

всех животных в печени обнаруживался человеческий сывороточный альбумин. На гистологических срезах были видны крупные клетки, позитивные по человеческому альбумину (уровень репопуляции достигал 0,8–1,7%). Эти данные свидетельствуют о том, что hFLMPC могут дифференцироваться в функциональные гепатоциты и интегрироваться в печёночную паренхиму при повреждениях.

Таким образом, морфология, эпителиальные маркеры и способность спонтанно дифференцироваться в гепатоциты отличают hFLMPC от ММСК (в своей работе экспериментаторы использовали ММСК из фетальной печени в качестве контроля и показали, что они не способны давать начало гепатоцитам и эпителиальным клеткам желчных протоков). Они сохраняют свой пролиферативный и дифференцировочный

потенциалы в течение более чем шести месяцев, и развиваются в гепатоциты *in vivo*, что позволяет предполагать в них возможный источник для репопуляции печени при повреждениях органа.

В настоящее время исследователи продолжают работу, изучая критические факторы пролиферации и дифференцировки в различных направлениях, а также оптимальные условия для поддержания культур hFLMPC в течение более долгого времени. Предполагается, что подобные клетки можно получать не только из фетальной печени, но и из фетальной поджелудочной железы и почек. hFLMPC могут стать не только важным терапевтическим средством, но и объектом фундаментальных исследований путей дифференцировки клеток печени.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Fausto N., Campbell J.S. The role of hepatocytes and oval cells in liver regeneration and repopulation. *Mech. Dev.* 2003; 120: 117–30.
2. Saxena R., Theise N.D., Crawford J.M. Microanatomy of the human liver—exploring the hidden interfaces. *Hepatology* 1999; 30: 1339–46.
3. Solt D.B., Medline A., Farber E. Rapid emergence of carcinogen-induced hyperplastic lesions in a new model for the sequential analysis of liver carcinogenesis. *Am. J. Pathol.* 1977; 88: 595–18.
4. Evarts R.P., Hu Z., Omori N. et al. Precursor-product relationship between

oval cells and hepatocytes: comparison between tritiated thymidine and bromodeoxyuridine as tracers. *Carcinogenesis* 1996; 17: 2143–51.

5. Suzuki A., Nakauchi H., Taniguchi H. In vitro production of functionally mature hepatocytes from prospectively isolated hepatic stem cells. *Cell Transplant.* 2003; 12: 469–73.

6. Tosh D., Strain A. Liver stem cells – prospects for clinical use. *J. Hepatol.* 2005; 42: Suppl S75–S84; 101: 2973–82.

7. Laurson J., Selden C., Hodgson H.J. Hepatocyte progenitors in man and in rodents – multiple pathways, multiple candidates. *Int. J. Exp. Pathol.* 2005; 86: 1–18.

Подготовила А.С. Григорян

По материалам *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006; 103: 9912–7

CD44 – специфичная мишень для селективной элиминации стволовых клеток лейкемии человека

Острый миелолейкоз (ОМЛ) – это злокачественное заболевание, характеризующееся накоплением в организме пациента недифференцированных миелоидных бластов, способных к самообновлению и генерации клоногенных лейкемических клеток-предшественников [1, 2]. Лейкемия-инициирующие или лейкемические стволовые клетки были описаны у человека Bonnet D. и Dick J.E. в 1997 году [3]. В настоящее время термин – «раковые стволовые клетки» (РСК), предложенный этими учёными, признан международной группой экспертов American Association for Cancer Research [4]. Развитие теории РСК может полностью изменить общепринятую концепцию терапии злокачественных опухолей. Современные химиотерапевтические препараты, направленные на элиминацию активно пролиферирующих клеток, вызывают ремиссию заболевания, которая зачастую оказывается обратной. Всего лишь менее 30% подвергшихся такой терапии пациентов выживают в течение долгого времени, что указывает на неэффективность подобного подхода. До сих пор сохраняется необходимость поиска новых терапевтических подходов, способных обеспечить элиминацию РСК, не затрагивая при этом нормальных гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) [5].

