начало нескольким линиям дифференцировки, значит культура такой злокачественной линии должна быть гетерогенна. Предложенная теория также предполагает, что доброкачественный невус и злокачественная меланома происходят от одной мутировавшей СК. В подтверждение гипотезы присутствия в меланоме инициирующих клеток стоит упомянуть работу группы Hochedlinger по репрограммированию ядер меланомных клеток после их переноса в овоцит. Клетки эмбрионов давали начало линиям человеческих эмбриональных стволовых клеток и дифференцировались в меланоциты, лимфоциты и фибробласты [9].

Стоит отметить, что в двух рассматриваемых работах исследовались различные меланомные линии. Более детальная характеристика и выявление особенностей СК меланомы с помощью более точных методов остается будущей задачей. При изучении генотипа или/и фенотипа таких клеток возможна разработка более селективных методов терапии этого заболевания.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Bennett D.C. Human melanocyte senescence and melanoma susceptibility genes. Oncogene 2003; 22: 3063–9.
2. Herlyn M., Thurin J., Balaban G. et al. Characteristics of cultured human melanocytes isolated from different stages of tumor progression. Cancer Res. 1985; 45: 5670–6.
3. Cramer S.F. The neoplastic development of malignant melanoma. A biological rationale. Am. J. Dermatopathol. 1984; 6: 299–308.
4. Grichnik J.M., Ali W.N., Burch J.A. et al. Kit expression reveals a population of precursor melanocytes in human skin. J. Invest. Dermatol. 1996; 106: 967–71.
5. Nishimura E.K., Jordan S.A., Oshima H. et al. Dominant role of the niche in melanocyte stem–cell fate determination. Nature 2002; 416: 854–60.
6. Reya T., Morrison S.J., Clarke M.F., Weissman I.L. Stem cells, cancer, and cancer stem cells. Nature 2001; 414:105–11.
7. Al–Hajj M., Wicha M.S., Benito–Hernandez A. et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2003; 100: 3983–8.
8. Hochedlinger K., Blelloch R., Brennan C. et al. Reprogramming of a melanoma genome by nuclear transplantation. Genes Dev. 2004; 18: 1875–85.
9. Singh S.K., Hawkins C., Clarke I.D. et al. Identification of human brain tumour initiating cells. Nature 2004; 432: 396–401.
10. Dontu G., Abdallah W.M., Foley J.M. et al. In vitro propagation and transcriptional profiling of human mammary stem/progenitor cells. Genes Dev. 2003; 17: 1253–70.
11. Le Douarin N.M., Kalcheim C. (ed.). The neural crest. "Cambridge University Press" 1999, Cambridge (UK).
12. Fang D., Hallman J., Sangha N. et al. Expression of microtubule–associated protein 2 in benign and malignant melanocytes: implications for differentiation and progression of cutaneous melanoma. Am. J. Pathol. 2001; 158: 2107–15.
13. Brocker E.B., Magiera H., Herlyn M. Nerve growth and expression of receptors for nerve growth factor in tumors of melanocyte origin. J. Invest. Dermatol. 1991; 96: 662–5.

Подготовила В.С. Мелихова
по материалам J. Invest. Dermatol. 2006; 126: 142, Cancer Res 2005; 65: 9328

Трансформация мезенхимальных (стромальных) прогениторных клеток костного мозга приводит к формированию саркомы Юинга

Одним из самых актуальных вопросов регенеративной клеточной медицины является изучение возможности канцерогенеза из «взрослых» стволовых клеток (СК). Гипотеза образования злокачественных клеток подразумевает 2 возможных механизма: 1) прямой – из нормальных стволовых клеток ткани и прогениторов; 2) из опухолевых клеток имеющих свойства стволовых – так называемых опухоль инициирующих клеток (стволовых клеток опухоли) [1, 2]. Большинство исследователей, однако, считает что стволовые клетки опухоли имеют своё происхождение из нормальных взрослых СК различных тканей [1–4]. Механизмы образования раковых СК и участие нормальных стволовых и прогениторных клеток в канцерогенезе активно изучаются и до настоящего времени остаются загадкой [1–4].

Образование сарком семейства Ewing's (саркомы Юинга – СЮ) связывают с рядом хромосомных аномалий, основным сигналом к возникновению которых являются нарушения, вызванные образованием белка слияния EWS–FLI–1 – продукта мутантного гена FLI–1 [5]. В исследовании группы Nicolo Riggi была поставлена цель выявить, трансформация каких именно СК может приводить к возникновению СЮ.

Для этого костномозговые мезенхимальные прогениторные клетки (MPC: $CD44^+/Sca-1^+/Thy-1^+/CD117low/CD13low/CD45^-/CD11b^-/Flk-1^-$), эмбриональные стволовые клетки (ESC) и спонтанно иммортализованные эмбриональные (STO) фибробласты мыши трансфецировались генетической конструкцией, содержащей мутантный ген FLI–1. Экспрессия белка EWS–FLI–1 проверялась в динамике через сутки после трансфекции и обнаруживалась во всех исследуемых клетках. На 14–й день экспрессия белка обнаруживалась лишь в мезенхимальных стромальных клетках (MPC) и сохранялась еще в течение нескольких недель.

