

КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ И РЕГУЛЯТОРНЫЕ ФУНКЦИИ СТРОМЫ ЗАРОДЫШЕВОЙ ПЕЧЕНИ

© *О. В. Паюшина,¹ Е. И. Домарацкая, В. И. Старостин*

Институт биологии развития им. Н. К. Кольцова РАН, Москва;

¹электронный адрес: payushina@mail.ru

В пренатальном развитии млекопитающих печень является местом протекания двух гистогенетических процессов — кроветворной дифференцировки и формирования собственно печеночной ткани. Самоподдержание, пролиферация и дифференцировка кроветворных и печеночных стволовых клеток происходят в специфическом микроокружении, организуемом стромальными элементами. В обзоре описаны различные популяции клеток, составляющих строму развивающейся печени, — мезенхимных стромальных, клеток Ито, порталных фибробластов и миофибробластов, эндотелиальных и гладкомышечных клеток сосудов, клеток в состоянии эпителио-мезенхимной трансформации. Рассмотрены их фенотипические и функциональные характеристики, возможное происхождение, а также роль в регуляции кроветворения и гепатогенеза.

Ключевые слова: зародышевая печень, кроветворение, гепатогенез, стволовые клетки, строма, микроокружение.

Принятые сокращения: КОЕ-Ф — колониеобразующие единицы фибробластов, МСК — мезенхимные стромальные клетки, СКК — стволовые кроветворные клетки, ЭМТ — эпителио-мезенхимная трансформация, CRBP-1 — cellular retinol-binding protein-1, GFAP — glial fibrillar acid protein, HGF — hepatocyte growth factor, SCF — stem cell factor, SDF-1 — stromal-derived factor-1, SMA — α -smooth muscle actin, VCAM — vascular cell adhesion molecule, VEGF — vascular endothelial growth factor, VSEL — very small embryonic like cells.

Печень млекопитающих уникальна тем, что в пренатальном периоде онтогенеза в ней параллельно происходят два гистогенетических процесса. С одной стороны, в ходе эмбриогенеза формируется собственно печеночная ткань, с другой — на протяжении значительной части пренатального периода основной функцией органа является кроветворение. Ключевую роль в регуляции этих процессов играет гетерогенная по клеточному составу строма зародышевой печени, организующая микроокружение для дифференцирующихся кроветворных и печеночных стволовых клеток. В настоящем обзоре рассмотрены основные типы клеток, составляющих строму печени в пренатальном периоде онтогенеза, и их функциональное значение.

Процессы гистогенеза и стволовые клетки в развивающейся печени

У мыши развитие печени начинается на 8—9-е сут эмбриогенеза с дифференцировки клеток энтодермы передней кишки в бипотентные гепатобласты и формирования зачатка печени, внедряющегося в мезенхиму поперечной перегородки. Под влиянием секретируемых мезенхимой цитокинов и ростовых факторов гепатобласты продолжают пролиферировать и вскоре дифференцируются в гепатоциты и холангициты, формирующие соответственно печеночные балки и желчные протоки. Посте-

пенно гепатоциты и холангициты приобретают морфологические и функциональные характеристики клеток definitive печени; процесс их созревания у грызунов завершается в первые недели постнатального развития (Sasaki, Sonoda, 2000; Guo et al., 2009; Kung et al., 2010).

Параллельно с гепатогенезом происходят процессы кроветворной дифференцировки. В печени зародышей мыши первые кроветворные клетки появляются на 10-е сут эмбриогенеза в просветах синусоидов и среди гепатобластов. В последующие 2 сут они увеличиваются в числе, перемещаются из синусоидов в тяжи гепатобластов и активно пролиферируют. Кроветворная активность печени достигает максимума на 13—14-е сут эмбриогенеза; эта стадия характеризуется формированием в паренхиме многочисленных очагов гемопоэза, в центре которых локализуются эритробластические островки с центральными макрофагами. Кроветворные очаги постепенно увеличиваются в размере, принимая вид вытянутых тяжей. Через 15 сут пренатального развития начинается инволюция гемопоэза, сопровождающаяся распадом тяжей кроветворных клеток на мелкие округлые очаги (Sasaki, Sonoda, 2000). В первые 2—4 сут постнатального онтогенеза кроветворение в печени полностью прекращается (Guo et al., 2009).

