Morrison S.J., Alvarez-Buylla A. // Nature. 2003. V. 425. P. 968–973.
- Muraglia A., Cancedda R., Quarto R. // J. Cell Sci. 2000. V. 113 (Pt 7). P. 1161–1166.
- Tallone T., Realini C., Bohmler A., Kornfeld C., Vassalli G., Moccetti T., Bardelli S., Soldati G. // J. Cardiovasc. Transl. Res. 2011. V. 4. P. 200–210.
- Haasters F., Prall W.C., Anz D., Bourquin C., Pautke C.,

- Endres S., Mutschler W., Docheva D., Schieker M. // *J. Anat.* 2009. V. 214. P. 759–767.
28. Ratajczak J., Wysoczynski M., Zuba-Surma E., Wan W., Kucia M., Yoder M.C., Ratajczak M.Z. // *Exp. Hematol.* 2011. V. 39. P. 225–237.
29. Jiang Y., Jahagirdar B.N., Reinhardt R.L., Schwartz R.E., Keene C.D., Ortiz-Gonzalez X.R., Reyes M., Lenvik T., Lund T., Blackstad M., Du J., Aldrich S., Lisberg A., Low W.C., Largaespada D.A., Verfaillie C.M. // *Nature.* 2002. V. 41. P. 41–49.
30. Kuroda Y., Kitada M., Wakao S., Nishikawa K., Tanimura Y., Makinoshima H., Goda M., Akashi H., Inutsuka A., Niwa A., et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010. V. 107. P. 8639–8643.
31. Tolar J., Le Blanc K., Keating A., Blazar B.R. // *Stem Cells.* 2010. V. 28. P. 1446–1455.
32. Mendez-Ferrer S., Michurina T.V., Ferraro F., Mazloom A.R., Macarthur B.D., Lira S.A., Scadden D.T., Ma'ayan A., Enikolopov G.N., Frenette P.S. // *Nature.* 2010. V. 466. P. 829–834.
33. Lopatina T., Kalinina N., Karagyaour M., Stambolsky D., Rubina K., Revischin A., Pavlova G., Parfyonova Y., Tkachuk V. // *PLoS One.* 2011. V. 6. P. e17899.
34. Rubina K., Kalinina N., Efimenko A., Lopatina T., Melikhova V., Tsokolaeva Z., Sysoeva V., Tkachuk V., Parfyonova Y. // *Tissue Eng. Part A.* 2009. V. 15. P. 2039–2050.
35. Kinnaird T., Stabile E., Burnett M.S., Lee C.W., Barr S., Fuchs S., Epstein S.E. // *Circ. Res.* 2004. V. 94. P. 678–685.
36. Рубина К.А., Калинина Н.И., Ефименко А.Ю., Лопатина Т.В., Мелихова В.С., Цоколаева З.И., Сысоева В.Ю., Ткачук В.А., Парфенова Е.В. // *Кардиология.* 2010. Т. 50. С. 51–61.
37. Semenza G.L. // *J. Cell Biochem.* 2007. V. 102. P. 840–847.
38. Cai L., Johnstone B.H., Cook T.G., Tan J., Fishbein M.C., Chen P.S., March K.L. // *Stem. Cells.* 2009. V. 27. P. 230–237.
39. Uccelli A., Moretta L., Pistoia V. // *Nat. Rev. Immunol.* 2008. V. 8. P. 726–736.
40. Sioud M. // *Scand. J. Immunol.* 2011. V. 73. P. 79–84.
41. Pillai S., Cariappa A. // *Immunol. Cell. Biol.* 2009. V. 87. P. 16–19.
42. Sapozhnikov A., Pewzner-Jung Y., Kalchenko V., Krauthgamer R., Shachar I., Jung S. // *Nat. Immunol.* 2008. V. 9. P. 388–395.
43. Beckermann B.M., Kallifatidis G., Groth A., Frommhold D., Apel A., Mattern J., Salnikov A.V., Moldenhauer G., Wagner W., Diehlmann A., et al. // *J. Cancer.* 2008. V. 9. P. 622–631.
44. Zhu Y., Sun Z., Han Q., Liao L., Wang J., Bian C., Li J., Yan X., Liu Y., Shao C., Zhao R.C. // *Leukemia.* 2009. V. 23. P. 925–933.
45. Djouad F., Bony C., Apparailly F., Louis-Plence P., Jorgensen C., Noel D. // *Transplantation.* 2006. V. 82. P. 1060–1066.
46. Djouad F., Plence P., Bony C., Tropel P., Apparailly F., Sany J., Noel D., Jorgensen C. // *Blood.* 2003. V. 102. P. 3837–3844.
47. Kucerova L., Matuskova M., Hlubinova K., Altanerova V., Altaner C. // *Mol. Cancer.* 2010. V. 9. P. 129.
48. Karnoub A.E., Dash A.B., Vo A.P., Sullivan A., Brooks M.W., Bell G.W., Richardson A.L., Polyak K., Tubo R., Weinberg R.A. // *Nature.* 2007. V. 449. P. 557–563.
49. Prantl L., Muehlberg F., Navone N.M., Song Y.H., Vykoukal J., Logothetis C.J., Alt E.U. // *Prostate.* 2010. V. 70. P. 1709–1715.
50. Torsvik A., Rosland G.V., Svendsen A., Molven A., Immervoll H., McCormack E., Lonning P.E., Primon M., Sobala E., Tonn J.C., et al. // *Cancer Res.* 2010. V. 70. P. 6393–6396.
