

НИША СТВОЛОВОЙ КЛЕТКИ

© П. П. Нимирицкий,^{1, 2, *} Г. Д. Сагарадзе,^{1, 2} А. Ю. Ефименко,^{1, 2}
П. И. Макаревич,^{1, 2} В. А. Ткачук^{1, 2}

¹ Кафедра биохимии и молекулярной медицины факультета фундаментальной медицины
Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Москва, 119192, и

² Институт регенеративной медицины Медицинского научно-образовательного центра
Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова, Москва, 119192;

* электронный адрес: nimiritsky@gmail.com

Большинство клеток взрослого организма не способно к постоянному самообновлению в физиологических условиях. Однако с течением времени клеточный состав любой ткани требует обновления, а при восстановлении тканей после повреждения потребность в новых клетках резко возрастает. В постнатальном периоде за эти процессы в организме отвечают стволовые клетки (СК), которые по определению обладают двумя ключевыми свойствами — способностью к самообновлению, т. е. многократному делению без потери недифференцированного состояния, и дифференцировке в определенные типы специализированных клеток (или потентностью). Процесс обновления клеток в ткани должен находиться под строгим контролем; важно, чтобы лишь малая часть клеток организма обладала способностью неограниченно самообновляться и чтобы их функции точно регулировались. С этой целью СК в организме неавтономны, их способность к самообновлению и дифференцировке управляется особым микроокружением, называемым «ниша стволовой клетки». Комплекс СК и ее ниши является функциональной единицей регенерации, т. е. ниша — это своеобразный интерфейс между организмом и СК. Первоначальное представление о нише СК как микроанатомическом компартменте с четко очерченными границами и неизменным влиянием на СК сейчас уступило место представлению о ней как динамичной сумме множества разнородных воздействий. Универсальными компонентами любой ниши являются поддерживающие клетки, внеклеточный матрикс и растворимые биологические факторы. Воздействие каждого из этих компонентов на СК и их потомки гибко меняется в зависимости от потребностей в регенерации. Эти динамичные механизмы управления СК со стороны ниши необходимо тщательно изучать, так как ниша СК за счет своей уникальной функции является перспективной терапевтической мишенью для медицины.

Ключевые слова: ниша стволовой клетки, микроокружение, мезенхимные стромальные клетки, регенеративная медицина

Принятые сокращения: ВКМ — внеклеточный матрикс, ГСК — гемопоэтическая стволовая клетка, МСК — мезенхимная стромальная клетка, СК — стволовая клетка, BMP — костный морфогенетический белок, mTORC1 — комплекс механистической мишени рапамицина-1.

Исторический обзор

В середине XX столетия особое внимание к радиохимии и радиобиологии, обусловленное особенностями политической ситуации в мире, привело к открытию гиперчувствительности к ионизирующему излучению гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) красного костного мозга. Было доказано, что утраченное в результате облучения кроветворение можно восстановить путем трансплантации клеток костного мозга здорового животного. В ставшей классической работе (Becker et al., 1963) было обнаружено, что часть клеток трансплантированного аллогенного костного мозга приживалась в селезенке

облученного реципиента и образовывала колонии, содержащие клетки трех кроветворных ростков и имеющие ярко выраженные признаки клональной природы этих колоний. Таким образом, основой восстановления кроветворения в организме облученного животного являлась способность клеток одного типа (ГСК) восстанавливать функционирующий орган — костный мозг.

При изучении этих процессов *in vitro* исследователи столкнулись с рядом серьезных трудностей, которые в итоге оказались предпосылками для формирования научной идеи о нише СК. В культуре клетки аспирата красного костного мозга оказались неспособными к длительному поддержанию стволовых свойств: в течение 1–2 нед начальный пул способных к пролиферации и дифференцировке клеток полностью истощался. К этой проблеме в

1977 г. вернулась группа под руководством Декстера (Dexter et al., 1977), когда объектом исследования стали адгезирующие негемопозитические клетки, которые остаются на культуральной посуде после 3-недельного культивирования костномозгового аспирата. К этому моменту гемопозитический клеточный компонент полностью истощался, как это было описано ранее. При повторном высевании в эту же истощившуюся культуру свежего аспирата костного мозга время существования ГСК *in vitro* увеличивалось в 7 раз (с 2 до 14 нед) по сравнению с высеванием на чистую чашку Петри. Отсюда следовало, что слой адгезирующих негемопозитических клеток являлся необходимым для того, чтобы ГСК могли поддерживать недифференцированное состояние и пролиферировать (самообновляться). Более того, адгезирующие клетки обладали морфологической гетерогенностью, и основные очаги гемопоза были ассоциированы с гигантскими жировыми клетками (giant fat cells.), как их называли исследователи. Это указывало на то, что негемопозитический клеточный компонент в составе костного мозга необходим для поддержания стволовости ГСК. *In vivo* это было продемонстрировано при исследовании анатомического распределения различающихся по потентности типов ГСК на поперечном срезе бедренной кости мыши (Lord et al., 1975). Оказалось, что дифференцировка ГСК происходит преимущественно в центральных отделах костного мозга, в то время как близость к эндосту создает условия для длительного существования недифференцированных ГСК.

Концептуальное обобщение этих идей было сделано Рэймондом Скофилдом (Schofield, 1978), когда он впервые выдвинул идею о «нише стволовой клетки». Его намерение заключалось в ревизии установившегося мнения о том, что клетки, образующие гемопозитические колонии в селезенке облученного организма-реципиента после трансплантации костного мозга, являются истинными ГСК. С одной стороны, эти клетки действительно способны к очень длительному самоподдержанию и дифференцируются в различные гемопозитические направления по крайней мере в течение около 1000 делений (Harrison, 1975; Dexter et al., 1977). Казалось бы, соблюдены оба критерия СК — самообновление и потентность, однако более тщательное изучение вопроса выявило в популяции клеток, образующих гемопозитические колонии в селезенке, гетерогенность по числу делений, т. е. способности к самообновлению (Siminovitch et al., 1964; Pozzi et al., 1973). При длительных хронических (75 Рад/сут, 45 сут) или единичных сублетальных (450 Рад одновременно) дозах рентгеновского излучения у мышей с пересаженным костным мозгом падала и не восстанавливалась доля колониеобразующих клеток, способных к длительному самообновлению (Hendry, Lajtha, 1972; Chu-Tse, Lajtha, 1975). Кроме того, выделенные из крови колониеобразующие клетки хотя и обладали способностью заселять кроветворные органы другого облученного реципиента и восстанавливать гемопоз, однако потенциал к самообновлению у них был значительно снижен (Gidali et al., 1974). Чтобы объяснить такое несоответствие, Скофилд постулировал неавтономность ГСК и их зависимость от микроокружения, определяющего стволовость находящихся в нем клеток; это микроокружение получило название «ниша» (Schofield, 1978). Ключевые положения гипотезы Скофилда можно кратко сформулировать следующим образом.

1. СК локализованы в определенных микроанатомических локациях, где они регулируются и неавтономны.

2. Условия в нише поддерживают самообновление СК. До тех пор пока клетка находится внутри ниши, ее созревание заблокировано и она остается стволовой вне зависимости от числа претерпеваемых делений.

3. Неограниченным потенциалом для самообновления СК обладает только в нише. При выходе из-под влияния нишевого микроокружения клетка теряет способность к неограниченному самообновлению.

4. Условия в нише индуцируют стволовость. Если после выхода из ниши СК или ее ближайшие потомки возвращаются в нишу, в этих клетках восстанавливается способность к неограниченному самообновлению, т. е. они вновь становятся стволовыми.

Кроме того, в заключительной части своей работы Скофилд делает предположение (впоследствии подтвердившееся) о том, что функция ниши может быть шире, чем поддержание и индукция стволовости, и постулирует, что компоненты ниши, возможно, обеспечивают защиту СК от накопления мутаций.

Компоненты микроокружения ниши

Для большинства тканей характерны общие принципы функционирования СК. Их пролиферация и дифференцировка управляются сигналами двух типов — внешними (системными) и локальными (от микроокружения) (Scadden, 2006). Впрочем, зачастую деление факторов имеет весьма условный характер (см. рис. 2).

Поддерживающие клетки ниши. Важнейшим компонентом ниши являются формирующие ее клетки, часто их называют поддерживающими. Набор этих клеток зависит от типа ниши, органа и ткани, и каждый из них вносит свой вклад в ее функционирование. Например, ниша ГСК образована субпопуляцией остеобластов, выстилающих внутреннюю поверхность эндоста и несущих на поверхности N-кадгерин. По мере выхода из ниши потомков ГСК формируются гемопозитические прогениторы, мигрирующие в сторону сосуда, которые, перемещаясь внутри стромы, взаимодействуют с макрофагами, стромальными клетками костного мозга и эндотелиоцитами уже в нише другого типа — периваскулярного (Wright et al., 2001).

