

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТРОМАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ ПРИ АПЛАСТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ, ГЕМОБЛАСТОЗАХ И НЕГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ОПУХОЛЯХ

Наталья Леоновна ВАРТАНЯН¹, Станислав Семенович БЕССМЕЛЬЦЕВ²,
Наталья Юрьевна СЕМЕНОВА², Виктор Иванович РУГАЛЬ²

¹ ФГБУ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий Минздрава России
197758 г. Санкт-Петербург, Песочный, ул. Ленинградская, 70

² ФГБУ Российский НИИ гематологии и трансфузиологии ФМБА России
191024, г. Санкт-Петербург, ул. 2-я Советская, 16

В обзоре проанализированы результаты изучения мезенхимальных стромальных клеток (МСК) при апластической анемии (АА), гемобластозах и негематологических опухолях. Приведены данные, свидетельствующие о вовлечении гемопоэтической ниши в патологический процесс при АА и гемобластозах, а также факты, подтверждающие, что элементы микроокружения могут быть первопричиной возникновения гематологических заболеваний. Проведен анализ результатов изучения влияния МСК на рост и метастазирование опухолей, отмечена противоречивость полученных данных. Показано, что МСК могут оказывать как стимулирующий, так и ингибирующий эффект, обсуждаются возможные механизмы, лежащие в основе этих процессов. Делается вывод, что более глубокое понимание биологии МСК и их роли в возникновении и прогрессировании различных патологических состояний может стать основой для разработки новых программ лечения гематологических и онкологических заболеваний.

Ключевые слова: мезенхимальные стромальные клетки, апластическая анемия, гемобластозы, канцерогенез, гемопоэтическая ниша, строма костного мозга.

Жизнедеятельность нормальных и опухолевых стволовых клеток большинства органов и тканей поддерживается и регулируется особой клеточной популяцией, обозначаемой как мезенхимальные стромальные клетки (МСК). Вследствие этого исследование механизмов, определяющих самоподдержание, пролиферацию, дифференцировку и злокачественную трансформацию различных типов стволовых клеток, включает в себя оценку состояния МСК. Указанная клеточная популяция обладает рядом характерных свойств. Это фибробластоподобная морфология, адгезивность, быстрый рост в культуре *in vitro*, способность к самоподдержанию и дифференцировке в клетки тканей мезодермального происхождения, а в определенных условиях – в ткани экто- и эндодермального происхождения. Важным биологическим свойством МСК является их иммунорегуляторная активность, обу-

словленная способностью к продукции широкого спектра цитокинов и ростовых факторов, а также способность к направленной миграции.

Одна из важнейших функций МСК в организме – участие в формировании стромального микроокружения костного мозга. Костный мозг состоит из различных типов соединительной ткани, связанных общим мезенхимным происхождением. К ним относятся кроветворная и стромальная ткани, каждая из которых поддерживается собственными стволовыми клетками. Нормальное кроветворение осуществляется в тесной взаимосвязи со стромальным микроокружением [4]. МСК костного мозга являются предшественниками клеток негемопоэтического ряда, принимающих участие в формировании ниши стволовых кроветворных клеток (СКК). Термин «ниша стволовой клетки» был впервые предложен в 1978 г. Р. Скофилдом для обозначения микроокружения

Вартанян Н.Л. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории гибридной технологии,
e-mail: nvartanian@mail.ru

Бессмельцев С.С. – д.м.н., проф., зам. директора по научно-исследовательской работе,
e-mail: bsshem@hotmail.com

Семенова Н.Ю. – биолог, младший научный сотрудник лаборатории по изучению лейкозов,
e-mail: bloodscience@mail.ru

Ругаль В.И. – д.м.н., проф., руководитель лаборатории по изучению лейкозов

стволовой клетки, необходимого для поддержания ее жизнедеятельности и являющегося связующим звеном контроля и регуляции между клеткой и целостным организмом [49].

Клетки стромы костного мозга являются потомками МСК: фибробластами, адипоцитами, ретикулярными, эндотелиальными, гладкомышечными клетками, остеобластами/остеоцитами, хондроцитами и теноцитами [4, 6, 50]. Они продуцируют экстрацеллюлярный матрикс, адгезивные молекулы, регуляторные факторы, цитокины и другие субстанции. Таким образом, МСК играют важнейшую роль в создании соответствующего микроокружения, необходимого для созревания и дифференцировки СКК.

Несмотря на то что значение микроокружения в патогенезе гематологических заболеваний – давно признанный факт, механизм этого явления до сих пор не ясен и активно изучается. Не менее пристальное внимание уделяется роли МСК в канцерогенезе. Вовлечение МСК в опухолевый патогенез продемонстрировано при меланоме, раке яичников, гепатоцеллюлярной карциноме, раке молочной железы. Наряду с раскрытием механизмов канцерогенеза интенсивные исследования МСК в последние годы обусловлены также и тем, что с их использованием в клинике связаны надежды на возможность репарации различных поврежденных органов и тканей. Способность МСК к иммуномодуляции также находит применение при лечении ряда заболеваний.

Таким образом, данные о свойствах и функции МСК при заболеваниях представляют существенный как теоретический, так и практический интерес. С одной стороны, МСК, обладая столь разнообразным спектром свойств, оказывают влияние на многие процессы, происходящие в организме, и нарушение их функционирования может служить одной из причин возникновения ряда патологий. С другой стороны, при решении вопроса о целесообразности клинического использования аутологичного клеточного материала неизбежно встает вопрос о сохранности функциональной компетентности МСК.

Апластическая анемия. Единое мнение о функционировании МСК при апластической анемии (АА) пока не сложилось. Известно, что при патогенезе этого заболевания, наряду с генетическим дефектом СКК, важная роль отводится иммунным нарушениям и состоянию стромального окружения.

