

Г.Т. Сухих, Н.Я. Спивак, В.В. Малайцев, И.М. Богданова, В.А. Шевчук

## Мезенхимальные стволовые и прогениторные клетки. Биологические свойства и перспективы использования

*Представлені дані щодо імунофенотипічних характеристик мезенхімальних стовбурових і прогеніторних клітин, їх тканинних джерел і функціональних властивостей, а також імунологічних аспектів трансплантації. Розглянуто адресну міграцію та сайт-специфічне диференціювання мезенхімальних стовбурових клітин, їх вікові та зумовлені патологічним процесом популяційні зміни. Показано перспективи клінічного використання мезенхімальних стовбурових клітин при дегенеративних артритах, травмах спинного мозку, інфаркту міокарда тощо.*

### ВВЕДЕНИЕ

Эффективность методов регенеративно-пластической клеточной терапии и тканевой инженерии в наибольшей мере определяется адекватным подбором используемого для трансплантации биоматериала. В этом контексте особого внимания заслуживают мультипотентные клетки стромы костного мозга и некоторых других компартментов организма – мезенхимальные стволовые клетки (МСК) и их ранние lineage-коммитированные потомки (мезенхимальные прогениторы) [5, 10, 12].

Впервые описанные российским ученым Фриденштейном и его учениками МСК проявляют способность к дифференцировке *in vitro* и *in vivo* в клетки соединительнотканых линий с образованием костной, хрящевой, жировой и мышечной ткани, а также в клетки, поддерживающие гемопоэз [3, 9, 37]. При высеве клеток костного мозга в культуру *in vitro* с низкой плотностью посадки распластавшиеся на пластиковой

подложке МСК пролиферируют с формированием дискретных адгезивных колоний фибробластоподобных клеток. Каждая колония образуется за счет пролиферации единичной клетки – предшественника (колониеобразующей единицы). Колонии отличаются размером, морфологической характеристикой, набором экспрессируемых маркеров и дифференцировочным потенциалом *in vitro* и *in vivo*. Такая неоднородность отражает присутствие в популяции не только собственно МСК, но и их прогениторов. В популяции кариоцитов костного мозга МСК составляют лишь 0,001–0,01 %. Однако они могут быть выделены и размножены с высокой эффективностью, а также направлены в дифференцировку при определенных условиях культивирования [3, 5, 8].

*Профиль экспрессируемых генов и иммунофенотипическая характеристика МСК. В недифференцированном состоянии МСК активно транскрибируют гены, специфичные для всех классических эмбрио-*

нальных зародышевых листков. При микросерийном анализе экспрессии генов из них каталогизированы 2353, экспрессируемых клоном недифференцированных МСК человека. МСК одновременно экспрессируют транскрипты, характерные для различных линий мезенхимальных клеток. Наряду с этим в МСК представлены мРНК эндотелиальной, эпителиальной и нейрональной клеточных линий. Другие экспрессируемые транскрипты кодируют набор биомолекул, вовлекаемых в заживление ран, а также некоторые нейротропные факторы.

МСК идентифицируют в клеточной суспензии методом проточной цитофлуориметрии, иммуногистохимически на тканевых срезах или в клеточных культурах с помощью флуоресцентно меченных моноклональных антител Stro-1, SB-1, SH-2, SH-3 и SH-4. Антитела Stro-1 распознают негемопоэтические прогениторные клетки стромы костного мозга. Антитела SB-1 идентифицируют молекулу адгезии ALCAM (CD166), которая исчезает с клеточной поверхности по мере остеогенной дифференцировки МСК до проявления экспрессии щелочной фосфатазы. Антитела SH-2 распознают эпитоп рецептора трансформирующего фактора роста  $\beta$ , эндоглина (CD105). Эти антитела используют для выделения МСК методом иммуномагнитной селекции. Антитела SH-3 и SH-4 распознают неперекрывающиеся эпитопы экто-5'-нуклеотидазы (CD73).

МСК человека также экспрессируют HLA-молекулы класса I, а антигены HLA-класса II приобретают только под воздействием  $\gamma$ -интерферона. На МСК представлены молекулы адгезии VCAM-1(CD106), ICAM-1(CD54), LFA-3 (CD53) и интегрины с высоким ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 5$  и  $\beta 1$ ) и низким ( $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ,  $\alpha 6$ ,  $\beta V$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 4$ ) уровнями экспрессии на этих клетках.

*Тканевые источники МСК.* При постнатальном онтогенезе основным источником МСК является строма костного мозга. Обыч-

но МСК выделяют из костномозговых аспиратов гребня подвздошной кости [3, 8]. Сходные с МСК по фенотипической характеристике и дифференцировочному потенциалу СК, выделяемые из подкожной жировой ткани при липосакции, способны дифференцироваться не только в производные мезодермы, но и в клетки эктодермального происхождения (эпителий, нейроны и глию). Транскриптомы (карты экспрессируемых генов) этих СК и МСК костномозгового происхождения почти идентичны [23]. Клетки с характеристикой мезенхимальных предшественников также выделяют из периферической крови взрослых индивидуумов через мобилизацию факторами роста [3].

Источниками МСК могут служить клетки пуповинной крови, пупочного канатика и плаценты. Так, из пуповинной крови выделены клетки с иммунофенотипической и функциональной характеристиками МСК, которые при культивировании *in vitro* в присутствии линиеспецифических индукторов претерпевают остео-, хондро- и адипогенную дифференцировку и проявляют миогенный потенциал. В пуповинной крови также обнаружена плюрипотентная популяция нерестриктированных соматических СК. Эта крайне немногочисленная клеточная популяция может быть успешно размножена *in vitro* при полной сохранности дифференцировочных потенций. *In vitro* эти СК дифференцируются в остео-, хондробласты, адипоциты, гемопоэтические и нейрональные клетки, включая астроциты и нейроны, которые экспрессируют нейрофиламенты, белки натриевого канала и различные нейротрансмиттеры [30].

Из субэндотелиального слоя пуповинной вены получены клетки, подобные мезенхимально-стволовым с остео- и адипогенным дифференцировочным потенциалом [40]. Студень Уортона пуповинного канатика содержит мукоидную соединительную ткань с вкрапленными звезд-

чатыми и фибробластоподобными клетками, экспрессирующими матриксные рецепторы (CD44, CD105), интегрины (CD29, CD51) и маркеры МСК (SH2, SH3). Эта категория клеток также способна к дифференцировке в производные мезодермы и, в определенных условиях, в клетки нейрональной линии [44].

