делиться, позже они мигрируют в область наружного ядерного слоя.

Авторы указывают, что установленные на мышах закономерности лишь открывают перспективы для дальнейших исследований в области лечения заболеваний сетчатки у человека. По степени морфо-функциональной зрелости предшественники фоторецепторов 3–5 дня жизни у мышей соответствуют таковым у человека во втором триместре внутриутробной жизни. По понятным причинам данный клеточный материал не может рассматриваться как перспективный для пересадок. Вместе с тем, сотрудники той же исследовательской группы показали, что прогрессивное развитие постмитотических предшественников палочек и колбочек ассоциировано с началом функционирования транскрипционного фактора Nlr. Пересаженные клетки, находящиеся на этой стадии развития, характеризовались лучшим приживлением и дифференцировкой в фоторецепторы. Активацию данного фактора наблюдали и в культуре эмбриональных стволовых клеток человека. Вероятно, ЭСК, отобранные на стадии активации данного фактора, способны к прогрессивной дифференцировке в фоторецепторные клетки сетчатки, что, по мнению исследователей, приведет в ближайшие 5 лет к созданию клеточной биотехнологии лечения патологии сетчатки у человека.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Royo P.E., Quay W.B. Retinal transplantation from fetal to maternal mammalian eye. Growth 1959; 23: 313–36.
2. del Cerro M., Notter M.F., del Cerro C. et al. Intraretinal transplantation for rod-cell replacement in light-damaged retinas. J. Neural Transplant. 1989; 1(1): 1–10.
3. Silverman M.S., Hughes S.E. Photoreceptor transplantation in inherited and environmentally induced retinal degeneration: anatomy, immunohistochemistry and function. Prog. Clin. Biol. Res. 1989; 314: 687–704.
4. Silverman M.S., Hughes S.E., Valentino T.L., Liu Y. Photoreceptor transplantation: anatomic, electrophysiologic, and behavioral evidence for the functional reconstruction of retinas lacking photoreceptors. Exp. Neurol. 1992; 115(1): 87–94.
5. Aramant R.B., Seiler M.J. Progress in retinal sheet transplantation. Prog. Retin. Eye Res. 2004; 23(5): 475–94.
6. Mears A.J., Kondo M., Swain P.K. et al. Nrl is required for rod photoreceptor development. Nature Genet. 2001; 29: 447–52.

Подготовил Р.В. Деев
По материалам: Nature 2006, 444: 203–7

Трансплантация мезангиобластов – новый подход к клеточной терапии миодегенеративных заболеваний

В последние годы для лечения наследственных миопатий (главным образом, миопатии Дюшенна) в эксперименте и в клинике используют трансплантацию скелетных миобластов и клеток костного мозга [1]. Однако, исследователи не удовлетворены результатами таких трансплантаций в связи с гибелью клеток, иммунным ответом и быстрой «потерей эффекта» [1, 2]. Поэтому продолжается поиск клеточных популяций, которые были бы способны стабильно и длительно поддерживать достаточный уровень белка дистрофина (с дефицитом которого связано развитие миопатии Дюшенна – МД) в поражённых мышцах без иммунных реакций. В журнале Nature опубликована экспериментальная работа итальянской группы Sampaolesi et al., посвящённая разработке нового метода клеточной терапии МД на оригинальной модели.

Известно, что как аутогенные, так и аллогенные стволовые клетки способны стимулировать синтез дистрофина в мутантных миобластах мышей [3]. Однако мыши не демонстрируют клинических проявлений заболевания, а потому не могут считаться подходящим модельным объектом. Одной из лучших моделей МД считаются mxd-собаки [2]. Оказалось, что миопатия Дюшенна сходным образом протекает у человека и у золотистого ретривера (порода собак), поэтому именно данную mxd-модель использовали авторы работы. У этих собак, как и у человека, при недостатке дистрофина наблюдается сильная деградация мышечных волокон, что приводит к параличу сначала скелетной, а затем пищеварительной и дыхательной мускулатуры, в результате чего они погибают, не достигнув годовалого возраста.

Исследователи использовали в качестве трансплантата обнаруженные ими ранее взрослые стволовые клетки – мезангиобласты, которые получали из фрагментов биопсийного материала мышц. [4]. Клетки имели фенотип $CD13^{+}/CD44^{+}/CD34^{-}/CD45^{-}/CD31^{-}/CD117^{-}$. Интересно, что мезангиобласты являются самообновляющейся популяцией, и вместе с тем коммитированы к развитию в миобласты [4]. Мезангиобласты демонстрируют неоспоримые преимущества перед другими взрослыми клетками, также способными дифференцироваться и мигрировать в скелетные мышцы. Их достаточно легко изолировать и поддерживать в культуре, при этом они не теряют способности развиваться в миобласты. При трансфузии мезангиобластов в крупные артерии они трансмигрируют через сосудистые стенки и приживляются в повреждённых мышцах, стимулируя быстрые процессы регенерации [5].

Эксперимент проводили на тринадцати собаках, которые получали либо аллогенные несовместимые донорские мезангиобласты от здоровых особей, либо – аутогенные, но с введением конструкции, несущей ген микродистрофина (укороченной формы дистрофина). Трансфекция проводилась для коррекции генетического повреждения, которое несли аутогенные клетки, а укороченная форма белка использовалась потому, что она способна выполнять все функции полноразмерной молекулы, но при этом гораздо легче встраивается в вирусный вектор [6]. При трансплантации как аутогенного, так и аллогенного материала проводилась сопутствующая иммуносупрессия по различным схемам. Для увеличения эффективности терапии производились трансфузии клеток до пяти раз с интервалом в месяц. Наблюдения за собаками производились от пяти до тринадцати месяцев после завершения эксперимента (в зависимости от их выживаемости).

