

НОВОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ

Плюрипотентные гемопоэтические стволовые клетки и экспрессия миелоидных маркёров – поиск сайта лейкемической трансформации

Исследования последних лет продемонстрировали, что сигналом к началу лейкемии могут являться мутации в нормальных гемопоэтических стволовых клетках (ГСК) [1, 2, 5]. От пациентов с острой миелобластной лейкемией (ОМЛ) были выделены лейкемические стволовые клетки (ЛСК, лейкемия-иницирующие клетки) с таким же фенотипом (CD34⁺/CD38⁻) и характеристиками, как и у нормальных ГСК [3–5]. Таким образом, теория лейкемогенеза из нормальных гемопоэтических клеток через ЛСК становится общепринятой. Однако остаётся неизвестным точный сайт лейкемической трансформации в гемопоэтическом иерархическом дереве. Это могут быть как плюрипотентные ГСК, способные к самообновлению, так и более коммитированные клетки, например, общий миелоидный или лимфоидный предшественник [5].

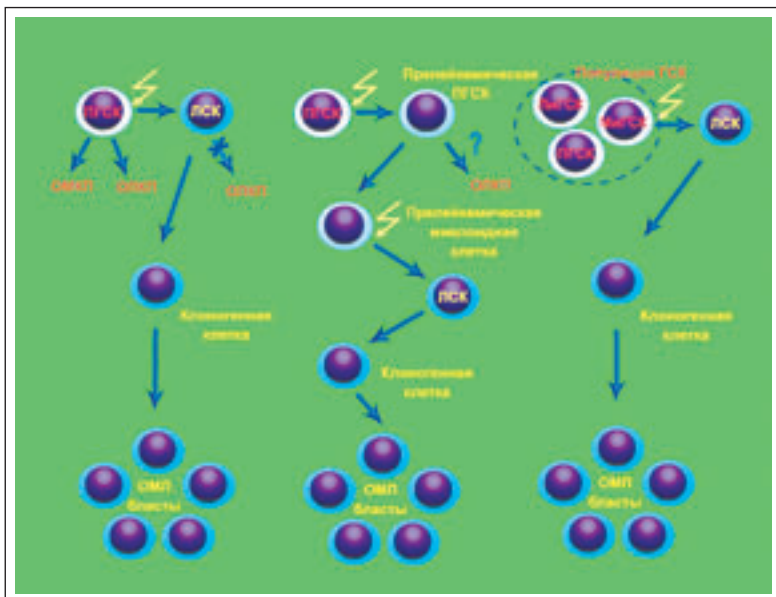
Общепринятым считается тот факт, что ГСК человека не несут маркеров дифференцированных клеток крови. Однако в недавних работах была показана транскрипция генов миелоидной дифференцировки в мышинных ГСК [6, 7]. Эти данные были подтверждены и *in vivo* [8–10]. Кроме того, известно, что с возрастом значительно увеличивается вероятность и число случаев ОМЛ [11, 12] в отличие от лимфолейкозов. Возможно, это связано с возрастным увеличением количества «миелоидных ГСК» и накоплением мутаций этих клеток [8, 11, 12]. Отсюда возникла гипотеза о «миелоидных ГСК»

или общем миелоидном предшественнике как сайте лейкемической трансформации. Если такая гипотеза верна, то это позволит селективно воздействовать именно на лейкемические миелоидные ГСК, сохраняя при этом нормальные ГСК [5].

В недавней работе, опубликованной в Blood, исследователи показали сходство экспрессии маркёров миелоидной дифференцировки в человеческих ГСК и в клетках, инициирующих лейкемию.

В результате экспериментов исследовательской группе удалось показать, что большинство lin⁻/CD34⁺/CD38⁻ ГСК пуповинной крови и нормального костного мозга человека также экспрессирует миелоидные маркеры – CD33, CD13, CD123. Они способны заселять костный мозг NOD/SCID мышей и известны как SCID-репопулирующие [13]. Эти ГСК были отсортированы по экспрессии CD33. Только у двух животных из пяти, которым была сделана пересадка CD33⁻ фракции, был показан мультилинейный энgraфтмент. При трансплантации CD33⁺ фракции приживление наблюдали в 16 из 17 случаев. Кроме того, была показана способность к самообновлению (самовоспроизведению) у CD33⁺ ГСК после серийных трансплантаций.

При исследовании экспрессии CD13 и CD33 клетками ОМЛ использовалась мононуклеарная фракция периферической крови пациентов. В аналогичных экспериментах был показан значительно больший процент энgraфтмента CD33⁺



Возможная схема извращенного гемопоэза при развитии миелотрансформации:

- ПГСК – гемопоэтическая плюрипотентная стволовая клетка;
- ЛСК – стволовая клетка лейкоза;
- ЛиГСК – лимфоцитарная гемопоэтическая стволовая клетка;
- МиГСК – миелоидная гемопоэтическая стволовая клетка;
- ОМКП – общая миелоидная клетка-предшественник;
- ОЛКП – общая лимфоидная клетка-предшественник;
- ОМЛ – острый миелоидный лейкоз

клеток, по сравнению с CD33⁻. Кроме того, было показано, что антитела к CD33⁺ ингибируют приживление как лейкоэмических, так и нормальных ГСК.

Эта работа ещё раз подтверждает гипотезу о возможном происхождении клеток лейкемии из нормальных ГСК через ЛСК. Исследователи выдвигают гипотезу о lin⁻/CD34⁺/CD38⁻/CD33⁺ ГСК как сайте лейкоэмической трансформации при развитии ОМЛ.