Плацентарные мультипотентные клетки располагают маркерами МСК (CD105/эндоглин/SH2, SH3 и SH4) и эмбриональных СК (SSEA-4, TRA-1-61 и TRA-1-80), но не гемопоэтических, эндотелиальных или трофобластических клеток, и способны к остео-, хондро- и нейрогенной дифференцировке [45].

Выделенные из амниотической жидкости мультипотентные МСК человека экспрессируют факторы транскрипции, характерные для кардиомиогенной линии дифференцировки. При культивировании *in vitro* в индуктивной среде они дифференцируются в кардиомиоцитоподобные клетки. У крыс с экспериментальным инфарктом миокарда ксенотрансплантаты МСК амниотической жидкости дифференцируются в кардиомиоцитоподобные клетки в поврежденной ткани.

В терапевтических целях представляется перспективным использование МСК плодов [4, 5]. У плодов ранних сроков гестации МСК выявляют во многих тканевых и органных компартментах организма [15]. Одно из основных преимуществ этого источника МСК их высокое относительное содержание в тканях и значительно больший потенциал к экспансии в условиях самоподдержания, чем у взрослых индивидов. На ранних стадиях пренатального онтогенеза также существует большая вероятность выделения СК с более широкими потенциальными к дифференцировке, чем у МСК взрослых.

*Функциональные свойства МСК.* В культуре *in vitro* в условиях, обеспечивающих самоподдержание МСК, характер

их роста зависит от плотности посева клеток. При высокой плотности образуется монослой фибробластоподобных клеток, а при низкой – дискретные клональные колонии, экспоненциальному росту которых предшествует длительная (до 5 сут) лаг-фаза. Выход в стационарную фазу приводит к существенному снижению скорости пролиферации. Для МСК человека время дупликации составляет 33 ч. Некоторые МСК способны претерпевать свыше 30 циклов деления. В процессе культивирования по мере нарастания пула МСК их дифференцировочный потенциал исчерпывается, а клетки проявляют признаки старения и претерпевают апоптоз [3, 8, 37].

В культурах МСК около 20 % клеток поддерживается в состоянии покоя. При изоляции этих клеток методом негативной селекции с использованием 5-фторурацила в обогащенном клеточном пуле (больше 90 % клеток в состоянии покоя) выявлена экспрессия гена орнитиндекарбоксилазы (маркера непролиферативного статуса) [37]. Характер экспрессии цитокинов в МСК (набор гемопоэтических и негемопоэтических факторов роста, интерлейкинов и хемокинов) отражает участие МСК в формировании костномозгового микроокружения (ниши) для гемопоэтических СК. МСК располагают разнообразными рецепторами для факторов роста и цитокинов, что обеспечивает возможность получения ими индуктивных и регуляторных сигналов как от окружающих клеток, так и по аутокринному механизму. Кроме того, МСК вырабатывают компоненты внеклеточного матрикса и обеспечивают его структуризацию. Взаимодействие с клеточным окружением и внеклеточным матриксом МСК осуществляют через экспрессируемые ими молекулы адгезии [3].

Важнейшую роль в обеспечении контроля над клеточной экспансией многих типов СК, включая МСК, играет Wnt-сиг-

нальный путь. Wnt-гликопротеины являются общими факторами роста для многих типов СК, а также влияют на выбор имиди линий дифференцировки. Клеточное микроокружение и тип разветвления генетической программы на момент индукции в пуле СК и прогениторных клеток определяют интерпретацию Wnt-сигнала этими клетками [28].

В регуляцию данного сигнального пути вовлечены белковые агонисты и антагонисты, модулирующие Wnt-сигнал вне клетки, в цитоплазме и ядре. Взаимодействие Wnt с клеткой осуществляется через трансмембранный рецептор frizzled. В качестве корецепторов Wnt-лигандов для канонической  $\beta$ -катенинзависимой передачи сигналов выступают корецепторы 5/6. Wnt-сигнал стабилизирует цитозольный белок  $\beta$ -катенин, запуская каскад таких реакций, как блокада фосфорилирования, убиквитилирование и деградация этого белка. Стабилизированный  $\beta$ -катенин перемещается в клеточное ядро, образуя комплексы с факторами транскрипции, что приводит к экспрессии генов-мишеней, которые обеспечивают пролиферацию или дифференцировку клеток. Снижение интенсивности Wnt-сигналов дестабилизирует  $\beta$ -катенин и подавляет индуцируемую Wnt-регуляцию транскрипции [26].

В МСК человека экспрессированы компоненты Wnt-зависимого сигнального пути [23]. Один из ингибиторов Wnt/ $\beta$ -катенин-сигналов, белок *disckkopf* блокирует доступ Wnt к корецептору 5/6, тем самым снижая содержание  $\beta$ -катенина в ядре (что приводит к нарушению регуляции транскрипции) и в цитозоле, препятствуя выполнению цитоскелетной функции этого белка, необходимой для формирования межклеточных контактов. В конечном итоге Dkk-1-опосредуемая блокада Wnt-сигналов способствует пролиферации МСК без выхода их в дифференцировку [24].

Морфогенетические белки BMP-2 и Shh

индуцируют экспрессию Wnt3a, белка, ответственного за пролиферацию МСК и блокаду их остеогенной дифференцировки, а экспрессия компонента неканонического  $\beta$ -катениннезависимого пути Wnt5a способствует остеогенезу. По каноническому Wnt-пути остеобласты вырабатывают факторы, препятствующие остеокластогенезу. При активации сигнального каскада через Wnt10 $\beta$  подавляется дифференцировка преадипоцитов и мезенхимальные предшественники переключаются на остеогенез через индукцию остеогенных факторов [14].

Для коммитирования МСК в остеогенную или адипогенную линии дифференцировки необходима экспрессия активаторов транскрипции Runx2 или PPAR $\gamma$ 2 соответственно. Транскрипционный активатор TAZ способствует Runx2-зависимой генной транскрипции и репрессирует функцию PPAR $\gamma$ .

Остеогенная дифференцировка МСК осуществляется в присутствии  $\beta$ -глицерофосфата, аскорбиновой кислоты, дексаметазона и фетальной телячьей сыворотки. В монослойной культуре МСК под действием этих индукторов клетки приобретают морфологическую характеристику остеобластов. В них возрастает активность щелочной фосфатазы, а в формирующемся внеклеточном матриксе депонируется кальций. В процессе созревания в клетках остеогенной линии индуцируется экспрессия остеопонтина, остеокальцина и коллагена типа I. Полагают, что дексаметазон обеспечивает прохождение ранней стадии остеогенной дифференцировки с образованием остеобластов, а аскорбиновая кислота и  $\beta$ -глицерофосфат способствуют формированию и минерализации внеклеточного матрикса. Под воздействием индукторов клетки приобретают морфологическую характеристику остеобластов (кубическую или полигональную форму, интенсивную базофилию цитоплазмы) и синтезируют межклеточное вещество,

содержащее соли кальция. Формирование минерализованных костных узелков в культуре *in vitro* интенсифицируется по мере накопления в среде растворимых клеточных факторов, опосредующих остеогенез по ауто- и паракринному механизмам [3, 41].