Трансфузия как аутогенных, так и аллогенных мезангиобластов приводила к восстановлению экспрессии дистрофина во всех группах мышц экспериментальных животных. Белок обнаруживался не только в мышцах конечностей (трансфузии проводились в бедренную артерию), но и в местах удалённых от области первичного введения клеток. Это свидетельствует о том, что мезангиобласты способны к значительной миграции. Более того, в регенерирующих мышцах обнаруживался не только сам дистрофин, но и β-саркогликан, являющийся компонентом дистрофиновой системы. При введении мезангиобластов в грудную ветвь аорты было показано наиболее сильное распространение их по мышечной системе организма, а также наилучшая степень регенерации.

Результаты исследования оказались более чем обнадёживающими: животное, получившее аортальную трансфузию аллогенных клеток, практически полностью восстановило способность нормально двигаться, остальные же продемонстрировали улучшения в несколько меньшей степени. В целом, те собаки, которые получили трансфузии именно аллогенных, но не аутогенных трансфецированных вектором мезангиобластов, демонстрировали более быстрое и эффективное улучшение качества жизни. Некоторые их мышцы, судя по биопсиям, после лечения практически не отличались от здоровых, другие же, несмотря на неполное восстановление, всё же могли выполнять свои функции. При дополнительном введении аллогенных мезангиобластов собакам, уже получавшим аутогенных клетки, также наблюдалось выздоровление. Таким образом, эти различия нельзя связывать со временем начала терапии.

Интересно, что более выраженный эффект был получен при введении именно аллогенных клеток. Можно предположить, что если метод будет перенесён в клинику для терапии МД, при HLA-несовместимости донора и реципиента, пациент после трансплантации должен подвергаться пожизненной иммуносупрессии. Это, в свою очередь, может приводить к тяжёлым побочным эффектам. Возможно, в будущем удастся разработать более адекватный метод генетической коррекции аутогенных клеток. Решением проблемы может стать введение в вектор полноценной копии гена дистрофина. Кроме того, авторами использовался ген человеческого микродистрофина, что могло повлиять на результаты эксперимента.

Несомненно, предложенный метод перспективен, требует дальнейшей разработки и, возможно, клинических испытаний. Это связано, в частности, с тем, что мезангиобласты могут применяться не только в случаях миопатии Дюшенна, но и при других миодегенеративных заболеваниях. Так, этой же группой авторов было показано, что мезангиобласты могут восстанавливать функцию мышц при некоторых других типах миодистрофий [7]. На данный момент таких заболеваний насчитывается около двадцати. Возможно, именно это направление окажется одним из наиболее перспективных для применения взрослых стволовых клеток в клинике.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Emery A.E. The muscular dystrophies. Lancet 2002; 359: 687–95.
2. Dell'Agnola C., Wang Z., Storb R. et al. Hematopoietic stem cell transplantation does not restore dystrophin expression in Duchenne muscular dystrophy dogs. Blood 2004; 104(13): 4311–8.
3. Qu-Petersen Z., Deasy B., Jankowski R. et al. Identification of a novel population of muscle stem cells in mice: potential for muscle regeneration. J. Cell Biol. 2002; 157: 851–64.
4. Minasi M.G., Riminucci M., De Angelis L. et al. The meso-angioblast: a multipotent, self-renewing cell that originates from the dorsal aorta and differentiates into most mesodermal tissues. Dev. 2002; 129: 2773–83.
5. Galvez B.G., Sampaolesi M., Brunelli S. et al. Complete repair of dystrophic skeletal muscle by mesoangioblasts with enhanced migration ability. J. Cell Biol. 2006; 174: 231–43.
6. Bachrach E., Li S., Perez A.L. et al. Systemic delivery of human microdystrophin to regenerating mouse dystrophic muscle by muscle progenitor cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2004; 101: 3581–6.
7. Cossu G, Sampaolesi M. New therapies for muscular dystrophy: cautious optimism. Trends Mol. Med. 2004; 10: 516–20.

Подготовила А.С. Григорян
По материалам: Nature 2006; 444, 574–9

Дендритные клетки, активированные антигенами злокачественных стволовых клеток — технология создания онковакцин нового поколения

В настоящее время проводятся клинические испытания ряда так называемых онковакцин для терапии различных видов солидных новообразований и лейкемии. Одна из основных применяемых технологий создания таких вакцин заключается в стимуляции цитотоксических лимфоцитов пациента против определённой опухоли. Этот подход реализуется через метод активации дендритных клеток (ДК) *in vitro* опухолевыми антигенами. Активированные ДК, презентирующие опухолевый антиген на своей поверхности, взаимодействуют с «наивными» Т-лимфоцитами, определяя их дифференцировку в «профессиональные цитотоксические лимфоциты-киллеры (ЦТЛ)», миграцию и лизис определённой опухоли в организме. Более 1000 онкологических пациентов, вовлечённых в клинические испытания, получили вакцины на основе ДК. Однако, феномен «ускользания опухоли» от иммунного ответа, часто обусловливающий невысокую эффективность ряда онковакцин при определённых видах опухолей человека, заставляет исследователей совершенствовать методики и искать новые подходы к иммунотерапии злокачественных новообразований [1–2]. Создание и действие онковакцины на основе ДК представлено на рисунке.

В последние годы развивается концепция «злокачественных стволовых клеток» (ЗСК) — которые, по-видимому, образуются из мутировавших нормальных стволовых клеток взрослых и определяют образование и развитие опухоли (опухоль-инициирующие клетки) [3]. Именно существованием небольшого пула ЗСК исследователи объясняют неэффективность современных химиопрепаратов и возникновение рецидивов после эрадикации опухоли. Таким образом, ЗСК являются новой мишенью для разработки современных методов лечения опухолей.