Следует отметить, что большинство ниш СК включает в себя как один из поддерживающих компонентов клетки мезенхимного происхождения (Kfoury, Scadden, 2015). Функционирование мезенхимных стромальных клеток (МСК) в нише часто является критичным для поддержания СК, так как они участвуют в создании специфического микроокружения, регулирующего поведение СК. В этом ключевую роль играют различные регуляторные молекулы, секретируемые МСК. МСК также участвуют в ремоделировании внеклеточного матрикса (ВКМ) и базальной мембраны, о важности которых будет сказано ниже. Это свойство МСК реализуется за счет продукции белков стромы, а также матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов.

В нише волосяного фолликула МСК участвуют в активации СК (Klimczak, Kozłowska, 2016). В нише сперматогенных СК (ССК) обнаружены клетки, похожие по свойствам на МСК, которые участвуют в поддержании и регуляции ниши ССК. Данные клетки экспрессируют большинство поверхностных маркеров МСК, адгезируют к пластику, а также дифференцируются в остео-, хондро- и адипогенном направлениях (Smith et al., 2014). Интерес-

но, что в секрете МСК, выделенных из жировой ткани, обнаруживают ключевые для сперматогенеза факторы: нейротрофный фактор глии (GDNF), основной фактор роста фибробластов-2 (bFGF-2), а также член семейства костных морфогенетических белков-4 (BMP-4), рецепторы к которым экспрессируют ССК. Секретом МСК может поддерживать выживаемость клеток Сертоли и Лейдига, участвующих в поддержании и регуляции ниши СК сперматогенной ткани (Kadam et al., 2017).

МСК играют ключевую роль в поддержании клеточного гомеостаза такой быстро обновляющейся ткани, как эпителий тонкой кишки (Chee et al., 2015). Формирование структуры и самообновление в этой системе являются результатом двухстороннего межклеточного взаимодействия эпителиальных и стромальных клеток посредством таких групп факторов, как Wnt, BMP и Hedgehog. Секретируемые зрелыми эпителиальными клетками ворсинок белковые факторы SHN («звуковой еж») и ИНН (гомолог белка «Индийский еж») воздействуют на клетки стромы, определяя их неравномерное распределение вдоль оси крипты—ворсинка (Van den Brink et al., 2004; Madison et al., 2005). Так, при блокировании этих факторов в стромах ворсинок обнаруживаются миофибробласты, которые в норме ассоциированы с криптой, результатом такой неправильной локализации клеток стромы являются патологически высокий уровень пролиферации в ворсинке и нарушенная дифференцировка энтероцитов (Van Dorp et al., 2009). Стромальные клетки внутри ворсинок отличаются высокой экспрессией факторов BMP, в то время как стромальные клетки, ассоциированные с криптой, секретируют антагонисты BMP: Noggin, Gremlin1/2 и Chordin-like 1 (Kosinski et al., 2007). Благодаря этому вдоль оси крипты—ворсинка формируется градиент BMP-сигналов, который максимален в ворсинке и блокирован в крипте. BMP-опосредуемые сигнальные пути в эпителиальных клетках имеют ингибирующее влияние на сигнальные пути Wnt, что приводит к блокированию пролиферации и дифференцировке энтероцитов вдоль оси повышения уровня BMP-сигнала, т. е. в направлении вершины ворсинки (He et al., 2004; Reynolds et al., 2014). Стромальные клетки крипты, в первую очередь популяция CD34⁺/Grp38⁺/α-SMA⁻, помимо антагонистов BMP секретируют еще и лиганды рецепторов Wnt (Wnt-2b и Wnt-3), а также агонисты Wnt-опосредованных сигнальных путей, действующие через LRG-рецепторы — R-спондины (RSPO-1) (Kabiri et al., 2014; Stzepourginski et al., 2017). Рецепторы Wnt и R-спондинов представлены на СК в нише, а активация сигнального пути Wnt обеспечивает самообновление СК и блокирует их дифференцировку (Fevr et al., 2007; Lei et al., 2014).

Межклеточные контакты. В нише многие регуляторные механизмы основаны на межклеточных контактах, формируемых между СК и поддерживающими нишу клетками. Первичной функцией ниши является физическое удержание в себе СК. Межклеточные контакты, например, с помощью кадгериновых молекул между стволовыми и поддерживающими клетками физически закрепляют СК и управляют их внутренними процессами. Например, переключение между самообновлением и дифференцировкой ГСК может быть связано с переключением активности Wnt/β-катениновых сигнальных путей с неканонического на канонический. Так, утрата N-кадгеринового контакта между остеобластом и ГСК приводит к потере стволовости ГСК в результате активации канонического Wnt/β-катенинового пути (Calvi et al.,

2003). В ГСК при потере стабильности кадгериновых комплексов межклеточных контактов нарушается связь внутриклеточных доменов с молекулами β-катенина, что приводит к его быстрому накоплению в цитоплазме и транслокации в ядро. Там β-катенин активирует транскрипцию в комплексе с факторами из группы TCF/LEF, что в конечном итоге приводит к выходу ГСК из ниши и потере ее стволовости. С другой стороны, непосредственный контакт между остеобластом и ГСК, удерживаемой в нише, сопряжен с активацией неканонического Wnt-пути. Она поддерживается взаимодействием опять же N-кадгерина со стороны остеобласта с белками Flamingo и Frizzled-8 на мембране ГСК, что приводит к поддержанию ее самообновления (Sugimura et al., 2012). Таким образом, именно потеря СК стабильного контакта с поддерживающей клеткой зачастую является активирующим ее первичным триггером.

Внеклеточный матрикс. Важнейшим компонентом микроокружения ниши СК является ВКМ. Белки ВКМ, основным источником которых являются стромальные клетки ниши, способны модулировать стволовость, пролиферацию и дифференцировку СК как прямым, так и косвенным способом. Структура ВКМ обеспечивает адекватное расположение клеток микроокружения. Такие биологические процессы, как миграция клеток, поляризация и деление клеток микроокружения, невозможны без адгезии к ВКМ (Gattazzo et al., 2014). Кроме того, привлеченные в область повреждения клетки могут адгезировать к созданному стромальными клетками ВКМ, что может привести к долгосрочным изменениям микроокружения в области повреждения.

ВКМ является не стабильным, а весьма динамичным компонентом микроокружения, и его состояние отражает функциональное состояние ткани и находящейся в ней ниши (Gattazzo et al., 2014). При этом матрикс ниши СК обладает тканевой специфичностью, обеспечивающей направление дифференцировки потомков СК (Watt, Huck, 2013). Белки ВКМ напрямую взаимодействуют с рецепторами на поверхности СК, регулируя их функции. Связывание интегриновых молекул адгезии на поверхности СК с белками ВКМ способно определять их хоуминг, а также поддерживать или выключать стволовость. Так, повышение уровня интегрин α_vβ₃ на поверхности СК эпителия молочных желез приводит к активации СК, клональной экспансии прекурсоров и росту альвеол при подготовке к лактации (Desgrosellier et al., 2014).

Важной функцией ВКМ в нише является участие в разграничении микроанатомических компартментов. Базальная ламина ограничивает миграцию клеток и диффузию растворимых факторов, создавая возможность фокусировки нишевого влияния в определенной области (Fujiwara et al., 2011). Гликозилирование белков ВКМ приводит к удержанию и насыщению микроокружения СК определенными ростовыми факторами, концентрации которых таким образом придается определенный градиент (Brizzi et al., 2012). Такое действие факторов роста, презентированных в связанном с ВКМ состоянии, называется неканоническим. Многие другие молекулы также могут быть депонированы в матриксе, при этом высвобождение и функционирование этих иммобилизованных факторов происходят при протеолитическом расщеплении ВКМ в процессе ремоделирования ткани, особенно важно при воспалении и регенеративном процессе (Stamenkovic, 2003). Именно этим объясняется, по-видимому, тканеспецифичное влияние ВКМ из децеллюляриро-

ванных тканей со сходным составом матриксных компонентов на дифференцировку определенных типов СК.

Не только состав, но и структура ВКМ может иметь значение для регуляции миграции клеток, симметричности их деления, а также определять распространение механических воздействий по ткани, что особенно важно в нишах СК тканей, несущих опорно-двигательную функцию. Так, в регуляции сателлитных клеток скелетных мышц показана роль модуля и вектора распространения механических напряжений (Gilbert et al., 2010). Это может быть связано с тем, что фокальные контакты, поляризующие клетки путем модификации цитоскелета и активации внутриклеточных путей сигнализации, могут по-разному функционировать в зависимости от эластичности матрикса и его механических свойств. Эластические свойства ВКМ могут определять дифференцировку СК в определенном направлении (Engler et al., 2006; Trappmann et al., 2012). Этот аспект важно учитывать при моделировании тканевых ниш СК *in vitro*, так как на культуральном пластике крайне сложно воссоздать эластичность и подвижность нативного ВКМ, а передача механического напряжения в таких системах отсутствует.