Чтобы исследовать возможность образования опухоли, трансформированные MPC, ESC и клетки STO после 5 дней культивирования трансплантировали в иммунодефицитных (SCID) мышей. В результате было обнаружено, что только MPC(+EWS–FLI–1) могли давать начало СЮ. По мере развития опухоли фенотип клеток оставался постоянным (CD99 и NSE), а уровень экспрессии EWS–FLI–1 не менялся. Чтобы показать специфичность MPC к образованию СЮ, клетки были исследованы на способность образовывать другие виды опухолей. Для этого трансфецировали MPC рядом

известных онкогенов, широко использующихся в модельных экспериментах в канцерогенезе (ErbB2, SYT–SSX–1 и Bcl–2). Однако, такая трансформация не приводила к формированию опухолей в мышах, и только при Bcl–2 – индуцированном канцерогенезе опухоли появились лишь у 4 мышей из 12 через 4 месяца после трансплантации. Для подтверждения этих результатов опыты были повторены несколько раз. Авторами было показано, что основным механизмом образования саркомы Юинга является специфическая индукция белком EWS–FLI–1 экспрессии инсулин–подобного фактора роста (IGF) в мезенхимальных прогениторных клетках. Этот фактор и его рецептор играет важную роль в канцерогенезе СЮ [6].

Данное исследование представляет собой первую демонстрацию преобразования первичных мезенхимальных прогениторных клеток в саркому Юинга при индуцированном канцерогенезе. Интересно, что даже трансформация эмбриональных стволовых клеток *in vitro* не приводила к образованию опухолей у SCID–мышей.

Стволовые и прогениторные клетки взрослого организма является хорошими кандидатами для онкогенетической трансформации, поскольку для них достаточно небольшого числа мутаций. В данной работе одна мутации приводила к устойчивой злокачественной трансформации МРС. Результаты эксперимента подтверждают теорию канцерогенеза из взрослых стволовых клеток и впервые демонстрируют, что основным механизмом образования саркомы Юинга может быть IGF–индуцированная экспрессия в мезенхимальных (стромальных) клетках костного мозга.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Wicha M.S., Liu S., Dontu G. Cancer stem cells: an old idea – a paradigm shift. Cancer Res. 2006; 66(4): 1883–90.
2. Gudjonsson T., Magnusson M.K. Stem cell biology and the cellular pathways of carcinogenesis. APMIS 2005; 113(11–12): 922–9.
3. He X., Tsang T.C., Pipes B.L. et al. A stem cell fusion model of carcinogenesis. J. Exp. Ther. Oncol. 2005; 5(2): 101–9.
4. Li Z.–Y., Liu D.–P., Liang C.–C. New insight into the molecular mechanisms of MLL–associated leukemia. Leukemia 2005; 19: 183–90.
4. Delattre O., Zucman J., Plougastel B. et al. Gene fusion with an ETS DNA–binding domain caused by chromosome translocation in human tumours. Nature 1992; 35: 162–5.
5. Scotlandi K., Benini S., Nanni P. et al. Blockage of insulinlike growth factor–I receptor inhibits the growth of Ewing's sarcoma in athymic mice. Cancer Res. 1998; 58: 4127–31.

Подготовил А.Л. Поспелов
по материалам Cancer Res. 2006; 65: 11459–68

ТКАНЕВАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

Сравнительный анализ клеточного материала для закрытия диафрагмальных дефектов в эксперименте

Актуальной проблемой современной детской хирургии остается закрытие тканевых дефектов у пациентов со значительными диафрагмальными грыжами. Диафрагмальные грыжи – порок развития диафрагмы, выражающийся в дефекте мышечной или мышечно–сухожильной ее части и проявляющийся синдромами дыхательных расстройств или непроходимостью кишечника в результате проникновения содержимого брюшной полости (печень, желудок, петли кишечника) в плевральную. Диагностика данного заболевания возможна еще в пренатальном периоде. Лечение данного порока развития – только оперативное. В тяжелых случаях, когда пластика грыжевых ворот местными тканями не представляется возможным, производят пластику дефекта синтетическими материалами (тефлон) или материалами на основе коллагенов (Тахокомб, SIS) [1, 5, 6]. Последние предпочтительней, так как они постепенно заселяются клетками и их производными, что позволяет создать в достаточной мере эффективный барьер между грудной и брюшной полостью. Однако процесс миграции, пролиферации, дифференцировки и функциональной активности (синтез внеклеточного матрикса и реорганизация коллагеновых материалов) клеток растянут во времени и зачастую не соответствует сроку резорбции материала, что может приводить к его разрывам и рецидивам. Применение тканеинженерных конструкций, содержащих функционально активные клетки, в достаточной мере снизило бы вероятность разрыва материала с течением времени и позволило бы сформировать не просто механическую, а биологическую мембрану между брюшной и плевральной полостью.

Для соблюдения принципа аутогенности в лечении пороков развития мезенхимальных тканей у новорожденных, возможно применения либо собственных фетальных тканей, полученных от ребенка путем биопсии на поздних сроках беременности (что с этической точки зрения недопустимо), либо мультипотентных мезенхимальных амниотических клеток (ММАК). Данные клетки могут быть получены из амниотической жидкости без повреждения плода. ММАК уже давно используются для выявления наследственных и генетических