

НОВОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ

Обнаружены не описанные популяции клеток, участвующие в развитии сердца

Понимание эмбриогенеза сердца необходимо для раскрытия механизмов патогенеза врождённых и приобретённых сердечных заболеваний [1, 2], а также для разработки подходов к их клеточной терапии [3]. Известно, что существуют две различные популяции кардиомиоцитарных клеток-предшественниц, различающихся по времени их вступления в процесс кардиомиогенеза и характеризующихся экспрессией транскрипционных факторов *Isl1* (*Isl1*) и *Nkx2-5* [4–6]. Первая популяция — это клетки прекардиальной мезодермы, из которых формируется примитивная сердечная трубка. Более поздние клетки-предшественницы — это клетки так называемого вторичного или переднего сердечного поля, которые дифференцируются в кардиомиоциты правого желудочка и в гладкомышечные клетки стенок крупных сосудов, отходящих от сердца [4].

Недавно научная группа С.-Л. Саи сообщила о выделении из тканей проэпикарда мыши новой популяции мультипотентных стволовых клеток, экспрессирующих маркерный белок *Tbx18*. Уже около десяти лет назад было известно, что во время эмбриогенеза клетки проэпикарда формируют эпикард, а часть из них претерпевает так называемый эпителиально-мезенхимный переход (в англоязычной литературе — *epithelial-to-mesenchymal transition*) и мигрирует в миокард, где даёт начало гладкомышечным клеткам собственных сосудов сердца, эндотелиальным клеткам, кардиомиоцитам и адвентициальным фибробластам [7–9]. Однако можно ли назвать клетки проэпикарда гомогенной популяцией, или они включают в себя несколько различных популяций стволовых клеток, до настоящего времени было не выяснено.

Белок *Tbx18* не является описанным *de novo*, это известный маркер клеток проэпикарда. Недавно было показано, что при повреждениях сердца у рыбки *Danio rerio* происходит реактивация экспрессии *Tbx18* в эпикарде [10]. Отдельные клетки, в которых произошла такая реактивация, приобретают способность к миграции и формируют кластеры в зоне повреждения, где, по мнению исследователей, участвуют в регенерации, что указывает на их возможную мультипотентность [10, 11].

С.-Л. Саи и соавт. удалось показать, что *Tbx18*-экспрессирующие клетки составляют самостоятельную популяцию в пределах проэпикардиальных клеток. При дифференцировке *in vivo* в процессе эмбриогенеза *Tbx18*⁺ клетки мигрируют в стенки желудочков и предсердий, где начинают экспрессировать маркерные белки кардиомиоцитов: сердечный тропонин Т (*cTnT/Tnnt*), сердечный тропонин I (*cTnI/Tnnt*) и миозин саркомеров.

Также эти клетки экспрессируют транскрипционные факторы *Gata4* и *Nkx2-5*, как и уже известные кардиомиоцитарные клетки-предшественницы.

Уникальность популяции *Tbx18*⁺ клеток была подтверждена тем, что они не экспрессируют маркеров *Isl1* и *MLC2a* (также известного как *Myl7*), характерных для ранних предшественников кардиомиоцитов.

In vitro 37% *Tbx18*⁺ клеток, выделенные из проэпикарда, способны образовывать колонии, а 34% из этих колоний, в свою очередь, дифференцируются в кардиомиоциты с характерной цитоархитектоникой, экспрессией маркерного белка *cTnT* и способностью к спонтанным сокращениям, а также в гладкомышечные клетки, характеризующиеся экспрессией тяжёлых цепей гладкомышечного миозина. Таким образом, не все, но многие клетки проэпикарда обладают мультипотентностью (авторы работы расценивают это свойство как плюрипотентность, что, по-видимому, ошибочно).