По-видимому, процессы гепатогенеза и гемопоэза оказывают взаимное влияние друг на друга. Об этом свидетельствует, в частности, корреляция между фенотипи-

ческими характеристиками гепатобластов или гепатоцитов и активностью кроветворения в печени (Fukumoto, 1992; Ohata et al., 2009). Наблюдаемая при электронно-микроскопическом исследовании тесная ассоциация незрелых эритробластов с гепатоцитами (Emura et al., 1984), продукция гепатоцитами эритропоэтина (Eckardt, 1996) и существование линий гепатоцитов, способных поддерживать кроветворение *in vitro* (Nanno et al., 1994; Aiuti et al., 1998), могут свидетельствовать об участии эпителия развивающейся печени в поддержании ее кроветворной активности. В то же время экспансия кроветворения сопровождается подавлением некоторых функций печени, связанных с катаболизмом, иммунной защитой и классическими каскадами комплемента, тогда как другие ее функции (в частности, метаболизм ксенобиотиков и синтез углеводов) с ростом кроветворной активности, напротив, усиливаются. При этом все функции печени значительно усиливаются с началом затухания гемопоэза, которое, возможно, служит сигналом к переключению печени на созревание (Guo et al., 2009). С другой стороны, онкостатин М, продуцируемый кроветворными клетками, способен стимулировать функциональное созревание гепатоцитов и подавлять выработку ими кроветворных факторов, приводя к потере гемопоэтической активности печени на поздних стадиях эмбриогенеза (Kinoshita et al., 1999).

Происходящие в печени зародыша процессы гистогенеза обеспечиваются несколькими типами стволовых клеток, присутствующих в этом органе. Прежде всего это кроветворные и печеночные стволовые клетки.

Стволовые кроветворные клетки (СКК) зародышевой печени способны давать начало всем рядам гемопоэза. При трансплантации облученному реципиенту они полностью восстанавливают кроветворение и дают вторичные репопулирующие клетки, что свидетельствует о самоподдержании (Pawliuk et al., 1996; Holyoake et al., 1999). У мыши эти клетки могут быть идентифицированы по антигенному фенотипу AA4.1⁺Lin^{low}Sca-1⁺ (Jordan et al., 1995) или Thy-1^{low}Sca-1⁺Lin⁺Mac-1⁺CD4⁻ (Morrison et al., 1995). У человека они, как и соответствующие клетки костного мозга, содержатся в популяции CD34⁺CD38⁻ (Yui et al., 1998; Holyoake et al., 1999), хотя есть данные об отсутствии строгой корреляции между экспрессией клетками зародышевой печени антигена CD34 и их способностью репопулировать кроветворную систему иммунодефицитных мышей (Rollini et al., 2007). СКК зародышевой печени отличаются от присутствующих в зрелом костном мозге значительным уровнем теломеразной активности (Yui et al., 1998), активной пролиферацией (Morrison et al., 1995; Blair, Thomas, 1998) и большей способностью к репопуляции кроветворной ткани (Jordan et al., 1995; Morrison et al., 1995; Pawliuk et al., 1996; Holyoake et al., 1999).