Для хондрогенной дифференцировки *in vitro* необходимо обеспечение трехмерного формата культуры и использование бессывороточной среды с добавлением трансформирующего фактора роста  $\beta$  [41].

Высокая плотность посадки МСК, имитирующая процесс конденсации в эмбриональном хондрогенезе (например, в развивающихся закладках конечностей) создает условия, при которых клетки теряют морфологический облик фибробластов и инициируют экспрессию компонентов внеклеточного матрикса хрящевой ткани. Межклеточные контакты и информационный обмен при конденсации, а также этап коммитирования МСК в хондроциты осуществляются с вовлечением молекул адгезии, N-кадгерина и N-CAM. Профили экспрессии этих молекул строго контролируются в пространственно-временных координатах. Уровень их экспрессии возрастает на начальном этапе клеточной адгезии и снижается по мере вхождения клеток в дифференцировку. Происходит ускоренный биосинтез гликозаминогликана и изменяется морфология клеток, а на ранней стадии хондрогенеза – характер сульфатирования хондроитинсульфата с преобладанием хондроитин-6-сульфата над 4-сульфатированной формой. В процессе дифференцировки под воздействием трансформирующего фактора роста  $\beta 3$  МСК синтезируют агрекан, линкерный белок, фибромодулин, белок олигомерного хрящевого матрикса, декорин, коллаген типов II и IX, а также хондрoadгерин [41].

МСК в отсутствие трансформирующего фактора роста  $\beta 1$  претерпевают конденсацию без хондрогенной дифференцировки. Трансформирующий фактор роста  $\beta 1$

стимулирует хондрогенез, активируя внутриклеточные MAP-киназы p38, ERK-1 и JNK. Через опосредуемые N-кадгерином межклеточную адгезию и информационный обмен трансформирующий фактор роста  $\beta 1$  индуцирует экспрессию коллагена типа II и промотора Sox9. Активированные этим фактором MAP-киназы стимулируют возрастание цитоплазматического пула  $\beta$ -катенина (ключевой молекулы канонического Wnt-сигнального каскада) со снижением  $\beta$ -катенинзависимой активности промотора трансформирующего фактора роста, что позволяет рассматривать канонический Wnt-сигнальный путь как негативный регулятор хондрогенеза.

В присутствии 3-изобутил-1-метилксантина МСК человека созревают в адипоциты, приобретая крупные липидсодержащие вакуоли. Функционально эти клетки не отличаются от зрелых адипоцитов, а именно: располагают внутриклеточной сигнальной системой, обеспечивающей индуцируемый фактор некроза опухоли  $\alpha$  и катехоламинами липолиз, а также способностью к секреции адипонектина и лептина. Подобно дифференцированным преадипоцитам, они проявляют липолитический эффект, индуцируемый через  $\beta$ -адренорецепторы и антилиполитическое действие, опосредуемое  $\alpha 2A$ -адренорецептором. В адипогенную дифференцировку МСК вовлечены PPAR- $\gamma$  и синтетаза жирных кислот. Интерлейкин 1 и фактор некроза опухоли  $\alpha$  подавляют адипогенез и направляют остеогенную дифференцировку МСК. Миогенную дифференцировку МСК индуцирует деметилирующий агент 5-азациитидин. Под воздействием амфотерицина В происходит образование многоядерных волокон, напоминающих миотрубочки. Многие исследователи свидетельствуют о возможности неортодоксальной дифференцировки МСК в производные экто- и энтодермы. Обработка МСК 3-изобутил-1-метилксантином и дибутрил цикличес-

ким АМФ индуцирует экспрессию ранних маркеров нейрональной дифференцировки. Подобный эффект достигнут с использованием эпидермального фактора роста и нейротропного фактора BDNF. Диметилсульфоксид в сочетании с бутилированным гидроксианисололом также индуцируют нейрональный фенотип в присутствии фактора роста фибробластов bFGF и фактора роста тромбоцитарного происхождения PDGF.

К многочисленным сообщениям о возможности МСК, как и других линииспецифических СК, в определенных условиях дифференцироваться в клетки тканей, происходящих из других зародышевых листков, следует относиться с осторожностью [11, 20]. В большинстве случаев приведенные данные при более тщательном анализе опровергаются сами авторы. В некоторых ситуациях деструктивное микроокружение *in vivo* приводит к спонтанному слиянию СК с соматическими клетками и образующиеся цитогриды несут маркеры партнера СК по слиянию и могут даже выполнять свойственные ему функции. Изменение дифференцировки СК в принципе возможно в нефизиологичном микроокружении *in vitro*. В ряде случаев, вследствие общей анатомической локализации СК и/или отсутствия надежных маркеров, позволяющих разобщить разные их популяции приходят к ошибочному заключению о дифференцировочных потенциях той или иной СК. Тем не менее немногочисленные сообщения о пластичности СК *in vivo* представляются вполне убедительными.

*Иммунологические аспекты трансплантации МСК.* Пересадка клеток, органов или тканей между двумя генетически неидентичными индивидуумами в отсутствие иммуносупрессорной терапии приводит к неминуемому отторжению аллотрансплантата. Отторжение обусловлено аллельными различиями между донором и реципиентом по полиморфным HLA-локусам. В

ответ на аллоантигены вовлечены механизмы клеточного и гуморального иммунитета, но ведущую роль в отторжении трансплантата играют Т-лимфоциты [6]. Однако уже в первых экспериментах по пересадке МСК были получены неожиданные результаты. После пересадки аллогенным реципиентам МСК крыс не отторгались и успешно претерпевали остеогенную дифференцировку *in vivo*. Аналогичные данные, свидетельствующие об иммунорезистентности МСК, были зафиксированы в других экспериментальных модельных системах *in vivo* [13, 19].

Поскольку ключевым звеном иммунного ответа являются Т-лимфоциты, в первую очередь, предстояло выяснить характер их взаимодействия с МСК. Оказалось, что Т-лимфоциты не пролиферируют на аллогенные МСК *in vitro*, оставаясь в G1-фазе клеточного цикла. Взаимодействие с МСК сопровождается подавлением экспрессии циклина D2 и возрастанием уровня p27 (kip1) в Т-клетках [21].