Исследование меняет и некоторые представления о процессе дифференцировки ГСК. lin⁻/CD34⁺/CD38⁻/CD33⁺ ГСК ещё не общие миелоидные предшественники, поскольку способны давать мультилинейное кроветворение и самообновляться, но и более «продвинутой» стадии дифференцировки плюрипотентных ГСК. Авторы провели первые эксперименты *in vivo* для функционального описания CD33⁺ клеток из гемопоэтических источников, показали их способность к репопуляции костного мозга и самообновлению.

В статье обсуждается вопрос о происхождении клеток острой миелоидной лейкемии. На данный момент присутствуют

две точки зрения – эти клетки происходят от коммитированного миелоидного предшественника, который приобрел способность к самообновлению, или это перерождение происходит внутри ветви миелоидной дифференцировки. По данным этого исследования, CD34⁺/CD38⁻/CD123⁺/CD33⁺/CD13⁺ популяция присутствует как в клетках лейкемии, так и в нормальных ГСК, а значит, существует вероятность возникновения клеток ОМЛ из этих нормальных ГСК.

Работа имеет также большое клиническое значение, поскольку именно клетки, несущие миелоидные маркеры, являются мишенями в новейших методах лечения ОМЛ. Эти способы лечения могут быть направлены на элиминацию CD33⁺ клеток лейкемии, не затрагивая нормальных ГСК. Однако, если нормальные ГСК тоже экспрессируют CD33, то они также являются мишенью терапии (например, с помощью антител против CD33 антигена, конъюгированных с цитотоксическим агентом), что может быть причиной длительной цитопении и недостаточной эффективности лечения [14].

ЛИТЕРАТУРА:

1. Passegue E., Jamieson C.H., Ailles L.E., Weissman I.L. Normal and leukemic hematopoiesis: are leukemias a stem cell disorder or a reacquisition of stem cell characteristics? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003; 100(Suppl. 1): 11842–9.
2. Warner J.K., Wang J.C., Hope K.J. et al. Concepts of human leukemic development. *Oncogene* 2004; 23: 7164–77.
3. Lapidot T., Sirard C., Vormoor J. et al. A cell initiating human acute myeloid leukemia after transplantation into SCID mice. *Nature* 1994; 367: 645–8.
4. Bonnet D., Dick J.E. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat. Med.* 1997; 3: 730–7.
5. Satoh C., Ogata K. Hypothesis: Myeloid-restricted hematopoietic stem cells with self-renewal capacity may be the transformation site in acute myeloid leukemia. *Leuk. Res.* 2005; Epub.
6. Hu M., Krause D., Greaves M. et al. Multilineage gene expression precedes commitment in the hemopoietic system. *Genes Dev.* 1997; 11: 774–85.
7. Orkin S.H. Priming the hematopoietic pump. *Immunity* 2003; 19: 633–4.
8. Sudo K., Ema H., Morita Y., Nakauchi H. Age-associated characteristics of murine hematopoietic stem cells. *J. Exp. Med.* 2000; 192: 1273–80.

9. Takano H., Ema H., Sudo K., Nakauchi H. Asymmetric division and lineage commitment at the level of hematopoietic stem cells: inference from differentiation in daughter cell and granddaughter cell pairs. *J. Exp. Med.* 2004; 199: 295–302.

10. Muller-Sieburg C.E., Cho R.H., Karlsson L. et al. Myeloid-biased hematopoietic stem cells have extensive self-renewal capacity but generate diminished lymphoid progeny with impaired IL-7 responsiveness. *Blood* 2004; 103: 4111–8.

11. Rossi D.J., Bryder D., Zahn J.M. et al. Cell intrinsic alterations underlie hematopoietic stem cell aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005; 102: 9194–9.

12. Bell D.R., Van Zant G. Stem cells, aging, and cancer: inevitabilities and outcomes. *Oncogene* 2004; 23: 7290–6.

13. Larochelle A., Vormoor J., Hanenberg H. et al. Identification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating NOD/SCID mouse bone marrow: implications for gene therapy. *Nat. Med.* 1996; 2: 1329–37.

14. Sievers E.L., Larson R.A., Stadtmauer E.A. et al. Efficacy and safety of gemtuzumab ozogamicin in patients with CD33-positive acute myeloid leukemia in first relapse. *J. Clin. Oncol.* 2001; 19: 3244–54.

Подготовила В.С. Мелихова

По материалам *Blood*, *prepublished online*;
DOI 10.1182/blood-2005-03-1072

Новые данные в изучении генетических механизмов поддержания «стволовости» в эмбриональных стволовых клетках человека

Эмбриональное развитие у млекопитающих подразумевает дифференцировку более 200 специфических типов клеток из одной плюрипотентной эмбриональной стволовой клетки (ЭСК). Понимание процесса регуляции экспрессии генов в этих клетках необходимо для выяснения механизмов раннего развития и для их возможного терапевтического использования. Важнейшей характеристикой ЭСК является способность к самообновлению или поддержанию так называемой «стволовости» (stemness), обуславливающей их иммортальность с сохранением потенциала к плюрипотентной дифференцировке.

В последние годы было установлено, что способность ЭСК человека и мыши к самообновлению объясняется

взаимодействием таких факторов транскрипции, как Oct3/4 (Octamer-binding transcription factor4), SOX2 и NANOG [1–4]. Эти белки играют ключевую роль в раннем эмбриональном развитии, так как они необходимы для воспроизводства недифференцированных эмбриональных клеток [2, 4]. Нарушение экспрессии основных регуляторов раннего эмбрионального развития – Oct3/4 и NANOG [5] ведет к эктопической дифференцировке клеток внутренней массы бластоцисты в трофоэктодерму, а также к формированию энтодермы вне эмбриона. Во взрослом организме экспрессия Oct3/4 установлена в опухолевых клетках в процессе канцерогенеза. Во всех нормальных зрелых соматических клетках человека этот