Печеночные стволовые клетки, дающие начало гепатоцитам и холангиоцитам, в развивающейся печени локализованы в протоковых пластинках, из которых впоследствии формируются внутрипеченочные желчные протоки (Schmelzer et al., 2007; Zhang et al., 2008). У мыши фенотип этих клеток охарактеризован как c-Met⁺CD49f^{+/low}c-Kit⁺CD45⁻Ter119⁻ (Suzuki et al., 2002). Из печени плода человека они могут быть выделены по экспрессии молекулы адгезии эпителиальных клеток ЕрсАМ (CD326); для них показана также экспрессия CD133 и цитокератина 8, 18 и 19. По морфологии и фенотипу печеночные стволовые клетки отличаются от гепатобластов, являющихся их потомками (Schmelzer et al., 2007; Zhang et al., 2008; Fomin et al., 2010). Это клоногенные

клетки с высоким пролиферативным потенциалом, экспрессирующие теломеразу (Malhi et al., 2002; Suzuki et al., 2002). Для них показана способность к самоподдержанию (Suzuki et al., 2002; Schmelzer et al., 2007), а также к дифференцировке в гепатоциты и эпителий желчных протоков *in vitro* или при трансплантации в печень мышей-реципиентов (Suzuki et al., 2002; Schmelzer et al., 2007; Fomin et al., 2010). По некоторым данным, потенции стволовых клеток зародышевой печени не ограничены этими двумя направлениями дифференцировки; они также способны давать начало кишечному эпителию, ацинарным и протоковым клеткам поджелудочной железы (Suzuki et al., 2002) и инсулинпродуцирующим клеткам (Feng et al., 2005), т. е., возможно, представляют собой общие стволовые клетки для различных тканей энтодермального происхождения.

Имеются сведения о том, что в развивающейся печени присутствуют популяции стволовых клеток и с еще более широким спектром потенций. Так, из печени плодов человека выделены клетки, способные дифференцироваться как в печеночный эпителий, так и в мезенхимные производные, в частности в остеобласты и адипоциты (Dan et al., 2006; Liu et al., 2008). В зародышевой печени мыши обнаружены так называемые очень мелкие эмбриональноподобные клетки (very small embryonic like cells, VSEL), экспрессирующие маркеры плюрипотентных стволовых клеток Oct-4 и SSEA-1 и способные к самоподдержанию *in vitro* (Zuba-Surma et al., 2009); подобные клетки, найденные также в костном мозге и других тканях развивающегося и половозрелого организма, способны давать производные трех зародышевых листков и считаются недифференцированными потомками клеток эпибласта, сохраняющимися с ранних стадий эмбриогенеза (Kucia et al., 2007; Домарацкая, 2011). Содержание VSEL в печени зародыша коррелирует с численностью СКК (Zuba-Surma et al., 2009). Не исключено, что, являясь предшественниками кроветворных клеток, они участвуют в гемопоэтической функции печени, однако гистогенетические отношения между VSEL и СКК остаются невыясненными, как и вопрос об их функциональной роли в организме.

Самоподдержание и дифференцировка различных стволовых клеток, присутствующих в печени зародыша, требуют специфического микроокружения, организуемого окружающими клетками и включающего в себя разнообразные растворимые факторы, компоненты внеклеточного матрикса и мембранные молекулы, обеспечивающие межклеточные взаимодействия. К настоящему времени наиболее изучено кроветворное микроокружение; сведения о нише дифференцирующихся гепатоцитов и их предшественников в литературе немногочисленны (Kamiya et al., 2002; Hoppo et al., 2004; Schmelzer et al., 2007). Хотя по некоторым данным в поддержании гемопоэза в печени зародыша могут участвовать центральные макрофаги эритробластических островков (Emura et al., 1984; Sasaki, Sonoda, 2000), эпителий желчных протоков (Corlu et al., 1998) и, как упомянуто выше, гепатоциты, главная роль в организации кроветворного микроокружения принадлежит строме — совокупности клеточных элементов мезенхимного происхождения, составляющих остов органа. Судя по результатам экспериментов *in vitro*, стромальные элементы зародышевой печени имеют важнейшее значение для выживания, пролиферации и дифференцировки не только кроветворных, но и печеночных родоначальных клеток (Hoppo et al., 2004; Schmelzer et al., 2007).

