

НОВОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ

Специфичный иммунный ответ к маркеру плюрипотентности стволовых клеток SOX2 у пациентов с моноклональной гаммапатией ассоциируется с благоприятным прогнозом

Иммунный ответ к опухолевым антигенам может играть важную роль в борьбе со злокачественными новообразованиями. Тем не менее, использование разных видов активной и пассивной иммунотерапии, как правило, имеет лишь ограниченный эффект. Это может быть связано с иммунной некомпетентностью организма на поздних стадиях развития новообразования, разными механизмами «ускользания» злокачественных клеток от иммунного ответа или развитием стойкой толерантности. Более того, в настоящий момент не существует убедительных доказательств ассоциации иммуносупрессии с повышенной частотой опухолевых заболеваний. Для больных с иммуносупрессией, как правило, характерна повышенная частота возникновения только тех новообразований, которые в своей основе имеют вирусную природу.

Вместе с тем, большому ряду злокачественных опухолей предшествуют доброкачественные (премалигнантные) образования. Логично предположить, что на момент возникновения последних организм пациентов, как правило, является иммунокомпетентным, а разные механизмы, обуславливающие «ускользание» опухолевых клеток от иммунного ответа, еще не формируются. Тем не менее, данная проблема остается практически не изученной.

Согласно широко используемых в настоящий момент REAL (1994) и ВОЗ (1997) классификаций онкологических заболеваний гематологической и лимфоидной систем, среди плазмноклеточных опухолей выделяют моноклональную гаммапатию неустановленного значения (МГНЗ) и различные варианты множественной миеломы (ММ). В основе МГНЗ лежит появление патологического клона плазматических клеток, которые вырабатывают моноклональный иммуноглобулин. МГНЗ характеризуется отсутствием какой-либо клинической картины и выявляется только при обнаружении в сыворотке крови или моче моноклональных иммуноглобулинов или при исследовании клеток костного мозга. Данная патология обнаруживается примерно у 3% взрослых старше 50 лет [1]. У 1% пациентов с МГНЗ в течение каждого года происходит трансформация заболевания в ММ с появлением характерной клинической картины.

Исследовательская группа R. Spisek et al. изучает иммунный ответ, направленный на опухолевые антигены при МГНЗ и ММ. В предыдущей работе они показали, что у пациентов с МГНЗ может возникать иммунный ответ по отношению к трансформированным плазматическим клеткам [2]. Тем не менее, специфические антигены, распознаваемые лимфо-

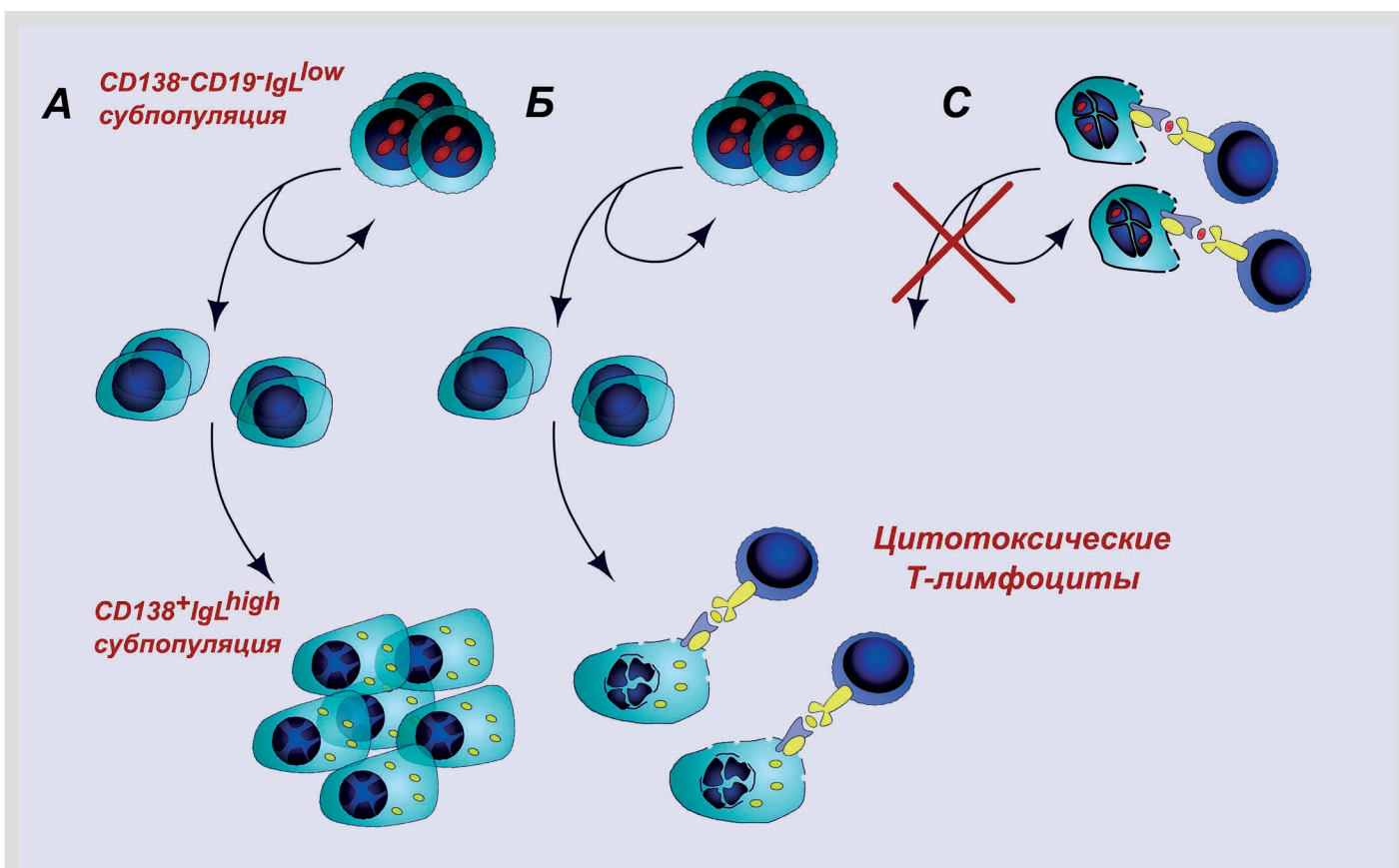
цитами, а также значение этого феномена для течения заболевания оставались неясными.