В большинстве работ отмечено существенное снижение пролиферативной активности, нарушение функции поддержания гемопоэза, а также снижение синтеза фактора стволовых клеток (stem cell factor, SCF) МСК больных АА, причем нару-

шение функций МСК коррелировало с тяжестью заболевания [8, 59, 61]. Однако по данным других исследователей, функциональная полноценность стромальных клеток при АА, а также при пароксизмальной ночной гемоглобинурии (заболевании, ассоциированном с АА) сохранена [31].

Определение числа стромальных фибробластных колониеобразующих единиц (КОЕ-Ф) является универсальным и широко используемым методом оценки функционального статуса кроветворного микроокружения. Л.П. Герасимова и соавт. показали, что количество КОЕ-Ф, а также площадь образуемых колоний у разных больных АА могут широко варьировать [2]. Авторы заключили, что у части больных, преимущественно с тяжелой АА, предшественники МСК находятся в активированном состоянии, что проявляется увеличением их концентрации (число КОЕ-Ф) и размера образуемых колоний.

Функциональная активность МСК реализуется через продукцию широкого спектра растворимых медиаторов (цитокинов, хемокинов, ростовых факторов, молекул внеклеточного матрикса и др.). При этом имеются данные как о нарушенной, так и о сохранной цитокинсекреторной функции МСК при АА [31, 59].

Показано, что МСК, выделенные из костного мозга больных АА, обладают функциональным потенциалом для поддержания кроветворения (через продукцию G-CSF, GM-CSF, EPO, IL-6) и стимуляции репаративных процессов (VEGF, IGF-1, FGF-basic). Эти факты в совокупности с клиническими данными о неэффективности терапии рекомбинантными цитокинами не позволяют связать нарушения гемопоэза при АА с дефицитом ростовых гемопоэтических факторов. С другой стороны, МСК больных отличаются повышенным уровнем секреции хемокинов подсемейств CXC (IL-8) и CC (MCP-1, MIP-1 β), а также IL-2 и IL-17, что существенно влияет на состав и функциональные свойства клеток микроокружения кроветворной ниши. Так, IL-2 и IL-17 могут усиливать пролиферацию активированных Т-клеток, в том числе аутореактивных клонов Т-лимфоцитов CD8+ [5].

В последнее время появились данные о количественных и функциональных нарушениях различных популяций регуляторных супрессорных Т-клеток при АА. Показано, что активная фаза заболевания характеризуется количественным дефицитом Т-клеток CD4+CD25+FoxP3+ [8]. Известно, что МСК, выделенные из нормального костного мозга, способствуют генерации регуляторных клеток, не исключено, что у больных АА эта функция нарушена. Высказано предположение, что в патогенезе АА важную роль играет

срыв иммунологической толерантности к определенным антигенам СКК и гемопоэтических предшественников с последующей клональной экспансией аутореактивных Т-лимфоцитов на фоне несостоятельности механизмов негативно-го контроля, в том числе со стороны стромальных клеток кроветворной ниши [59].

О вовлечении гемопоэтической ниши в патологический процесс при АА свидетельствуют данные об изменении нишеобразующих структур костного мозга в трепанобиоптатах подвздошной кости больных генуинной АА [3, 5]. Как известно, идиопатическая (генуинная) АА – заболевание, при котором в качестве основных патогенетических факторов рассматриваются дефекты СКК, иммунные нарушения и патологические перестройки микроокружения. Интерес к роли изменений стромального микроокружения в развитии АА резко возрос в последние годы. Это прежде всего связано с результатами исследований, в которых показано, что строма костного мозга формирует анатомические территории – ниши, обеспечивающие самоподдержание СКК на протяжении всей жизни организма, определяющие их развитие в миелоидном и лимфоидном направлении и регулирующие пролиферацию и дифференцировку гемопоэтических предшественников. Ключевыми структурами ниши являются эндостальные стромальные клетки костной ткани и микрососуды костного мозга. Установлено, что нарушения ниши способны приводить к изменению развития СКК и быть причиной их малигнизации. В костной ткани больных АА обращало на себя внимание увеличение количества остеоцитов в единице площади костных трабекул (более чем в 1,5 раза по сравнению с показателями здоровых лиц, $5,9 \pm 0,2$ и $3,3 \pm 0,1$ соответственно). Одновременно обнаруживалось снижение содержания коллагена I типа в трабекулярной кости. При исследовании стромальных элементов эндостальных зон установлено преобладание популяции выстилающих поверхность трабекул клеток, которые характеризовались уплощенными, вытянутыми ядрами с плотным хроматином. В некоторых участках эндостальных зон с наличием кроветворных клеток морфология выстилающих костные балки стромальных клеток изменялась. В них выявились укрупненные ядра, зачастую с хорошо очерченными ядрышками. Анализ микрососудов с использованием антител к CD34 и CD31 свидетельствовал о резком снижении количества сосудов микроциркуляторного русла костного мозга при АА. Отчетливо обнаруживалось уменьшение плотности микрососудов в эндостальных участках. В этих же зонах выявлены изменения содержания коллагена IV типа [3].

Регуляторный эффект стромальной ниши на развитие СКК осуществляется путем прямых контактов клеток ниши с кроветворными предшественниками, посредством наработки регуляторных факторов, цитокинов, молекул адгезии, экстрацеллюлярного матрикса и других факторов. У больных АА перестройка стромальной ниши может приводить к изменению сигнальных путей, регулирующих развитие СКК, которые обусловлены нарушением одного или нескольких указанных звеньев взаимосвязи «стромальная ниша – СКК». В раскрытии причин развития идиопатической АА дальнейшие исследования ниши перспективны, и с большой долей вероятности можно полагать, что генуинная АА – это заболевание, обусловленное дефектом гемопоэтической ниши.