Строма зародышевой печени отличается от зрелой по клеточному составу. Это связано как с выполняемыми ею специфическими регуляторными функциями, так и с активно идущими процессами развития самой стромы, требующими присутствия в ней множества стволовых и родоначальных клеток различных мезенхимных дифференоров. Эти клетки дают начало нескольким популяциям, каждая из которых вносит свой вклад в регуляцию кроветворной и, вероятно, гепатоцитарной дифференцировки.

Мезенхимные стромальные клетки

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) представляют собой гетерогенную популяцию родоначальных клеток, способных к дифференцировке в костную, жировую, хрящевую и другие виды соединительной ткани. Впервые они идентифицированы Фриденштейном с коллегами (Фриденштейн и др., 1970; Friedenstein et al., 1976) в костном мозге, селезенке и тимусе как адгезивные к культуральному пластику клоногенные клетки — колониобразующие единицы фибробластов (КОЕ-Ф). В настоящее время МСК обнаружены во многих тканях развивающегося и половозрелого организма.

Хотя фенотипические и функциональные характеристики этих клеток детально охарактеризованы в экспериментах *in vitro*, вопрос об их локализации в нативных органах остается малоизученным. Ряд авторов полагают, что МСК являются компонентами стенки сосудов, и связывают их происхождение с перидитами или адвентициальными клетками (da Silva Meirelles et al., 2006; Corselli et al., 2010; Oh, 2010).

Международное общество клеточной терапии рекомендует определять МСК как клетки со специфическим антигенным фенотипом (CD105⁺CD73⁺CD90⁺ при отсутствии маркеров кроветворных и эндотелиальных клеток CD45, CD34, HLA-DR, CD14 или CD11b, CD79a, или CD19), способные прикрепляться к пластику и дифференцироваться *in vitro* в остеобласты, адипоциты и хондробласты. Однако следует подчеркнуть, что приведенные критерии разработаны для МСК человека; у других видов эти клетки также характеризуются адгезивностью и потенциальными к остео-, адипо- и хондрогенезу, но могут иметь иной антигенный фенотип (Dominici et al., 2006).

МСК из зародышевой печени мыши, крысы или человека по основным характеристикам сходны с полученными из других тканей, в частности из зрелого костного мозга, остающегося наиболее изученным их источником. Так, МСК экспрессируют поверхностные антигены CD29, CD44, CD73, CD90 (Thy-1), CD105, CD106 (VCAM-1) и ряд других (Campagnoli et al., 2001; Charbord et al., 2002; in't Anker et al., 2003; Götherström et al., 2003; Кожевникова и др., 2009) и образуют *in vitro* клональные колонии фибробластоподобных клеток (Campagnoli et al., 2001; Паюшина и др., 2004). В соответствующих индукционных средах МСК, выделенные из печени зародышей этих и других видов животных, дифференцируются в остеогенном, адипогенном и хондрогенном направлениях (Campagnoli et al., 2001; Götherström et al., 2003; Krupnick et al., 2004; Guillot et al., 2007; Скоробогатова и др., 2008; Moreno et al., 2010). По некоторым данным они способны давать начало также эндотелию и кардиомиоцитам (Krupnick et al., 2004). Как и МСК из костного мозга, эти клетки обладают иммуносупрессивными свойствами — не вызы-

вают пролиферативного ответа аллогенных Т-клеток, подавляют стимулированную митогенами пролиферацию лимфоцитов *in vitro* и замедляют отторжение чужеродных трансплантатов кожи (Götherström et al., 2003; Le Blanc, 2003; Moreno et al., 2010).