Секретируемые регуляторные компоненты. Растворимые регуляторные факторы — еще один компонент, определяющий микроокружение в нише. Основным источником паракринных воздействий (на короткие дистанции), влияющих на судьбу СК, являются поддерживающие стромальные клетки ниши. В первую очередь следует упомянуть Wnt/ β -катениновый сигнальный путь, семейство факторов BMP, растворимые формы лигандов Notch, например Jagged-1, различные факторы роста — ангиопоэтин-1, фактор роста фибробластов (FGF), инсулиноподобный фактор роста (IGF), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), трансформирующие факторы роста (TGF- α и β) и фактор роста, полученный из тромбоцитов (PDGF). Наибольшей консервативностью и специфичностью действия именно в нишах отличаются Wnt и BMP — системы, которые отвечают за функционирование ниш и самообновление СК как у позвоночных, так и у беспозвоночных. Например, BMP-4 функционирует как фактор, блокирующий самообновление в нише СК эпителия кишечника (He et al., 2004), но при этом поддерживающий его в гемопоэтической нише (Goldman et al., 2009), что иллюстрирует тот факт, что действие одного и того же паракринного фактора может различаться в зависимости от ткани. В нише СК в криптах кишечника активация путей Wnt способствует самообновлению и пролиферации СК, в то время как в нишах волосяного фолликула и нейральных СК активация этого сигнального пути приводит к стимуляции дифференцировки (Miyoyama et al., 2004; Pinto, Clevers, 2005; Rabbani et al., 2011). В большинстве тканей Notch, существующий в форме как поверхностной, так и растворимой молекулы, поддерживает СК в недифференцированном состоянии, однако в нише эпителия тонкой кишки этот фактор определяет дифференцировку энтероцитов в сторону всасывающих клеток (Chee et al., 2015).

Во многих исследованиях показано, что стромальные клетки как ключевой клеточный компонент ниш СК способны поддерживать состав микроокружения и функционирование ниши благодаря секреции различных цитокинов и факторов роста. Посредством этих сигналов МСК могут обеспечивать как регуляцию поведения клеток микроокружения ниши, так и привлечение дополнительных клеток при повреждении ткани (Kalinina et al., 2015).

Об определяющей морфогенез и тканевой гомеостаз функции стромальных клеток в эпителии тонкого кишечника уже было упомянуто выше. Далее МСК при сокультивировании с остеобластами альвеолярного отростка *in vitro* стимулируют хемотаксис остеобластов. МСК секретируют множество хемоаттрактантов для остеобластов, однако ключевым в данной модели является VEGF. Сокультивирование МСК с остеобластами в присутствии ингибитора сигнализации от рецептора VEGF нарушает хемотаксис остеобластов (Proksch et al., 2015). Таким образом, МСК способны привлекать в область повреждения клетки пациента, которые уже непосредственно обеспечивают регенерацию ткани.

В модели регенерации кости мыши было обнаружено, что МСК человека, имплантированные вместе с формирующей костную ткань ВКМ, стимулируют прорастание сосудов в матрикс, причем сосуды обнаруживаются спустя 2 мес после имплантации матрикса. Однако стоит отметить, что имплантированные МСК в данной модели полностью элиминируются уже через 1 мес после трансплантации ВКМ. Биоинформатический анализ цитокинов секрета МСК в данной модели выявил преобладание таких функций цитокинов, как способность активировать ангиогенез, пролиферацию и хемотаксис клеток. Результаты анализа функций цитокинов секрета МСК, по крайней мере отчасти, подтверждают вклад секрета МСК в долгосрочные регенеративные эффекты *in vivo* (Todeschi et al., 2015).

Помимо формирования ВКМ, секреции факторов роста и цитокинов МСК могут обеспечивать долговременные регенеративные эффекты с помощью секреции внеклеточных везикул. В частности, внеклеточные везикулы содержат множество микро-РНК, способных регулировать трансляцию в клетках-мишенях. Влияние на процессы трансляции клеток-мишеней может способствовать регенерации тканей. В частности, важной клинической задачей является поддержание адекватного заживления кожных ран. Нередко заживлению крупных кожных ран способствует интенсивное рубцевание пораженной области, что нарушает нормальное восстановление кожных покровов. Чрезмерное рубцевание обеспечивается миофибробластами, которые активно участвуют в сокращении площади поверхности повреждения. Известно, что МСК способны стимулировать регенерацию кожных покровов. Одним из регенераторных механизмов МСК является воздействие на фибробласты, предотвращающее их дифференцировку в миофибробласты. Основным вкладом в подавление дифференцировки фибробластов вносят именно внеклеточные везикулы МСК. При анализе компонентов внеклеточных везикул было выявлено, что ключевыми активными компонентами внеклеточных везикул являются регуляторные микро-РНК. Таким образом, посредством секреции внеклеточных везикул, несущих в своем составе микро-РНК, МСК способны направлять поведение фибробластов в сторону обеспечения нормального заживления ран (Fang et al., 2016).

Существуют и другие данные об участии микро-РНК внеклеточных везикул МСК в поддержании множества регенеративных процессов *in vitro* и *in vivo* (Nakamura et al., 2015; Liang et al., 2016). Интересной особенностью внеклеточных везикул МСК является транспорт множества белков, функционирующих внутриклеточно (Pires et al., 2016). Например, внеклеточные везикулы МСК транспортируют ферменты-деубиквитиназы. Попадание деубиквитиназы в клетку-мишень может изменить

процессы утилизации функциональных белков, а также изменить секреторную активность клетки. Также внеклеточные везикулы МСК транспортируют белки теплового шока, в частности Hsp27. Этот белок поддерживает выживание клеток в условиях стресса. Hsp27 является анти-апоптотическим белком, так как препятствует активации каспаз посредством секвестрирования цитохрома *c* и предотвращения сборки апоптосомы (Garrido et al., 2006). Таким образом, МСК способны регулировать различные клеточные процессы посредством везикулярного транспорта белков, функционирующих внутриклеточно, перенос которых в клетку-мишень может повлиять на их регенеративный потенциал при повреждении. В свете описанных выше данных о потенциале МСК как клеток, оркестрирующих многие взаимодействия в нише, становится яснее наличие терапевтического эффекта этих клеток именно за счет их секреторной активности, а не пролиферации и дифференцировки.

Нейроэндокринные факторы. Важное значение в функционировании ниш СК могут иметь нейроэндокринные влияния. Например, давно известно влияние как мужских так и женских половых гормонов на рост, развитие и регенерацию тканей. Так, СК молочных желез активируются и переходят к клональной экспансии под действием прогестерона (Joshi et al., 2010). У человека количество мышечных сателлитных клеток коррелирует с уровнем вводимого экзогенно тестостерона (Sinha-Hikim et al., 2003).

Нейромедиаторные сигналы имеют критически важное значение в нишах нейральных СК в мозге, например катехоламиновые и серотониновые сигналы индуцируют пролиферацию нейральных клеток в гиппокампе (Sonpaver, Notti, 2008). Нейральные воздействия имеют действие и за пределами нервной системы. В первую очередь это локальный уровень катехоламинов (адреналина и норадреналина) и ацетилхолина, регулируемый центральной нервной системой (ЦНС) посредством выброса специфических нейромедиаторов из локальных окончаний нервных клеток. Например, хорошо известно подчиняющееся циркадному ритму изменение выхода ГСК и их потомков в циркуляцию сопряжено с изменением уровня адренергической активации от ЦНС в течение суток. Окончания нейронов симпатической системы высвобождают норадреналин и рецептируют МСК костного мозга, что приводит к уменьшению секреции ими хемокина CXCL12, аттрактирующего ГСК в нишу (Mendez-Ferrer et al., 2010).

В исследованиях на МСК, выделенных из жировой ткани, также удалось обнаружить некоторые катехоламиновые влияния, которые могут иметь значение в функции этих клеток в качестве организаторов стромы. Так, действуя на МСК, выделенные из жировой ткани через β -адренорецепторы и цАМФ-зависимый сигнальный каскад, норадреналин вызывает помимо быстрых эффектов в виде изменения секреции цитокинов еще и отложенные эффекты. Он влияет на чувствительность МСК к самому норадреналину, через 6 ч после воздействия вызывая переключение с цАМФ-зависимых сигнальных каскадов на кальцийзависимые. В результате воздействия норадреналина на клетки происходит понижение уровня экспрессии β -адренорецепторов и существенное повышение экспрессии (более чем в 3 раза) α 1A-адренорецепторов. Это изменение ассоциировано с повышением чувствительности МСК к норадреналину в 5 раз и увеличением в 2.5 раза числа клеток среди популяции в культуре, отвечающих

на норадреналин повышением внутриклеточного уровня кальция. Такое же переключение норадреналинзависимой сигнализации наблюдается при стимуляции МСК серотонином, который при действии на МСК также повышает внутриклеточный уровень цАМФ, но не гистамина или аденозина, основным эффектом которых при действии на МСК жировой ткани, несмотря на наличие в МСК Gs-ассоциированных изоформ рецепторов, является понижение уровня цАМФ через Gi-ассоциированные рецепторы (Tyurin-Kuzmin et al., 2016).