Злокачественные заболевания системы крови. При сравнительном анализе количественного содержания МСК костного мозга лиц, страдающих болезнью Ходжкина (лимфогранулематозом), неходжкинскими лимфомами (НХЛ), острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ) и множественной миеломой (ММ), на фоне проведения современных программ полихимиотерапии показано, что у 70 % больных количество КОЕ-Ф снижено. Обращает на себя внимание факт, что как в группе здоровых доноров, так и особенно в группе больных гемобластозами авторы наблюдали выраженную вариабельность этого параметра на уровне индивидуальных значений [6]. Статистически значимое уменьшение числа КОЕ-Ф наблюдали при остром миелоидном лейкозе (ОМЛ), ОЛЛ и ММ как у первичных, так и у уже получавших лечение больных [1, 12–14]. При этом авторы отмечали, что количество клоногенных предшественников МСК у больных гемобластозами варьировало от полного отсутствия КОЕ-Ф до уровня значений контроля. Существенное снижение концентрации КОЕ-Ф было обнаружено у больных хроническим миелолейкозом (в 2,5–3 раза), эссенциальной тромбоцитемией (более чем в 5 раз), миелодиспластическим синдромом (МДС) (от 1,5 до 5 раз). Кроме того, было показано, что у МСК больных гемобластозами и МДС нарушена функция поддержания гемопоэза [2, 66].

Сравнительная морфометрическая оценка показала, что в популяции МСК больных гемобластозами обнаруживается тенденция к увеличению доли мелких клеток, обладающих наибольшей способностью к делению/самоподдержанию [50]. Увеличение числа относительно мелких клеток среди культивируемых МСК носит, очевидно, компенсаторный характер в связи со снижением числа КОЕ-Ф.

Изучение супрессорного влияния МСК на пролиферацию Т-лимфоцитов показало, что иммуносупрессорная активность МСК больных гемобластозами и МДС существенно снижена [36]. Исследования Z.G. Zhao и соавт. [63] сообщают о нарушении иммуносупрессии Т-лимфоцитов МСК больных ОЛЛ, но не больных ОЛЛ. МСК этой группы больных отличаются некоторыми особенностями, в частности, уменьшением количества клеток CD105+CD90+, в то время как МСК со сниженным числом клеток CD90+, как показано D. Sampioni и соавт. [12], проявляют менее выраженное иммуносупрессорное действие на пролиферацию Т-лимфоцитов, стимулированных фитогемагглютинином или аллоантигенами. В ряде случаев МСК больных, особенно при низких клеточных концентрациях, не только не подавляли, но, наоборот, усиливали ответ [5, 6]. Одним из возможных объяснений этого феномена является способность МСК секретировать IL-7, который индуцирует и поддерживает пролиферацию лимфоцитов.

В последнее время активно изучается вопрос о наличии в МСК генетических aberrаций и возможной связи МСК с малигнизированным клоном. При исследовании МСК детей с диагнозом В-ОЛЛ обнаружены хромосомные транслокации, детектированные ранее в лейкозных клетках (TEL-AML1, E2A-PBX1 и MLL-реаранжировка) [51]. Транслокации выявлены у всех обследованных детей, число клеток, имеющих транслокации, варьировало у разных пациентов от 10 до 54 %. У части детей были выявлены характерные для лейкоза реаранжировки иммуноглобулинового гена. Авторы делают вывод о наличии взаимосвязи между МСК и лейкозным клоном и участии МСК в патогенезе и патофизиологии острого лейкоза [51]. В другой работе химерный белок MLL-AF4 в костно-мозговых МСК был обнаружен во всех случаях MLL-AF4+ В-ОЛЛ, в то время как в случаях других цитогенетических форм В-ОЛЛ химерные белки не выявлялись. В то же время в МСК больных хроническим миелолейкозом и острым бифенотипическим лейкозом с транслокацией t(9;22) и BCR/ABL хромосомные aberrации отсутствовали. О наличии хромосомных aberrаций в МСК больных острыми лейкозами и МДС сообщается во многих работах [10, 16, 47]. Z.G. Zhao и соавт., напротив, сообщают о наличии нормального кариотипа МСК больных ОЛЛ, а также больных ходжкинскими и неходжкинскими лимфомами [62]. В МСК больных ММ также не обнаружено цитогенетических изменений, выявляемых в миеломных плазматических клетках, что, по мнению авторов, свидетельствует об отсутствии общего предшественника, однако МСК

этих больных характеризовались определенным геномным дисбалансом [1, 18].

В ряде экспериментальных работ, привлекавших большое внимание, показано, что элементы микроокружения могут не только оказывать определенное влияние на СКК, но и быть первопричиной возникновения гематологических заболеваний. Так делеция гена рецептора ретиноевой кислоты (RAR γ) в клетках стромы костного мозга мышей приводит к развитию миелопролиферативного синдрома [56]. M. Raaijmakers и соавт. в опытах на трансгенных мышах показали, что делеция гена *Dicer 1* в остеогенных клетках-предшественниках костного мозга индуцирует комплекс фенотипических нарушений, сходный с МДС, а в отдельных случаях приводит к развитию лейкоза [43]. Интересно, что *Dicer 1*, эндонуклеаза семейства РНКаз III, расщепляя пре-микроРНК до siРНК, принимает участие в биогенезе микроРНК, а перенос микроРНК, как известно, является одним из ключевых путей взаимодействия между стволовыми клетками и нишей [32, 33].

