

<https://doi.org/10.21682/2311-1267-2021-8-3-71-78>

Механизмы действия стволовых клеток: реальность и гипотезы

Д.А. Кудлай¹⁻³, Д.А. Иволгин⁴¹АО «ГЕНЕРИУМ»; 123112, Россия, Москва, ул. Тестовская, 10; ²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский университет); 119991, Россия, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2; ³ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии»

Федерального медико-биологического агентства»; Россия, 115522, Москва, Каширское шоссе, 24;

⁴ООО «Покровский банк стволовых клеток»; 199106, Санкт-Петербург, Большой просп. Васильевского острова, 85, лит. К**Контактные данные:** Дмитрий Анатольевич Кудлай D624254@gmail.com

Несмотря на многолетнюю историю изучения стволовых клеток (СК), механизмы их действия до сих пор не до конца понятны. Классическим примером может служить описанное негематологическое действие гемопоэтических СК (ГСК), предположительно за счет способности к трансдифференцировке и слиянию. В фокусе клинического применения в рамках регенеративной медицины находятся мезенхимальные стромальные клетки (МСК), причем понимание путей реализации их регенеративного потенциала существенно эволюционировало. МСК были открыты и описаны как структурная единица ниши ГСК, отвечающая за репарацию соединительной ткани методом дифференцировки. Однако впоследствии выяснилось, что они являются регулятором разнообразных процессов в организме в целом. К таким процессам относятся противовоспалительный, антифибротический, иммуномодулирующий эффекты, реализующиеся различными путями. Среди этих путей уже определен паракринный механизм — выделение различных факторов роста, экзосом и микровезикул, механизм прямого переноса митохондрий и других клеточных органелл от клетки к клетке при помощи туннелирующих нанотрубок, механизм эффероцитоза. Одним из последних открытий в этой области было иммуномодулирующее действие апоптотических МСК.

В целом изучение механизмов действия СК является живой, развивающейся областью науки, в которой еще не скоро будет сказано последнее слово.

Ключевые слова: мезенхимальная стромальная клетка, трансдифференцировка, слияние клеток, паракринный эффект, эффероцитоз, туннелирующие нанотрубки

Для цитирования: Кудлай Д.А., Иволгин Д.А. Механизмы действия стволовых клеток: реальность и гипотезы. Российский журнал детской гематологии и онкологии 2021;8(3):71–8.

Mechanisms of stem cells action: reality and hypotheses

D.A. Kudlay¹⁻³, D.A. Ivolgin⁴¹JSC «GENERIUM»; 10 Testovskaya St., Moscow, 123112, Russia; ²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Ministry of Health of Russia (Sechenov University); 8–2 Trubetskaya St., Moscow, 119991, Russia;³National Research Center — Institute of Immunology Federal Medical-Biological Agency of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow, 115522, Russia;⁴Pokrovskii Bank Stvolovyh Kletok; lit. K, 85 Bolshoy Prosp. Vasil'yevskogo ostrova, Saint-Petersburg, 199106, Russia

Despite the long history of stem cells studying, the mechanisms of their action are still not fully understood. A classic example is the described non-hematological effect of hematopoietic stem cells (HSC), presumably due to the ability to transdifferentiation and cell fusion. The focus of clinical application in the field of regenerative medicine is mesenchymal stromal cells (MSC), and the understanding of the ways of implementfion of their regenerative potential has evolved significantly. MSC were discovered and described as a structural unit of the HSC niche responsible for the repair of connective tissue through differentiation. However, it later turned out that they are a regulator of various processes in the body as a whole. These processes include anti-inflammatory, antifibrotic, and immunomodulatory effects, which are realized in various ways. Among these pathways, the paracrine mechanism has already been identified — the release of various growth factors, exosomes and microvesicles, the mechanism of direct transfer of mitochondria and other cellular organelles from cell to cell using tunneling nanotubes, the mechanism of efferocytosis. One of the latest discoveries in this field was the immunomodulatory effect of apoptotic MSC.

In general, the study of the stem cells mechanisms of action is a living, developing field of science in which the last word will not be said soon.

Key words: mesenchymal stromal cell, transdifferentiation, cell fusion, paracrine effect, efferocytosis, tunneling nanotubes

For citation: Kudlay D.A., Ivolgin D.A. Mechanisms of stem cells action: reality and hypotheses. Russian Journal of Pediatric Hematology and Oncology 2021;8(3):71–8.

Информация об авторах

Д.А. Кудлай: д.м.н., вице-президент по внедрению новых медицинских технологий АО «ГЕНЕРИУМ», профессор кафедры фармакологии Института фармации Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, ведущий научный сотрудник лаборатории персонализированной медицины и молекулярной иммунологии № 71 ГНЦ «Институт иммунологии», e-mail: D624254@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-1878-4467>
Д.А. Иволгин: к.м.н., медицинский директор ООО «Покровский банк стволовых клеток», e-mail: ida59m@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8073-5944>

Information about the authors

D.A. Kudlay: Dr. of Sci. (Med.), Vice-President for the Introduction of New Medical Technologies of JSC "GENERIUM", Professor of the Department of Pharmacology, Institute of Pharmacy, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Ministry of Health of Russia, Leading Researcher at the Laboratory of Personalized Medicine and Molecular Immunology № 71 NRC Institute of Immunology FMBA of Russia, e-mail: D624254@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-1878-4467>
D.A. Ivolgin: Cand. of Sci. (Med.), Medical Director Pokrovskii Bank Stvolovyh Kletok, e-mail: ida59m@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0001-8073-5944>

Вклад авторов

Д.А. Кудлай: разработка дизайна обзорно-аналитического исследования, редактирование и переработка рукописи
Д.А. Иволгин: анализ и обобщение данных литературы, сбор данных литературы, сбор и систематизация данных, оформление рукописи

Authors' contributions

D.A. Kudlay: development of the design of a review and analytical study, editing and processing of the manuscript
D.A. Ivolgin: analysis and generalization of literature data, collection of literature data, collection and systematization of data, preparation of the manuscript

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. / **Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки. / **Funding.** The study was performed without external funding.

