

## 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 см<sup>2</sup>) 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,  $\beta$ -катенина, широко известного компонента сигнального пути, опосредованного белками группы Wnt, регулирующими эмбриональное развитие. Активируя  $\beta$ -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

волоса. Ингибирование этого пути в коже во время нанесения раны вызывало снижение образования новых фолликулов, не влияя при этом на резпителизацию. И напротив, в экспериментах с активацией Wnt количество новообразованных фолликулов значительно возрастало по сравнению с контрольной группой мышей.

Следует отметить, что в экспериментах по выявлению клеточного источника новых ВФ генную метку несли 70% клеток из субфолликулярной области, и 50% эпидермальных клеток за ее пределами, т.е. некие внутри-эпидермальные предшественники, лежащие ближе к поверхности кожи и воронке фолликула, и преимущественно отвечающие за регенерацию

эпителия. Несмотря на это, в работе впервые показано формирование новых фолликулов у генетически немодифицированных животных из клеток, находящихся за пределами фолликула, после нанесения глубокой травмы. Будущие исследования будут направлены на поиск новых маркеров данной популяции клеток, их выделение и изучение *in vitro*.

Результаты исследований получены лишь на мышах пока рано говорить о том, что процессы имеют общий для всех млекопитающих характер, однако при подтверждении полученных данных на людях их можно будет использовать при разработке методов лечения алопеции и в тканевой инженерии кожных дефектов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Kligman A. M., Strauss J. S. The formation of vellus hair follicles from human adult epidermis. *J. Invest. Dermatol.* 1956; 27: 19–23.
2. Billingham R. E., Russel P. S. Incomplete Wound Contracture and the Phenomenon of Hair Neogenesis in Rabbits' Skin. *Nature.* 1956; 177: 791–2.
3. Breedis C. Regeneration of hair follicles and sebaceous glands from epithelium of scars in the rabbit. *Cancer Res.* 1954; 14: 575–9.
4. Levy V., Lindon C., Harfe B.D., et al. Distinct stem cell populations regenerate the follicle and interfollicular epidermis. *Dev. Cell.* 2005; 9: 855–61.

5. Claudinot S., Nicolas M., Oshima H., et al. Long-term renewal of hair follicles from clonogenic multipotent stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2005; 102: 14677–82.

6. Chuong C.-M., Wu P., Plikus M., et al. Engineering stem cells into organs: topobiological transformations demonstrated by beak, feather, and other ectodermal organ morphogenesis. *Curr. Top. Dev. Biol.* 2006; 72: 237–74.

7. Silva-Vargas V., Lo Celso C., Giangreco A., et al. Beta-catenin and Hedgehog signal strength can specify number and location of hair follicles in adult epidermis without recruitment of bulge stem cells. *Dev. Cell* 2005; 9: 121–31.

Подготовила В.С. Мелихова

По материалам: Ito M., Yang Z., Andl T., et al. Wnt-dependent de novo hair follicle regeneration in adult mouse skin after wounding. *Nature* 2007; 447: 316–20

## Регуляция хоуминга клеток-предшественников в область инфаркта миокарда методом пролонгированной секреции фактора SDF-1

Двумя основными подходами регенеративной терапии последствий острого инфаркта миокарда можно считать экзогенное введение клеток различными способами или стимуляцию выхода собственных стволовых клеток из костного мозга в кровоток. При втором подходе применяют факторы роста, мобилизирующие клетки-предшественники в периферический кровоток (например, G-CSF) или молекулы, влияющие на хемотаксис, миграцию и хоуминг стволовых клеток костного мозга. Одним из наиболее привлекательных факторов миграции является SDF1 $\beta$ , stromal cell-derived factor-1 $\beta$  – лиганд для CXCR4 рецептора на поверхности стволовых клеток костного мозга. Его экспрессия уже была обнаружена на клетках сосудистого эндотелия, фибробластах и остеобластах, полученных из КМ [1, 2]. Кроме того, показана его значительная роль в мобилизации и хоуминге гемопоэтических клеток после трансплантации [4, 5].

Было показано значительное, но кратковременное увеличение экспрессии SDF-1 после инфаркта миокарда [6, 7]. В эксперименте при увеличенной экспрессии SDF-1 в сердце количество мобилизованных клеток удваивалось [7]. Таким образом, при обеспечении контролируемой и пролонгированной экспрессии фактора можно оптимизировать процесс рекрутинга эндогенных клеток-предшественников в поврежденный миокард. Авторы работы, опубликованной в журнале *Tissue Engineering*, разработали модель пролонгированной секреции SDF-1 в поврежденном миокарде мыши.

Чтобы обеспечить длительную сохранность и секрецию фактора, авторы работы связали фибриновую подложку с полиэтиленгликолем (ПЭГ), на нее нанесли 100 нг мышинового recombinantного SDF1 $\alpha$ . Подложку помещали на поврежденный миокард для увеличения миграции клеток-предшественников костного мозга. Эксперименты *in vitro* свидетельствовали о том, что SDF1 $\beta$  успешно и полностью связывался с фибрин-ПЭГ «лоскутом» и высвобождался в течение по крайней мере 10 дней. Искусственный фибриновый «лоскут», нагруженный белком-хемоаттрактантом, помещали на поверхность инфарцированного участка левого желудочка. Размер пораженного участка, функцию левого желудочка (ЭКГ), и процент sca-1 $^+$  и c-kit $^+$  (маркеры стволовых и прогениторных клеток) клеток в инфарктной зоне оценивали на 7, 14, и 28 дни после инфаркта.

Через 2 недели после инфаркта количество мигрировавших c-kit $^+$  клеток составляло 11,2% по сравнению с 4,22% в контрольной группе. Интересно, что количество sca-1 $^+$  клеток при этом не возрастало. На 28-й день высвобождение фактора и направленная миграция клеток продолжались. Кроме того, функция ЛЖ значительно улучшалась по сравнению с контрольной группой.

Действие конструкции сравнивали с однократным внутри-миокардиальным введением 100 нг SDF1 $\alpha$ . Оказалось, что пролонгированное выделение фактора оказывает наилучший статистически значимый эффект на функцию миокарда после ИМ. При этом максимум миграционной активности клеток приходился на 3-й день после введения, а