В работе А.М. Россого и соавт. показано, что костно-мозговые МСК выделяют экзосомы, и содержащаяся в них микроРНК может переноситься в клетки ММ, при этом модулируя рост опухоли *in vivo* [46]. На мышинной модели миеломы обнаружено, что экзосомы, выделенные из костно-мозговых МСК больных ММ, могут индуцировать рост ММ и диссеминацию опухолевых клеток в костном мозге. Профиль экзосомной микроРНК больных ММ отличается от такового у здоровых доноров. В частности, уровень микроРНК-15а у здоровых лиц был существенно выше, чем у пациентов с ММ, что, по мнению авторов, свидетельствует о ее опухолесупрессивном действии. Белковое содержимое экзосом больных и здоровых лиц также отличается. Таким образом, продемонстрировано взаимодействие между клетками костно-мозгового микроокружения и клетками ММ, осуществляемое с помощью экзосом, несущих в своем составе нуклеиновые кислоты и белки [46].

Активно изучается возможная роль МСК при МДС. МДС – группа гетерогенных клональных заболеваний, характеризующаяся неэффективным гемопоэзом, риском трансформации в острый лейкоз и на сегодняшний день являющаяся одной из самых сложных проблем гематологии. Предполагается, что МСК, как важнейший компонент микроокружения стволовой клетки, могут играть определенную роль в патогенезе этого заболевания. По данным L.H. Liu и соавт., морфология, пролиферативные свойства и поверхностные маркеры МСК-МДС не отличались от таковых МСК здоровых лиц, однако супрессия

Т-клеточной пролиферации в ответ на фитогемагглютинин и аллоантигены, опосредованная МДС-МСК, была существенно ниже, чем в норме [36]. В то же время, по данным S. Geyh и соавт., у МСК больных всеми субтипами МДС значительно снижена пролиферативная активность, а также способность к остеогенной дифференцировке, что подтверждается снижением экспрессии транскрипционного фактора Osterix и остеокальцина, ассоциированной с появлением характерных метилированных паттернов [19]. Кроме того, МДС-МСК характеризуются изменением экспрессии ключевых молекул, участвующих во взаимодействии с гемопоэтическими СК и прогениторными клетками – остеопоинтина, JAG1, SCF и ангиопоэтина, а также некоторых хемокинов. Функционально это приводит к значительному снижению возможности МДС-МСК поддерживать гемопоэтические СК CD34+ в долгосрочной культуре [19]. Авторы делают вывод, что МСК больных МДС всех субтипов структурно, эпигенетически и функционально изменены, что ведет к нарушению поддерживающей способности и дефициту гемопоэза при МДС. Показано, что иммунорегуляторные свойства МСК при МДС значительно изменены, причем характер и уровень изменений зависят от варианта МДС. Так, ингибирование дифференцировки и созревания дендритных клеток, а также способность индуцировать клетки CD4+CD25+Foxp3+T-regs значительно варьировали у пациентов с различными субтипами МДС [58, 64].

Наличие цитогенетических аберраций обнаружено у 64 % больных МДС. Аномальный кариотип МСК чаще идентифицировался в группе с аномальными гемопоэтическими клетками. Однако авторы не наблюдали строгого совпадения характера генетического нарушения в МСК и в гемопоэтических клетках. Делается вывод, что МДС-МСК сохраняют нормальные фенотипические характеристики и дифференцировочный потенциал, но несут различные варианты хромосомных нарушений. Большая потеря хромосомного материала является маркером хромосомной нестабильности МДС-МСК, что может говорить о потенциальной вовлеченности МСК в патофизиологию МДС. Делаются выводы, что МСК при МДС цитогенетически и функционально аномальны и, возможно, играют определенную роль в патофизиологии МДС. Исследование МСК при МДС может служить для диагностических целей, а также для определения прогноза течения заболевания [17].

Роль МСК в патогенезе гемобластозов еще предстоит определить в дальнейших исследованиях. Не решен вопрос о наличии общего пред-

шественника для МСК и клеток малигнизированного клона. Не исключено, что именно патология самих стромальных клеток может стать в ряде случаев причиной нарушения гемопоэза. Выявляемая некоторыми авторами генетическая нестабильность МСК требует с осторожностью относиться к использованию аутологичного материала в терапии этих заболеваний. Перед лечением рекомендуется проведение адекватного цитогенетического исследования клеточного материала [11].

Онкологические заболевания. Давно известно, что факторы микроокружения играют определенную роль в возникновении и прогрессии опухоли, в частности в образовании метастазов. Однако до последнего времени внимание исследователей было сосредоточено в основном на изучении генома опухолевой клетки, и только в последнее время ситуация изменилась. Сейчас получено большое количество фактов, подтверждающих представление о том, что микроокружение играет существенную роль в регуляции опухолевого роста.

Среди клеток, формирующих микроокружение опухоли, присутствуют макрофаги, эндотелиоциты, лимфоциты, фибробласты и перициты, продуцирующие определенные гормоны, цитокины, хемокины и протеазы. Клетки, формирующие строму опухоли, рекрутируются из разных источников – это стволовые клетки из окружающих тканей, фибробласты, а также костно-мозговые клетки, в том числе костно-мозговые МСК, находящиеся в циркуляции [9]. Как существенный компонент стромы, МСК играют важную роль в формировании микроокружения, которое модулирует рост опухоли. МСК могут дифференцироваться в карцинома-ассоциированные фибробласты, перициты и муральные клетки, окружающие сосуды, которые принимают участие в формировании сосудистой системы опухоли, и способствовать опухолевой прогрессии [40, 44, 53]. Показано, что МСК свойственна направленная миграция, и они могут перемещаться в места поражения при ряде патологических состояний, таких как воспаление, репарация тканей и опухолевый рост [21, 41, 48]. В ходе развития и прогрессии опухоли большие количества МСК скапливаются в месте ее расположения, химиотерапия и лучевая терапия активизируют рекрутирование циркулирующих МСК в область опухоли [27, 30]. Показано, что МСК и МСК-подобные клетки могут быть получены как из несолидных опухолей, таких как липома, саркома кости, так и из солидных опухолей, в частности опухоли желудка и шейки матки [20, 35, 54, 60]. Каким образом влияют МСК на растущую опухоль, сти-

мулируют или, напротив, подавляют ее рост и развитие, до сих пор остается открытым вопросом, в настоящее время получены данные как об ингибировании, так и о стимулировании МСК опухолевого роста.