МСК не экспрессируют костимуляторные молекулы, необходимые для полноценной активации Т-клеток, но их иммунорезистентность не обусловлена дефектом костимуляции. После ретровирусной трансдукции генов костимуляторов В7-1 и В7-2, МСК не индуцируют лимфопролиферативный ответ аллогенных Т-клеток [29].

В то же время при конфронтации с МСК проявляются признаки сенсibilизации аллогенных Т-лимфоцитов, регистрируемой по выработке  $\gamma$ -интерферона, продукция которого возобновляется при повторной экспозиции их с МСК. Хотя этот интерферон индуцирует экспрессию HLA-молекул на поверхности МСК и, тем самым, потенциально должен способствовать отмене их иммунорезистентности, этого не происходит. Более того, как интактные, так и обработанные  $\gamma$ -интерфероном МСК (причем последние в большей мере) эффективно подавляют пролиферативный

ответ Т-лимфоцитов в реакции смешанной культуры лейкоцитов [17, 22]. Супрессия дозозависима, генетически нерестриктирована и проявляется при добавлении МСК в смешанную культуру лейкоцитов в начальных стадиях реакции. Вырабатываемый активированными Т-лимфоцитами и НК-клетками  $\gamma$ -интерферон стимулирует продукцию индоламин-2,3-диоксигеназы в МСК, что приводит к локальному дефициту триптофана и обусловленному им ингибированию пролиферации активированных Т- и НК-клеток. В присутствии МСК в смешанной культуре лейкоцитов увеличивается выработка  $\gamma$ -интерферона и иммуносупрессорного цитокина, интерлейкина 10, а также снижается продукция провоспалительного цитокина, фактора некроза опухоли  $\alpha$  [17, 22, 29, 34].

В системе *in vivo* МСК мышей дозозависимо угнетают функциональную активность НУ-специфических “наивных” Т-лимфоцитов и Т-клеток памяти, а именно: подавляют пролиферацию, цитотоксичность и способствуют снижению доли антиген-специфических клеток, вырабатывающих  $\gamma$ -интерферон [31]. Производные МСК, клетки остео- и адипогенной линий дифференцировки также не стимулируют пролиферацию аллореактивных Т-лимфоцитов и угнетают реакцию смешанной культуры лейкоцитов.

Иммуномодуляторное воздействие МСК на Т-клетки может осуществляться опосредованно через подавление индуцируемой аллоантигенами дифференцировки дендритных клеток. Представление антигена незрелыми дендритными клетками способствует генерированию регуляторных (супрессорных) CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>- и CD8<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>Т-лимфоцитов, блокирующих индуцируемую аллоантигенами активацию и экспансию эффекторных Т-клеток [36].

МСК человека оказывают иммуномодулирующий эффект и на В-лимфоциты. Они ингибируют В-клеточную дифферен-

цировку, препятствуют выработке IgM, IgG и IgA и блокируют индуцируемый CXCL12- и CXCL13-хемотаксис В-клеток. Нарушение миграционной способности В-лимфоцитов обусловлено угнетением экспрессии на них хемокиновых рецепторов, CXCR4, CXCR5 и CCR7.

Представлены доказательства проявления иммуномодуляторной функции МСК *in vivo*. Однократное внутривенное введение МСК приводит к существенной пролонгации приживления кожных аллотрансплантатов у павианов [13]. Перенос аллогенных МСК летально облученным мышам-реципиентам за 150 сут до трансплантации аллогенных кожных лоскутов способствует сохранности трансплантатов в течение не менее 100 последующих сут без признаков реакции отторжения. МСК человека, пересаженные плодам овцы с уже сформированной иммунной системой, персистируют в различных тканевых компартментах ксеногенных реципиентов более 13 мес после трансплантации.

Высокая иммуносупрессорная активность МСК позволяет надеяться на успешное их использование для лечения аутоиммунных процессов. При внутривенной инфузии МСК превентивно или же в процессе развития экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (модель демиелинизирующего заболевания ЦНС – рассеянного склероза) зарегистрирован выраженный терапевтический эффект. В ткани головного и спинного мозга отмечено снижение интенсивности воспалительных инфильтратов и уровня демиелинизации. В популяции Т-клеток из лимфоузлов, дренирующих очаги повреждения, угнетен пролиферативный ответ на энцефалитогенный аутоантиген и митогены, а также подавлена выработка провоспалительных цитокинов.

Трансплантация мезенхимальных клеток селезенки в комбинации с введением полного адьюванта Фрейнда приводит к излечению аутоиммунного диабета у

мышей линии NOD с восстановлением функции эндогенных  $\beta$ -клеток.

Наиболее впечатляющие результаты получены при использовании МСК для лечения болезни трансплантат против хозяина. Это заболевание развивается после трансплантации аллогенного костного мозга, как источника гемопоэтических СК, вследствие иммунной атаки донорских аллоантигеноспецифических Т-лимфоцитов, приводящей к тяжелому системному поражению органов и тканей организма реципиента. Описаны случаи успешного преодоления развития этого заболевания при введении больным МСК от НЛ-неидентичных доноров [33].

*Адресная миграция и сайт-специфическая дифференцировка МСК.* При выработке стратегии терапевтического использования МСК исключительную важность представляет решение вопроса о способе доставки донорских клеток в заданный компартмент организма реципиента [16]. В физиологических условиях в организме взрослых МСК и мезенхимальные прогениторные клетки представлены главным образом в строме костного мозга [8]. Эти клетки также рассредоточены по различным органам и тканям организма. Данные об их наличии в циркуляторном русле здоровых лиц противоречивы, но в совокупности свидетельствуют о крайне ограниченных возможностях свободной миграции этих клеток. Установлено, что у человека расселение мезенхимальных предшественников из костного мозга в органы и ткани происходит в первом и втором триместрах гестации [15].

Не более 25 % МСК костного мозга человека экспрессирует хемокиновые рецепторы (CXCR4, CXCR1, CXCR6, CCR1, CCR7) и отвечают на хемокины (CXCL1, CXCL12, CXCL16, CCL3, CCL19).

Таким образом, весьма вероятной представляется возможность, по крайней мере, короткодистантной миграции МСК,

спровоцированной выбросом хемокинов поврежденной тканью. Дистантную миграцию гемопоэтических и мезенхимальных СК можно вызвать искусственным путем через введение больших (нефизиологических) доз гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (G-CSF) и фактора стромальных клеток-1 (SDF-1) [3]. Такой прием используют для получения СК из периферической крови для клинических целей. Собственно МСК вырабатывают оба этих мобилизационных фактора. Клетки стромы костного мозга экспрессируют рецепторы SDF-1, CXCR4. Первый поддерживает жизнеспособность и остеогенный потенциал МСК и мезенхимальных прогениторных клеток. МСК отвечают на этот фактор по аутокринному механизму. Незрелые преостеогенные клетки экспрессируют более высокое содержание рецептора SDF-1, чем остеобласты и остециты. Возможно возрастание пула МСК в очаге повреждения определяется на раннем этапе их пролиферации с самообновлением, а стартовая возросшая популяция привлекает другие МСК за счет повышения локальной концентрации вырабатываемых ими рецепторов SDF-1 и G-CSF [8, 32]. Кроме того, самоподдержание МСК через аутокринную стимуляцию и паракринную индукцию необходимых для них же факторов в клетках микроокружения может обеспечивать временную нишу, как плацдарм в зоне тканевого повреждения.