Низкомолекулярные факторы, метаболический статус ниши. Свою роль в регуляции ниш СК играют также низкомолекулярные растворимые вещества, такие как глюкоза, кислород, ионы натрия, калия и кальция. Так, например, для ниши ГСК характерными являются низкое парциальное напряжение кислорода и высокий уровень кальция в межклеточном пространстве (Eliasson, Jonsson, 2010). Локальный уровень O_2 , к которому экспонируется СК, может определять ее судьбу и созревание (Zipori, 2007). Имеются основания предполагать наличие более глубокой, эволюционно обусловленной связи между локальным низким парциальным давлением O_2 в нише и собственно стволовостью клеток, находящихся в ней (Ivanovic et al., 2016). Возможно, это позволяет уменьшить повреждающее влияние на СК активных форм кислорода в ткани (Jang, Sharkis, 2007). Значительное количество экспериментальных данных свидетельствует о том, что гипоксия поддерживает стволовые свойства клеток *in vivo* (Arai, Suda, 2007) и *ex vivo* (Ivanovic et al., 2016). Культивация МСК при острой гипоксии (1 % O_2) в течение 48 ч стимулировала повышение экспрессии генов множества паракринных факторов, связанных с ангиогенезом. Такие клетки имели более выраженный ангиогенный потенциал в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Даже МСК, полученные от старых доноров, для которых ранее было показано ослабление регенеративного потенциала, при кондиционировании в гипоксических условиях улучшали свои характеристики как стволовые клетки (Efimenko et al., 2011). В похожих условиях (1–3 % O_2) было показано, что МСК жировой ткани в условиях гипоксии быстрее пролиферируют и обладают лучшим дифференцировочным потенциалом (Choi et al., 2014; Fotia et al., 2015). При культивировании в гипоксических условиях СК волосяного аппарата внутреннего уха (при 1 % O_2) у этих клеток изменялся метаболический статус, повышался уровень маркеров стволовости, а также значительно улучшалось их тканеинженерное качество — способность к формированию нейросфер (Chen et al., 2015).

Другой важнейший для СК параметр микроокружения — это уровень питательных веществ, в первую очередь глюкозы и аминокислот. Вместе с уровнем кислорода эти параметры во многом определяют доминирующий способ метаболического обеспечения клетки энергией. Хорошо известно, что СК в покоем состоянии, а также быстро делящиеся СК *in vitro* метаболизируют глюкозу посредством гликолиза, экскретируя лактат, при этом окислительное фосфорилирование и активность митохондрий в таких клетках поддерживаются на низком уровне. В то же время большинство зрелых специализированных клеток организма используют и гликолиз, и окислительное фосфорилирование для получения энергии и метаболитов. Это различие отражается на количестве и строении митохондрий в клетках. Для СК характерны фрагментированные, мелкие, округлые и малоактивные

митохондрии. В процессе дифференцировки клеток митохондрии увеличиваются в размерах, сливаются, приобретают более разветвленную форму и сложную внутреннюю структуру, повышается их респираторная активность (Chen, Chan, 2017).

Долгое время считалось, что изменение метаболического статуса СК при их дифференцировке — это следствие самой дифференцировки, результат изменения метаболических потребностей клетки. Однако есть основания предполагать, что активация митохондриального окислительного фосфорилирования является каузальным процессом в течение самых ранних стадий образования из СК прекурсоров. Например, при адипоцитарной дифференцировке МСК повышение активности митохондрий происходит на ранних стадиях дифференцировки, причем генерация активных форм кислорода III комплексом митохондриальной дыхательной цепи является необходимым условием для индукции и протекания дифференцировки (Tormos et al., 2011). Активация митохондриальной дыхательной цепи необходима не только на ранних стадиях созревания СК, но и для морфогенеза тканей. Так, активные формы кислорода необходимы для функционирования как Notch-зависимого, так и β -катенинзависимого путей сигнальной трансдукции, которые определяют дифференцировку эпителиальных СК в коже соответственно в эпидермальном направлении и в направлении клеток волосяного фолликула (Hamanaka et al., 2013).

Интересным является переключение метаболического статуса СК в крипте тонкого кишечника, при котором ключевым является именно метаболический, нутриентный статус микроокружения. Показано, что клетки Панета, относящиеся к поддерживающим клеткам этой ниши, осуществляют гликолитическое расщепление глюкозы. Лактат, который в результате насыщает микроокружение СК, обеспечивает поддержание в СК высокого уровня окислительного фосфорилирования, что определяет повышение уровня активных форм кислорода, которые активируют MAPK p38 (Rodriguez-Colman et al., 2017). В этом исследовании было показано, что именно такое, странное на первый взгляд разделение метаболических функций между СК и клеткой микроокружения обеспечивает высокий регенеративный потенциал СК, а нарушение гликолиза в клетках Панета или окислительного фосфорилирования в СК основания крипты приводит к нарушению функции СК, снижению регенеративных способностей. Кажущееся противоречие с концепцией о взаимосвязи между стволовым состоянием и низкой активностью окислительного фосфорилирования можно разрешить, если принять во внимание, что в ткани могут находиться различные по степени активированности СК с различным функциональным статусом (Visvader, Clevers, 2016). Те клетки Lgr5+, которые в данном исследовании однозначно атрибутированы СК, возможно, являются активированной частью популяции СК в крипте. Например, именно активность MAPK может быть переключателем СК крипты кишечника из состояния покоя в активированное состояние (Basak et al., 2017).

Показано, что переключением метаболических путей активация окислительного фосфорилирования и перестройка митохондриального аппарата клетки связаны с активностью фактора комплекса механистической мишени рапамицина-1 (mechanistic target of rapamycin complex 1, mTORC1) (Garcia-Prat et al., 2017). С его активностью связывают феномен, объединяющий свойства микроокружения СК и ее регенеративный потенциал. Известно,

что диета со сниженной калорийностью при условии сбалансированности по витаминам и незаменимым элементам питания удлинит жизнь некоторых многоклеточных организмов, снижая вероятность ассоциированных со старостью патологий. Одним из способов такого действия может являться модуляция микроокружения СК. Например, низкокалорийная диета увеличивает как количество сателлитных клеток в скелетной мускулатуре мышцей, так и регенеративный потенциал сателлитных клеток при трансплантации. Более того, у мышцей, которые жили при низкокалорийной диете, улучшались и условия в микроокружении этих СК. Мышцы, живущие на низкокалорийной диете, были не только лучшими донорами СК, но и лучшими реципиентами, более эффективно принимали СК при трансплантации после получения травмы (Cerletti et al., 2012). В модели регенерации кишечного эпителия был продемонстрирован возможный механизм, определяющий благотворное влияние низкокалорийной диеты на количество и качество СК в этой ткани, который определяется именно изменениями в нише. Снижение калорийности пищи приводит к снижению активности mTORC1, но не в СК, а в клетках Панета, формирующих нишу. Снижение активности этого фактора определяет более высокий уровень экзофермента антигена костной стромы-1 (Bst1), вследствие чего в межклеточном пространстве происходит повышение концентрации особого паракринного фактора — циклической АДФ-рибозы. Этот фактор воздействует на СК в нише и определяет повышение их способности к самообновлению (Yilmaz et al., 2012). В недавнем исследовании было показано, что это повышение потенциала к самообновлению связано с активностью в СК деацетилазы SIRT1, которая повышается в ответ на повышение уровня циклической АДФ-рибозы в нише, а также с активностью комплекса mTORC1, уровень которого в самих СК не зависит от калорийности диеты (Igarashi, Guarente, 2016). Иными словами, здесь именно ниша является посредником между физиологическим состоянием всего организма и СК, которая сама по себе нечувствительна к диете.

Общие принципы функционирования ниши СК

Постнатальные тканеспецифичные СК большинства тканей в физиологических условиях находятся в покое (от англ. «quiescence») состоянии. Особенностью этого состояния является нахождение клеток в G₀-фазе клеточного цикла, при этом не происходит дифференцировки, а сами клетки экспрессируют маркеры стволовости (Rumman et al., 2015). В отличие от терминально дифференцированного состояния специализированных клеток, тоже характеризующегося остановкой клеточного цикла, СК в состоянии покоя постоянно обладают возможностью войти в клеточный цикл и пролиферировать. По современным представлениям, микроокружение ниши обеспечивает как поддержание СК в покое состоянии, так и выход из него. Так как для обеспечения эффективности такого воздействия необходим прямой контакт клеток и компонентов ниши, выход СК из-под ее воздействия является необходимым условием переключения их программы и вовлечения в регенерацию и обновление тканей.

