

ЛИТЕРАТУРА:

1. Yin A.H. et al. AC133 a novel marker for human hematopoietic stem and progenitor cells. *Blood* 1997; 90; 12: 5002–12.
2. Miraglia S. et al. A novel five-transmembrane hematopoietic stem cell antigen: isolation, characterization, and molecular cloning. *Blood* 1997; 90; 12: 5013–21.
3. Gordon P.R. et al. Large-scale isolation of CD133+ progenitor cells from G-CSF mobilized peripheral blood stem cells. *Bone Marrow Transplant* 2003; 31: 17–22.
4. Gallacher L. et al. Isolation and characterization of human CD34(-)Lin(-) and CD34(+)Lin(-) hematopoietic stem cells using cell surface markers AC133 and CD7. *Blood* 2000; 95: 2813–20.
5. Peichev M. et al. Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34(+) cells identifies a population of functional endothelial precursors. *Blood* 2000; 95: 952–8.
6. Bhatia M. AC133 expression in human stem cells. *Leukemia* 2001; 15: 1685–8.
7. Summers J.Y. et al. AC133+ G-0 cells from cord blood show a high incidence of long-term culture-initiating cells and a capacity for more than 100 million-fold amplification of colony-forming cells in vitro. *Stem Cells* 2004; 22: 704–15.
8. Uchida K. et al. Possible oncogenicity of subventricular zone neural stem cells: case report. *Neurosurgery* 2004; 55: E977–E987.
9. Serakinci N. et al. Adult human mesenchymal stem cell as a target for neoplastic transformation. *Oncogene* 2004; 23; 29: 5095–8.
10. Tai M.-H. et al. Oct-4 expression in adult human stem cells: evidence in support of the stem cell theory of carcinogenesis. *Carcinogenesis online* (prepublished – doi:10.1093/carcin/bgh321).
11. Stamm C. et al. Autologous bone-marrow stem-cell transplantation for myocardial regeneration. *Lancet* 2003; 361: 45–6.
12. Pompilio G. et al. Autologous peripheral blood stem cell transplantation for myocardial regeneration: a novel strategy for cell collection and surgical injection. *Ann Thorac Surg* 2004;78:1808–13.
13. Singh S.K. et al. Identification of a cancer stem cell in human brain tumors. *Cancer Res* 2003 63: 5821–8.

Подготовил А.В. Берсенев;

Слияние клеток костного мозга с мышечными клетками терапевтически не эффективно

В ряде экспериментальных исследований было показано, что системная или локальная трансплантация целого костного мозга (ТКМ) или его гемопоэтической фракции (ГК) может коррегировать такие мышечные дефекты как синтез дистрофина (на mdx модели миопатии Дюшенна) [3], токсическое и радиационное повреждение [1, 2, 4]. Клетки костного мозга обуславливают также регенерацию повреждённой сердечной мышцы [5, 6]. Механизм регенерации мышцы и терапевтический эффект после таких трансплантаций объясняют феноменом слияния клеток костного мозга с миоцитами хозяина [2, 7, 8]. Биологическое значение феномена слияния клеток костного мозга реципиента и хозяина остаётся неясным [8, 9, 10]. До настоящего времени, было показано, что слияние может обуславливать регенерацию повреждённой ткани и не нести никаких отрицательных последствий [2, 9, 10]. В недавнем исследовании, опубликованном в *Journal Clinical Investigation*, впервые показано, что слияние клеток костного мозга при генетической миопатии не имеет никакого смысла и терапевтически не эффективно.

Модель нарушения синтеза саркогликана-дельта (*Sgcd*^{-/-}-мыши) была предложена как альтернатива mdx модели миопатии Дюшенна. Основные преимущества этого подхода, по мнению исследователей, заключаются в том, что это эндогенный маркер зрелых мышечных волокон, который образует мембрана-связанный комплекс, дефект которого влечёт повреждение других членов семейства саркогликанов и дистрофина. Это обуславливает развитие прогрессирующей мышечной дистрофии и кардиомиопатии [11]. ГК (side population) выделяли из костного мозга по методу Goodell (1996). Аллогенные (от здоровых мышей) трансгендерные трансплантации выполняли сублетально облучённым *Sgcd*^{-/-}-мышам внутривенно в дозе 4–30 тыс. клеток. Клетки идентифицировали по Y-хромосоме в биоптатах мышц бедра через 3 недели и через 3 месяца после трансплантации. Скопления донорских клеток обнаруживали у реципиентов между мышечными волокнами (более чем в 90%). Хороший engraftment ГК в дефектные мышцы наблюдали также в виде Y⁺ ядер в центре или по периферии миофибрилл. У каждой *Sgcd*^{-/-}-мышцы-реципиента (n=14) исследовали по 10000 мышечных волокон на предмет синтеза саркогликана. Однако из такого огромного количества