Так, МСК при внутриопухолевом введении ингибировали рост нейробластомы у мышей, снижали скорость пролиферации опухолевых клеток и, активируя каспазу-3, индуцировали апоптоз. Описано подавление роста клеток линии карциномы молочной железы MCF7, опосредованное действием белка Dickkopf 1, ингибитора сигнального пути WNT/бета-катенин, подавление роста глиомы, связанное с угнетением ангиогенеза, а также ингибирование роста саркомы Капоши и гепатомы [22, 26, 42].

В противоположность этим данным полученные экспериментальные подтверждения способности МСК поддерживать опухолевый рост. Это индуцированное МСК-активирование пролиферации клеток меланомы, усиление метастатической активности клеток опухоли молочной железы, простаты, яичников, толстого кишечника. Авторы предлагают на этом основании с осторожностью относиться к трансплантации МСК пациентам с высоким риском развития рака молочной железы [24, 25, 39, 52, 65].

Показано, что опухолевая прогрессия может быть опосредована действием образующихся из МСК тумор-ассоциированных фибробластов, продуцирующих факторы, поддерживающие клеточный рост и ангиогенез [53].

Л. Ни и соавт. исследовали МСК, полученные из эзофагеальной карциномы (кМСК) и окружающих опухоль нормальных тканей (нМСК). Оказалось, что пролиферативная активность кМСК была существенно выше, чем у нМСК. Фенотипически оба вида клеток были сходны, имея маркеры, характерные для костно-мозговых МСК [23]. Для того чтобы оценить роль МСК в прогрессии опухоли, авторы методом РТ-ПЦР определили экспрессию генов *Oct-4*, *Nanog*, *Bmi-1*, *Nucleostemin*, ассоциированных со стволовыми клетками. Ранее выявлено, что экспрессия *Okt-4* и *Nanog* в тканях некоторых эпителиальных опухолей существенно выше, чем в нормальных тканях [7, 15]. Сходным образом показано, что *Bmi-1* имеет низкую экспрессию или вообще не экспрессируется в нормальных клетках, но его экспрессия в опухолях значительно выше и ассоциируется с плохим прогнозом для пациента [29, 57]. Также хорошо известно, что *VEGF* индуцирует рост новых сосудов в опухоли, которые необходимы для ее роста и метастазирования [38, 55]. Авторы показали, что уровень экспрессии *VEGF*, *Bmi-1*, *Nanog*, *Oct-4* значительно выше в

кМСК по сравнению с нМСК, что указывает на возможную роль кМСК в опухолевом росте.

Поскольку МСК отличаются гетерогенностью, различные популяции этих клеток обладают разными свойствами, в том числе и в отношении взаимодействия с опухолями. А.Н. Клорр и соавт. показали, что МСК, полученные из абдоминальной висцеральной жировой ткани, обладают более выраженной способностью поддерживать рост карциномы эндометрия, чем МСК, полученные из подкожной жировой клетчатки [30]. Поддержание роста опухоли достигается за счет увеличения ее васкуляризации и активирования пролиферации опухолевых клеток в ответ на факторы, продуцируемые МСК. Авторы предполагают наличие связи между наличием избытка висцерального жира и смертностью от опухолей, локализованных внутрибрюшинно.

G. Rара и соавт. показали в экспериментах *in vitro* возможность спонтанного образования гибридов между человеческими костно-мозговыми МСК и клетками двух клеточных линий карциномы молочной железы MDA-MB-231 и MA11 [45]. Оба вида гибридов вызывали опухоли у иммунодефицитных мышей, а некоторые гибриды имели высокий метастатический потенциал. И в культуре, и привитые животным гибриды продемонстрировали редукцию пloidности и переход к морфологическому типу, характерному для карциномы, в то время как профиль экспрессии генов сохранялся смешанным. Поскольку МСК мигрируют в область карциномы и локализуются там, не исключено, что образование гибридов «МСК – карциномная клетка» может быть потенциальным механизмом возникновения инвазивной метастатической опухоли.

Экзосомы, выделяемые МСК жировой ткани, активизируют миграцию клеток через воздействие на Wnt-сигналинг в клеточной модели рака молочной железы. Известно, что кондиционная среда, полученная при культивировании МСК, оказывает влияние на опухолевые клетки, однако механизм этого воздействия был неясен. В последнее время показано, что это воздействие может быть опосредовано экзосомами, секретруемыми МСК. Экзосомы, выделяемые МСК, усиливают миграцию клеток линии рака молочной железы MCF7. Исследование профиля генной экспрессии обработанных экзосомами клеток MCF7 показало, что несколько сигнальных путей, в том числе Wnt, реагировали на это воздействие. Выявлен новый механизм, посредством которого МСК могут вызывать ускорение миграции опухолевых клеток [34].