Показаны как минимум три способа «выхода» СК из ниши: 1) активная миграция СК, 2) асимметричное деле-

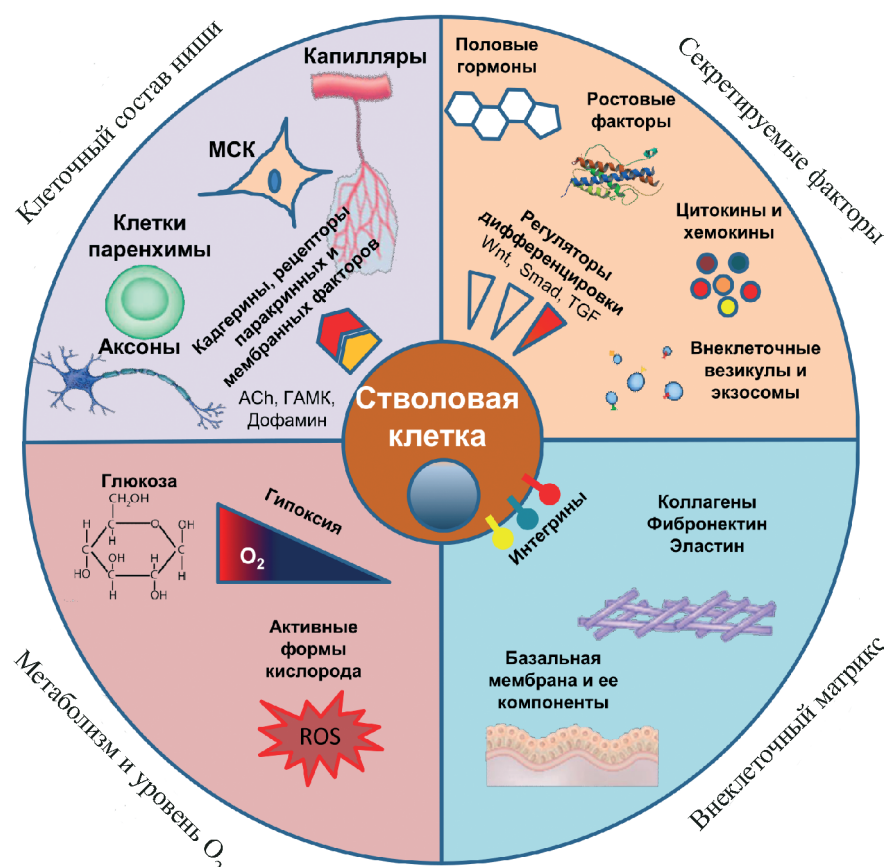


Рис. 1. Многообразие компонентов микроокружения в нише стволовой клетки. По: Lane et al., 2014, с изменениями.

ние СК (в этом случае одна из двух дочерних клеток оказывается за пределами ниши) и 3) «миграция» самой ниши либо переключение ее функционального состояния.

Выход потомков СК из-под влияния ниши обеспечивается в том числе снижением экспрессии молекул клеточной адгезии и хемокиновых рецепторов, ответственных за удержание СК в нише. Например, в костном мозге факторы, поддерживающие стволовость и состояние покоя ГСК, экспрессируются множеством типов клеток в нише: и мезенхимные перициты, и остеобласты эндоста экспрессируют CXCL12 и ангиопоэтин-1, являющиеся хемоаттрактантами ГСК. Уменьшение экспрессии этих факторов или их рецепторов приводит к выходу ГСК из ниши, миграции и созреванию.

Следует отметить, что за последнее десятилетие в понятии «ниши СК» произошли концептуальные изменения. В этом сыграл ключевую роль Дэвид Скадден (Scadden, 2006) — гематолог, профессор Гарвардского университета и директор института регенеративной медицины Главного госпиталя Массачусетса, с чьим именем связано развитие классических положений гипотезы Р. Скоффилда, сформулированной в 1978 г. Если ранее под нишами понимали стабильные и четко различимые микроанатомические образования, то, по современным представлениям, нишу СК следует рассматривать как динамическую совокупность множества воздействующих на СК факторов, которую не всегда можно локализовать (Ferraro, 2010). Ниша включает в себя тканевое микроокружение как континуум условий в строме, в котором при различных сочетаниях факторов появляются гибкие усло-

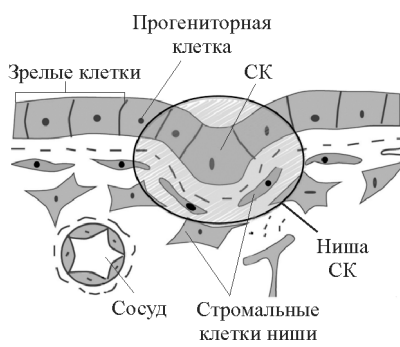
вия для поддержания клеток на разных стадиях дифференцировки и (большую часть времени) в состоянии покояющейся СК. Тканеспецифичное сочетание таких условий микроокружения и определяет нишу резидентных СК данной ткани. Важным следствием такого динамизма является возможность транзитного формирования нужных условий в разных местах стромы, поэтому выход СК из поддерживающей стволовость ниши не обязательно связан с миграцией или ее делением, но может быть обусловлен «миграцией» фокуса воздействия факторов микроокружения (рис. 1). Таким образом, динамическая концепция функционирования ниши СК позволяет рассматривать ее как регулируемую единицу регенерации. Кроме того, наличие у нее чувствительности к внешним стимулам говорит о том, что ниша является перспективной терапевтической мишенью в регенеративной медицине (Lane et al., 2014).

Ниши СК можно разделить на два типа: 1) стромальные и 2) эпителиальные (см. таблицу; рис. 2).

Стромальный тип ниши способен развиваться и существовать без нахождения в нем СК. Например, в эмбриогенезе мигрирующие ГСК к концу эмбриональной стадии развития «оседают» в своих нишах костного мозга, которые были подготовлены к этому еще до появления в своем составе ГСК (Tavian, Peault, 2005). Наиболее хорошо изученным типом стромальных ниш СК является гемопоэтическая ниша. После истощения пула СК стромальные ниши способны к самоподдержанию и могут принимать новые клетки.

В нише стромального типа возможно существование широкой стромальной зоны, поддерживающей стволо-

Сравнение свойств ниш стромального и эпителиального типа

Свойство	Стромальный тип ниши	Эпителиальный тип ниши
	 Стромальные клетки ниши (МСК) СК Градиент действия ниши Прекурсорная клетка Кровеносный сосуд	 Прогениторная клетка Зрелые клетки СК Ниша СК Сосуд Стромальные клетки ниши
Геометрия	Сложно различимые и условные границы, СК находятся среди стромы вместе с другими клетками	Четко различимая локализация, стромальные клетки отделены от СК базальной мембраной
Изменчивость воздействий на СК	Высокая (динамичная ниша)	Низкая (стабильная ниша)
Превалирующий тип деления СК	Симметричный стохастический	Асимметричный
Способ выхода СК из ниши	Выход из ниши с помощью активной миграции СК и изменения свойств самой ниши	Выход из ниши одной из дочерних клеток вследствие асимметричного деления СК
Зависимость от наличия в нише СК	Формируется до заселения; может существовать без СК; могут формироваться факультативные ниши	Формируется совместно и одновременно с появлением в них СК; СК всегда присутствует в нише
Характер воздействия на СК	Градуальное воздействие на группы СК и прекурсоров	Сфокусированное воздействие на единичные СК
Примеры	Ниша ГСК, периваскулярные ниши МСК	Ниша СК тонкого кишечника в крипте, ниша сателлитных клеток скелетной мускулатуры

вость, поэтому СК способны делиться симметрично, что может приводить к накоплению СК или ранних прекурсоров дифференцированных клеток. Затем уже под действием внешних факторов при переключении состояния целой ниши или ее части происходят выход накопленных клеток из ниши и их дифференцировка. Ниши стромального типа могут быть более динамичными, фа-

культативными, т. е. существующими как сумма определенных условий. Например, несмотря на то что костный мозг — основная локализация ниш ГСК, известно, что при беременности, инфекционных заболеваниях или нарушениях гемопоэза могут появляться экстрамедуллярные ниши ГСК в печени и селезенке (Crane et al., 2017).

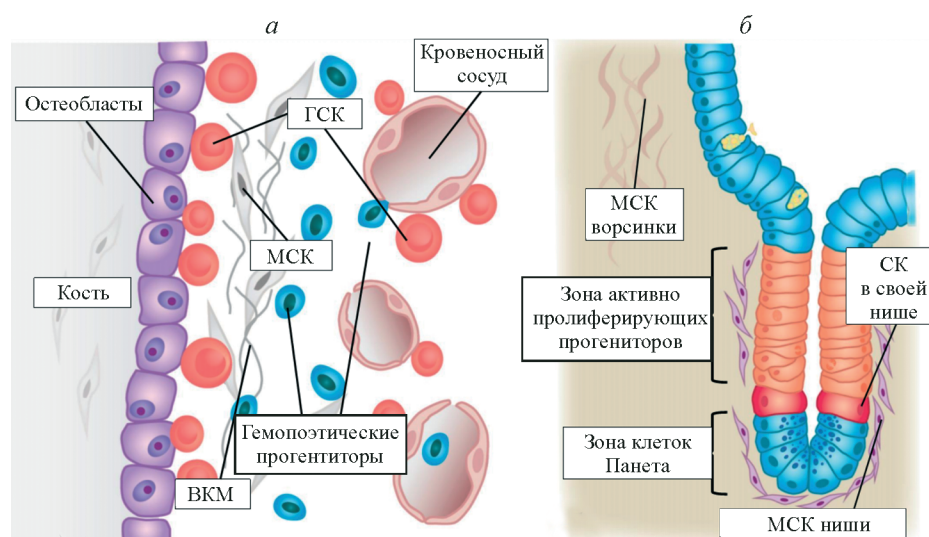


Рис. 2. Пример ниши стромального (а) и эпителиального (б) типов.