51. Zhu W., Xu W., Jiang R., Qian H., Chen M., Hu J., Cao W., Han C., Chen Y. // *Exp. Mol. Pathol.* 2006. V. 80. P. 267–274.
52. Shinagawa K., Kitada Y., Tanaka M., Sumida T., Kodama M., Higashi Y., Tanaka S., Yasui W., Chayama K. // *Int. J. Cancer.* 2010. V. 127. P. 2323–2333.
53. Spaeth E.L., Dembinski J.L., Sasser A.K., Watson K., Klopp A., Hall B., Andreeff M., Marini F. // *PLoS One.* 2009. V. 4. P. e4992.
54. Khakoo A.Y., Pati S., Anderson S.A., Reid W., Elshal M.F., Rovira I.I., Nguyen A.T., Malide D., Combs C.A., Hall G., et al. // *J. Exp. Med.* 2006. V. 203. P. 1235–1247.
55. Qiao L., Xu Z., Zhao T., Zhao Z., Shi M., Zhao R.C., Ye L., Zhang X. // *Cell Res.* 2008. V. 18. P. 500–507.
56. Qiao L., Xu Z.L., Zhao T.J., Ye L.H., Zhang X.D. // *Cancer Lett.* 2008. V. 269. P. 67–77.
57. Cousin B., Ravet E., Poglio S., De Toni F., Bertuzzi M., Lulka H., Touil I., Andre M., Grolleau J.L., Peron J. M., et al. // *PLoS One.* 2009. V. 4. P. e6278.
58. Secchiero P., Zorzet S., Tripodo C., Corallini F., Melloni E., Caruso L., Bosco R., Ingraio S., Zavan B., Zauli G. // *PLoS One.* 2010. V. 5. P. e11140.
59. Sacchetti B., Funari A., Michienzi S., Di Cesare S., Piersanti S., Saggio I., Tagliafico E., Ferrari S., Robey P.G., Riminucci M., Bianco P. // *Cell.* 2007. V. 131. P. 324–336.
60. Crisan M., Yap S., Casteilla L., Chen C.W., Corselli M., Park T.S., Andriolo G., Sun B., Zheng B., Zhang L., et al. // *Cell Stem Cell.* 2008. V. 3. P. 301–313.
61. Shi S., Gronthos S. // *J. Bone Miner. Res.* 2003. V. 18. P. 696–704.
62. Corselli M., Chen C.W., Crisan M., Lazzari L., Peault B. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010. V. 30. P. 1104–1109.
63. Dore-Duffy P. // *Curr. Pharm. Des.* 2008. V. 14. P. 1581–1593.
64. Tang W., Zeve D., Suh J.M., Bosnakovski D., Kyba M., Hammer R.E., Tallquist M.D., Graff J.M. // *Science.* 2008. V. 322. P. 583–586.
65. Kiel M.J., Yilmaz O.H., Iwashita T., Terhorst C., Morrison S.J. // *Cell.* 2005. V. 121. P. 1109–1121.
66. Dellavalle A., Sampaolesi M., Tonlorenzi R., Tagliafico E., Sacchetti B., Perani L., Innocenzi A., Galvez B.G., Messina G., Morosetti R., et al. // *Nat. Cell Biol.* 2007. V. 9. P. 255–267.
67. Traktuev D.O., Merfeld-Clauss S., Li J., Kolonin M., Arap W., Pasqualini R., Johnstone B.H., March K.L. // *Circ. Res.* 2008. V. 102. P. 77–85.
68. Saleh F.A., Whyte M., Ashton P., Genever P.G. // *Stem Cells Dev.* 2010. V. 20. P. 391–403.
69. Garrett R.W., Emerson S.G. // *Cell Stem Cell.* 2009. V. 4. P. 503–506.
70. Mendes S.C., Robin C., Dzierzak E. // *Development.* 2005. V. 132. P. 1127–1136.
71. Lo Celso C., Fleming H.E., Wu J.W., Zhao C.X., Miale-Lye S., Fujisaki J., Cote D., Rowe D.W., Lin C.P., Scadden D.T. // *Nature.* 2009. V. 457. P. 92–96.
72. Xie Y., Yin T., Wiegnaebe W., He X.C., Miller D., Stark D., Perko K., Alexander R., Schwartz J., Grindley J.C., et al. // *Nature.* 2009. V. 457. P. 97–101.
73. Calvi L.M., Adams G.B., Weibrecht K.W., Weber J.M., Olson D.P., Knight M.C., Martin R.P., Schipani E., Divieti P., Bringham F.R., et al. // *Nature.* 2003. V. 425. P. 841–846.
74. Naveiras O., Nardi V., Wenzel P.L., Hauschka P.V., Fahey F., Daley G.Q. // *Nature.* 2009. V. 460. P. 259–263.
75. Armulik A., Genove G., Mae M., Nisancioglu M.H., Wallgard E., Niaudet C., He L., Norlin J., Lindblom P., Strittmatter K., et al. // *Nature.* 2010. V. 468. P. 557–561.
76. Chow A., Lucas D., Hidalgo A., Mendez-Ferrer S., Hashimoto D., Scheiermann C., Battista M., Leboeuf M., Prophete C., van Rooijen N., et al. // *J. Exp. Med.* 2011. V. 208. P. 261–271.
77. Lushaj E.B., Anstadt E., Haworth R., Roenneburg D., Kim J., Hematti P., Kohmoto T. // *Cytotherapy.* 2011. V. 13. P. 400–406.
78. Mazhari R., Hare J.M. // *Nat. Clin. Pract. Cardiovasc. Med.* 2007. V. 4. Suppl 1. P. S21–26.