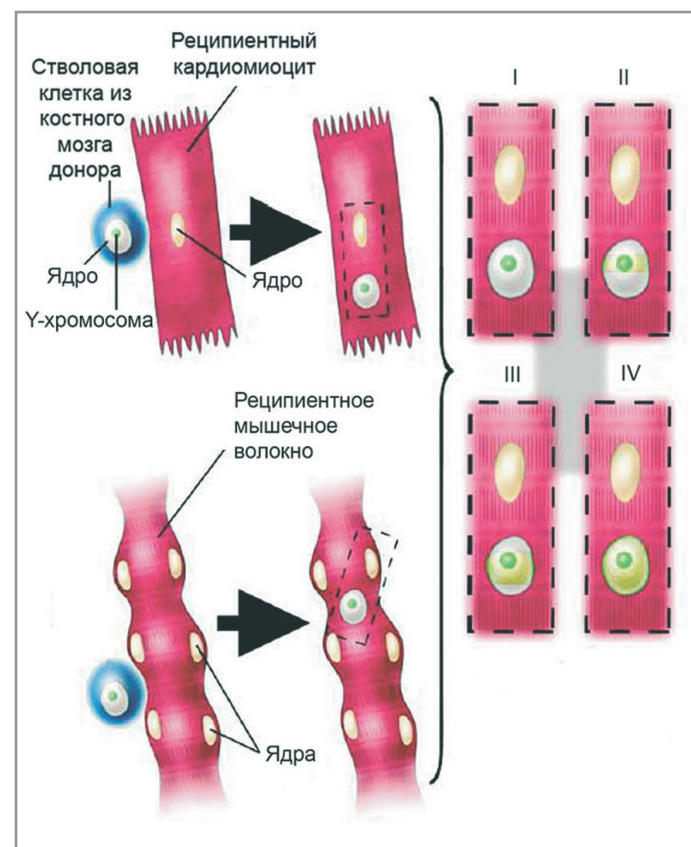


Рис. Схема возможного репрограммирования ядра дефектного миоцита посредством слияния с донорской «нормальной» клеткой: I – все зрелые мышечные гены выключены; II – общие (коммитированные) гены включены, зрелые (специфические) – выключены; III – «ранние» мышечные гены включены, «зрелые» мышечные – выключены; IV – все мышечные гены включены (по *Cossu G. J Clin Invest* 2004; 114: 1542, с изменениями).

материала удалось обнаружить только 2 мышечных волокна, с подтвержденным синтезом этого белка. Предварительное облучение реципиентов значительно усиливало включение донорских клеток (с 0,82% до 4,2%). Таким образом, слияние ГК с мышечными волокнами не обеспечивает синтеза саркогликана, также как и скопление донорских клеток между миоцитами хозяина.

На модели кардиомиопатии *Sgcd*^{-/-}-мышей также наблюдали высокий *engraftment* донорских клеток в миокард хозяина, степень которого напрямую зависела от предшествующего облучения реципиентов и времени, прошедшего после трансплантации. Степень слияния клеток была аналогичной таковой в скелетных мышцах. Однако не было обнаружено ни одной клетки, экспрессирующей саркогликан, вне зависимости от положения Y⁺ ядра (внутри или вне кардиомиоцита хозяина). Прямая локальная трансгендерная аллогенная трансплантация первичных миобластов, выделенных от новорожденных доноров, напротив, приводила к восстановлению синтеза саркогликанов (всего комплекса семейства) миоцитами хозяина через механизм слияния. Наконец, локальное внутримышечное введение ГК, также, как и системная ТКМ (нефракционированного), не

приводило к восстановлению синтеза саркогликана. Результаты исследования противоречат предшествующим работам [2–6] по изучению возможностей регенерации мышечной ткани методом трансплантации клеток костного мозга. В комментарии к этой статье высказано предположение о повторении опытов Lapidos с другими типами клеток костного мозга, такими как мезенхимальные и МАРС. Кроме того, чтобы сделать окончательные выводы о механизмах восстановления генной экспрессии дефектной мышцы методом клеточной трансплантации, необходимо провести эксперименты с другими метками (например, LacZ под миоспецифичными промоторами), с хроматин-ремоделирующими агентами (для снятия эпигенетической модификации гистонов) и т.д. Поскольку опыты с мышечными стволовыми клетками (миобластами – более «продвинутыми» в дифференцировке) были успешны, возникает гипотеза о недостаточной «декодировке» генной экспрессии в дефектной клетке посредством донорского (нормального) ядра более незрелой клетке (рис.). Авторы работы призывают воздержаться от клинических исследований по применению ТКМ и ГК с целью лечения мышечных дистрофий и кардиомиопатий.

