2. Слияние с ЭСК приводит к полному репрограммированию генома ядра соматической клетки до «эмбрионального уровня». Это важное положение было доказано исследователями несколькими путями:

– клетки–гибриды имеют такие же маркёры (Oct4, telomerase, AP, SSEA4, TRA1–80) и морфологию, что и родительская линия ЭСК;

– гибриды характеризуются «иммортальным» ростом в культуре (клетки линии претерпевали более 120 делений);

– гибриды обладают плюрипотентностью и образуют тератомы в мышах–nude (в тератомах были обнаружены ткани всех 3–х зародышевых листков);

– изучение транскрипционного профиля показало максимальное сходство у линий–гибридов и ЭСК; в отличие от первичных фибробластов, соматический геном оказался репрограммированным на 99%.

3. Слияние соматической клетки с ЭСК приводит к потере эпигенетической памяти, аналогично тому, как это происходит при ПЯСК в энуклеированный ооцит [1, 2]. Авторы продемонстрировали это на примере деметилирования одного из генов, который в норме метилирован в фибробластах.

4. Репрограммирование генома соматической клетки посредством ЭСК универсально и не зависит от вида клеток. Для подтверждения этой гипотезы исследователи выполнили слияние костных клеток с другой линией ЭСК и получили такие же результаты.

Таким образом, группа Eggan впервые показала, что ЭСК человека, подобно яйцеклетке, способна репрограммировать ядро взрослой соматической клетки. Однако клетки–гибриды, полученные в опытах Cowan, имели набор хромосом 4n, поэтому неясна их биологическая судьба. Также остаётся неясным, ядерные или цитоплазматические факторы ЭСК ответственны за репрограммирование? Способны ли мутантные клетки поддерживать стабильность карио–, гено– и фенотипа? Можно ли утверждать генетическую идентичность таких линий ЭСК донору ядра? Способны ли вновь созданные индивидуальные ЭСК дифференцироваться во все типы тканей *in vitro*? Насколько такие клетки будут иммуногенны? Можно ли говорить о «терапевтическом будущем» таких гибридов? Ответить на эти вопросы позволят будущие исследования.

Более перспективной технологией, видимо, станет ПЯСК в энуклеированную ЭСК. Тем не менее, авторы работы доказали самое главное – репрограммирование ядра соматической клетки человека возможно не только в яйцеклетке, но и в ЭСК. Это указывает на наличие общих факторов ооцита и ЭСК, ответственных за «снятие» соматической геномной и эпигеномной информации.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Jeanisch R., Eggan K., Humpherys D. et al. Nuclear cloning, stem cells, and genomic reprogramming. Cloning Stem Cells 2002; 4: 389–96.
2. Rideout W.M. 3rd, Eggan K., Jaenisch R. Nuclear cloning and epigenetic reprogramming of the genome. Science 2001; 293: 1093–8.
3. Tada M., Takahama Y., Abe K. et al. Nuclear reprogramming of somatic cells by in vitro hybridization with ES cells. Curr. Biol. 2001; 11: 1553–8..
4. Do J.T., Scholer H.R. Nuclei of embryonic stem cells reprogram somatic cells. Stem Cells 2004; 22: 941–9.

Подготовил А.В. Берсенев
по материалам Science 2005; 309: 1369–1373.

Индукция канцерогенеза обусловлена мутациями, связанными с асимметричным делением стволовых клеток

Сторонники модной на сегодняшний день теории канцерогенеза из стволовых клеток взрослых пока не могут объяснить причины и механизмы возникновения мутаций, обусловливающих появление клона злокачественных стволовых клеток и последующего роста опухоли [4, 5]. Известно, что стволовая клетка взрослых может делиться как симметрично, что обусловливает её самообновление и «стволовость», так и асимметрично, давая начало более зрелым дочерним прогениторам. Потеря полярности в стволовых клетках при делении и снижение потенциала к асимметричному делению, делает дочерние клетки не способными отвечать на ранее действовавшие сигналы к пролиферации [3]. Таким образом, полярность клетки и ее злокачественное перерождение могут быть тесно взаимосвязаны, однако вероятность таких событий и их причины остаются невыясненными.

Для проверки этого факта испанские ученые исследовали пролиферативную способность мутантных клеток личиночных нейробластов Drosophila melanogaster (DM) *in vivo*. Мутации были вызваны в генах, отвечающих за асимметричное деление клетки – raps, mira, pros и numb. Данная работа показывает, что нарушение в одном или нескольких из рассматриваемых генов ведет к гиперпролиферации и запускает цепочку реакций, приводящих к злокачественному росту.

Нейробласты, выделенные из головного мозга мутантных по этим генам личинок DM, меченные зеленым флуоресцирующим белком, и пересаженные во взрослых мух, вырастали в виде опухоли, в 100 раз превышающей объём трансплантированных клеток (рис. 1). В контрольных экспериментах (нейробласты от личинок дикого типа) ни в одном случае не наблюдали развития опухолей. Опухоли прорастали в окружающие ткани, активно метастазировали (92% трансплантаций) и вызывали гибель мух за 2 недели. Опухоли становились бессмертным, могли быть пересажены повторно в течение года и поддерживались в лаборатории более двух лет без признаков снижения пролиферации. Для анализа самообновления, клетки опухоли были выделены и пересажены вторичным реципиентам, более 90% из них вызвали новообразования. Через шесть недель после трансплантации в этих опухолях наблюдалась изменения центросом (органелл ответственных за образование веретена деления) – характерный признак злокачественных карцином [1, 2].