Введение

Сегодня история клинического использования стволовых клеток (СК) различных типов насчитывает более 50 лет. В течение всего этого периода развивалось понимание научным медицинским сообществом механизмов, лежащих в основе тех или иных эффектов СК, причем некоторые парадигмы претерпевали существенные изменения. Два основных типа СК, чье применение в клинической практике изучается уже многие годы, это гемопоэтические СК (ГСК) [1] и мезенхимальные мультипотентные стромальные клетки (МСК).

С 60-х годов прошлого века трансплантация ГСК стала ключевой терапевтической стратегией в борьбе с гематологическими нарушениями. Однако позднейшие исследования показали, что ГСК могут успешно применяться и при негематологических заболеваниях, реализуя свои эффекты через совершенно другие механизмы (трансдифференцировка и/или слияние).

Клиническое применение МСК за счет их способности дифференцироваться в различные линии мезенхимальных тканей, таких как остеобласты, хондроциты и адипоциты, нацеливалось на лечение серьезных травм и заболеваний соединительной ткани [2]. Первоначально предполагалось, что после введения МСК в сосудистое русло они будут мигрировать в места повреждения, приживаться и дифференцироваться в функциональные клетки, приводя к регенерации поврежденной соединительной ткани. Однако результаты многих исследований на животных и на людях, проведенных за последние несколько десятилетий, бросили вызов этой классической парадигме, демонстрируя эффективность при лечении различных заболеваний, не объяснимую с точки зрения замещения тканей.

Цель настоящего обзора состоит в исследовании изменений классического взгляда на механизмы дей-

ствия СК и ключевых достижений и важных вопросов в этой быстро развивающейся области регенеративной медицины.

Трансдифференцировка и пластичность стволовых клеток. Слияние

Исследователи в настоящее время выделяют 3 составных части регуляции способности ГСК к самообновлению: клеточный метаболизм, контроль качества митохондрий и выбор направления дифференцировки [3]. Основным регулятором деятельности ГСК, в том числе и выбора направления дифференцировки, является ниша ГСК — сложная локальная тканевая микросреда, в которую наряду с собственно ГСК входит большое количество различных типов клеток, каждый из которых выполняет свою специфичную функцию. Важным структурным компонентом ниши является эндост, реализующий регуляторные функции посредством остеобластов, эндотелиальных клеток, МСК.

Кроме того, регулировать функцию ГСК/ниши может симпатическая нервная система через экспрессию CXCL12, немиелинизирующие Шванновские клетки за счет регуляции активации TGF- β , а также циркулирующие в крови сигналы дальнего действия (гормоны, гемопоэтические цитокины), интегрирующие активность СК с функцией организма в целом.

ГСК также могут использоваться в лечении негематологических заболеваний за счет участия в создании негемопоэтических тканей, которую определили как «пластичность» СК, что было продемонстрировано при регенерации печени, мозга, сердца, мышцы и поджелудочной железы с участием костномозговых клеток. Скорее всего, «пластичность» не является нормальной функцией ГСК в регенерации ткани в покое, а мобилизуется при тяжелой травме или селективном давлении.

Примеры трансдифференцировки приведены в исследованиях, показавших, что CD19 B220 В-клетки могут генерировать макрофаги в условиях миелиной культуры [4], а про-Т-клетки способны образовывать макрофаги в кондиционированной среде [5], скорее всего, благодаря благоприятному микроокружению, а именно цитокинам и межклеточному контакту.

Спонтанное физиологическое слияние клеток — процесс, регулируемый во времени и пространстве, необходимый для программирования или дифференцировки некоторых типов клеток [6], что может обеспечить регулируемую передачу транскрипционного контроля, необходимого для управления дифференцировкой СК или клеток-предшественников для восстановления тканей.

Слияние клеток происходит, когда плазматические мембраны соседних клеток сливаются, образуя многоядерную клетку. Для этого липидные двухслойные клеточные мембраны должны войти в очень близкий контакт — в диапазоне нескольких Ангстрем. Затем один или оба двойных слоя должны быть каким-то образом дестабилизированы, индуцируя их локализованную перестройку. Если дестабилизированы оба двойных слоя, образуется водный мостик и цитоплазматическое содержимое обеих клеток смешивается.

Дестабилизация мембран может произойти в результате физического напряжения (например, электрофузия) или химического вмешательства (например, при воздействии полиэтиленгликоля). В природе для дестабилизации клеточных мембран и последующего их слияния используют активацию специфических интегральных мембранных белков — фузогенов. Наиболее полно охарактеризованными фузогенами являются гемагглютинин гриппа (НА) и оболочечный белок вируса иммунодефицита человека 1-го типа (ВИЧ-1 Env). Оба белка слияния гидрофобны, но НА активируется во время эндоцитоза при рН кислой среды, в то время как ВИЧ-1 Env действует при нейтральной рН.

Действительно ли существует пластичность или трансплантированная СК сливается с резидентными клетками ткани? Самые последние исследования пластичности утверждают, что оба ответа могут быть правдой — СК могут сливаться *in vivo* так же, как независимо трансдифференцироваться *in vivo*.