РСК при ОМЛ во многом схожи с ГСК, включая поверхностный фенотип CD34⁺CD38⁻, но при этом они способны к ускоренному самообновлению и могут экспрессировать на своей мембране ряд специфических маркеров. Одним из таких маркеров является молекула адгезии CD44, ответственная за хоуминг и энграфтинг лейкемических бластов [6]. CD44 обеспечивает взаимодействие малигнизированных клеток с их микроокружением в костном мозге и,

по-видимому, препятствует их дифференцировке. Известно, что CD44 – это трансмембранный гликопротеин, экспрессируемый многими клетками крови и в ходе своей продукции подвергающийся альтернативному сплайсингу с образованием различных изоформ (CD44v) [7]. Повышенная экспрессия этих изоформ, в особенности – изоформы CD44-6v, отмечается при остром миелолейкозе, и свидетельствует о плохом прогнозе заболевания [8].

Исследовательская группа под руководством John Dick предположила, что связывание образовавшейся в результате альтернативного сплайсинга изоформы CD44v специфическими антителами может селективно воздействовать на РСК, но не затрагивать ГСК. Результаты экспериментов по испытанию таких специфических антител – Н90 опубликованы в журнале *Nature Medicine*.

Обнаружилось, что Н90, специфически связывая CD44v, характерный для ОМЛ, препятствует развитию заболевания у иммунодефицитных мышей, получивших инфузию человеческих лейкемических бластов. Также введение Н90 приводило к регрессии уже развившихся опухолей. Исследователи доказали, что применение Н90 безопасно и не воздействует на нормальные гемопоэтические клетки. Контрольный трансплантат ГСК практически не реагировал на введение в организм реципиента специфических антител к CD44, а снижение количества донорских ГСК было минимальным по сравнению с зачастую полной элиминацией РСК.

Было показано, что CD44 является ключевым регулятором, необходимым для хоуминга стволовых клеток опухоли и их дальнейшего поддержания в недифференцированном

состоянии. Н90 влияет на обе функции этой молекулы, как нарушая как хоуминг, так и приводя к дифференцировке лейкемических бластов и их последующей гибели. Эти результаты позволяют предположить возможность появления совершенно новой линии терапии, исключающей применение препаратов, воздействующих на делящиеся клетки – тем более, что малигнизированные миелоидные клетки часто оказываются к ним устойчивы.

Н90 блокирует хоуминг примитивных CD34⁺CD38⁻ клеток как в костный мозг, так и в селезёнку, а также препятствует трансмиграции лейкемических клеток через стенки капилляров. Пока неясно, может ли применение Н90 стимулировать быструю дифференцировку уже начавших дифференцироваться злокачественных клеток. Может оказаться, что механизмы, справедливые для лейкозов, могут быть задействованы и в солидных опухолях, содержащих небольшую популяцию стволовых клеток, обеспечивающих рост опухолевой массы [4]. Также для клеток солидных опухолей

важны контакты с их микроокружением, которое в основном составляют стромальные фибробласты. Задействованы ли в этих процессах специфические изоформы CD44, ещё предстоит выяснить. Тем не менее, недавно было показано, что иницирующие клетки рака груди также экспрессируют молекулу CD44 [9].

Таким образом, результаты, полученные группой Dick et al., открывают большие перспективы терапии, воздействующей непосредственно на стволовые клетки опухоли – то есть, фактически, на её первопричину, а не на следствие. В дополнение к этому авторы продемонстрировали, насколько важно для РСК их микроокружение, без которого они не могут сохранять свои «стволовые» характеристики. Конечно, кроме CD44 существует и ряд других поверхностных и внутриклеточных сигнальных молекул [10], отвечающих за регуляцию функций раковых и нормальных взрослых стволовых клеток, которые могут стать потенциальной мишенью для создания противораковых препаратов нового поколения.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Wang J.C., Dick J.E. Cancer stem cells: lessons from leukemia. *Trends Cell Biol.* 2005; 15: 494–501.
2. Hope K., Jin L., Dick J.E. Acute myeloid leukemia originates from a hierarchy of leukemic stem cell classes that differ in self-renewal capacity. *Nat. Immunol.* 2004; 5: 738–43.
3. 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.
4. Clarke M.F., Dick J.E., Dirks P.B. et al. Cancer Stem Cells – perspectives on current status and future directions: AACR workshop on cancer stem cells. *Cancer Res.* 2006; 66: 9339–44.
5. Tallman M.S. New strategies for the treatment of acute myeloid leukemia including antibodies and other novel agents. *Hem. Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2005; 143–50.