Л И Т Е Р А Т У Р А :

1. LaBarge M.A., Blau H.M. Biological progression from adult bone marrow to mononucleate muscle stem cell to multinucleate muscle fiber in response to injury. *Cell* 2002; 11: 589–601.
2. Camargo F.D. et al. Single hematopoietic stem cells generate skeletal muscle through myeloid intermediates. *Nat Med* 2003; 9: 1520–7.
3. Gussoni E. et al. Dystrophin expression in the mdx mouse restored by stem cell transplantation. *Nature* 1999; 40: 390–4.
4. Ferrari G. et al. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science* 1998; 279: 1528–30.
5. Jackson K.A. et al. Regeneration of ischemic cardiac muscle and vascular endothelium by adult stem cells. *J. Clin. Invest* 2001; 107: 1395–402.
6. Orlic D. et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701–5.
7. Alvarez-Dolado M. et al. Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. *Nature* 2003; 425: 968–73.
8. Shi D. et al. Myogenic fusion of human bone marrow stromal cells, but not hematopoietic cells. *Blood* 2004; 104: 1: 290–4.
9. Abedi M. Robust conversion of marrow cells to skeletal muscle with formation of marrow-derived muscle cell colonies: a multifactorial process. *Exp Hematol* 2004; 32: 426–34.
10. Willenbring H. et al. Myelomonocytic cells are sufficient for therapeutic cell fusion in liver. *Nat Med* 2004; 10: 744–8.
11. Hack A.A. et al. Differential requirement for individual sarcoglycans and dystrophin in the assembly and function of the dystrophin-glycoprotein complex. *J Cell Sci* 2000; 113: 2535–44.

Подготовил А.В. Берсенов;
по материалам *J Clin Invest* 2004; 114: 1577–85.

Пластичность стволовых клеток костного мозга: участие Flk-1⁺ клеток в химеризации кожи и дифференцировке

Степень пластичности мезенхимальных стволовых клеток костного мозга (МСК) продолжает широко обсуждаться в научных кругах. Ряд работ посвящен изучению возможности дифференцировки клеток костного мозга в клетки кожи с перспективами их использования в лечении дефектов этого органа. Классическими работами по этой тематике являются исследования групп Krause и Korbling. Авторы получили ряд интересных фактов, свидетельствующих о возможном участии МСК в репарации кожного эпителия. Так, Korbling обнаружил Y⁺ клетки, экспрессирующие цитокератин в базальном слое кожного эпителия после трансгендерной пересадки гемопоэтических стволовых клеток человеку с частотой ~ 2–7% [1]. В работе Krause на мышинной модели, были обнаружены подобные клетки с частотой встречаемости 1,2 – 2,7% [2]. Однако, в исследовании Nematti не было получено подобной химеризации кожи, несмотря на применение высокочувствительных методов (RT-PCR), что могло бы поставить под сомнение результаты предыдущих работ [3]. В опытах по трансплантации GFP⁺ костного мозга диким мышам-реципиентам с моделью

повреждения кожи было показано, что значительное число клеток мигрирует как в поврежденные, так и в неповрежденные участки кожи. Повреждение стимулировало приживание и дифференцировку клеток костного мозга в коже [4, 7]. Недавно было показано, что усиление миграции клеток костного мозга в области кожного дефекта, и их дифференцировка в элементы эпидермиса не обусловлена феноменом слияния [5]. В другом эксперименте повреждение усиливало включение клеток костного мозга с уровня менее чем 1% до 4%, но явления дифференцировки в цитокератин-позитивные клетки были настолько редки, что исследователи ставят под сомнение степень пластичности донорских клеток [6]. Таким образом, предшествующие эксперименты по трансплантации фракционированного костного мозга продемонстрировали способность к миграции и химеризации кожи (как поврежденной, так и здоровой) и указали на возможную способность к дифференцировке в её отдельные структуры. Однако неясно, какие именно клетки и сигналы обуславливают способность к химеризации кожи, дифференцировке и стимуляции заживления ран.