Аргументы как за, так и против того, что пластичность может быть обусловлена слиянием, получены P.N. Newsome et al. [7], трансплантировавших клетки пуповинной крови человека облученным NOD/SCID мышам. Кроме печени доказательства слияния были представлены и в нейронах Пуркинье и в кардиомиоцитах.

Таким образом, слияние не является тканеспецифичным, а скорее специфичным для определенных типов клеток в пределах данной ткани. Для гепатоцитов и кардиомиоцитов ранее было описано наличие 2 ядер или более, также было показано, что клетки

Пуркинье могут быть полиплоидными, причем метод, с помощью которого эти клетки становятся полиплоидными, — слияние клеток или неполное деление, не был определен. То есть слияние СК с другими типами клеток (гепатоциты, кардиомиоциты и клетки Пуркинье) легко могло бы быть способом, с помощью которого они приобретают свое нормальное полиплоидное состояние. Соответственно, типы клеток, в которых никакого слияния не наблюдалось (клетки поджелудочной железы, эндотелиальные клетки), как правило, диплоидные и, следовательно, не могут быть партнерами для слияния с ГСК.

Убедительные доказательства, подтверждающие, что пластичность без слияния действительно возможна, также были продемонстрированы в исследовании формирования кровеносных сосудов из ГСК донора после трансплантации [8], что может свидетельствовать об имеющемся у клеток костного мозга (КМ) потенциале гемангиобласта.

Паракринные эффекты. Иммуномодуляция

Современные гипотезы указывают на то, что МСК оказывают лечебное воздействие на поврежденные ткани/органы, используя способы восстановления и репарации, повышающие жизнеспособность и/или пролиферацию клеток, снижающие апоптоз клеток и в некоторых случаях модулирующие иммунный ответ, а не за счет долгосрочного приживления и дифференцировки. Такие модели действия МСК включают в себя паракринную активность секретируемых факторов роста, цитокинов и гормонов, межклеточные взаимодействия, опосредованные туннельными нанотрубками (ТНТ), и высвобождение внеклеточных везикул (ВВ), содержащих репаративные пептиды/белки, мРНК и микроРНК (табл. 1) [9].

Первые свидетельства активного смягчения МСК иммунных реакций появились в результате анализа реакции смешанных лимфоцитов (СКЛ-реакция), выполненные *ex vivo*, которые показали, что экспансия Т-клеток может быть ингибирована добавлением к СКЛ МСК.

В работе S. Aggarwal et al. [10] было высказано предположение, что сдвиг в соотношении Т-хелперных (Th) клеток из провоспалительного подтипа Th1 к противовоспалительному подтипу Th2, сопровождающийся дифференцировкой наивных Т-клеток в иммунорегуляторные Treg, происходил за счет секреции PGE2 и связанных с ним факторов через усиление синтеза дендритными клетками IL-10 с одновременным снижением секреции фактора некроза опухоли альфа (TNF- α) и IL-12. Кроме того, было показано, что МСК могут индуцировать апоптоз воспалительных Т-клеток через активацию оси лиганда Fas—Fas, ингибировать пролиферацию Т-клеток через синтезированную МСК индолеамин-2,3-диоксигеназу (IDO), катализирующую превращение триптофана в кинуренин. В сериях экспериментов R.S. Waterman et al. [11] сообщалось, что кратковременная стиму-

Таблица 1. Уровни цитокинов и факторов роста в кондиционной среде МСК ПК и фибробластов [9]**Table 1.** Levels of cytokines and growth factors in the conditioned environment of PC MSCs and fibroblasts [9]

Цитокин Cytokine	Метод исследования Research method	Кондиционная среда (пг/мл) Conditioned medium (pg/ml)	
		МСК ПК (n = 3) PC MSCs (n = 3)	Фибробласты (n = 3) Fibroblasts (n = 3)
BDNF	ИФА	13900,25 ± 2156,17	ND
SDF-1	ИФА	770,63 ± 45,36 ^a	7,44 ± 8,23
IGF	ИФА	871,28 ± 80,29 ^a	27 ± 11,43
VCAM-1	ИФА	549,24 ± 63,22	N/A
TGF-β	ИФА	4330,36 ± 798,19 ^a	1605,86 ± 335,36
HGF	ИФА	643,05 ± 31,91	N/A
VEGF	LC	224,06 ± 47,42	340,75 ± 117,09 ^c
EGF	LC	< 5,4 ± 0,00	< 3,6 ± 0,00
FGF-2	LC	59,55 ± 13,64 ^b	28,9 ± 9,15
PDGF-BB	LC	38,05 ± 9,05	29,1 ± 12,21
IL-10	LC	< 4,00 ± 0,00	1,66 ± 0,6
IL-S	LC	1444,6 ± 225,33 ^a	285,61 ± 172,00
IP-10	LC	34,8 ± 6,19 ^b	36,4 ± 15,17
TGF-α	LC	< 0,4 ± 0,00	ND
MCP-1	LC	13038,81 ± 1134,06 ^a	914,23 ± 213,06
SCF	LC	< 1,25 ± 0,00	ND

Примечание. Данные представлены в виде «Средняя ± стандартное отклонение»: ^a*p* < 0,001 и ^b*p* < 0,01 – по сравнению с группой фибробластов; ^c*p* < 0,01 – по сравнению с группой мезенхимальных мультипотентных клеток пупочного канатика (МСК ПК); ИФА – иммуноферментный анализ; LC (liquid-chip assay) – мультиплексный анализ; ND – не определялось; N/A – данные недоступны; BDNF – нейротрофический фактор мозга; SDF – фактор стромальной клетки; IGF – инсулиноподобный фактор роста; VCAM – молекула адгезии васкулярной клетки; TGF – трансформирующий фактор роста; HGF – фактор роста гепатоцитов; VEGF – фактор роста эндотелия сосудов; EGF – эпидермальный фактор роста; PDGF-BB – фактор роста тромбоцитов-BB; IL – интерлейкин; IP – интерферон-гамма-индуцируемый протеин; MCP – моноцитарный хемотаксический протеин; SCF – фактор СК.