Клетки уже сформированного, взрослого эпикарда способны к миграции после реактивации экспрессии *Tbx18* [13]. С.-Л. Саи и соавт. попытались выяснить, обладают ли эти мигрирующие элементы дифференцировочным потенциалом, характерным для их проэпикардиальных предшественниц. Но, к их разочарованию, эти клетки в подходящих культуральных условиях дифференцировались лишь в гладкомышечные клетки сосудов, и никогда — в кардиомиоциты, что подтвердилось неспособностью их потомков экспрессировать ген *cTnT*. Причины, лежащие в основе такого различия дифференцировочного потенциала, могли бы оказаться очень существенными для попыток использовать клетки эпикарда в регенеративной терапии заболеваний сердца. На данный момент, однако, следует констатировать, что эти клетки не могут быть применены как источник кардиомиоцитов.

Ещё одно интересное дополнение к картине развития сердца в эмбриогенезе сделала недавно научная группа В. Zhou. Исследователи показали, что в процессе дифференцировки *Nkx2-5*⁺/*Isl1*⁺ клетки дают начало популяции, экспрессирующей маркер *Wt1*, которая локализуется в проэпикарде и, в свою очередь, дифференцируется в функциональные кардиомиоциты, мозаично распределяющиеся в пределах миокарда и межжелудочковой перегородки. Авторы подтвердили это, выявив экспрессию клетками *Wt1*⁺ популяции сердечного тропонина Т и актина саркомеров (*Actn1*), а также транскрипционных факторов *Gata4* и *Nkx2-5*.

В культуре *in vitro* *Wt1*⁺ клетки дифференцировались в кардиомиоциты, способные к спонтанным сокращениям и генерированию кальциевого тока на мембране,

кальциевых волн и кальциевых пиков, и помимо этого были способны давать начало эндотелиальным клеткам и клеткам гладкой мускулатуры сосудов.

Каким образом $Wt1^+$ клетки соотносятся с $Tbx18^+$ клетками, неясно, так как авторы работы не анализировали их на предмет экспрессии $Tbx18$. В действительности, они отличаются лишь способностью образовывать эндотелий сосудов: $Wt1^+$ клетки могут дифференцироваться в эндотелиальные элементы, а $Tbx18^+$ — нет. К сожалению, пока не создано общей картины экспрессии стадийспецифических маркеров, позволяющей получить исчерпывающее представление о кардиомиогенезе, и говорить о $Tbx18^+$ и $Wt1^+$ клетках как о самостоятельных клеточных популяциях, по-видимому,

преждевременно. Скорее, они представляют собой различные стадии коммитирования уже известных клеточных предшественниц. Также сомнительна их перспективность для клеточной терапии.

Неясно также, насколько видоспецифична экспрессия некоторых из описанных маркеров. Обсуждаемые эксперименты были проведены на мышах, однако более ранние работы на куриных эмбрионах показали иные результаты, свидетельствующие о том, что клетки проэпикарда вовсе не дифференцируются в кардиомиоциты *in vivo* [14–18]. Это ставит под сомнение о возможности экстраполяции данных, полученных на экспериментальных объектах, на эмбриогенез сердца человека.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Olson E. N. A decade of discoveries in cardiac biology. *Nature Med.* 2004; 10: 467–74.
2. Srivastava D. Making or breaking the heart: from lineage determination to morphogenesis. *Cell* 2006; 126: 1037–48.
3. Murry C.E., Field L.J., Menasche P. Cell-based cardiac repair: reflections at the 10-year point. *Circulation* 2005; 112: 3174–83.
4. Buckingham M., Meilhac S., Zaffran S. Building the mammalian heart from two sources of myocardial cells. *Nature Rev. Genet.* 2005; 6: 826–35.
5. Cai C.-L., Liang X., Shi Y. et al. *Isl1* identifies a cardiac progenitor population that proliferates prior to differentiation and contributes a majority of cells to the heart. *Dev. Cell* 2003; 5: 877–89.
6. Kelly R., Evans S.M. The secondary/anterior heart field. *Heart Development and Regeneration* (eds Rosenthal, N. & Harvey R. P.) (Academic, San Diego, in the press).
7. Mikawa T., Fischman D. A. Retroviral analysis of cardiac morphogenesis: discontinuous formation of coronary vessels. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 1992; 89: 9504–8.
8. Mikawa T., Gourdie R.G. Pericardial mesoderm generates a population of coronary smooth muscle cells migrating into the heart along with ingrowth of the epicardial organ. *Dev. Biol.* 1996; 174: 221–32.
9. Gittenberger-de Groot A.C., Vrancken Peeters M.P., Mentink M.M., Gourdie R.G., Poelmann R.E. Epicardium-derived cells contribute a novel population to the myocardial wall and the atrioventricular cushions. *Circ. Res.* 1998; 82: 1043–52.
10. Lepilina A., Coon A.N., Kikuchi K. et al. A dynamic epicardial injury

response supports progenitor cell activity during zebrafish heart regeneration. *Cell* 2006; 127: 607–19.