В экспериментальных условиях при системной (внутривенной) инфузии МСК проявляют выраженную тенденцию к миграции в очаги поражения. Экстраординарная способность имплантированных клеток проникать в тканевые очаги повреждения показана при дефектах костной ткани и инфаркте миокарда, а также при ишемических повреждениях ткани головного мозга. Избирательность миграции МСК в паренхиму мозга, наблюдаемая при экспериментальной окклюзии средней церебральной



артерии у крыс, обусловлена индукцией экспрессии моноцитарного хемоаттрактанта.

В отсутствие тканевых очагов деструкции вне костного мозга системно введенные МСК мигрируют в него и исключительно редко заселяют негемопоэтические ткани (преимущественно, так называемую, “сосудистую нишу” гиппокампа). Иным образом происходит распределение МСК при трансплантации в организм плода. Имплантация МСК человека *in utero* в плод овцы приводит к расселению их в различные тканевые компартменты с последующим проявлением тканеспецифической дифференцировки. Такое же развертывание программы дифференцировки донорских МСК наблюдают в очагах деструкции у взрослых реципиентов. Возможность включения донорских СК в регенеративный процесс, очевидно, определяется тем, что условия микроокружения здесь, в определенной мере, приближаются к формирующимся в процессе раннего онтогенеза [1, 4, 7].

СК наследуемо экспрессируют набор генов, продукты которых выполняют сигнальную, инструктивную и ремоделирующую функции по отношению к окружающим клеткам и внеклеточному матриксу и, в случае переноса реципиенту, могут оказывать протективное влияние на эндогенные стволовые и прогениторные клетки [7, 16]. Пребывание СК в состояниях покоя, самообновления и дифференцировки также зависит от микроокружения. До выхода в дифференцировку СК необходимо их пребывание в нише – специализированном тканевом компартменте, который для МСК обеспечивает костномозговое микроокружение.

Неясно, каким образом осуществляется поддержание МСК в состоянии покоя в различных тканях вне костного мозга. Сайт – специфическая дифференцировка СК сопровождается выработкой ими смеси тро-

фических, протективных, а также проангиогенных, противовоспалительных и антиапоптотических факторов, способных сместить баланс пермиссивного и непермиссивного микроокружения к восстановлению морфологической и функциональной целостности тканевых структур.

При экспериментальном инфаркте у крыс интрамуральное введение МСК в зону повреждения сопровождается повышением экспрессии фактора роста сосудистого эндотелия в кардиомиоцитах рубцовой ткани, краевой зоны очага и неповрежденной сердечной мышцы. На этом фоне снижается уровень апоптоза кардиомиоцитов и происходит интенсивный процесс неоваскуляризации. Трансплантация МСК при экспериментальном инфаркте у крыс сопровождается возрастанием экспрессии транскриптов антиапоптотического белка *bcl-2* в кардиомиоцитах очага повреждения [43].

Сопутствующая регенеративному процессу первичная деструкция внеклеточного матрикса регистрируется СК, и между ними и элементами матрикса складываются реципрокные молекулярные взаимодействия, обеспечивающие ремоделирование ткани.

Для воссоздания условий микроокружения при использовании МСК в реконструктивной ортопедии и травматологии разрабатывают биodeградируемые матрицы на основе природных и синтетических полимеров, а также пористые биокерамические конструкции [29].

*Возрастные и обусловленные патологическим процессом изменения в популяции МСК.* Клеточная ДНК постоянно подвергается экзо- и эндогенному генотоксическому стрессу, который, в конечном счете, приводит к накоплению повреждений ДНК и нестабильности генома. Во всех клетках функционируют механизмы репарации ДНК, блокады клеточного цикла, а в случае необходимости подключается механизм апоптоза. Последствия хронического

генотипического стресса для СК прежде всего состоят в сокращении пула этих клеток, исчерпывающей дифференцировке или малигнизации. По мере прохождения очередных клеточных циклов деления укорачиваются концевые участки хромосом, теломеры, которые защищают ДНК от повреждений. В отличие от других клеток организма, СК экспрессируют теломеразу, фермент, восстанавливающий поврежденные участки теломер. Снижение активности теломеразы при длительном пассировании МСК *in vitro* приводит не только к репликативному старению этих клеток, но и к неожиданному эффекту – блокаде остеогенной дифференцировки [35]. Пролонгирование срока культивирования (более 3 мес) служит причиной множественных хромосомных аномалий и, как следствие, спонтанной онкогенной трансформации МСК.

На протяжении жизни костная ткань претерпевает непрерывные структурные перестройки. С возрастом изменяются ее биохимические свойства, что в итоге проявляется в снижении массы костной ткани и в конструктивном нарушении опорно-двигательного аппарата (повышенная хрупкость костей). Такое патологическое состояние известно как остеопороз.

В ремоделирование костной ткани вовлечены остеогенные клетки (остеобласты) и реабсорбирующие ее остеокласты. Потеря трабекулярной ультраструктуры вносит наиболее существенный вклад в развитие остеопороза и является одной из причин частых костных переломов у лиц пожилого возраста. С возрастом прогрессивно изменяется костномозговое микроокружение, соотношение различных клеток в костном мозгу и характер взаимодействия между ними. Установлено возрастное снижение остеогенного потенциала МСК с повышением числа клеток, прекоммитированных к адипогенной дифференцировке [18]. В популяции мезенхимальных пред-

шественников снижается частота клеток, экспрессирующих остеобластспецифические факторы транскрипции Runx2 и Dlx5, а также маркеры остеобластов, коллаген и остеокальцин. В то же время нарастает доля клеток, экспрессирующих адипоцитспецифический фактор транскрипции, PPAR $\gamma$ 2, который блокирует остеогенную программу дифференцировки и стимулирует адипогенез. Эти клетки несут генетический маркер адипоцитов aP2. При старении организма в популяции МСК повышается выработка эндогенных активаторов PPAR $\gamma$ 2, что стимулирует дифференцировку адипоцитов и выработку ими аутокринных и паракринных факторов, не способствующих остеогенезу. Изменяется экспрессия различных компонентов TGF- $\beta$  и BMP2/4-опосредуемых сигнальных путей, что указывает на значение этих двух цитокинов в поддержании гомеостаза костной ткани [38].