Note. Data are presented as “Mean ± standard deviation”: ^a*p* < 0.001 and ^b*p* < 0.01 – compared with the fibroblast group; ^c*p* < 0.01 – compared with the group of mesenchymal multipotent cells of the umbilical cord (PC MSCs); ИФА – linked immunosorbent assay; LC – liquid-chip assay; ND – not determined; N/A – data not available; BDNF – brain neurotrophic factor; SDF – stromal cell factor; IGF – insulin-like growth factor; VCAM – vascular cell adhesion molecule; TGF – transforming growth factor; HGF – hepatocyte growth factor; VEGF – vascular endothelial growth factor; EGF – epidermal growth factor; PDGF-BB – platelet growth factor-BB; IL – interleukin; IP – interferon-gamma-inducible protein; MCP – monocytic chemotactic protein; SCF – SC factor.

ляция Toll-подобного рецептора (TLR)3 с помощью полиинозин-полицитидиловой кислоты (poly I:C) может стимулировать экспрессию МСК повышенных уровней IDO и PGE2.

Эффект способности МСК модулировать активность макрофагов был первоначально описан *ex vivo* с использованием культур макрофагов, стимулированных лигандами TLR, такими как липополисахарид (LPS), зимозан или poly I:C, имитировавшими последствия бактериальной или вирусной инфекции.

Сообщалось, что МСК модулируют пролиферацию, дифференцировку и секрецию иммуноглобулинов В-клетками без индукции апоптоза, что частично обусловлено паракринной активностью растворимых факторов, секретируемых МСК, или ингибирования

активности В-клеток за счет физического взаимодействия МСК с Т-клетками [12]. Основываясь на изучении мышинной модели аллергии, K. Nemeth et al. [13] сообщили, что TGF-β, выделяемый МСК, имеет решающее значение для подавления опосредованных В-клетками аллергических реакций *in vivo*. Иммуномодуляция МСК показала свою эффективность на различных моделях воспалительных заболеваний, включая артрит, болезнь Крона, рассеянный склероз, инфаркт миокарда, диабет, реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и отторжение роговицы (табл. 2).

Стимулирование выживания клеток с помощью мезенхимальных стволовых клеток

Однако МСК поддерживают выживание клеток не только за счет паракринного воздействия на иммунную систему, но и путем синтеза широкого спектра биологически активных субстанций-факторов роста, цитокинов и внеклеточного матрикса (ВКМ). Эффекты секрета МСК, обеспечивающие выживание других типов клеток, были впервые выявлены в ходе исследований долговременных культур КМ и эмбриональных клеток. Детальный анализ транскриптомики и протеомики МСК подтвердил, что они выделяют широкий ряд паракринных факторов, обычно называемых трофическими факторами или медиаторами, представляющих собой разнообразную группу растворимых пептидов и белков с широким спектром биологического действия, в том числе ускорения процессов самообновления клеток-предшественников, стимуляции ангиогенеза и минимизации апоптоза и/или воспаления.

Одними из лучших доказательств, подтверждающих косвенную роль МСК в репарации тканей/органов, являются исследования сердца при инфаркте [15], в которых описывались различные механизмы паракринной активности – опосредованные геном, кодирующим протеинкиназу В (Akt), связанным с ожогом белком (sFRP), ингибитором сигнального пути Wnt; секреция ангиогенных факторов, стромально-клеточного фактора-1 (SDF-1), а также Jagged/Notch сигналинга.

Фиброз и регенерация

В то время как антифибротические эффекты МСК, вероятно, перекрываются с их противовоспалительными и ангиогенными свойствами, специфические механизмы остаются плохо изученными. Предполагается, что антифибротическое действие МСК, по-видимому, состоит из 4 этапов: 1) иммунная модуляция, 2) ингибирование TGF-β-опосредованной дифференцировки различных клеток в секретирующие ВКМ миофибробласты путем эпителиально-мезенхимального перехода, 3) ингибирование окислительного стресса и 4) ремоделирование матрикса [16]. Например, L.A. Ortiz et al. показали, что системное введение мышинных МСК ослабляло фиброз на модели блео-

Таблица 2. Иммуномодулирующий эффект МСК (животные модели) [14]

Table 2. Immunomodulatory effect of MSCs (animal models) [14]