а — ниша ГСК костного мозга, б — ниша СК тонкого кишечника в крипте.

По: Moore, Lemishka, 2006, с изменениями.

Эпителиальный тип ниши характеризуется особой архитектурой — своеобразной слоистостью. Под этим понимают структуру, в составе которой СК непосредственно контактируют с дочерними клетками и базальной мембраной, а через нее и со стромальным компонентом. Поддержание стволовости СК опосредовано влияниями, передающимися через базальную мембрану и локализованными в конкретном ее участке (Fujiwara et al., 2011).

Уход дочерних клеток СК из-под влияния стромы происходит в таких нишах в силу асимметричного деления СК, при этом дочерняя клетка, которой суждено дифференцироваться, изначально появляется со стороны, противоположной строме. Сама асимметрия между двумя дочерними клетками в такой нише обусловлена непосредственным контактом между СК и мембраной, через которую передаются воздействия поддерживающего стромального компонента с противоположной стороны базальной мембраны. Потеря такого контакта означает фактически выход дочерней клетки из-под влияния ниши. Таким образом, эпителиальный тип ниши СК характеризуется узким «полем» поддерживающего стволовости влияния, и при делении СК образуется цепочка из прекурсоров и дифференцированных клеток. В качестве примера такого асимметричного деления можно привести деление сателлитных клеток в нише, расположенной в скелетной мускулатуре (Kuang et al., 2007).

Ниши СК могут существенно различаться по размеру популяции поддерживаемых СК и постоянству ее состава и численности. Например, СК, обеспечивающие рост и восстановление скелетной мускулатуры, так называемые сателлитные клетки, распределены поодиночке и зажаты между миофибриллой и базальной мембраной (Rappe et al., 2012). В криптах кишечника несколько Lgr5+ СК находятся в одном эпителиальном слое рядом с дном крипты, при этом они не обязательно формируют замкнутое кольцо, а обычно, наоборот, разделены дочерними клетками (Rashidi, Lo Celso, 2014). Другие типы СК формируют целые группы покоящихся клеток, активация которых происходит также одновременно, например клетки бугорка волосяного фолликула или нейральной стволовой клетки НСК субвентрикулярной зоны переднего мозга (Blanpain et al., 2004; Conover, Notti, 2008).

Заключение

Ниша стволовой клетки является важнейшим инструментом контроля СК со стороны организма. Вместе с СК ниша образует структурную и функциональную единицу регенерации ткани. Между нишей и СК происходит сложный и тонко регулируемый, динамичный молекулярный диалог, который определяет самообновление и состояние СК, направление дифференцировки ее потомков в контексте потребностей организма в обновлении. Эти механизмы требуют тщательного изучения и воспроизведения в моделях *in vitro*.

На сегодняшний момент терапевтические подходы, ориентированные на модуляцию ниш СК, являются новым и, согласно предварительным данным, очень перспективным инструментом для решения целого ряда клинических задач, но пока это направление остается недостаточно проработанным. Сегодня становится все яснее, что сами по себе, вырванные из тканевого контекста постнатальные СК не способны эффективно обеспечи-

вать регенерацию тканей. Самые многообещающие результаты получены при применении комбинированного подхода, совмещающего и модуляцию ниши СК, и действие основного компонента терапии, например при трансплантациях (усиление нишевых воздействий) и лечении онкозаболеваний (ослабление нишевой активности). Несмотря на то что прямой целевой областью применения такой терапии следовало бы считать лечение хронических дегенеративных заболеваний, недостаточную активность СК или их утерю, в этом направлении на данный момент достижения самые незначительные. Основными сложностями, связанными с применением подхода по модуляции микроокружения ниш, являются обеспечение тканеспецифичности, таргетного воздействия, долговременного терапевтического эффекта, а также побочные эффекты, часто включающие в себя стимуляцию тератогенного потенциала СК или нарушения восстановления тканей, нуждающихся в постоянном обновлении. Поэтому на сегодня основной круг заболеваний, для которых исследуется этот подход, включает в себя тяжелые заболевания, когда по этическим причинам допустимы высокорискованные вмешательства. Для разработки новых методов терапии широкого круга заболеваний необходимы более глубокое изучение механизмов функционирования ниш СК и создание адекватных моделей культивирования СК *in vitro* в максимально близких к нативным условиям микроокружения этих клеток в ткани *in vivo*.

Работа выполнена в рамках государственного задания Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова при финансовой поддержке научной программы «Научные основы создания национального банка-депозитария живых систем» (соглашение Российского научного фонда № 14-50-00029) и финансовой поддержке Российского научного фонда (проект 14-24-00086).

Список литературы

- Arai F., Suda T. 2007. Maintenance of quiescent hematopoietic stem cells in the osteoblastic niche. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1106 : 41—53.
- Basak O., Beumer J., Wiebrands K., Seno H., van Oudenaarden A., Clevers H. 2017. Induced quiescence of Lgr5+ stem cells in intestinal organoids enables differentiation of hormone-producing enteroendocrine cells. *Cell Stem Cell.* 20 : 177—190.
- Becker D. A. J., McCulloch E. A., Till J. E. 1963. Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells. Reprinted from *Nature*. 197 : 452—454.
- Blanpain C., Lowry W. E., Geoghegan A., Polak L., Fuchs E. 2004. Self-renewal, multipotency, and the existence of two cell populations within an epithelial stem cell niche. *Cell.* 118 : 635—648.
- Brizzi M. F., Tarone G., Defilippi P. 2012. Extracellular matrix, integrins, and growth factors as tailors of the stem cell niche. *Curr. Opin. Cell Biol.* 24 : 645—651.
- Calvi L. M., Adams G. B., Weibrecht K. W., Weber J. M., Olson D. P., Knight M. C., Martin R. P., Schipani E., Divieti P., Bringham F. R., Milner L. A., Kronenberg H. M., Scadden D. T. 2003. Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche. *Nature*. 425 : 841—846.
- Cerletti M., Jang Y. C., Finley L. W. S., Haigis M. C., Wagers A. J. 2012. Cell stem cell short-term calorie restriction enhances skeletal muscle stem cell function. *Stem Cell.* 10 : 515—519.