Исключительно важную роль в поддержании остеогенной дифференцировки МСК играют эстрогенные гормоны. МСК экспрессируют оба типа эстрогенных рецепторов – ER $\alpha$  и ER $\beta$ . При экспозиции с 17 $\beta$ -эстрадиолом *in vitro* в популяции МСК нормальных и овариэктомированных мышей возрастают уровень экспрессии ER $\alpha$ , активность щелочной фосфатазы и интенсивность пролиферации. Это сопровождается снижением экспрессии ER $\beta$  и повышением резистентности клеток к апоптозу. Под воздействием эстрогена в МСК повышается уровень экспрессии генов TGF- $\beta$ 1, BMP-2 и cbfa 1. ER $\alpha$  функционирует как активатор, а ER $\beta$  – как репрессор остеогенной дифференцировки МСК. Через связывание с ER $\alpha$  – 17 $\alpha$ -эстрадиол повышает промоторную активность BMP-2 с последующей экспрессией транскриптов этого морфогена, индуктора остеогенеза [46]. В период после менопаузы в условиях гормонального дисбаланса жесткий дефицит эстрогенов приво-

дит к нарушению процесса ремоделирования костной ткани не только за счет усиления резорбтивной активности клеток моноцитарно-макрофагальной линии, остеокластов, как полагали ранее, но и из-за сокращения пула МСК с сопутствующим ограничением их дифференцировочного потенциала [39].

Некоторые патологические состояния, характеризующиеся прогрессирующей тканевой деструкцией и вялостью репаративных процессов могут быть связаны с истощением или функциональной несостоятельностью пула МСК. При остеоартрите, заболевании суставов с прогрессирующей и необратимой утратой хрящевой ткани и изменениями в подлежащей костной ткани, выделенные на терминальной стадии процесса МСК имеют низкую пролиферативную, а также хондро- и адипогенную активность.

*Использование МСК в клинике.* Перспективность использования МСК и мезенхимальных прогениторных клеток в клинической практике определяется их способностью восстанавливать дефекты мезенхимальных тканей, а в ряде случаев и других тканевых компартментов [12, 41]. Интерес к МСК для целей заместительной клеточной терапии заключается в относительной легкости получения их из аспиратов костного мозга, экспансии в культуре и трансфекции экзогенных генов. МСК способны дифференцироваться в различные типы клеток (остеоциты, хондроциты, тендоциты, адипоциты и др.) в зависимости от микроокружения, в которое они попадают. Выбор стратегии определяется характером дефекта. Локальная имплантация МСК предпочтительна при местных тканевых дефектах, тогда как введение их через кровотоки целесообразно при системных дисфункциях органов и/или тканей.

Первая попытка использования МСК в клинике была предпринята для лечения больного дегенеративным артритом. МСК изолировали из костного мозга этого же

больного, наращивали в культуре и вводили непосредственно в полость сустава для восстановления его выстилки. Заживление костных дефектов при использовании МСК, заключенных в керамический каркас, показано в экспериментальных моделях на грызунах.

При системном введении МСК репулерируют не только костный мозг, но и другие ткани, что продемонстрировано при их клиническом использовании для лечения костных дефектов у детей с тяжелой формой незавершенного остеогенеза, вызванного мутациями гена коллагена типа I. После проведения курса миелоаблативной терапии детям-реципиентам трансплантировали клетки стромы костного мозга от HLA-совместимых здоровых доноров. У больных зарегистрированы позитивные гистологические изменения в трабекулярных костях, увеличение скорости роста и снижение частоты костных переломов [25].

МСК человека могут быть использованы в клинической трансплантологии для обеспечения экспансии гемопоэтических СК и их ранних прекоммитированных потомков. Больным раком молочной железы после проведения высокодозовой химиотерапии вводили аутологичные гемопоэтические СК и МСК. Количество нейтрофилов и тромбоцитов в периферической крови восстанавливалось через 8 и 9 сут соответственно.

В терапевтических целях используют локальную или системную трансплантацию аутологичных или аллогенных СК. В течение многих лет трансплантацию гемопоэтических СК применяют для лечения лейкозов и других новообразований [5]. Существует широкий спектр показаний к их использованию, включая восстановление функции сердечно-сосудистой системы при ишемической болезни сердца и инфаркте миокарда, лечение легочного фиброза, травм спинного мозга и реконструкцию костной и хрящевой ткани. Введение клеток костного мозга в зону повреж-

дения миокарда после перенесенного инфаркта существенно восстанавливает его функцию [42].

После введения МСК в ткань скелетной мускулатуры дефектных по гену дистрофина мышечной линии MDX восстанавливается его экспрессия в ассоциации с сарколеммой мышечных фибрилл, что открывает перспективу использования этих клеток для лечения мышечных дистрофий в клинике.

Трансплантация МСК обеспечивает защиту легочной ткани после индуцированного блеомицином повреждения легких, препятствуя воспалению и отложению коллагена.

На основании данных о дифференцировке МСК в клетки нейрональной линии некоторые исследователи полагают возможным использование этих СК для лечения инсультов, травматических повреждений мозга и болезни Паркинсона.

В ортопедии наиболее перспективна локальная аппликация костномозговых клеток при несращении позвоночных дужек, для восстановления сегментных костных дефектов и дефектов, обусловленных краниотомией.

Ряд крупных зарубежных биотехнологических компаний активно патентует и внедряет в клиническую практику клеточные продукты, в составе которых представлены МСК и мезенхимальные прогениторные клетки костного мозга. Американской фирмой “Osiris Therapeutics” уже проведена первая фаза клинических испытаний подобных препаратов, предназначенных для восстановления миокарда (Provacell<sup>IM</sup>) и регенерации хрящевой ткани (Chondrogen<sup>TM</sup>). Корпорация “Aastrom Biosciences” осуществляет I – II фазы испытаний технологии Tissue Repair Cells в травматологических и ортопедических клиниках США и Европы. Монополистом в продвижении данной биотехнологии в Австралии является фирма “Mesoblast Limited”.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Целесообразность использования МСК и мезенхимальных прогениторов в регенеративно-пластической клеточной терапии определяется такими ключевыми критериями этих клеток, как широкий дифференцировочный потенциал, иммунорезистентность и иммуномодулирующие свойства. Способность МСК к самообновлению с высоким темпом пролиферации *in vitro* делает их идеальной мишенью для ретровирусной генной терапии.