11. Kraus F., Haenig B., Kispert A. Cloning and expression analysis of the mouse *T-box* gene *Tbx18*. *Mech. Dev.* 2001; 100: 83–6.
12. Pérez-Pomares J.M., Carmona R., González-Iriarte M. et al. Origin of coronary endothelial cells from epicardial mesothelium in avian embryos. *Int. J. Dev. Biol.* 2002; 46: 1005–13.
13. Smart N., Risebro C.A., Melville A.A. et al. Thymosin b4 induces adult epicardial progenitor mobilization and neovascularization. *Nature* 2007; 445: 177–82.
14. Wilm B., Ipenberg A., Hastie N.D., Burch J.B., Bader D.M. The serosal mesothelium is a major source of smooth muscle cells of the gut vasculature. *Development* 2005; 132: 5317–28.
15. Merki E., Zamora M., Raya A. et al. Epicardial retinoid X receptor a is required for myocardial growth and coronary artery formation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2005; 102: 18455–60.
16. Gittenberger-de Groot A.C., Vrancken Peeters M.P., Mentink M.M., Gourdie R.G., Poelmann R. E. Epicardium-derived cells contribute a novel population to the myocardial wall and the atrioventricular cushions. *Circ. Res.* 1998; 82: 1043–52.
17. Dettman R.W., Denetclaw W.J., Ordahl C.P., Bristow J. Common epicardial origin of coronary vascular smooth muscle, perivascular fibroblasts, and intermyocardial fibroblasts in the avian heart. *Dev. Biol.* 1998; 193: 169–81.
18. Mikawa T., Gourdie R.G. Pericardial mesoderm generates a population of coronary smooth muscle cells migrating into the heart along with ingrowth of the epicardial organ. *Dev. Biol.* 1996; 174: 221–32.

Подготовила А.С. Григорян

По материалам: Cai C.-L., Martin J.C., Sun Y. et al. A myocardial lineage derives from *Tbx18* epicardial cells. *Nature* 2008; 454: 104–8.

Zhou B., Ma Q., Rajagopal S., Wu S.W. et al. Epicardial progenitors contribute to the cardiomyocyte lineage in the developing heart. *Nature* 2008; 453: 109–14

Межвидовой перенос ядра: непреодолимый природный барьер или временное техническое препятствие?

Клонирование методом переноса ядра (somatic cell nuclear transfer, SCNT) с целью получения эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) человека сталкивается с серьезными морально-этическими проблемами, связанными с использованием женских овоцитов [1]. Так, если исследования ЭСК приведут к их рутинному использованию в клинической практике, то овоциты могут стать своего рода товаром, а женщины попадут под особое давление. Кроме того, отдаленные последствия самой процедуры получения овоцитов у женщин-доноров (к примеру, связанные с многократной гормональной стимуляцией) пока не ясны. К настоящему моменту предложено несколько альтернатив, позволяющих не привлекать овоциты для получения ЭСК. Во-первых, — это

отказ от использования овоцитов вообще и переход от технологии переноса ядра к направленному репрограммированию генома за счет активации экспрессии определенных генов (получение iPS-клеток). Во-вторых, — индукция дифференцировки овоцитов из стволовых клеток другого происхождения. В-третьих, попытки применения овоцитов от других видов животных (т. н. межвидовой SCNT, iSCNT).

В своем классическом варианте метод SCNT заключается в пересадке ядра (кариопласта) соматической клетки в предварительно энуклеированную яйцеклетку (цитопласт), находящуюся в профазе II деления мейоза. Благодаря данной технологии к настоящему моменту удалось клонировать многие виды животных, а также