В то же время МСК из печени зародышей имеют некоторые особенности, отличающие их от соответствующих клеток из других источников. По сравнению с МСК зрелого костного мозга они характеризуются повышенным уровнем экспрессии генов, связанных с пролиферацией и ранними стадиями дифференцировки при сниженной экспрессии генов, отвечающих за терминальную дифференцировку (Götherström et al., 2005), экспрессией маркеров плюрипотентности Oct-4, Nanog, Rex-1, SSEA-3, SSEA-4 (Guillot et al., 2007) и более активной пролиферацией (Versele et al., 1987; Götherström et al., 2003; Guillot et al., 2007; Moreno et al., 2010); ряд авторов отмечают также меньшую выраженность их остеогенных и адипогенных потенциалов (Ryden et al., 2003; Fromigue et al., 2008; Кожевникова и др., 2009). Эти различия могут отражать меньшую зрелость МСК в пренатальном онтогенезе по сравнению с постнатальным. Однако в некоторых отношениях МСК из печени отличаются и от клеток, выделенных из других тканей на пренатальных стадиях развития. В частности, они уступают МСК из костного мозга и других органов зародыша по способности к остеогенезу (in't Anker et al., 2003; Guillot et al., 2008).

Вопрос о происхождении МСК в печени остается не вполне ясным. Хотя нельзя исключить их образование *de novo* из мезенхимных клеток поперечной перегородки, некоторые данные позволяют предполагать, что эти клетки мигрируют в печень из аорто-гонадо-мезонефральной области, создавая микроокружение для приходящих вслед за ними кроветворных клеток (Wang et al., 2008). О последовательной смене локализации МСК, связанной с их миграцией в зоны активного кроветворения, косвенно свидетельствуют корреляция между содержанием СКК и клоногенных МСК (КОЕ-Ф) в печени, селезенке и костном мозге на разных стадиях онтогенеза мыши (Van Den Heuvel et al., 1987; Wolf et al., 1995), а также присутствие МСК в периферической крови зародыша (Mendes et al., 2005). В печени мыши наибольшее содержание КОЕ-Ф наблюдается на 12—13-е сут эмбриогенеза и предшествует максимальной численности СКК (Van Den Heuvel et al., 1987). Затухание гемопоэза в печени на поздних сроках пренатального развития и в первые дни после рождения сопровождается значительным снижением содержания КОЕ-Ф (Van Den Heuvel et al., 1987; Wolf et al., 1995; Паюшина и др., 2004), однако некоторое число клеток с характеристиками МСК сохраняется даже в зрелой печени как у мыши (da Silva Meirelles et al., 2006), так и у человека (Pan et al., 2011). При этом в период активного кроветворения большинство клоногенных МСК в печени находятся в клеточном цикле, тогда как после снижения активности гемопоэза их пролиферация прекращается (Versele et al., 1987).

В настоящее время многие исследователи считают основной функцией МСК в организме не столько замещение утраченных клеток соединительных тканей, сколько трофическую активность, обеспечивающую микроокружение для тканеспецифических стволовых клеток, в частности для СКК (Oh, 2010). В костном мозге МСК участвуют в поддержании гемопоэза, привлекая кроветворные клетки за счет продукции хемоаттрактантов и регулируя их пролиферацию и дифференцировку путем контактных

взаимодействий через поверхностные молекулы и секреции широкого спектра цитокинов; кроме того, роль МСК в создании ниши состоит в дифференцировке в более зрелые клетки кроветворной стромы (Majumdar et al., 1998; Van Overstraeten-Schlögel et al., 2006; Wagner et al., 2007, 2008). Есть все основания предполагать, что подобные функции выполняют и МСК зародышевой печени, хотя прямые экспериментальные подтверждения их способности поддерживать кроветворение немногочисленны (Hu et al., 2001; Паюшина и др., 2004).