- Chee C. Y., Virshup D. M., Madan B. 2015. The intestinal stem cell niche. In: Tissue-specific stem cell niche (Ed. K. Turk-sen). Cham: Springer. 135—162.
- Chen H., Chan D. C. 2017. Mitochondrial dynamics in regula-tion of the unique phenotypes of cancer and stem cells. *Cell Metabo-lism*. 26 : 39—48.
- Chen H. C., Lee J. T., Shih C. P., Chao T. T., Sytwu H. K., Li S. L., Fang M. C., Chen H. K., Lin Y. C., Kuo C. Y., Wang C. H. 2015. Hypoxia induces a metabolic shift and enhances the stemness and expansion of cochlear spiral ganglion stem/progenitor cells. *BioMed Research International*. 2015 : 359 537—359 537.
- Choi J. R., Pingguan-Murphy B., Wan Abas W. A. B., Noor Azmi M. A., Omar S. Z., Chua K. H., Wan Safwani W. K. Z. 2014. Impact of low oxygen tension on stemness, proliferation and diffe-rentiation potential of human adipose-derived stem cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 448 : 218—224.
- Chu-Tse W., Lajtha L. G. 1975. Haemopoietic stem-cell kine-tics during continuous irradiation. *Int. J. Rad. Biol. Rel. Stud. Phys. Chem. Med.* 27 : 41—50.
- Conover J. C., Notti R. Q. 2008. The neural stem cell niche. *Cell Tissue Res.* 331 : 211—224.
- Crane G. M., Jeffery E., Morrison S. J. 2017. Adult hae-matopoietic stem cell niches. *Nature Rev. Immunol.* 17 : 573—590.
- Desgrosellier S., Lesperance J., Seguin L., Gozo M., Kato S., Franovic A., Yebra M., Shattil Sanford J., Cheresch David A. 2014. Integrin $\alpha\text{v}\beta 3$ drives Slug activation and stemness in the pregnant and neoplastic mammary gland. *Develop. Cell.* 30 : 295—308.
- Dexter T. M., Allen T. D., Lajtha L. G. 1977. Conditions con-trolling the proliferation of hemopoietic stem cells *in vitro*. *J. Cell. Physiol.* 91 : 335—344.
- Efimenko A., Starostina E., Kalinina N., Stolzing A. 2011. An-giogenic properties of aged adipose derived mesenchymal stem cells after hypoxic conditioning. *J. Transl. Med.* 9 : 10. Doi: 10.1186/1479-5876-9-10.
- Eliasson P., Jönsson J. I. 2010. The hematopoietic stem cell niche: low in oxygen but a nice place to be. *J. Cell. Physiol.* 222 : 17—22.
- Engler A. J., Sen S., Sweeney H. L., Discher D. E. 2006. Mat-rix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell.* 126 : 677—689.
- Fang S., Xu C., Zhang Y., Xue C., Yang C., Bi H., Qian X., Wu M., Ji K., Zhao Y., Wang Y., Liu H., Xing X. 2016. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cell-derived exosomal micrnas suppress myofibroblast differentiation by inhibiting the transform-ing growth factor- β /smad2 pathway during wound healing. *Stem cells Transl. Med.* 5 : 1425—1439.
- Ferraro F., Lo Celso C. C., Scadden D. 2010. Adult Stem Cells and Their Niches. In: The cell biology of stem cells. (Eds. E. Meshorer, K. Plath). Boston: Springer. 155—168.
- Fevr T., Robine S., Louvard D., Huelsen J. 2007. Wnt/be-ta-catenin is essential for intestinal homeostasis and maintenance of intestinal stem cells. *Mol. Cell. Biol.* 27 : 7551—7559.
- Fotia C., Massa A., Boriani F., Baldini N., Granchi D. 2015. Hypoxia enhances proliferation and stemness of human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Cytotechnology*. 67 : 1073—1084.
- Fujiwara H., Ferreira M., Donati G., Marciano D. K., Linton J. M., Sato Y., Hartner A., Sekiguchi K., Reichardt L. F., Watt F. M. 2011. The basement membrane of hair follicle stem cells is a muscle cell niche. *Cell.* 144 : 577—589.
- García-Prat L., Sousa-Victor P., Muñoz-Cánoves P. 2017. Proteostatic and metabolic control of stemness. *Cell Stem Cell*. 20 : 593—608.
- Garrido C., Brunet M., Didelot C., Zermati Y., Schmitt E., Kroemer G. 2006. Heat shock proteins 27 and 70: anti-apopto-tic proteins with tumorigenic properties. *Cell Cycle*. 5 : 2592—2601.
- Gattazzo F., Urciuolo A., Bonaldo P. 2014. Extracellular mat-rix: a dynamic microenvironment for stem cell niche. *Biochim. bio-phys. acta. Gen. Subj.* 1840 : 2506—2519.
- Gidáli J., Fehér I., Antal S. 1974. Some properties of the circu-lating hemopoietic stem cells. *Blood*. 43 : 573—580.
- Gilbert P. M., Havenstrite K. L., Magnusson K. E. G., Sac-co A., Leonardi N. A., Kraft P., Nguyen N. K., Thrun S., Lu-tolf M. P., Blau H. M. 2010. Substrate elasticity regulates skeletal muscle stem cell self-renewal in culture. *Science*. 329 : 1078—1081.
- Goldman D. C., Bailey A. S., Pfaffle D. L., Al Masri A., Chris-tian J. L., Fleming W. H. 2009. BMP—4 regulates the hematopoie-tic stem cell niche. *Blood*. 114 : 4393—4401.
- Hamanaka R. B., Glasauer A., Hoover P., Yang S., Blatt H., Mullen A. R., Getsios S., Gottardi C. J., DeBerardinis R. J., Lav-ker R. M., Chandel N. S. 2013. Mitochondrial reactive oxygen spe-cies promote epidermal differentiation and hair follicle develop-ment. *Science Sign.* 6. Doi: 10.1126/scisignal.2003638.
- Harrison D. E. 1975. Normal function of transplanted marrow cell lines from aged mice. *J. Gerontol.* 30 : 279—285.
- He X. C., Zhang J., Tong W.-G., Tawfik O., Ross J., Scovil-le D. H., Tian Q., Zeng X., He X. C., Wiedemann L. M., Mishina Y., Li L. 2004. Bmp signaling inhibits intestinal stem cell self-renewal through suppression of wnt- β -catenin signaling. *Nature Gen.* 36 : 1117—1121.
- Hendry J. H., Lajtha L. G. 1972. The response of hemopoietic colony-forming units to repeated doses of x-rays. *Rad. Res.* 52 : 309.
- Igarashi M., Guarente L. 2016. mTORC and SIRT1 cooperate to foster expansion of gut adult stem cells during calorie restriction. *Cell*. 166 : 436—450.
- Ivanovic Z., Vlaski-Lafarge M. 2016. Anaerobiosis and stem-ness: an evolutionary paradigm. Amsterdam: Acad. Press. 312 p.
- Jang Y.-Y., Sharkis S. J. 2007. A low level of reactive oxygen species selects for primitive hematopoietic stem cells that may resi-de in the low-oxygenic niche. *Blood*. 110 : 3056—3063.
- Joshi P. A., Jackson H. W., Beristain A. G., Di Grappa M. A., Mote P. A., Clarke C. L., Stingl J., Waterhouse P. D., Khokha R. 2010. Progesterone induces adult mammary stem cell expansion. *Nature*. 465 : 803—807.
- Kabiri Z., Greicius G., Madan B., Biechele S., Zhong Z., Zari-bafzadeh H., Edison A., Aliyev J., Wu Y., Bunte R., Williams B. O., Rossant J., Virshup D. M. 2014. Stroma provides an intestinal stem cell niche in the absence of epithelial wnts. *Development*. 141 : 2206—2215.
- Kadam P., Van Saen D., Goossens E. 2017. Can mesenchymal stem cells improve spermatogonial stem cell transplantation effi-ciency? *Andrology*. 5 : 2—9.
- Kalinina N., Kharlampieva D., Loguinova M., Butenko I., Po-beguts O., Efimenko A., Ageeva L., Sharonov G., Ischenko D., Alek-seev D., Grigorieva O., Sysoeva V., Rubina K., Lazarev V., Govo-run V. 2015. Characterization of secretomes provides evidence for adipose-derived mesenchymal stromal cells subtypes. *Stem Cell Res. Ther.* 6 : 221—221.
- Kfoury Y., Scadden D. T. 2015. Mesenchymal cell contributi-ons to the stem cell niche. *Cell Stem Cell*. 16 : 239—253.
- Klimczak A., Kozłowska U. 2016. Mesenchymal stromal cells and tissue-specific progenitor cells: their role in tissue homeostasis. *Stem Cells Intl.* 2016 : 1—11.
- Kosinski C., Li V. S. W., Chan A. S. Y., Zhang J., Ho C., Tsui W. Y., Chan T. L., Mifflin R. C., Powell D. W., Yuen S. T., Le-ung S. Y., Chen X. 2007. Gene expression patterns of human colon tops and basal crypts and bmp antagonists as intestinal stem cell niche factors. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 104 : 15 418—15 423.
- Kuang S., Kuroda K., Le Grand F., Rudnicki M. A. 2007. Asymmetric self-renewal and commitment of satellite stem cells in muscle. *Cell*. 129 : 999—1010.
- Lane S. W., Williams D. A., Watt F. M. 2014. Modulating the stem cell niche for tissue regeneration. *Nature Biotechnol.* 32 : 795—803.
- Lei N. Y., Jabaji Z., Wang J., Joshi V. S., Brinkley G. J., Kha-lil H., Wang F., Jaroszewicz A., Pellegrini M., Li L., Lewis M., Stel-zner M., Dunn J. C. Y., Martin M. G. 2014. Intestinal subepithelial myofibroblasts support the growth of intestinal epithelial stem cells. *PLoS ONE*. 9 : e84651. Doi: 10.1371/journal.pone.0084651.