В недавнем исследовании, опубликованном в *Journal of Experimental Medicine*, авторы пытались идентифицировать опухолевые антигены, которые являются мишенями для иммунного ответа у данных пациентов. В сыворотке крови больных были обнаружены антитела G класса к 27 из 83 исследованных опухолевых антигенов. Интересным фактом стало наблюдение, что антитела к антигену SOX2 наблюдались у некоторых пациентов с МГНЗ, но ни у одного пациента с ММ. SOX2 специфичные CD8⁺ и CD4⁺ T-лимфоциты были обнаружены только у ряда пациентов с МГНЗ. CD4⁺ T-лимфоциты продуцировали γ -интерферон и, следовательно, относились к Th1 субпопуляции.

В норме транскрипционный фактор SOX2 экспрессируется у эмбриональных и нейральных стволовых клеток, и играет ключевую роль в регуляции самообновления и плюрипотентности [3, 4]. С другой стороны, у пациентов с ММ среди плазматических клеток существует небольшая популяция CD138⁺ клеток, которые имеют характеристики опухолевых стволовых клеток [5]. Учитывая важную роль SOX2 в поддержании фундаментальных свойств «стволовости», авторы предположили, что экспрессия описанного транскрипционного фактора может являться маркером опухолевых клоногенных клеток у пациентов с МГНЗ.

При анализе распределения экспрессии SOX2 среди плазматических клеток у пациентов с МГНЗ было обнаружено, что SOX2 является специфическим маркером CD138⁺CD19⁻IgL^{low} субпопуляции клеток, которая составляла не более 0,5–1,5 процентов моноклеарных клеток костного мозга. Именно клетки данного фенотипа были описаны как ОСК при ММ [6]. Однако у пациентов с ММ экспрессия SOX2 наблюдалась и в более дифференцированной популяции клеток CD138⁺IgL^{high}. Значение выявленного феномена в трансформации МГНЗ в ММ остается неясным.

Для оценки влияния SOX2-специфичного иммунного ответа на рост опухолевых клеток при МГНЗ авторы культивировали плазматические клетки с моноклеарными пептидами SOX2. В описанных условиях наблюдалось значительное подавление роста колоний опухолевых клеток. Это наблюдение свидетельствует, что SOX2-специфичный иммунный ответ ингибирует формирование колоний, источником которых являются SOX2⁺ клетки, что может ассоциироваться с благоприятным прогнозом у пациентов с МГНЗ.