Модель Model	Животные Animals	МСК MSCs		
		Источник Source	Эффект Effect	Механизм Mechanism
Астма Asthma	Balb/c и C57BL/6 мыши Balb/c and C57BL/6 mice	МСК КМ C57BL/6 мышей C57BL/6 mice BM-MSCs	Да Effect was shown	IFN-λ зависимый IFN-λ dependent
Астма Asthma	C57BL/6J мыши C57BL/6J mice	МСК КМ Balb/c мышей Balb/c mice BM-MSCs	Да Effect was shown	TGF-β
Аутоиммунная потеря слуха Autoimmune hearing loss	Balb/c мыши Balb/c mice	МСК ЖТ человека Human adipose tissue MSCs	Да Effect was shown	IL-10
Экспериментальный колит Experimental colitis	C57BL/6J мыши C57BL/6J mice	МСК десны человека Human gingival-MSCs	Да Effect was shown	IL-10, IDO
Радиационный проктит Radiation proctitis	SD крысы SD rat	МСК КМ SD крыс SD rat BM-MSCs	Да Effect was shown	Глюкокортикоид Glucocorticoid
Иммунная тромбоцитопения Immune thrombocytopenia	Balb/c мыши Balb/c mice	МСК ЖТ человека Human adipose tissue MSCs	Да Effect was shown	T-хелперы T helper cells
Экспериментальный аутоим- мунный энцефаломиелит Experimental autoimmune encephalomyelitis	C57BL/6 мыши C57BL/6 mice	МСК КМ C57BL/6 мышей C57BL/6J mice BM-MSCs	Да Effect was shown	IFN-λ
Ревматоидный артрит Rheumatoid arthritis	DBA/1 мыши DBA/1 mice	МСК ЖТ человека Human adipose tissue MSCs	Да Effect was shown	Индукция Т-регуляторных клеток Inducing Treg cells
Ревматоидный артрит Rheumatoid arthritis	DBA/1 мыши DBA/1 mice	МСК ПК человека Human umbilical cord-MSCs	Да Effect was shown	IL-10, IDO, TGF-β
Системная красная волчанка Systemic lupus erythematosus	NZB/W F1 мыши NZB/W F1 mice	МСК ПК человека Human umbilical cord-MSCs	Да Effect was shown	—
РТПХ GVHD	DBA/2 мыши DBA/2 mice	МСК ПК человека Human umbilical cord-MSCs	Да Effect was shown	IDO, TGF-β
Контактный дерматит Contact dermatitis	Balb/c мыши Balb/c mice	МСК десны человека Human gingival-MSCs	Да Effect was shown	PGE2
Астма Asthma	Balb/c OlaHsd мыши Balb/c OlaHsd mice	МСК КМ FV/BN мышей FV/BN mice BM-MSCs	Да Effect was shown	Индукция Т-регуляторных клеток Inducing Treg cells

Примечание. ЖТ — жировая ткань; IFN-λ — интерферон-λ; PGE2 — простагландин E2.

Note. BM — bone marrow; IDO — indoleamine 2,3-dioxygenase; PGE2 — prostaglandin E2.

мицин-индуцированного повреждения легких [17] с помощью МСК-опосредованной секреции антагониста рецептора IL-1, который уменьшает инфильтрацию лимфоцитов и нейтрофилов и их продукцию воспалительных и фиброзных медиаторов, таких как IL-1 и TNF-α.

Из исследований ангиогенеза, анализировавших уровень VEGF, можно сделать вывод, что большинство СК секретируют этот фактор роста, однако могут иметь значение и другие ростовые факторы: FGF2, EGF, HGF, PIGF, SDF-1, PDGF и TGF-β. Кроме того, участвовать в ангиогенезе могут различные цитокины, IL, хемокины, белок хемотаксиса моноцитов-1 (MCP-1), лептин, ангиогензин и эндостатин/коллаген XVIII [18].

Ростовые факторы вносят свой вклад в регенерацию поврежденных тканей/органов, с особым акцентом на пролиферацию, как например PDGF для соединительной ткани, глиальных и других клеток, а EGF — для мезенхимальных, глиальных и эпителиальных клеток. PIGF (плацентарный фактор роста) из семейства VEGF повышает активность VEGF *in vitro* и *in vivo*, фактор роста кератиноцитов (KGF) ингибирует гибель эпителиальных клеток, индуцированную окислительным стрессом, NGF способствует росту

нейрита и выживанию нервных клеток, BDNF является нейротрофическим фактором, способствует выживанию клеток и уменьшает образование астроглиального рубца, а некоторые факторы роста, в том числе HGF, FGF-7, EGF и HGF, способствуют регенерации печени.

Противовоспалительные цитокины играют определенную роль в регенерации, например IL-1b, благодаря его гепатотрофическому действию, или IL-8 из-за его ангиогенной активности и IL-9 из-за стимуляции ранозаживления.

Цитокины других типов, например UPA (активатор плазминогена урокиназного типа) и тромбоспондины 1 и 2, повышают регенерацию печени, Серпин E-1 и SDF-1 способствуют восстановлению тканей, TIMP-1 и IGFBP предотвращают апоптоз, аденомедуллин вызывает расширение сосудов и снижает клеточный окислительный стресс и апоптоз, DKK-1 инициирует пролиферацию СК КМ, а фракталкин предотвращает апоптоз.

Ряд исследований показал, что SDF-1 имеет решающее значение для миграции СК/прогениторной клетки, например ось SDF-1/C-X-C хемокинового рецептора 4 (CXCR4) обеспечивает рекрутинг клеток-предшественников и CXCR4-позитивных клеток к поражениям сердца и головного мозга. HGF — это

хемокин, который проявляет хемоаттрактивные свойства через взаимодействие с рецептором *c-met* и может индуцировать пролиферацию и миграцию эпителиальных клеток и МСК. Моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 (MCP-1) — это мощный хемоаттрактант, который рекрутирует МСК и индуцирует пролиферацию фибробластов, способствующих заживлению травмированной ткани [19].

Польза МСК и секретируемых ими продуктов для защиты клетки и восстановления тканей была показана в многочисленных исследованиях эффективности на широком спектре повреждений тканей и моделей заболеваний: ускорение заживления ран, улучшение лечения диабета, усиление репарации костей и воздействие на рак.