Клетки Ито

Клетки Ито, называемые также звездчатыми клетками печени, или жирозапасующими клетками, располагаются в перисинусоидальном пространстве Диссе между гепатоцитами печеночных балок и эндотелием синусоидных капилляров. В нормальной печени развивающегося или зрелого организма они характеризуются присутствием липидных капель и длинных цитоплазматических отростков, простирающихся вдоль и вокруг синусоидов, и выполняют, главным образом, функцию депонирования витамина А. При повреждении печени клетки Ито активируются, теряя липидные включения и приобретая морфологию и фенотип миофибробластов. В этом состоянии они обладают сократимостью, позволяющей регулировать давление крови в синусоидах, и усиленно продуцируют компоненты внеклеточного матрикса, играя ключевую роль в фиброгенезе (Sato et al., 2003; Guyot et al., 2006).

Подобной активации клетки Ито подвергаются также *in vitro* в монослойной культуре, тогда как при культивировании в коллагеновом геле они сохраняют морфологические и фенотипические черты покоящихся клеток (Sato et al., 2003). Данные об их способности к пролиферации противоречивы. Хотя имеются сообщения о получении иммортализованных линий этих клеток из печени половозрелых крыс (Pan et al., 2005), большинство авторов отмечают быстрое прекращение роста клеток Ито в стандартных условиях *in vitro* (Knittel et al., 1999; Kubota et al., 2007), а некоторые авторы вообще ставят под сомнение возможность их митотического деления (Ramadori, Saile, 2002). Однако по некоторым данным клетки Ито из печени зародышей крысы способны длительно пролиферировать в бессывороточной среде в присутствии фидерного слоя фибробластов STO и лейкоингибирующего фактора (Kubota et al., 2007).

Основным фенотипическим маркером клеток Ито служит десмин (Vassy et al., 1993; Киясов и др., 1997; Knittel et al., 1999; Nitou et al., 2000; Cassiman et al., 2006; Kubota et al., 2007), хотя в печени половозрелых крыс он выявляется не во всех клетках данного типа (Ballardini et al., 1994). Для них характерна также экспрессия винкулина (Kawai et al., 2003), β 3-интегрин (Kubota et al., 2007), клеточного ретинолсвязывающего белка-1 (cellular retinol-binding protein-1, CRBP-1) (Villeneuve et al., 2009) и ряда нейтральных маркеров, таких как глиальный фибриллярный кислый белок (GFAP) (Knittel et al., 1999; Samama, Boehm, 2005; Russo et al., 2006), N-CAM (Loo, Wu, 2008), нестин (Kubota et al., 2007), рилин (Kobold et al., 2002; Samama, Boehm, 2005) и синаптофизин (Cassiman et al., 1999). Переход в активированное состояние сопровождается снижением экспрессии GFAP и появлением α -гладкомышечного актина (SMA); впрочем, у некоторых

видов животных SMA может присутствовать и в покоящихся клетках Ито (Ramadori, Saile, 2002).

Источник клеток Ито в эмбриогенезе неизвестен. Гипотеза о происхождении этих клеток из нервного гребня, основанная на экспрессии ими нейтральных и нейроэндокринных маркеров, не находит экспериментального подтверждения (Cassiman et al., 2006). Ряд исследователей полагают, что они могут образовываться из мезенхимных клеток поперечной перегородки, образующих субмезотелиальный слой под капсулой развивающейся печени (Enzan et al., 1997; Loo, Wu, 2008; Asahina et al., 2009). В то же время обнаруженная в печени человека экспрессия клетками Ито эпителиальных маркеров E-кадгерина (Lim, Lee, 2002) и цитокератинов 18 и 19 (Lim et al., 2002) позволяет предполагать их происхождение из эпителия, хотя у плодов мыши E-кадгерин в них не выявлен (Nitou et al., 2000). Наконец, в экспериментах на химерных мышцах показано, что по крайней мере в зрелой печени при развитии фиброза клетки Ито могут иметь кроветворное происхождение (Miyata et al., 2008).