Пока нельзя говорить однозначно о действии МСК на опухолевый процесс. Однако анализ

результатов использования МСК в клинике свидетельствует в пользу безопасности такого рода терапии, поскольку до сих пор не представлены данные о развитии у пациентов опухолей, возникших в связи с лечением [30].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Многообразие возможностей, которыми располагают МСК, определяет их многочисленность и часто противоречивые проявления. МСК секретируют десятки биологически активных соединений: это интерлейкины, хемокины, факторы роста, ингибиторы металлопротеиназ 1-го и 2-го типа. Они обладают выраженными иммуномодулирующими свойствами, способностью к дифференцировке и направленной миграции, секретируют экзосомы, содержащие белки и микро-РНК, с помощью которых осуществляется регулирование сигнальных путей в других клетках. Все это свидетельствует о сложности и необычайной многофункциональности этой клеточной популяции. Более глубокое понимание биологии МСК, а также их роли в возникновении и прогрессировании различных патологических состояний в дальнейшем может стать основой для разработки новых программ лечения гематологических, аутоиммунных и онкологических заболеваний.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бессмельцев С.С. Множественная миелома (патогенез, клиника, диагностика, дифференциальный диагноз). Часть 1 // Клиническая онкогематология. 2013. 6. (3). 237–58.
2. Герасимова Л.П., Дризе Н.И., Лубкова О.Н. и др. Нарушение стромального микроокружения у больных с различными заболеваниями системы крови // Гематол. трансфузиология. 2008. 53. (5). 59–62.
3. Ругаль В.И., Пономаренко В.М., Абдулкадыров К.М. Структурные особенности кроветворного микроокружения при тяжелой апластической анемии // Мед. академ. журн. 2004. 4. (1). 36–41.
4. Чертков И.Л., Гуревич О.А. Стволовая кроветворная клетка и ее микроокружение. М.: Медицина, 1984.
5. Шевела Е.Я., Кулагин А.Д., Тихонова М.А. и др. Апластическая анемия: фенотип и функции мезенхимальных стромальных клеток костного мозга // Гематол. трансфузиология. 2010. 55. (6). 14–21.
6. Шевела Е.Я., Петровский Я.Л., Курганова Е.В. и др. Характеристика мезенхимальных стромальных клеток костного мозга у больных гемобластозами // Гематол. трансфузиология. 2008. 53. (2). 32–37.
7. Attasi Y., Mowla S.J., Ziaee S.A. et al. Oct-4, an embryonic stem cell marker, is highly expressed in bladder cancer // Int. J. Cancer. 2007. 120. 1598–1602.
8. Bacigalupo A., Valle M., Podestà M. et al. T-cell suppression mediated by mesenchymal stem cells is deficient in patients with severe aplastic anemia // Exp. Hematol. 2005. 33. (7). 819–827.
9. Bergfeld S.A., DeClerck Y.A. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells and the tumor microenvironment // Cancer Metastasis Rev. 2010. 29. 249–261.
10. Blau O., Hofmann W.K., Baldus C.D. et al. Chromosomal aberrations in bone marrow mesenchymalstroma cells from patients with myelodysplastic syndrome and acute myeloblastic leukemia // Exp. Hematol. 2007. 35. (2). 221–229.
11. Campioni D., Bardi M.A., Cavazzini F. et al. Cytogenetic and molecular cytogenetic profile of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in chronic and acute lymphoproliferative disorders // Ann. Hematol. 2012. 91. (10). 1563–1577.
12. Campioni D., Lanza F., Moretti S. et al. Functional and immunophenotypic characteristics of isolated CD105(+) and fibroblast(+) stromal cells from AML: implications for their plasticity along endothelial lineage // Cytotherapy. 2003. 5. (1). 66–79.
13. Campioni D., Moretti S., Ferrari L. et al. Immunophenotypic heterogeneity of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells from patients with hematologic disorders: correlation with bone marrow microenvironment // Haematologica. 2006. 91. (3). 364–368.
14. Carlo-Stella C., Tabilio A., Regazzi E. et al. Effect of chemotherapy for acute myelogenous leukemia on hematopoietic and fibroblast marrow progenitors // Bone Marrow Transplant. 1997. 20. (6). 465–471.
15. Chiou S.H., Yu C.C., Huang C.Y. et al. Positive correlations of Oct-4 and Nanog in oral cancer stem-like cells and high-grade oral squamous cell carcinoma // Clin. Cancer Res. 2008. 14. 4085–4095.
16. Flores-Figueroa E., Arana-Trejo R.M., Gutiérrez-Espíndola G. et al. Mesenchymal stem cells in myelodysplastic syndromes: phenotypic and cytogenetic characterization // Leuk. Res. 2005. 29. (2). 215–224.
17. Flores-Figueroa E., Varma S., Montgomery K. et al. Distinctive contact between CD34+ hematopoietic progenitors and CXCL12+ CD271+ mesenchymal stromal cells in benign and myelodysplastic bone marrow // Lab. Invest. 2012. 92. (9). 1330–1341.
18. Garayoa M., Garcia J.L., Santamaria C. et al. Mesenchymal stem cells from multiple myeloma patients display distinct genomic profile as compared with those from normal donors // Leukemia. 2009. 23. (8). 1515–1527.
19. Geyh S., Oz S., Cadeddu R.P. et al. Insufficient stromal support in MDS results from molecular and

functional deficits of mesenchymal stromal cells // *Leukemia*. 2013. 27. (9). 1841–1851.

20. Gibbs C.P., Kukekov V.G., Reith J.D. et al. Stem-like cells in bone sarcomas: implications for tumorigenesis // *Neoplasia*. 2005. 7. 967–976.

21. Hall B., Andreeff M., Marini F. The participation of mesenchymal stem cells in tumor stroma formation and their application as targeted-gene delivery vehicles // *Handb. Exp. Pharmacol.* 2007. 180. 263–283.

22. Ho I.A., Toh H.C., Ng W.H. et al. Human bone marrow-derived mesenchymal stem cells suppress human glioma growth through inhibition of angiogenesis // *Stem Cells*. 2013. 31. (1). 146–155.