Извлеченные опухоли окрашивали иммуноцитохимически для определения экспрессии нейрональных маркеров. Интересно отметить, что опухоли характеризовались потерей экспрессии маркёрных мутантных генов, однако сохраняли фенотип нейробластов. Подобное поведение клеток, как предполагают исследователи, связано с редким делением нейробластов, дающих начало двум дочерним клеткам (доказательство возможно при анализе пролиферации таких

клеток в режиме реального времени). Также, в основе лежит нестабильность самого генотипа клеток, что часто, обусловливает и злокачественное перерождение в тканях человека. Анализ кариотипа клеток из опухолей выявил наличие множественных хромосомных абберраций (сегментная анеуплоидия, моно–, три–, тетрасомии, тетра– и полиплоидии и т.д.).

Таким образом, исследователи доказали, что на злокачественное перерождение нейробластов у DM вызывают мутации генов, которые в норме отвечают за правильное асимметричное деление. Открытие одного из механизмов злокачественного перерождения взрослых стволовых клеток – безусловное достижение в клеточной биологии. DM оказалась удачной экспериментальной моделью, так как её нейробласты являются довольно хорошо изученным примером асимметричного деления стволовых клеток. В упрощенном виде схема туморогенеза представлена на рис. 2.

Большинство предположений, объясняющих как потеря полярности приводит к неопластической трансформации, основано на моделях измененной клеточной архитектуры, в которых трансформация осуществляется за счет снятия ингибирования сигналов, тормозящих клеточный цикл или наоборот, активируя митотический сигналинг [6]. Альтернативный путь – потеря полярности клетками, претерпевающими асимметричное деление (вследствие мутаций), что и было показано в этой работе. В таком случае дочерние клетки теряют способность отвечать на привычные стимулы.

Авторы работы, впервые показав один из возможных механизмов возникновения злокачественных опухолей из нейробластов дрозофилы, «укрепили» позиции теории канцерогенеза из стволовых клеток и указали пути дальнейших исследований на человеке.

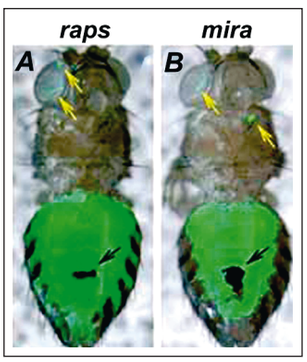

Рис. 1. Опухоли, развившиеся из пересаженных нейробластов мутантных по генам raps (A) и mira (B) через 2 недели после трансплантации. Опухоль (зелёный цвет) занимает все брюшко, сайт трансплантации показан чёрной стрелкой. Желтыми стрелками указаны отдаленные метастазы.
Из Nat. Genet. 2005; 37: 1125–9 с изменениями

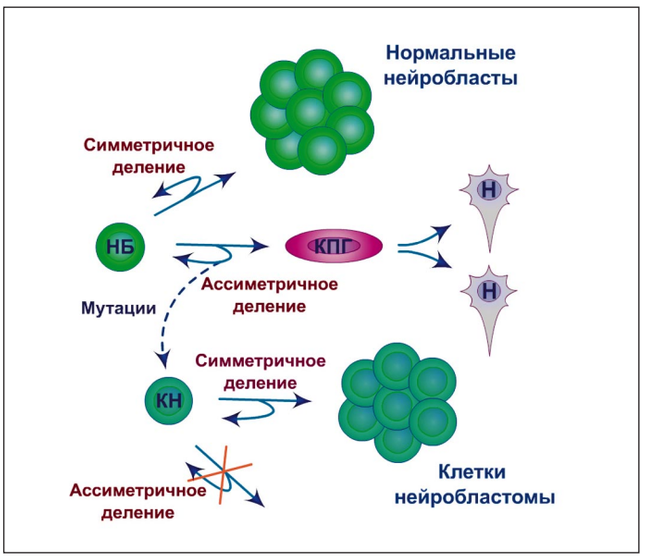

Рис. 2. Схема развития злокачественной опухоли при нарушении генетического механизма ассиметричного деления стволовой клетки на примере нейробластов дрозофилы.
Обозначения: КН – клетка нейробластомы;
КПГ – клетка–предшественник нейронов ганглиев;
Н – нейрон; НБ – нейробласт

ЛИТЕРАТУРА:

1. Pihan G.A., Purohit A., Wallace J. et al. Centrosome defects and genetic instability in malignant tumors. Cancer. Res. 1998; 58: 3974–85.
2. Pihan G.A., Wallace J., Zhou Y., Doxsey S.J. Centrosome abnormalities and chromosome instability occur together in preinvasive carcinomas. Cancer. Res. 2003; 63: 1398–404.
3. Liu H., Radisky D.C., Bissell M.J. Proliferation and polarity in breast cancer: untying the gordian knot. Cell Cycle 2005; 4: 646–9.
4. Al–Hajj M., Clarke M.F. Self–renewal and solid tumor stem cells. Oncogene 2004; 3: 7274–82.
5. Pardal R., Clarke M.F., Morrison S.J. Applying the principles of stem cell biology to cancer. Nat. Rev. Cancer 2003; 3: 895–902.
6. Humbert P., Russell S., Richardson H. Dig, Scribble and Lgl in cell polarity, cell proliferation and cancer. Bioessays 2003; 25: 542–53.

Подготовила В.С. Мелихова
По материалам Nat. Genet. 2005; 37: 1125 – 1129