Перенос митохондрий туннелирующими нанотрубками

Первая информация о ТНТ как о коммуникационной межклеточной транспортной сети появилась в работе A. Rustom et al. [20], исследовавших ТНТ, формировавшиеся в культурах трансформированных клеток (человеческие 293 клетки и крысиные PC12). Эндоцитозные органеллы (лизосомы) и везикулы, как было показано, двигались через тонкие ($D = 50\text{--}200$ нм) филаменты, натянутые между клетками. Впоследствии ТНТ были обнаружены в иммунных клетках человека (например, в натуральных киллерах, макрофагах и В-клетках), причем было показано, что ТНТ между макрофагами имеют различную структуру, свойства и потенциально различные функции; B. Onfelt et al. наблюдали тонкие нити, содержащие F-актин, а также более толстый подвид (0,7 мкм), содержащий как F-актин, так и микротрубочки. Было показано, что через более толстый подвид ТНТ транспортируются митохондрии и лизосомальные везикулы [21], также выяснилось, что некоторые ТНТ были актиномиозин-зависимыми. В настоящее время считается, что МСК переносят митохондрии в несколько различных типов клеток, включая эпителиальные клетки, эндотелиальные клетки и кардиомиоциты. Такие переносы особенно важны, когда потенциальные клетки-мишени повреждены или находятся в условиях стресса.

Несколько недавних исследований представили убедительные доказательства того, что вводимые МСК могут переносить митохондрии *in vivo* и, кроме того, что таким переносом можно восстановить поврежденные клетки легких и уменьшить повреждение легочной ткани [22] за счет увеличения уровней альвеолярного аденозинтрифосфата (АТФ) и выживаемости клеток.

Регуляция транспорта митохондрий с помощью мезенхимальных стволовых клеток

Способствовать или подавлять межклеточный перенос митохондрий могут белки, регулирующие

внутриклеточную деятельность митохондрий, к которым относятся Miro-1 и Miro-2, митофузин 1 и 2, а также моторные белки, как, например, Мио-X (Myo10), локализующийся на концах клеточных филоподий.

Хотя сигналы повреждения/травмы, инициирующие митохондриальный перенос, еще не идентифицированы, вполне вероятно, что в управлении переноса митохондрии из одной клетки в другую могут играть определенную роль различия во внутриклеточном Ca^{2+} или запасе энергии (например, глюкозы, АТФ).

Примечательно, что некоторые механизмы (например, белок-опосредованные), контролируемые образование ТНТ и/или митохондриальный перенос, могут быть специфичными для специализированных типов клеток, таких как нейроны [23].

Для будущего клинического применения освоение контролируемого и предсказуемого переноса митохондрий, вероятно, потребует дальнейшего понимания его механизмов. Важно, что последние достижения в области таргетирования ДНК на митохондриях могут предоставить новые инструменты для отслеживания или даже, возможно, генетического изменения митохондрий путем модификации митохондриальной ДНК.

Эффероцитоз

В 2009 г. K. Nemeth et al. [24] показали, что внутривенно вводимые мышинные МСК накапливаются в легких и мигрируют в сосудистое пространство, где более половины захваченных легкими МСК быстро фагоцитируются резидентными макрофагами легочной ткани. В дальнейшем был показан защитный эффект МСК против летального сепсиса за счет вырабатываемого эндогенными макрофагами IL-10.

Действительно, вполне может быть, что фагоцитарное уничтожение МСК вызывает IL-10, IDO- и TGF- β -опосредованные супрессорные реакции сродни той, что наблюдается при переработке апоптотического клеточного дебриса путем эффероцитоза [25].

Феномен эффероцитоза МСК сам по себе не является нежелательным, но, безусловно, сильно осложняет интерпретацию доклинических данных на животных, где в качестве основного метода анализа рассматривается ксенотрансфер МСК человека. Это также увеличивает уровень сложности при попытке отличать эффекты МСК, возникающие в результате метаболической активности клеток от неспецифической иммунной модуляции, возникающей в результате очистки от иммунно-несовместимых или минимально функциональных МСК.

Иммуномодуляция путем апоптоза

Жизнеспособность МСК, по-видимому, не является обязательным условием для некоторых из их иммуномодулирующих эффектов [26]. Апоптотические

МСК, полученные из жировой ткани (а-ЖМСК), как было показано, снижают смертность у крыс после индукции сепсиса [27]. В работе Н.К. Yip et al. было продемонстрировано, что внутривенное введение а-ЖМСК превосходит лечение живыми МСК в модели CLP-индуцированного сепсиса (CLP – перевязка и пункция слепой кишки) или при лечении острого ишемического/реперфузионного повреждения легких у крыс при введении вместе с мелатонином у крыс [28].

Недавнее исследование показало, что цитотоксические клетки реципиента вызывают индуцированный перфорином апоптоз во введенных МСК [29], что было предпосылкой развития ими своего иммунорегуляторного действия в мышинной модели РТПХ. Следовательно, было продемонстрировано, что цитотоксическая активность в отношении МСК и фагоцитоз апоптотических МСК макрофагами является решающим фактором участия в МСК-опосредованной иммуномодуляции. Эти выводы согласуются с «гипотезой умирающей СК», опубликованной T. Thum et al. в 2005 г., в которой утверждалось, что апоптоз МСК вызывает модуляцию местной иммунной реакции со снижением активации врожденного и адаптивного иммунитета [30]. Даже мембранные частицы, полученные из МСК, по-видимому, обладают иммуномодулирующими свойствами. F.D.C. Gonçalves et al. использовали частицы мембраны МСК размером в диапазоне от 63 до 700 Нм (> 95 % из них меньше 200 Нм) и показал, что они ферментативно активны, но не подавляют пролиферацию Т-клеток в СКЛ. Частицы мембраны МСК поглощались моноцитами и связывались с их плазматическими мембранами, индуцируя таким образом селективный апоптоз провоспалительных CD14⁺CD16⁺-моноцитов [31].