В печени зародыша мыши звездчатые клетки, содержащие десмин, обнаруживаются вокруг синусоидов, начиная с 11.5-сут. эмбриогенеза (Cassiman et al., 2006). Как показывает иммуногистохимическое исследование печени плодов мыши, крысы и человека, в ходе развития численность клеток Ито возрастает (Nitou et al., 2000; Kawai et al., 2003; Villeneuve et al., 2009). По некоторым данным, у зародышей они демонстрируют некоторые морфологические и фенотипические отличия от клеток Ито зрелой печени. Так, в печени зародышей мыши клетки Ито имеют более толстые отростки (Nitou et al., 2000), а на ранних стадиях эмбриогенеза крысы не экспрессируют GFAP (Kubota et al., 2007).

В пренатальном и раннем постнатальном онтогенезе клетки Ито контактируют с кроветворными клетками, гепатоцитами и гепатоцитами (Киясов и др., 1997; Nitou et al., 2000), что позволяет предполагать их роль в регуляции гемопоэза и гепатогенеза. Это предположение подтверждается продукцией клетками Ито из зародышевой печени хемоаттрактанта для СКК SDF-1 и фактора роста гепатоцитов HGF и присутствием на их поверхности молекулы адгезии VCAM-1, участвующей в регуляторных взаимодействиях между кроветворными и стромальными клетками (Kubota et al., 2007). Наряду с гепатоцитами эти клетки также секретируют эритропоэтин (Eckardt, 1996), а в зрелой регенерирующей печени показана продукция ими фактора стволовых клеток SCF (Fujio et al., 1994). При совместном культивировании *in vitro* паракринные сигналы от клеток Ито способствуют выживанию и пролиферации печеночных стволовых клеток (Schmelzer et al., 2007) и созреванию гепатоцитов (Nagai et al., 2002).

Портальные (мио)фибробласты

Еще одна популяция стромальных клеток печени представлена фибробластами и миофибробластами соединительной ткани, окружающей сосуды и желчные протоки портальных триад. Подобно активированным клеткам Ито, миофибробласты перипортальной области экспрессируют SMA и, по данным большинства авторов, десмин (Ramadori, Saile, 2002; Dudas et al., 2007) и могут участвовать в фиброгенезе при некоторых патологиях печени (Guyot et al., 2006). В то же время по ряду характеристик эти миофибробласты отличаются от происходящих

из клеток Ито. В частности, они лишены таких маркеров, как GFAP и рилин (Kobold et al., 2002), но экспрессируют отсутствующие в покоящихся и активированных клетках Ито CD90 (Dudas et al., 2007, 2009), гремлин (Dudas et al., 2009), фибулин-2 и интерлейкин-6 (Knittel et al., 1999). В отличие от клеток Ито портальные миофибробласты длительно пролиферируют и не подвергаются спонтанному апоптозу *in vitro* (Knittel et al., 1999; Ramadori, Saile, 2002).

В эмбриональном развитии источником периваскулярных мезенхимных клеток печени, экспрессирующих SMA, является мезодерма (Asahina et al., 2009). На ранних стадиях пренатального развития все клетки стромы портальных триад имеют фенотипические характеристики миофибробластов, однако теряют их в ходе дальнейшего развития, сменяясь фибробластами, содержащими виментин, но не SMA. В то же время у плодов с некоторыми аномалиями развития печени миофибробласты сохраняются, что ведет к развитию портального фиброза (Villeneuve et al., 2009). В нормальной печени половозрелого организма миофибробласты отсутствуют, однако при ряде патологических состояний, сопровождающихся фиброгезом, они появляются вновь в результате активации покоящихся фибробластов портального тракта (Guyot et al., 2006). Результаты экспериментов на химерных мышцах с индуцированным циррозом печени свидетельствуют о возможности происхождения печеночных миофибробластов из МСК костного мозга (Russo et al., 2006). В качестве их потенциального источника рассматриваются также гладкомышечные клетки сосудистой стенки (Guyot et al., 2006). В то же время предположение о гистогенетическом родстве портальных миофибробластов с клетками Ито не находит подтверждения (Ramadori, Saile, 2002; Dudas et al., 2009).