Безусловным показанием к использованию МСК-терапии является возрастное или же обусловленное патологическим процессом истощение, а также генетический дефект эндогенного пула этих клеток со снижением или ограничением их дифференцировочного потенциала. Трансплантация интактных или генетически модифицированных МСК донора на биodeградируемых матрицах открывает широкие возможности коррекции дефектов костной и хрящевой тканей в травматологии и ортопедии [41]. В частности, трансплантация МСК может найти применение при таких структурно-функциональных повреждениях мезенхимальной ткани, как незавершенный остеогенез, сенильный и постменопаузный остеопороз, остеоартроз, менискэктомия, деформация межпозвоночных дисков и мышечная дистрофия.

Способность МСК преодолевать систему иммунного надзора в аллогенном окружении через индукцию иммуноtolерантности позволяет решить проблему трансплантационной гистонесовместимости. Это свойство МСК позволяет также использовать их для лечения болезни трансплантат против хозяина и открывает перспективу МСК-цитотерапии аутоиммунных заболеваний. Благодаря этим же свойствам МСК могут быть использованы для терапии хронических воспалительных процессов различной этиологии.

Трансплантация МСК одних или в сочетании

с гемопоэтическими клетками-предшественниками способствует восстановлению кроветворения после миелоаблативной терапии.

Оптимальный источник донорского биоматериала – МСК плодов ранних сроков гестации. Эти клетки имеют несравненно более высокую способность к самообновлению и выходу в остеогенную дифференцировку, чем МСК костного мозга взрослых индивидуумов.

Одна только клеточная терапия может оказаться неэффективной при наличии проблем, внешних по отношению к СК, а именно: обусловленных нарушением микроокружения, в котором клетки должны функционировать. В частности, изменения микроокружения СК являются одним из характерных проявлений гормональных и других метаболических нарушений при старении организма. Измененное микроокружение может определенным образом инструктировать трансплантируемые СК, блокируя или модифицируя их дифференцировку. При такой ситуации часто возникает необходимость в упреждающей коррекции предполагаемого микроокружения донорских клеток. В то же время известно, что трансплантируемые СК во многих случаях способны самостоятельно реконструировать микроокружение в организме реципиента, воссоздавая благоприятные условия для реализации собственных функций и мобилизации регенеративного потенциала эндогенных стволовых и прогениторных клеток [16].

Ключ к решению проблемы выбора адекватной тактики регенеративной СК терапии лежит в освоении фундаментальных принципов биологии развития и постижении сути патологического процесса.

**G. T. Sukhykh, N.Y.Spivak, V.V.Malaytsev,  
I.M. Bogdanova, V.A. Shevchuk**

#### **MESENCHYMAL STEM AND PROGENITOR CELLS. BIOLOGICAL CHARACTERISTIC AND PROSPECTS FOR ITS USE.**

Immunophenotic characteristic of the mesenchymal stem and progenitor cells, their tissue origin and functional peculiarities

as well as immunological aspects of its transplantation are presented in the article. Also the address migration and the site-specific differentiation of mesenchymal stem cells its age-related and pathological process induced changes are discussed. Prospects of clinical use of mesenchymal stem cells for the treatment of degenerative arthritis, spinal cord injuries, myocardial infarction and other disorders are shown.

*D.K.Zabolotny Institute of microbiology and virusology,  
National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv*

#### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Викторов И.В., Сухих Г.Т. Медико-биологические аспекты применения стволовых клеток // Вестн. РАМН. – 2002. – №4. – С. 24–30.
2. Малайцев В.В., Богданова И.М., Сухих Г.Т. Современные представления о биологии стволовой клетки // Архив патологии. – 2002. – 64. – №4. – С. 7–11.
3. Паюшина О.В., Домарацкая Е.И., Старостин В.И. Мезенхимные стволовые клетки: источники, фенотип и потенции к дифференцировке // Изв.РАН. Сер.биол. – 2006. – №1. – С. 6–25.
4. Репин В.С., Сухих Г.Т. Медицинская клеточная биология. – М., 1998.
5. Спивак Н.Я., Сухих Г.Т., Малайцев В.В., Богданова И.М. Стволовые клетки. Биология и потенциальное клиническое использование // Трансплантология – 2005. – 8. – №3. – С. 6–14.
6. Сухих Г.Т., Богданова И.М., Малайцев В.В. Иммунологические аспекты трансплантации фетальных клеток // Бюл.эксперим.биологии и медицины. – 1998. – 126 (Приложение 1). – С. 178–181.
7. Сухих Г.Т., Малайцев В.В. Нейральная стволовая клетка: биология и перспективы нейротрансплантации // Там же. – 2001. – 131, №3. – С. 244–255.
8. Сухих Г.Т., Малайцев В.В., Богданова И.М. и др. Мезенхимальные стволовые клетки // Там же. – 2002. – 133, №2. – С. 125–131.
9. Фриденштейн А.Я., Лурия Е.А. Клеточные основы кроветворного микроокружения. – М.: Медицина, 1980. – 200 с.
10. Щегельская Е.А., Микулинский Ю.Е., Ревичин А.В. и др. Плюрипотентность клеток стромы костного мозга и перспективы их использования в клеточной терапии // Онтогенез. – 2003. – 34. – №3. – С. 228–235.
11. Alison M.R., Poulosom R., Otto W.R. et al. Recipes for adult stem cell plasticity: fusion cuisine or readymade / J.Clin.Pathol. – 2004 – 57, №2. – P. 113–120.
12. Barry F.P., Murphy J.M. Mesenchymal stem cells: clinical applications and biological characterization // I.J.Biochem. and Cell Biol. – 2004. – 36, №4. – P. 568–584.
13. Bartholomew A., Sturgeon C., Siatskas M. et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo // Exp.Hematol. – 2002. – 30. – P. 42–48.
14. Bennett C.N., Longo K.A., Wright W.S. et al. Regulation of