Заключение

Наши знания в области механизмов действия СК постоянно усложняются и увеличиваются. На смену идеи о прямом действии СК как резерва для восполнения количества клеток ткани организма взамен погибших пришло понимание о многообразности роли СК. Теперь практически ни у кого не вызывает сомнений негематологическое действие ГСК через трансдифференцировку или слияние. Постоянно появляются новые данные о механизмах действия МСК не только как составляющего элемента гемопоэтической ниши или поддержки стромы, но и как регулятора большого количества процессов в организме. Сюда можно отнести функции регуляции иммунитета, воспалительных реакций, фиброза и других за счет паракринного воздействия через выделяемые растворимые факторы или ВВ, прямого контакта «клетка–клетка» с образованием микротрубочек или эффероцитоз. Таким образом, сегодня приходится говорить уже не только о СК, но и о возможном применении их производных, минуя саму СК как посредника.

В свете многообещающих результатов на животных моделях и клинических исследованиях, терапевтическое использование СК и продуктов на их основе для лечения заболеваний и повреждений органов и тканей проходит непрерывную оценку. Следующими шагами по обеспечению эффективными терапевтическими средствами на базе СК и их продуктов должны быть усилия, направленные на стандартизацию методов выделения СК, их характеристики и применения. В отношении преобладающих механизмов функционирования СК уточнение относительной роли (ролей) каждого механизма в восстановлении поврежденных тканей/органов может способствовать повышению безопасности лечения, эффективности и предсказуемости исхода для пациентов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Rodriguez-Fraticelli A.E., Wolock S.L., Weinreb C.S., Panero R., Patel S.H., Jankovic M., Sun J., Calogero R.A., Klein A.M., Camargo F.D. Clonal analysis of lineage fate in native haematopoiesis. *Nature* 2018;553:212–6. doi: 10.1038/nature25168.
- Caplan A.I., Bruder S.P. Mesenchymal stem cells: building blocks for molecular medicine in the 21st century. *Trends Mol Med* 2001;7(6):259–64. doi: 10.1016/s1471-4914(01)02016-0.
- Ito K., Ito K. Hematopoietic stem cell fate through metabolic control. *Exp Hematol* 2018;64:1–11. doi: 10.1016/j.exphem.2018.05.005.
- Montecino-Rodriguez E., Leathers H., Dorshkind K. Bipotential B-macrophage progenitors are present in adult bone marrow. *Nat Immunol* 2001;2:83–8. doi: 10.1038/83210.
- Lee C.K., Kim J.K., Kim Y., Lee M.K., Kim K., Kang J.K., Hofmeister R., Durum S.K., Han S.S. Generation of macrophages from early T progenitors *in vitro*. *J Immunol* 2001;166:5964–9. doi: 10.4049/jimmunol.166.10.5964.
- Pesaresi M., Sebastian-Perez R., Pia Cosma M. Dedifferentiation, transdifferentiation and cell fusion: *in vivo* reprogramming strategies for regenerative medicine. *FEBS J* 2019;286(6):1074–93. doi: 10.1111/febs.14633.
- Newsome P.N., Johannessen I., Boyle S., Dalakas E., McAulay K.A., Samuel K., Rae F., Forrester L., Turner M.L., Hayes P.C., Harrison D.J., Bickmore W.A., Plevris J.N. Human cord blood-derived cells can differentiate into hepatocytes in the mouse liver with no evidence of cellular fusion. *Gastroenterology* 2003;124:1891–900. doi: 10.1016/s0016-5085(03)00401-3.
- Cogle C.R., Yachnis A.T., Laywell E.D., Zander D.S., Wingard J.R., Steindler D.A., Scott E.W. Bone marrow transdifferentiation in brain after transplantation: a retrospective study. *Lancet* 2004;363:1432–7. doi: 10.1016/S0140-6736(04)16102-3.
- Spees J.L., Lee R.H., Gregory C.A. Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell function. *Stem Cell Res Ther* 2016;7(1):125. doi: 10.1186/s13287-016-0363-7.
- Aggarwal S., Pittenger M.F. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood* 2005;105(4):1815–22. doi: 10.1182/blood-2004-04-1559.
- Waterman R.S., Tomchuck S.L., Henkle S.L., Betancourt A.M. A new mesenchymal stem cell (MSC) paradigm: polarization into a proinflammatory MSC1 or an immunosuppressive MSC2 phenotype. *PLoS One* 2010;5(4):e10088. doi: 10.1371/journal.pone.0010088.
- Rosado M.M., Bernardo M.E., Scarsella M., Conforti A., Giorda E., Biagini S., Cascioli S., Rossi F., Guzzo I., Vivarelli M., Strologo L.D., Emma F., Locatelli F., Carsetti R. Inhibition of B-cell proliferation and antibody production by mesenchymal stromal cells is mediated by T cells. *Stem Cells Dev* 2015;24(1):93–103. doi: 10.1089/scd.2014.0155.
