

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 мышечного 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<sup>+</sup> и c-kit<sup>+</sup> (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<sup>+</sup> клеток составляло 11,2% по сравнению с 4,22% в контрольной группе. Интересно, что количество sca-1<sup>+</sup> 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

затем их количество стремительно падало, тогда как при постепенном выделении фактора из носителя высокая активность хоуминга в миокард сохранялась и на 2–4-й неделе.

В числе других возможных причин уменьшения зоны рубца и улучшения функции ЛЖ стоит назвать процесс фибринолиза и само использование конструкции, что могло привести к повышенной секреции цитокинов воспаления и ангиогенных факторов в миокарде. Эти явления могли способствовать выживанию кардиомиоцитов после гипоксии и стимулировать неогенез.

Основным вопросом, который остается открытым в работе, является происхождение  $c\text{-kit}^+$  клеток. Очевидно, что в данном случае существуют два наиболее вероятных источника

тестируемой клеточной популяции – костный мозг и собственно миокард, который, как известно, содержит как  $c\text{-kit}^+$ , так и  $\text{CXCR4}^+$  (рецептор  $\text{SDF1}\alpha$ ) клетки [8]. Т.е., увеличение количества  $c\text{-kit}^+$  клеток, возможно, говорит не об их мобилизации и направленной миграции, а о стимуляции эндогенной популяции клеток-предшественников в миокарде. Также можно предположить, что происходит стимуляция обеих групп клеток (что наиболее вероятно). Явным выводом из работы, на наш взгляд, является то, что подобная модель хорошо подходит для долговременного сохранения небольших активных белков-хемоаттрактантов при введении в ткань и их постепенного выделения в кровотоки на модели инфаркта миокарда.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Vandervelde S., Van Luyn M.J., Tio R.A., et al. Signaling factors in stem cell-mediated repair of infarcted myocardium. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2005; 39: 363–76.
2. De Falco E., Porcelli D., Torella A.R., et al. SDF-1 involvement in endothelial phenotype and ischemia-induced recruitment of bone marrow progenitor cells. *Blood.* 2004; 104: 3472–82.
3. Blades M.C., Manzo A., Ingegnoli F., et al. Stromal cell-derived factor 1 (CXCL12) induces human cell migration into human lymph nodes transplanted into SCID mice. *J. Immunol.* 2002; 168: 4308–17.
4. Hattori K., Heissig B., Rafii S. The regulation of hematopoietic stem cell and progenitor mobilization by chemokine SDF-1. *Leuk. Lymphoma* 2003; 44: 575–82.
5. Gazitt Y. Homing and mobilization of hematopoietic stem cells and hematopoietic cancer cells are mirror image processes, utilizing similar signaling

pathways and occurring concurrently: circulating cancer cells constitute an ideal target for concurrent treatment with chemotherapy and antineoplastic antibodies. *Leukemia.* 2004; 18: 1–10.

6. Ma J., Ge J., Zhang S., et al. Time course of myocardial stromal cell-derived factor 1 expression and beneficial effects of intravenously administered bone marrow stem cells in rats with experimental myocardial infarction. *Basic Res. Cardiol.* 2005; 100: 217–23.

7. Abbott J.D., Huang Y., Liu D., et al. Stromal cell-derived factor-1 alpha plays a critical role in stem cell recruitment to the heart after myocardial infarction but is not sufficient to induce homing in the absence of injury. *Circulation.* 2004; 110: 3300–5.

8. Eltrami A.P., Barlucchi L., Torella D., et al. Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell.* 2003; 114: 763–76.

Подготовила В.С. Мелихова

По материалам: Zhang G., Nakamura Y., Wang X. et al. *Controlled Release of Stromal Cell-Derived Factor-1alpha In Situ Increases C-kit+ Cell Homing to the Infarcted Heart. Tissue Engineering* 2007; 13: 2063–71

## К вопросу идентификации и мезенхимальной дифференцировки «фиброцитов периферической крови»

В последние годы активно проводятся исследования в области изучения физиологической роли и свойств полипотентных малодифференцированных клеток соединительнотканного ряда, получаемых из периферической крови. В зарубежной литературе за ними закрепилось название «фиброциты периферической крови» (peripheral blood fibrocyte, ФПК) [1–3], в первую очередь из-за сходства их морфологии с фиброцитами *in vitro*. Также их называют фибробластоподобными клетками [4, 5], что более корректно с позиции классической гистологии, в которой еще со времен А.А. Заварзина фиброцитами называют терминально дифференцированные формы фибробластического дифферона и отвергают возможность их дальнейшей дифференцировки. Изучение их биологии считается весьма перспективным, поскольку уже показано непосредственное участие этих клеток в развитии некоторых патологических состояний – фиброза легких, образовании патологических рубцов и др.

На сегодняшний день известно, что эти клетки в условиях *in vitro* имеют веретеновидную форму, продуцируют фибронектин, коллагены I и III типов [5, 6]. Показана экспрессия ими остеонектина,  $\alpha$ -гладкомышечного актина, CD 44, CD 106 (VCAM-1),  $\beta$ 1-субъединицы интегрин, обуславливающих иммунофенотипическое сходство со стромальными клетками костного мозга [5]. В то же время у ФПК не выявлен общепринятый маркер ММСК – Stro-1 [5]. В ряде работ

доказано, что ФПК являются предшественниками миофибробластов [1, 2]. Этот факт обуславливает возможность их участия в патогенезе фиброза легочной ткани. В частности, экспериментально показана субэпителиальная инфильтрация «фиброцитами» стенки нижних воздухоносных путей при воздействии аллергена в модели бронхиальной астмы у мышей [2].

Способность к дифференцировке в фибробластическом направлении и миграция в участки повреждения тканей определяет вовлечение их в процессы формирования как нормальных, так и патологических соединительнотканых рубцов [6]. *In vitro* доказана дифференцировка ФПК животных в остеобластическом и адипоцитарном направлениях [5, 7].

Недавно в он-лайн версии журнала *Stem Cell* была опубликована работа группы S.A. Kuznetsov и P.G. Robey из ведущей остеологической лаборатории мира (Bethesda, США), в которой впервые была показана полипотентность ФПК человека и животных. Исследователи выделяли ФПК (Circulating Connective Tissue Precursors) из человеческой крови, взятой от 66 доноров. Колонии (n=4), пригодные для культивирования, были получены только от трёх из них (4,5%). Иммунофенотипически все клетки были подобны друг другу и стволовым механоцитам красного костного мозга животных: экспрессировали маркеры фибробластов (фибронектин, коллагены I и III), остеогенных (остеонектин,