Program 2005; 143–50.

6. Krause D.S., Lazarides K., von Andrian U.H. et al. Requirement for CD44 in homing and engraftment of BCR-ABL-expressing leukemic stem cells. *Nat. Med.* 2006; 12(10): 1175–80.
7. Ponta H., Sherman L., Herrlich P.A. CD44: from adhesion molecules to signaling regulators. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2003; 4: 33–45.
8. Bendall L.J., Bradstock K.F., Gottlieb D.J. Expression of CD44 variant exons in acute myeloid leukemia is more common and more complex than that observed in normal blood, bone marrow or CD34⁺ cells. *Leukemia* 2000; 14: 1239–46.
9. Al-Hajj M., Wicha M., Morrison S.J. et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2003; 100: 3983–8.
10. Yilmaz O.H., Valdez R., Theisen B.K. et al. Pten dependence distinguishes hematopoietic stem cells from leukaemia-initiating cells. *Nature* 2006; 441(7092): 475–82.

Подготовила А.С. Григорян

По материалам *Nat. Med.* 2006; 12(10): 1167–74

Генетическая индукция репрограммирования ядра соматической клетки установленными факторами

Феномен репрограммирования ядра взрослой соматической клетки интенсивно изучается в последнее время в связи с возможными перспективами получения «пациент-специфичных» плюрипотентных клеток, подобных эмбриональным стволовым (ЭСК). При реализации этого феномена, под влиянием неизвестных факторов в ядре соматической клетки происходит активация генов раннего эмбриогенеза и ингибирование генов, ответственных за дифференцировку и специализацию. При полном репрограммировании «стирается» как специализированная генетическая, так и эпигенетическая информация, и клетка приобретает свойство плюрипотентности.

Полное репрограммирование соматической клетки происходит при переносе ядра в знуклеированную неоплодотворённую яйцеклетку (технология клонирования) [1] и при слиянии взрослой специализированной клетки с ЭСК [2, 3]. Эти эксперименты доказали возможность полного репрограммирования ядра терминально дифференцированной клетки. Остаются неизученными механизмы и факторы, обуславливающие реализацию этого биологического феномена. Лаборатория Austin Smith показала, что одним из ключевых факторов репрограммирования ядра взрослой клетки может быть ген Nanog [4]. Недавно исследовательская группа Shinya

Yamanaka из Kyoto University описала новый экспериментальный подход к репрограммированию ядра соматической клетки и изучению факторов, обуславливающих этот феномен. Результаты исследования опубликованы в журнале *Cell*.

Авторы предположили, что искусственно индуцированная избыточная экспрессия «генов плюрипотентности», описанных как факторы поддержания «стволовости» в ЭСК, может стимулировать процесс репрограммирования взрослой клетки до эмбриональной. Для проверки гипотезы авторы проводили трансфекцию изолированными генами-кандидатами 2 типов клеток – эмбриональных и взрослых фибробластов мыши. Всего было выбрано 24 гена-кандидата, среди них гены самообновления, а также гены активные в опухолевых клетках и ЭСК, описанных в некоторых работах и из библиотеки *in silico* (Oct3/4, Sox2, Nanog, C-мус и др.).

Одновременное введение всех 24 генов приводило к активации промотера, активного только в ЭСК (Fbx15) и появлению антибиотик-селективных колоний. Введение каждого гена по отдельности не приводило к росту ЭСК-подобных колоний. Последовательными экспериментами авторы «сузили» окно искомым генов сначала до 10 (iPS-MEF10 клетки), а потом до 4 (iPS-MEF4) – Oct3/4, Sox2, c-мус и Klf4.