23. Hu J., Zhou Z., Shi Sh. et al. Mesenchymal stem-like cells isolated from human esophageal carcinoma and adjacent non-cancerous tissues // *Oncology Letters*. 2013. 5. 179–184.

24. Karnoub A.E., Dash A.B., Vo A.P. et al. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis // *Nature*. 2007. 449. 557–563.

25. Ke C.C., Liu R.S., Suetsugu A. et al. *In vivo* fluorescence imaging reveals the promotion of mammary tumorigenesis by mesenchymal stromal cells // *PLoS. One*. 2013. 8. (7). ID e69658.

26. Khakoo A.Y., Pati S., Anderson S.A. et al. Human mesenchymal stem cells exert potent antitumorigenic effects in a model of Kaposi's sarcoma // *J. Exp. Med.* 2006. 203. 1235–1247.

27. Kidd S., Spaeth E., Dembinski J.L. et al. Direct evidence of mesenchymal stem cell tropism for tumor and wounding microenvironments using *in vivo* bioluminescent imaging // *Stem Cells*. 2009. 27. 2614–2623.

28. Kidd S., Spaeth E., Watson K. et al. Origins of the tumor microenvironment: quantitative assessment of adipose-derived and bone marrow-derived stroma // *PLoS. One*. 2012. 7. (2). ID e30563.

29. Kim J.H., Yoon S.Y., Kim C.N. et al. The Bmi-1 oncoprotein is overexpressed in human colorectal cancer and correlates with the reduced p16INK4a/p14ARF proteins // *Cancer Lett.* 2004. 203. 217–224.

30. Klopp A.H., Zhang Y., Solley T. et al. Omental adipose tissue-derived stromal cells promote vascularization and growth of endometrial tumors // *Clin. Cancer Res.* 2012. 18. (3). 771–782.

31. Kojima S., Matsuyama T., Kidera Y. Plasma levels and production of soluble stem cell factor by marrow stromal cells in patients with aplastic anaemia // *Br. J. Haematol.* 1997. 99. (2). 440–446.

32. Laine S.K., Hentunen T., Laitala-Leinonen T. Do microRNAs regulate bone marrow stem cell niche physiology? // *Gene*. 2012. 497. (1). 1–9.

33. Lechman E.R., Gentner B., van Galen P. et al. Attenuation of miR-126 activity expands HSC *in vivo* without exhaustion // *Cell Stem Cell*. 2012. 11. 799–811.

34. Lin R., Wang S., Zhao R.C. Exosomes from human adipose-derived mesenchymal stem cells promote migration through Wnt signaling pathway in a breast cancer cell model // *Mol. Cell Biochem.* 2013. 383. 13–20.

35. Lin T.M., Chang H.W., Wang K.H. et al. Isolation and identification of mesenchymal stem cells from human lipoma tissue // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2007. 361. 883–889.

36. Liu L.H., Chen H., Chen B. et al. Immunosuppressive effects on T cells mediated by mesenchymal stem cells from patients with myelodysplastic syndrome // *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2008. 16. (2). 299–304.

37. Lopez-Villar O., Garcia J.L., Sanchez-Guijo F.M. et al. Both expanded and uncultured mesenchymal stem cells from MDS patients are genomically abnormal, showing a specific genetic profile for the 5q-syndrome // *Leukemia*. 2009. 23. (4). 664–672.

38. Maeda K., Chung Y.S., Ogawa Y. et al. Prognostic value of vascular endothelial growth factor expression in gastric carcinoma // *Cancer*. 1996. 77. 858–863.

39. McLean K., Gong Y., Choi Y. et al. Human ovarian carcinoma-associated mesenchymal stem cells regulate cancer stem cells and tumorigenesis via altered BMP production // *J. Clin. Invest.* 2011. 121. (8). 3206–3219.

40. Mishra P.J., Mishra P.J., Humeniuk R. et al. Carcinoma-associated fibroblast-like differentiation of human mesenchymal stem cells // *Cancer Res.* 2008. 68. 4331–4339.

41. Natsu K., Ochi M., Mochizuki Y. et al. Allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stromal cells promote the regeneration of injured skeletal muscle without differentiation into myofibers // *Tissue Eng.* 2004. 10. 093–1112.

42. Qiao L., Xu Z., Zhao T. et al. Suppression of tumorigenesis by human mesenchymal stem cells in a hepatoma model // *Cell Res.* 2008. 18. 500–507.

43. Raaijmakers M., Mukherjee S., Guo S.H. et al. Bone progenitor dysfunction induces myelodysplasia and leukemia // *Nature*. 2010. 464. (7290). 852–857.

44. Rajantie I., Ilmonen M., Alminaitte A. et al. Adult bone marrow-derived cells recruited during angiogenesis comprise precursors for periendothelial vascular mural cells // *Blood*. 2004. 104. 2084–2086.

45. Rappa G., Mercapide J., Lorico A. Spontaneous formation of tumorigenic hybrids between breast cancer and multipotent stromal cells is a source of tumor heterogeneity // *Am. J. Pathol.* 2012. 180. 2504–2515.

46. Roccaro A.M., Sacco A., Maiso P. et al. BM mesenchymal stromal cell-derived exosomes facilitate multiple myeloma // *J. Clin. Invest.* 2013. 123. (4). 1542–1555.

