Выделение мультипотентных стволовых клеток из амниотической жидкости человека

Плюрипотентность – способность стволовых клеток формировать все типы клеток организма – обычно описывалась как свойство эмбриональных стволовых клеток (ЭСК), а также клеток эмбриональной карциномы и примитивных гонад. Недавно исследовательской группой, возглавляемой признанным авторитетом в области тканевой инженерии A. Atala, из амниотической жидкости (СКАЖ) человека были выделены линии стволовых клеток, обладающих некоторыми признаками плюрипотентности. В течение последних нескольких лет разными лабораториями неоднократно сообщалось о выделении популяций стволовых или прогениторных клеток из амниотической жидкости человека, аналогичных по свойствам мезенхимальным стромальных клеткам костного мозга [1–3]. В настоящей работе, опубликованной в январском номере журнала Nature Biotechnology, популяция стволовых клеток, близкая по свойствам к ЭСК, выделенная из амниотической жидкости, была охарактеризована впервые. Если эти результаты удастся подтвердить другим независимым лабораториям, то стволовые клетки амниотической жидкости смогут стать важным источником материала для регенеративной медицины, благодаря их доступности, мультипотентности и отсутствию серьезных этических противоречий, связанных с их использованием.

Известно, что амниотическая жидкость содержит гетерогенную популяцию клеток, полученных от зародыша и амниона (оболочки, окружающей плод и отделяющей его от организма матери). Исследователи выделяли c-kit$^+$ клетки из амниотической жидкости, которую обычно получают на сроках от 16 до 20 недель беременности для определения риска развития генетических заболеваний и пренатальной хромосомной диагностики. Как правило, образец содержит 10–20 мл исследуемой жидкости. СКАЖ количественно представляли собой лишь 1% от всех выделенных клеток жидкости. Через неделю медленной пролиферации в культуре они прикрепляются к пластику и пассируются каждые 2–3 дня. Клетки обладают высокой пролиферативной способностью и могут претерпевать до 250 делений без каких-либо обнаруживаемых укорачиваний теломер. Кроме того, авторы культивировали клетки без фидера, что также является неоспоримым достоинством при рассмотрении возможности терапевтического использования. Способность клеток к клональному росту определяли после использования метода лимитирующих разведений. Фенотипически СКАЖ экспрессировали MHC-I/HLA-ABC, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105 и были негативны по экспрессии антигенов-маркеров гемопоэтического ряда – CD34, CD133C, CD45.

Авторы показали, что СКАЖ способны к дифференцировке в ткани всех трёх зародышевых листков. Кроме того, полученные взрослые клетки были функциональны. Так, используя специфические дифференцировочные среды и условия культивирования, удалось получить нестин-позитивные клетки (НСК), а затем и допаминэргические клетки и нейроны, способные отвечать на глутамат (несущие его рецептор). Эти клетки были способны приживаться в латеральном желудочке мозга мутантных мышей, распространяясь по паренхиме головного мозга, предотвращая неоплазию, которую ожидалось получить при использовании данных животных.

При определенных условиях СКАЖ также были способны формировать функциональные остеобласты, которые продуцировали остеоподобное вещество при пересадке в альгинате/коллагене иммунодефицитным мышам. Из СКАЖ клеток также были получены клетки, экспрессирующие альбумин и альфа-фетопротеин, гепатоцитарный ядерный фактор, фактор роста гепатоцитов, выделяющие мочевину. Эти данные свидетельствуют в пользу того, что из СКАЖ были получены предшественники гепатоцитов. Кроме того, данные исследования свидетельствуют в пользу получения миоцитов, адипоцитов и эндотелиальных клеток из СКАЖ.

Несмотря на то, что происхождение выделенных клеток остается неясным, исследователи предполагают, что клетки происходят непосредственно из тканей амниона, который, в свою очередь, берет начало от эпибласта дифференцирующейся бластоцисты. Амниотическая полость, формирующаяся между эмбриональной эктодермой и мезодермой на второй неделе внутриутробного развития человека, сохраняется во время всего периода гестации. Как следствие, именно эпибласту клетки СКАЖ могут быть обязаны своей мультипотентностью. СКАЖ экспрессируют ряд маркёров, стандартных для оценки плюрипотентности эмбриональных стволовых клеток (ЭСК). Это Oct4 и SSEA4. Однако они не экспрессируют остальные характерные молекулы ЭСК (как, например, Nanog). Интересно, что СКАЖ фенотипически (CD90$^+$/CD105$^+$) и по культуральным свойствам (адгезия к пластику) очень похожи на мезенхимальные стромальные клетки костного мозга, однако отличаются экспрессией маркёров плюрипотентности, большим пролиферативным потенциалом и пластичностью. При проверке СКАЖ на туморогенность не было обнаружено формирования тератом, в отличие от таковых при имплантации ЭСК.

Таким образом, c-kit$^+$ СКАЖ клетки могут представлять собой онтогенетически промежуточный вариант между ЭСК и взрослыми стволовыми клетками и, соответственно, новый класс клеток с привлекательными свойствами пластичности широкого диапазона без видимого риска формирования новообразований. Очень важно, что СКАЖ можно культивировать без использования ксеногенного фидера, что может ускорить их использование в клинике. Хочется отметить, что c-kit – маркёр, используемый для выделения СКАЖ, является общим «стволовым» и может служить универсальным инструментом выделения стволовых/прогениторных популяций из различных тканей [4, 5]. Очень перспективным направлением может стать банкирование гистосовместимых СКАЖ, а также их типирование и использование для аллогенных пересадок.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Tsai M.S., Lee J.L., Chang Y.J., Hwang S.M. Isolation of human multipotent mesenchymal stem cells from second-trimester amniotic fluid using a novel two-stage culture protocol. Hum. Reprod. 2004; 19: 1450–6.
2. Prusa A.R., Marton E., Rosner M. et al. Neurogenic cells in human amniotic fluid. Am. J. Obstet. Gynecol. 2004; 191: 309–14.
3. In 't Anker P.S., Scherjon S.A., Kleijburg-van der Keur C. et al. Amniotic fluid as a novel source of mesenchymal stem cells for therapeutic transplantation. Blood 2003; 102: 1548–9.
4. Medina R.J., Kataoka K., Takaishi M. et al. Isolation of epithelial stem cells from dermis by a three-dimensional culture system. J. Cell Biochem. 2006; 98(1): 174–84.
5. D'Ippolito G., Diabira S., Howard G.A. et al. Marrow-isolated adult multilineage inducible (MIAMI) cells, a unique population of postnatal young and old human cells with extensive expansion and differentiation potential. J. Cell Sci. 2004; 117(Pt 14): 2971–81.

Подготовила В.С. Мелихова
По материалам: Nat. Biotechnol. 2007; 25(1): 100–6