Клетки опухолей при МГНЗ и ММ не являются однородными и состоят как минимум из двух неравнозначных популяций. Основная популяция по степени дифференцировки соответствует плазматическим клеткам и имеет фенотип $CD138^+IgL^{high}$. Меньшая популяция соответствует предшественникам плазматических клеток, имеет фенотип $CD138^-CD19^-IgL^{low}$ и, по-видимому, является ОСК. Клетки разных популяций экспрессируют различные наборы опухолевых антигенов, так как имеют разные стадии дифференцировки (А). Иммунный ответ, специфичный к антигенам плазматических клеток, не будет играть значительной роли в динамике развития опухоли, так как эта популяция не имеет большого значения в ее существовании (Б). С другой стороны, иммунный ответ, направленный на антигены ОСК, может подавлять развитие опухоли или даже приводить к ее регрессии (В). Предполагаемыми мишенями иммунного ответа в последнем случае могут являться продукты генов, играющих ключевую роль в фундаментальных свойствах стволовых клеток – самообновлении и плюрипотентности. Один из таких факторов, *SOX2*, является предметом обсуждения данной статьи

С другой стороны, у пациентов с ММ не наблюдалось сколько-нибудь заметных изменений роста злокачественных клеток, когда ко-культивировались с мононуклеарными клетками костного мозга, предварительно активированных пептидами *SOX2*.

Анализ двухлетней выживаемости пациентов показал, что все пациенты с иммунным ответом на *SOX2*-антиген не имели прогрессии заболевания в течение срока наблюдения (2 года), тогда как среди другой популяции больных эта цифра составила всего 30%. Более того, пациенты с наличием *SOX2*-специфичных лимфоцитов характеризовались менее значительными изменениями уровня моноклональных антител.

Таким образом, специфический иммунный ответ к фактору транскрипции *SOX2*, ассоциируется с благоприятным прогнозом у пациентов с МГНЗ. Примечательно, что мишенью иммунного ответа в данном случае является лишь небольшая популяция клоногенных $CD138^-$ клеток, так как *SOX2* является их маркером. Это наблюдение служит очередным подтверждением ключевого значения ОСК в существовании опухолей и указывает на значительные перспективы терапевтических подходов, направленных на элиминацию данной популяции клеток. Кроме того, авторы отмечают, что, несмотря на экспрессию *SOX2* нейральными стволовыми клетками, ни у одного пациента не было обнаружено каких-либо видимых аутоиммунных поражений

ЦНС. В целом, описанные наблюдения, на первый взгляд, свидетельствуют, что индукция эффективного иммунного ответа к популяции клоногенных клеток может являться высокоэффективной профилактической мерой трансформации МГНЗ в ММ.

С другой стороны, причины отсутствия иммунного ответа у большой группы пациентов с МГНЗ остаются неясными. Авторы не описывают у данной категории больных каких-либо клинически выраженных признаков иммунодефицита. Более того, мононуклеарные клетки крови всех испытуемых обладали аналогичной реактивностью к целому ряду вирусных пептидов. Таким образом, отсутствие *SOX2*-специфичного ответа вряд ли можно объяснить особенностями иммунологической реактивности данной группы пациентов. Более того, этот феномен может объясняться существованием двух типов МГНЗ, при которых в одном из них возникшие изменения изначально позволяют опухолевым клеткам избегать иммунологического надзора или индуцировать иммунологическую толерантность (или наоборот). Кроме того, учитывая небольшой период наблюдения за пациентами с МГНЗ, не исключено, что эти состояния являются разными фазами одного патологического процесса. В целом, на основании данного исследования вряд ли можно оценить перспективы индукции эффективного *SOX2*-специфичного иммунного ответа у данной категории пациентов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Kyle R., Therneau T., Rajkumar V. et al. Prevalence of Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354: 1362–9.
2. Dhodapkar M., Krasovsky J., Osman K. and Geller M. Vigorous Premalignancy-specific Effector T Cell Response in the Bone Marrow of Patients with Monoclonal Gammopathy. *J. Exp. Med.* 2003; 198(11): 1753–7.

3. Wegner M. and Stolt C. From stem cells to neurons and glia: a Soxist's view of neural development. *Trends Neurosci.* 2005; 28: 583–8.
4. Boyer L., Lee T., Cole M. et al. Core transcriptional regulatory circuitry in human embryonic stem cells. *Cell.* 2005; 122: 947–56.
5. Matsui W., Huff C., Wang Q. et al. Characterization of clonogenic multiple myeloma cells. *Blood.* 2004; 103: 2332–6.

Подготовил В.С. Сергеев

По материалам: Spisek R., Kukreja A., Chen L.C. et al. Frequent and specific immunity to the embryonal stem cell-associated antigen SOX2 in patients with monoclonal gammopathy. *The Journal of Experimental Medicine* 2007; 204: 831–40

Участие стволовых клеток в образовании новых волосяных фолликулов после экспериментальной травмы

Ранее существовавшая модель репаративной регенерации кожи млекопитающих предполагала, что волосяные фолликулы закладываются в процессе эмбриогенеза и не способны образовываться в течение жизни *de novo*. Наблюдения последних 50 лет свидетельствуют о том, что мышшей, кроликов и человека фолликулы все-таки способны формироваться заново в процессе заживления кожи [1–3]. Однако из-за отсутствия очевидных доказательств эти исследования на некоторое время прекратились.