- osteoblastogenesis and bone mass by Wnt10b // *Proc. Natl.Acad.Sci.USA.* – 2005. – **102**, №9. – P. 3324–3329.
15. Campagnoli C., Roberts I.A., Kumar S. et al. Identification of mesenchymal stem progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver and bone marrow // *Blood.* – 2001. – **98**. – P. 2396–2403.
  16. Daley G., Goodell M.A., Snyder E.Y. Realistic prospects for stem cell therapeutics // *Hematology.* – 2003. – №1. – P. 398–414.
  17. Di Nicola M., Carlo-Stella C., Magni M. et al. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or non specific mitogeni stimuli // *Blood.* – 2002. – **99**. – P. 3838–3843.
  18. D'Ippolito G., Schiller P.C. The effect of aging on MSC and their potential use for therapeutic purposes // *Graft.* – 2000. – **3**, №6. – P. 300–304.
  19. Frank M.H., Sayegh M.H. Immunomodulatory functions of mesenchymal stem cells // *Lancet.* – 2004. – **363**, №9419. – P. 1411–1414.
  20. Gershengorn M.C., Geras-Raaka E., Hardikar A.A. et al. Are better islet cell precursors generated by epithelial-to mesenchymal transition? // *Cell Cycle.* – 2005. – **4**, №4. – P. 380–382.
  21. Glennie S., Soeiro I., Dyson P.J. et al. Bone marrow mesenchymal stem cells induced division arrest anergy of activated T-cells // *Blood.* – 2005. – **105**. – P. 2821–2827.
  22. Gotherstrom C., Ringden O., Tammik C. et al. Immunologic properties of human fetal mesenchymal stem cells // *Amer. J.Obstetr.Gynecol.* – 2004. – **190**. – P.239–245.
  23. Gregory C.A., Gunn W.G., Reyes E. et al. How wnt signaling affects bone repair by mesenchymal stem cells in the bone marrow // *Ann.N.Y.Acad.Sci.* – 2005. – **1049**. – P. 97–106.
  24. Horwitz E.M. Dkk-mediated expansion of adult stem cells // *Trends Biotechnol.* – 2004. – **22**, №8. – P. 386–388.
  25. Horwitz E.M., Gordon P.L., Koo W.K.K. et al. Isolated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal cells engraft and stimulate growth in children with osteogenesis imperfecta: implication for cell therapy of bone // *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* – 2002. – **99**, – №13. – P. 8932–8937.
  26. Huelsken J., Behrens J. The Wnt signaling pathway // *J.Cell.Sci.* – 2002. – **115**. – Pt.21. – P. 3977–3978.
  27. Katz A.J., Thorpady A., Thorpady S.S. et al. Cell surface and transcriptional characterization of human adipose-derived adherent stromal (hADAS) cells // *Stem Cells.* – 2005. – **23**, №3. – P. 412–424.
  28. Kleber M., Sommer L. Wnt signaling and regulation of stem cell function // *Curr.Opin.Cell.Biol.* – 2004. – **16**, №6. – P. 681–687.
  29. Klyushnenkova E., Mosca J.D., Zernetkina V. et al. T-cell responses to allogeneic human mesenchymal stem cells: immunogenicity, tolerance and suppression // *J.Biomed.Sci.* – 2005. – **12**, №1. – P. 47–57.
  30. Kogler G., Sensken S., Airey J.A. et al. A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential // *J.Exp. Med.* – 2004. – **200**, №2. – P. 123–127.
  31. Krampera M., Glennie S., Dyson J. et al. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T-cells to their cognate peptide // *Blood.* – 2003. – **101**. – P. 3722–3729.
  32. Kucia M., Ratajczak J., Ratajczak M.Z. Bone marrow as a source of circulating CXCR4+ tissue-committed stem cells // *Biol.Cell.* – 2005. – **97**, №2. – P. 133–146.
  33. Le Blanc K., Rasmusson I., Sundberg B. et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells // *Lancet.* – 2004. – **363**, №9419. – P. 1439–1441.
  34. Le Blanc K., Tammik C., Rosendahl K. et al. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells // *Exp.Hematol.* – 2003. – **31**, №10. – P. 890–896.
  35. Liu L., Girolamo C.M., Navarro P.A. et al. Telomerase deficiency impairs differentiation of mesenchymal stem cells // *Exp.Cell.Res.* – 2004. – **294**, №1. – P. 1–8.
  36. Maccario R., Podmsta M., Moretta A. et al. Interaction of human mesenchymal stem cells with cells involved in alloantigen-specific immune response favors the differentiation of CD4 subsets expressing a regulatory/suppressive phenotype // *Haematologica.* – 2005. – **90**, №. – P. 516–525.
  37. Minguell J.J., Conget P., Erices A. Biology and clinical utilisation of mesenchymal progenitor cells // *Braz. J.Med.Biol.Res.* – 2000. – **33**, №8. – P. 881–887.
  38. Moerman E.J., Teng K., Lipschitz D.A. et al. Aging activates adipogenic and suppresses osteogenic programs in mesenchymal marrow stroma/stem cells: role of PPAR-gamma 2 transcription factor and TGF-beta/BMP signaling pathways // *Aging cell.* – 2004. – **3**, №6. – P. 379–399.
  39. Rodriguez J.P., Garat S., Gajardo H. et al. Abnormal osteogenesis in osteoporotic patients is reflected by altered mesenchymal stem cell dynamics // *J.Cell. Biochem.* – 1999. – **75**, №3. – P. 414–423.
  40. Romanov Y.A., Svintsitskaya V.A., Smirnov V.N. Searching for alternative sources of postnatal human mesenchymal stem cells: candidate MSC-like cells from umbilical cord // *Stem.Cells.* – 2003. – **21**, №1. – P. 105–110.
  41. Song L., Baksh D., Tuan R.S. Mesenchymal stem cell-based cartilage tissue engineering: cells, scaffold and biology // *Cytherapy.* – 2004. – **6**, №6. – P. 596–601.
  42. Stauer B.E., Brehm M., Zeus T. et al. Repair of infarcted myocardium by autologous intracoronary mononuclear bone marrow cell transplantation in human // *Circulation.* – 2002. – **106**. – P. 1913–1918.
  43. Tang Y.L., Zhao Q., Zhang Y.C. et al. Autologous mesenchymal stem cell transplantation induce VEGF and neovascularization in ischemic myocardium // *Regulatory peptides.* – 2004. – **117**, №1. – P. 3–10.
  44. Yang L.Y., Zheng J.K., Wang C.Y. et al. Stromal cells from human Wharton's Jelly differentiate into neuronal cells // *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban.* – 2005. – **36**, №1. – P. 13–16.

45. Yen B.L.,Huang H., I., Chen C.C. et al. Isolation of multipotent cells from human term placenta.// Stem. Cells. – 2005. – **23**, №1. – P. 3–9.
46. Zhou S.,Zilberman Y.,Wassermann K. et al. Estrogen modulates estrogen receptor alpha and beta expression, osteogenic activity and apoptosis in mesenchymal stem cells (MSCs) of osteoporotic mice // J.Cell.Biochem. – 2001. – Suppl. 36. – P. 144–155.

*Ин-т микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, Киев;*

*Науч.-производ.компания "ДиаПрофМед", Киев;*

*Ин-т биол. медицины, 117815, Москва;*

*Ин-т морфологии человека РАМН, 117418, Москва*

*Материал поступил в редакцию 17.10.2006*