47. Roela R.A., Carraro D.M., Brentani H.P. et al. Gene stage-specific expression in the microenvironment

- of pediatric myelodysplastic syndromes // *Leuk. Res.* 2007. 31. (5). 579–589.
48. Rojas M., Xu J., Woods C.R. et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells in repair of the injured lung // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2005. 33. 145–152.
49. Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell // *Blood Cells.* 1978. 4. 7–25.
50. Sekiya I., Larson B.L., Smith J.R. et al. Expansion of human adult stem cells from bone marrow stroma: conditions that maximize the yields of early progenitors and evaluate their quality // *Stem Cells.* 2002. 20. (6). 530–541.
51. Shalapour S., Eckert C., Seeger K. et al. Leukemia-associated genetic aberrations in mesenchymal stem cells of children with acute lymphoblastic leukemia // *J. Mol. Med. (Berl).* 2010. 88. (3). 249–265.
52. Shinagawa K., Kitadai Y., Tanaka M. et al. Mesenchymal stem cells enhance growth and metastasis of colon cancer // *Int. J. Cancer.* 2010. 127. 2323–2333.
53. Spaeth E.L., Dembinski J.L., Sasser A.K. et al. Mesenchymal stem cell transition to tumor-associated fibroblasts contributes to fibrovascular network expansion and tumor progression // *PLoS. One.* 2009. 4. ID e4992.
54. Sun X., Cai H., Qian H. et al. Mesenchymal stem cells isolated from human uterine cervix cancer tissues // *Cell Biol. Int.* 2011. 35. 119–123.
55. Takanami I., Tanaka F., Hashizume T., Kodaira S. Vascular endothelial growth factor and its receptor correlate with angiogenesis and survival in pulmonary adenocarcinoma // *Anticancer Res.* 1997. 17. 2811–2814.
56. Walkley C.R., Olsen G.H., Dworkin S. et al. A microenvironment-induced myeloproliferative syndrome caused by retinoic acid receptor gamma deficiency // *Cell.* 2007. 129. (6). 1097–1110.
57. Wang H., Pan K., Zhang H.K. et al. Increased polycomb-group oncogene Bmi-1 expression correlates with poor prognosis in hepatocellular carcinoma // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2008. 134. 535–541.
58. Wang Z., Tang X., Xu W. et al. The different immunoregulatory functions on dendritic cells between mesenchymal stem cells derived from bone marrow of patients with low-risk or high-risk myelodysplastic syndromes // *PLoS. One.* 2013. 8. (3). ID e57470.
59. Wu Y., Yu J., Zhang L. et al. Hematopoiesis support of mesenchymal stem cells in children with aplastic anemia // *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi.* 2008. 10. (4). 455–459.
60. Xu X., Zhang X., Wang S. et al. Isolation and comparison of mesenchymal stem-like cells from human gastric cancer and adjacent non-cancerous tissues // *Cancer Res. Clin. Oncol.* 2011. 137. 495–504.
61. Yang S.M., Lu S.F., Fei X.M. et al. Change of cytokine expressions on bone marrow mesenchymal stem cells in patients with bone marrow failure syndromes and its significance // *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi.* 2010. 18. (6). 1560–1563.
62. Zhao Z.G., Liang Y., Li K. et al. Phenotypic and functional comparison of mesenchymal stem cells derived from the bone marrow of normal adults and patients with hematologic malignant diseases // *Stem Cells Dev.* 2007. 16. (4). 637–648.
63. Zhao Z.G., Sun L., Wang X.F. et al. Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells derived from the bone marrow in acute leukemia patients // *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi.* 2011. 33. (2). 05–109.
64. Zhao Z., Wang Z., Li Q. et al. The different immunoregulatory functions of mesenchymal stem cells in patients with low-risk or high-risk myelodysplastic syndromes // *PLoS. One.* 2012. 7. (9). ID e45675.
65. Zhang T., Lee Y.W., Rui Y.F. et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote growth and angiogenesis of breast and prostate tumors // *Stem Cell Res. Ther.* 2013. 4. (3). ID PMC3707041.
66. Zhang Y.Z., Zhao D.D., Han X.P. et al. In vitro study of biological characteristics of mesenchymal stem cells in patients with low-risk myelodysplastic syndrome // *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi.* 2008. 16. (4). 813–818.

MESENCHYMAL STROMAL CELLS IN APLASTIC ANEMIA, HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES AND NOT HEMATOLOGICAL TUMORS

**Natalya Levonovna VARTANYAN¹, Stanislav Semenovich BESSMELTSEV²,
Natalya Yurievna SEMENOVA², Viktor Ivanovich RUGAL²**

¹ *Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies
197758, St. Petersburg, Pesochnyiy, Leningradskaya str., bd. 70*

² *Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology
191024, St. Petersburg, 2 Sovetskaya str., bd. 16*

The results of the study on mesenchymal stromal cells (MSC) in aplastic anemia (AA), hemoblastosis and not hematological tumors have been analyzed. The data testifying for the involvement of hematopoietic niches in the pathological process in AA and hematological malignancies as well as the facts confirming that the elements of the microenvironment can be the original cause of hematological diseases have been given.. The analysis of the results of study on the MSC influence on the tumor growth and metastasis has been carried out. The inconsistency of obtained data has been noted. It is shown that MSC can have both stimulating and inhibiting effect, possible mechanisms underlying these processes are discussed. It has been concluded that the better understanding of the MSC biology and their role in the onset and progression of various pathological conditions can become the basis for the development of new programs for the treatment of hematological and oncological diseases.

Key words: mesenchymal stromal cells (MSC), aplastic anemia (AA), hemoblastosis, carcinogenesis, hematopoietic niche, stroma of bone marrow.

*Vartanyan N.L. – candidate of biological sciences, senior researcher of laboratory of hybridoma technology,
e-mail: nvartanian@mail.ru.*

*Bessmeltsev S.S. – doctor of medical sciences, professor, deputy director on scientific work,
e-mail: bsshem@hotmail.com.*

Semenova N.Yu. – biologist, junior researcher of laboratory for the study of leukemia, e-mail: bloodscience@mail.ru

Rugal V.I. – doctor of medical sciences, professor, head of laboratory for the study of leukemia