- Nemeth K., Keane-Myers A., Brown J.M., Metcalfe D.D., Gorham J.D., Bundoc V.G., Hodges M.G., Jelinek I., Madala S., Karpati S., Mezey E. Bone marrow stromal cells use TGF-beta to suppress allergic responses in a mouse model of ragweed-induced asthma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107(12):5652–7. doi: 10.1073/pnas.0910720107.
- Gao F., Chiu S.M., Motan D.A.L., Zhang Z., Chen L., Ji H-L., Tse H.-F., Fu Q.-L., Lian Q. Mesenchymal stem cells and immunomodulation: current status and future prospects. *Cell Death Dis* 2016;7:e2062. doi: 10.1038/cddis.2015.327.
- Mangi A.A., Noiseux N., Kong D., He H., Rezvani M., Ingwall J.S., Dzau V.J. Mesenchymal stem cells modified with Akt prevent remodeling and restore performance of infarcted hearts. *Nat Med* 2003;9(9):1195–201. doi: 10.1038/nm912.
- Usunier B., Benderitter M., Tamarat R., Chapel A. Management of fibrosis: the mesenchymal stromal cells breakthrough. *Stem Cells Int* 2014;2014:340257. doi: 10.1155/2014/340257.
- Ortiz L.A., Gambelli F., McBride C., Gaupp D., Baddoo M., Kaminski N., Phinney D.G. Mesenchymal stem cell engraftment in lung is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects. *Proc Nat Acad Sci USA* 2003;100(14):8407–11. doi: 10.1073/pnas.1432929100.
- Litwack G. (ed.). Growth factors and cytokines, in Human Biochemistry and Disease. Elsevier Academic Press, 2008. Pp. 587–683.
- Shen C., Lie P., Mia T., Yu M., Lu Q., Feng T., Li J., Zu T., Liu X., Li H. Conditioned medium from umbilical cord mesenchymal stem cells induces migration and angiogenesis. *Mol Med Rep* 2015;12:20–30. doi: 10.3892/mmr.2015.3409.
- Rustom A., Saffrich R., Markovic I., Walther P., Gerdes H.H. Nanotubular highways for intercellular organelle transport. *Science* 2004;303(5660):1007–10. doi: 10.1126/science.1093133.
- Onfelt B., Nedvetzki S., Benninger R.K., Purbhoo M.A., Sowinski S., Hume A.N., Seabra M.C., Neil M.A.A., French P.M.W., Davis D.M. Structurally distinct membrane nanotubes between human macrophages support long-distance vesicular traffic or surfing of bacteria. *J Immunol* 2006;177:8476–83. doi: 10.4049/jimmunol.177.12.8476.
- Islam M.N., Das S.R., Emin M.T., Wei M., Li Sun L., Westphalen K., Rowlands D.J., Quadri S.K., Bhattacharya S., Bhattacharya J. Mitochondrial transfer from bone-marrow-derived stromal cells to pulmonary alveoli protects against acute lung injury. *Nat Med* 2012;18:759–65. doi: 10.1038/nm.2736.
- Gousset K., Marzo L., Commere P.H., Zurzolo C. Myo10 is a key regulator of TNT formation in neuronal cells. *J Cell Sci* 2013;126:4424–35. doi: 10.1242/jcs.129239.
- Nemeth K., Leelahavanichkul A., Yuen P.S., Mayer B., Parmelee A., Doi K., Robey P.G., Leelahavanichkul K., Koller B.H., Brown J.M., Hu X., Jelinek I., Star R.A., Mezey E. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. *Nat Med* 2009;15:42–9. doi: 10.1038/nm.1905.
- Elliott M.R., Koster K.M., Murphy P.S. Efferocytosis Signaling in the Regulation of Macrophage Inflammatory Responses. *J Immunol* 2017;198:1387–94. doi: 10.4049/jimmunol.1601520.
- Weiss A.R.R., Dahlke M.H. Immunomodulation by Mesenchymal Stem Cells (MSCs): Mechanisms of Action of Living, Apoptotic, and Dead MSCs. *Front Immunol* 2019;10:1191. doi: 10.3389/fimmu.2019.01191.
- Johnson C.L., Soeder Y., Dahlke M.H. Concise review: mesenchymal stromal cell-based approaches for the treatment of acute respiratory distress and sepsis syndromes. *Stem Cells Transl Med* 2017;6:1141–51. doi: 10.1002/sctm.16-0415.
- Yip H.K., Chang Y.C., Wallace C.G., Chang L.T., Tsai T.-H., Chen Y.-L., Chang H.-W., Leu S., Tsai C.-Y., Yeh K.-H., Sun C.-K., Yen C.-H. Melatonin treatment improves adipose-derived mesenchymal stem cell therapy for acute lung ischemia-reperfusion injury. *J Pineal Res* 2013;54:207–21. doi: 10.1111/jpi.12020.
- Galipeau J., Sensebe L. Mesenchymal Stromal Cells: Clinical Challenges and Therapeutic Opportunities 2018;22(6):824–33. doi: 10.1016/j.stem.2018.05.004.
- Thum T., Bauersachs J., Poole-Wilson P.A., Volk H.D., Anker S.D. The dying stem cell hypothesis: immune modulation as a novel mechanism for progenitor cell therapy in cardiac muscle. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1799–802. doi: 10.1016/j.jacc.2005.07.053.
- Gonçalves F.D.C., Luk F., Korevaar S.S., Bouzid R., Paz A.H., Lopez-Iglesias C., Baan C.C., Merino A., Hoogduijn M.J. Membrane particles generated from mesenchymal stromal cells modulate immune responses by selective targeting of pro-inflammatory monocytes. *Sci Rep* 2017;7(1):12100. doi: 10.1038/s41598-017-12121-z.