- Liang X., Zhang L., Wang S., Han Q., Zhao R. C. 2016. Exosomes secreted by mesenchymal stem cells promote endothelial cell angiogenesis by transferring mir-125a. *J. Cell Sci.* 129 : 2182—2189.
- Lord B. I., Testa N. G., Hendry J. H. 1975. The relative spatial distributions of cfus and cfuc in the normal mouse femur. *Blood*. 46 : 65—72.
- Madison B. B., Braunstein K., Kuizon E., Portman K., Qiao X. T., Gumucio D. L., Yasugi S., Fukuda K. 2005. Epithelial hedgehog signals pattern the intestinal crypt-villus axis. *Develop.* 132 : 279—289.
- Méndez-Ferrer S., Michurina T., Ferraro F., Mazloom A., MacArthur B., Lira S., Scadden D., Ma'ayan A., Enikolopov G., Frenette P. 2010. Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche. *Nature*. 466 : 829—834.
- Moore K. A., Lemischka I. R. 2006. Stem cells and their niches. *Science*. 311 : 1880—1885.
- Muroyama Y., Kondoh H., Takada S. 2004. Wnt proteins promote neuronal differentiation in neural stem cell culture. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 313 : 915—921.
- Nakamura Y., Miyaki S., Ishitobi H., Matsuyama S., Nakasa T., Kamei N., Akimoto T., Higashi Y., Ochi M. 2015. Mesenchymal-stem-cell-derived exosomes accelerate skeletal muscle regeneration. *FEBS Lett.* 589 : 1257—1265.
- Panné A., Marazzi G., Sassoon D. 2012. Stem cells in the hood: the skeletal muscle niche. *Trends Mol. Med.* 18 : 599—606.
- Pinto D., Clevers H. 2005. Wnt control of stem cells and differentiation in the intestinal epithelium. *Exp. Cell Res.* 306 : 357—363.
- Pires A. O., Mendes-Pinheiro B., Teixeira F. G., Anjo S. I., Ribeiro-Samy S., Gomes E. D., Serra S. C., Silva N. A., Manadas B., Sousa N., Salgado A. J. 2016. Unveiling the differences of secretome of human bone marrow mesenchymal stem cells, adipose tissue-derived stem cells, and human umbilical cord perivascular cells: a proteomic analysis. *Stem Cells Develop.* 25 : 1073—1083.
- Pozzi L. V., Andreozzi U., Silini G. 1973. Serial transplantation of bone-marrow cells in irradiated isogenic mice. *Curr. Topics Rad. Res.* 8 : 259—302.
- Proksch S., Bittermann G., Vach K., Nitschke R., Tomakidi P., Hellwig E. 2015. Hmsc-derived vegf release triggers the chemoattraction of alveolar osteoblasts. *Stem Cells*. 33 : 3114—3124.
- Rabbani P., Takeo M., Chou W., Myung P., Bosenberg M., Chin L., Taketo M. M., Ito M. 2011. Coordinated activation of wnt in epithelial and melanocyte stem cells initiates pigmented hair regeneration. *Cell*. 145 : 941—955.
- Rashidi N. M., Lo Celso C. 2014. Flying back to the nest. *Int. J. Dev. Biol.* 3 : e29653. Doi: 10.4161/intv.29653.
- Reynolds A., Wharton N., Parris A., Mitchell E., Sobolewski A., Kam C., Bigwood L., El Hadi A., Munsterberg A., Lewis M., Speakman C., Stebbings W., Wharton R., Sargen K., Tighe R., Jamieson C., Hernon J., Kapur S., Oue N., Yasui W., Williams M. R. 2014. Canonical wnt signals combined with suppressed tgfb/bmp pathways promote renewal of the native human colonic epithelium. *Gut*. 63 : 610—621.
- Rodriguez-Colman M. J., Schewe M., Meerlo M., Stigter E., Gerrits J., Pras-Raves M., Sacchetti A., Hornsveld M., Oost K. C., Snippert H. J., Verhoeven-Duij N., Fodde R., Burgering B. M. T. 2017. Interplay between metabolic identities in the intestinal crypt supports stem cell function. *Nature*. 543 : 424—427.
- Rumman M., Dhawan J., Kassem M. 2015. Concise review: quiescence in adult stem cells: biological significance and relevance to tissue regeneration. *Stem Cells*. 33 : 2903—2912.
- Scadden D. T. 2006. The stem-cell niche as an entity of action. *Nature*. 441 : 1075—1079.
- Schofield R. 1978. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood Cells*. 4 : 7—25.
- Siminovich L., Till J. E., McCulloch E. A. 1964. Decline in colony-forming ability of marrow cells subjected to serial transplantation into irradiated mice. *J. Cell. Comp. Physiol.* 64 : 23—31.
- Sinha-Hikim I., Roth S. M., Lee M. I., Bhasin S. 2003. Testosterone-induced muscle hypertrophy is associated with an increase in satellite cell number in healthy, young men. *Amer. J. Physiol. Endocrinol. Metabol.* 285 : E197—E205.
- Smith J. F., Yango P., Altman E., Choudhry S., Poelzl A., Zama A. M., Rosen M., Klatsky P. C., Tran N. D. 2014. Testicular niche required for human spermatogonial stem cell expansion. *Stem Cells Transl. Med.* 3 : 1043—1054.
- Stamenkovic I. 2003. Extracellular matrix remodelling: the role of matrix metalloproteinases. *J. Pathol.* 200 : 448—464.
- Stzepourginski I., Nigro G., Jacob J.-M., Dulauroy S., Sansonetti P. J., Eberl G., Peduto L. 2017. Cd34⁺ mesenchymal cells are a major component of the intestinal stem cells niche at homeostasis and after injury. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 114 : E506—E513.
- Sugimura R., He Xi C., Venkatraman A., Arai F., Box A., Semrad C., Haug Jeffrey S., Peng L., Zhong X.-b., Suda T., Li L. 2012. Noncanonical wnt signaling maintains hematopoietic stem cells in the niche. *Cell*. 150 : 351—365.
- Tavian M., Péault B. 2005. Embryonic development of the human hematopoietic system. *Int. J. Develop. Biol.* 49 : 243—250.
- Todeschi M. R., El Backly R., Capelli C., Daga A., Patrone E., Introna M., Cancedda R., Mastrogiacomo M. 2015. Transplanted umbilical cord mesenchymal stem cells modify the *in vivo* micro-environment enhancing angiogenesis and leading to bone regeneration. *Stem Cells Develop.* 24 : 1570—1581.
- Tormos K. V., Anso E., Hamanaka R. B., Eisenbart J., Joseph J., Kalyanaraman B., Chandel N. S. 2011. Mitochondrial complex III ROS regulate adipocyte differentiation. *Cell Metabol.* 14 : 537—544.
- Trappmann B., Gautrot J. E., Connelly J. T., Strange D. G. T., Li Y., Oyen M. L., Cohen Stuart M. A., Boehm H., Li B., Vogel V., Spatz J. P., Watt F. M., Huck W. T. S. 2012. Extracellular-matrix tethering regulates stem-cell fate. *Nature Mater.* 11 : 642—649.
- Tyurin-Kuzmin P. A., Fadeeva J. I., Kanareikina M. A., Kalinina N. I., Sysoeva V. Y., Dyikanov D. T., Stambolsky D. V., Tkachuk V. A. 2016. Activation of β -adrenergic receptors is required for elevated α 1a-adrenoreceptors expression and signaling in mesenchymal stromal cells. *Scientific Reports*. 6 : 32 835.
- Van den Brink G. R., Bleuming S. A., Hardwick J. C. H., Schepman B. L., Offerhaus G. J., Keller J. J., Nielsen C., Gaffield W., van Deventer S. J. H., Roberts D. J., Peppelenbosch M. P. 2004. Indian hedgehog is an antagonist of wnt signaling in colonic epithelial cell differentiation. *Nature Gen.* 36 : 277—282.
- Van Dop W. A., Uhmman A., Wijgerde M., Sleddens-Links E., Heijmans J., Offerhaus G. J., van den Bergh Weerman M. A., Boeckxstaens G. E., Hommes D. W., Hardwick J. C., Hahn H., van den Brink G. R. 2009. Depletion of the colonic epithelial precursor cell compartment upon conditional activation of the hedgehog pathway. *Gastroenterology*. 136 : 2195—2203.
- Visvader J. E., Clevers H. 2016. Tissue-specific designs of stem cell hierarchies. *Nature Cell Biol.* 18 : 349—355.
- Watt F. M., Huck W. T. S. 2013. Role of the extracellular matrix in regulating stem cell fate. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 14 : 467—473.
- Wright D. E., Wagers A. J., Gulati A. P., Johnson F. L., Weissman I. L. 2001. Physiological migration of hematopoietic stem and progenitor cells. *Science*. 294 : 1933—1936.
- Yilmaz Ö. H., Katajisto P., Lamming D. W., Gültekin Y., Bauer-Rowe K. E., Sengupta S., Birsoy K., Dursun A., Yilmaz V. O., Selig M., Nielsen G. P., Mino-Kenudson M., Zukerberg L. R., Bhan A. K., Deshpande V., Sabatini D. M. 2012. mTORC1 in the paneth cell niche couples intestinal stem-cell function to calorie intake. *Nature*. 486 : 490—495.
- Zipori D. 2007. ROS-low HSCs are repopulation-high. *Blood*. 110 : 2783—2784.

THE STEM CELL NICHE

P. P. Nimiritsky^{1, 2, *} *G. D. Sagaradze*^{1, 2} *A. Yu. Efimenko*^{1, 2}
P. I. Makarevich^{1, 2} *V. A. Tkachuk*^{1, 2}

¹ Faculty of Medicine, M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119234, and

² Institute of Regenerative Medicine, M. V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119234;

* e-mail: nimiritsky@gmail.com

Most cells of an adult organism are incapable of constant self-renewal under physiological conditions. However, over time, the cellular composition of any tissue requires renewal, and when tissue is restored after damage, the demand for new cells increases dramatically. In the postnatal period, stem cells (SCs) are responsible for these processes in the body, which by definition have two key properties — the ability to self-renew, i. e. pass through multiple division without loss of undifferentiated state, and differentiate into specific types of specialized cells or potency. The process of cell renewal in tissue should be under strict control, it is important that only a small part of the cells of the body have the ability to unlimitedly self-renew and their functions are precisely regulated. For this purpose, SCs in the body are not autonomous, their ability to self-renewal and differentiation is controlled by a special microenvironment, called the «niche of the stem cell.» Complex SC and its niches is a functional unit of regeneration, i. e. niche — is a kind of interface between the body and the SC. The initial view of the SC niche as a microanatomical compartment with clearly defined boundaries and permanent influence on the SC has now given way to the notion of it as a dynamic sum of a multitude of heterogeneous impacts. The universal components of any niche are supporting cells, extracellular matrix and soluble biological factors. The impact of each of these components on the SC and their descendants varies flexibly depending on the needs for regeneration. These dynamic mechanisms of SC management from the side of the niche must be carefully studied, because the niche of the SC due to its unique function is a promising therapeutic target for medicine.

Key words: stem cell niche, microenvironment, mesenchymal stromal cells, regenerative medicine