

НОВОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ

Разработана новая модель экспансии гепатоцитов человека *in vivo*

Исследования печени человека всегда были ограничены проблемами в поддержании жизнеспособных первичных культур гепатоцитов. Н. Azuma и соавт. разработали модель, которая позволяет осуществлять экспансию гепатоцитов человека *in vivo*. В ней гепатоциты трансплантируют в печень мышам с тяжёлым иммунодефицитом и нокаутом по гену *Fah* (fumarylacetoacetate hydrolase), где они активно пролиферируют, замещая погибшие клетки животного и восстанавливая нормальные функции печени. Такая «гуманизированная» модель позволяет изучать фундаментальные свойства гепатоцитов человека в условиях *in vivo*, а также могла бы оказывать значительное влияние на фармацевтическую индустрию, являясь удобным объектом для скрининга лекарственных препаратов и разработки препаратов для терапии хронических гепатитов В и С. Также было показано, что терминально дифференцированные гепатоциты могут быть стимулированы к дальнейшей пролиферации в условиях обширного поражения печени.

Интересна предыстория данной модели. В 1991 г. E. Sandgren и соавт. получили трансгенных по ферменту урокиназе, являющейся прямым активатором плазминогена (uPA, urokinase plasminogen activator) мышей для изучения тромболитических свойств урокиназы – протеазы, синтезируемой в печени [1]. Однако обнаружилось, что часть продуцируемой урокиназы не секретируется в кровь, а оставалась в ткани печени, приводя к её обширным поражениям. У выживших животных оставшиеся неповреждёнными гепатоциты начинали активно пролиферировать, приводя к практически полному восстановлению органа. Каждая клетка при этом претерпевала от 12 до 14 делений [2].

Примерно такой же результат был получен на другой модели при нокауте у мышей гена *Fah*, кодирующего фермент фумарилацетоацетат гидрогеназу, катализирующую последние этапы реакций катаболизма тирозина. У таких мышей также наблюдались обширные поражения печени в результате накопления токсичных продуктов тирозинового катаболизма. Однако этот процесс ингибировался с помощью препарата NTBC (2–(2-nitro-4-trifluoromethylbenzoyl)–1,3-cyclohexanedione). Такая возможность делает *Fah*–/– мышей более привлекательным объектом, нежели мышей, трансгенных по урокиназе. В случае, если животные дополнительно иммунодефицитны (нокаут гена *Rag2*, приводящий к дефициту по Т– и В–лимфоцитам), это позволяет трансплантировать им

гепатоциты человека, которые замещают погибшие гепатоциты хозяина [3, 4]. Однако *Fah*–/–/*Rag1*–/– и *Fah*–/–/*Nod/Scid* мыши всё же с высокой вероятностью отторгают ксенотрансплантаты. *Fah*–/–/*Rag2*–/–/*Il2rg*–/– (FRG) мыши, дефицитные по Т–, В– и NK–клеткам, также отторгают ксенотрансплантаты.

Исследователи добились успеха в разработке модели, скомбинировав свойства uPA, *Fah* и FRG моделей. FRG мышей инфицируют рекомбинантным аденовирусом, экспрессирующим uPA для инициации повреждения печени, после чего производят трансплантацию гепатоцитов человека и прекращают терапию NTBC. После этого в течение двух–трёх месяцев происходит полная репопуляция печени мышши человеческими клетками. Авторы указывают, что гепатоциты человека при серийных трансплантациях могут претерпевать до 500×10^6 удвоений популяции. После 3–4 трансплантаций уровень репопуляции начинает снижаться. Возможно, это происходит в результате «загрязнения» культуры человеческих гепатоцитов мышшиными.

Около 40% FRG мышей демонстрируют репопуляцию, что является достаточно высоким процентом, учитывая различия в жизнеспособности первичных трансплантируемых гепатоцитов человека, получаемых из кадаверного либо биопсийного материала, а также разницу временных промежутков между выделением культуры и трансплантацией. Степень репопуляции также высока (30–90%), хотя гепатоциты начинают секретировать пониженные уровни человеческого сывороточного альбумина. При этом клетки продолжают экспрессировать специфические для человека гены. Также не было обнаружено признаков клеточного слияния, могущего привести к генетической нестабильности гибридных клеток и спровоцировать канцерогенез.

Новая модель экспансии гепатоцитов *in vivo*, таким образом, может стать незаменимым инструментом для изучения свойств этих клеток, включая метаболизм препаратов, работу ферментов, специфических для печени биосинтетических путей, детоксикацию клеточных метаболитов, транспорт ионов, а также механизмы развития множества вирусных инфекций. Помимо этого, данная модель может стать моделью дифференцировки стволовых клеток печени во взрослые гепатоциты. Тем не менее, вопрос очистки популяции человеческих гепатоцитов остаётся решённым не окончательно, и модель, возможно, требует некоторого усовершенствования.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Sandgren E., Palmiter R., Heckel J. et al. Complete hepatic regeneration after somatic deletion of an albumin–plasminogen activator transgene. *Cell*. 1991; 66: 245–56.
2. Rhim J., Sandgren E., Degen J., Palmiter R., Brinster R. Replacement of diseased mouse liver by hepatic cell transplantation. *Science* 1994; 263: 1149–52.

3. Petersen J., Dandri M., Gupta S. et al. Liver repopulation with xenogenic hepatocytes in B and T cell–deficient mice leads to chronic hepatitis B virus infection and clonal growth of hepatocellular carcinoma. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1998; 95: 310–15.

4. Dandri M., Burda M.R., Török E. et al. Repopulation of mouse liver with human hepatocytes and *in vivo* infection with hepatitis B virus. *Hepatology* 2001; 33: 981–8.

Подготовила А.С. Григорян

По материалам: Azuma H., Paulk N., Ranade A. et al. *Nat. Biotechnol.* Robust expansion of human hepatocytes in *Fah*–/–/*Rag2*–/–/*Il2rg*–/– mice. 2007; 25: 903–10