Результаты нового исследования, руководимого George Cotsarelis в University of Pennsylvania School of Medicine, указывают на то, что при заживлении ран кожи у взрослых мышшей формируются новые волосяные фолликулы (ВФ) и их формирование протекает по сценарию, во многом сходному с процессом развития фолликулов в эмбриогенезе. Оказалось, что эпидермис может воссоздавать новый фолликул в процессе заживления и во многом это зависит от характера раны.

После нанесения обширных глубоких кожных ран (1–2,25 см²) на спине мышшей исследователи обнаружили, что после закрытия их площадь была чуть больше 0,5 см в диаметре, а новые волосы начинали расти в центре области повреждения. Исследование гистологических срезов кожи (через 14–19 дней после нанесения раны), образовавшейся на месте раны, выявило изменения, напоминающие стадии эмбрионального развития фолликула.

В онтогенезе формирование нового ВФ начинается с закладки группы эпидермальных клеток, экспрессирующих цитокератин 17, т. н. эпителиальной плагоды. Спустя несколько стадий эпителио-мезенхимальных переходов (контролируемых молекулами сигнального пути Wnt) клетки плагоды формируют зрелую структуру фолликула, проходящую все фазы роста волос.

Почему эти процессы не были достаточно изучены на человеке? Возможно, потому, что глубокие кожные раны у человека лечат с использованием искусственных лоскутов и нитей, что может препятствовать образованию фолликулов.

В нормальных условиях эпидермис и ВФ поддерживаются двумя отдельными пулами стволовых клеток [4, 5]. При заживлении раны клетки из субфолликулярной области вносят основной вклад в процесс реэпителизации (процесс формирования нового слоя эпидермиса, закрывающего дерму). Это указывает на то, что стволовые клетки этой области могут дифференцироваться в кератиноциты.

Оставляя раны открытыми, ученые проследили судьбу стволовых клеток ВФ, которые находятся внутри сосочка и в субфолликулярной выпуклой области утолщения (bulge).

Каково происхождение клеток, формирующих новый фолликул? Существует два наиболее очевидных ответа на данный вопрос. Один из них состоит в том, что клетки могут мигрировать из уже существующих фолликулов, находящихся вблизи края раны. Другой предполагает, что предшественники нового фолликула уже находятся во внутрифолликулярном эпидермисе и под воздействием сигнальных молекул могут формировать новый фолликул.

Для определения происхождения фолликулов ученые использовали трансгенных мышшей, у которых клетки субфолликулярной области утолщения несли генную метку, с помощью которой за ними можно было проследить после нанесения травмы. Авторы обнаружили, что клетки, из которых возникает новый фолликул, происходят из внутрифолликулярного эпидермиса, однако не из предсуществующих клеток субфолликулярной области утолщения, прилегающей к фолликулу (их содержание в соответствии с меткой не превышало 3%).

Однако до сих пор не ясно, происходят ли новые фолликулы от стволовых клеток эпидермиса или они являются продуктом де-дифференцировки взрослых эпидермальных клеток. Известно, что эпидермис может вносить значительный вклад в образование производных кожи (железы, волосы, перья), это происходит под воздействием изменения концентрации специфических молекул. Например, слизистая оболочка полости рта в определенных условиях способна формировать примитивные закладки, напоминающие зубы, а эпителий роговицы может стать волосяным фолликулом [6]. Все эти изменения возникали как следствие нарушения баланса определенных молекул в клетке. Например, β -катенина, широко известного компонента сигнального пути, опосредованного белками группы Wnt, регулирующими эмбриональное развитие. Активируя β -катенин, можно стимулировать развитие новых волосяных фолликулов в коже взрослых мышшей не затрагивая пул клеток субфолликулярной области [7]. Однако такие клеточные процессы происходят в условиях эксперимента.

Новым фактом, описанным Mayumi Ito с коллегами, является то, что процесс заживления кожной раны стимулирует образование новых волосяных фолликулов спонтанно. Поскольку картина заживления кожной раны, описанная учеными, очень напоминает события, происходящие в эмбриогенезе, возможно, что развитие волоса при этом также происходит через сигнальный путь Wnt. Исследователи показали, что ранение активирует Wnt-опосредованный сигнальный путь, который необходим для нормального развития