Следует отметить, что фибробластоподобные клетки, способные принимать фенотип миофибробластов и участвовать в развитии фиброза при повреждении печени, присутствуют не только в области портальных триад, но также и вокруг центральных вен (так называемые клетки второго слоя) и в капсуле Глиссона (Guyot et al., 2006). Вопрос о том, насколько эти популяции фибробластов и миофибробластов идентичны портальным, остается неизученным.

Слабо изучена и роль фибробластов (миофибробластов) в поддержании кроветворения в печени зародыша. Имеются лишь косвенные свидетельства в пользу их возможного участия в организации кроветворного микроокружения. Так, клетки портальной области развивающейся печени продуцируют различные компоненты внеклеточного матрикса (Amenta, Harrison, 1997) — в том числе фибронектин, адгезивное взаимодействие с которым, как известно, стимулирует пролиферацию эритроидных клеток (Weinstein et al., 1989) и СКК (Yokota et al., 1998). Показано, что в печени плода человека максимальное содержание фибронектина в строме портальных триад наблюдается в период высокой активности гемопоэза (Tamiolakis et al., 2007). По-видимому, в ходе пренатального развития различные популяции фибробластов и миофибробластов регулируют также и гистогенез печеночной ткани. В частности, предполагается участие субмезотелиальных мезенхимных клеток печени зародыша (вероятных эквивалентов капсулярных фибробластов зрелой печени) в поддержании пролиферации гепатобластов (Asahina et al., 2009). Возможность регуляторного влияния фибробластов на гепатогенез подтверждается продук-

цией HGF клетками перипортальной соединительной ткани печени мыши (Ishikawa et al., 2001) и обнаружением в печени взрослого человека популяции клеток с характеристиками фибробластов, при совместном культивировании с гепатоцитами обеспечивающих не только их выживание и функциональную активность, но и формирование структур, подобных печеночным балкам (Jodon de Villegoché, Brouty-Boyé, 2008). По некоторым данным, взаимодействие портальных миофибробластов зародышевой печени с эпителием может также играть роль в формировании внутривисцеральных желчных протоков (Libbrecht et al., 2002).

Эндотелиоциты

Эндотелий сосудов развивающейся печени, расположенных в различных участках печеночного ацинуса, неодинаков по своей структуре. Так, портальные сосуды печени зародыша крысы выстланы непрерывным эндотелием, тогда как эндотелий центральных вен в отличие от такового в печени половозрелого животного является фенестрированным (Barberá-Guillem et al., 1986). Эндотелий печеночных синусоидов у плодов крысы и человека лишен базальной мембраны и характеризуется присутствием щелей между клетками, а также диафрагмированных и открытых фенестр, в том числе крупных, величиной более 250 нм. Кроме того, в пренатальный период в эндотелиоцитах синусоидов отмечаются временные миграционные поры — истонченные участки цитоплазмы, появляющиеся в момент диапедеза клеток крови и отростков мегакариоцитов через стенку синусоида (Bankston, Pino, 1980; Barberá-Guillem et al., 1986; Бобрик и др., 1987). Очевидно, подобные структурные особенности эндотелия синусоидов связаны не только с метаболическими и очистительными функциями, свойственными также и зрелой печени, но и с активным кроветворением, требующим высокой проницаемости сосудистой стенки для регуляторных молекул и новообразованных клеток крови.

В эмбриогенезе синусоиды печени образуются из капилляров поперечной перегородки и первоначально имеют непрерывный эндотелий, характеризующийся экспрессией PECAM-1, CD34 и IF10. Дальнейшее развитие сопровождается потерей этих маркеров, снижением количества перисинусоидального ламинина и отложением тенасцина, фибронектина и тромбоспондина (Couvelard et al., 1996). Появляются фенестры с диафрагмами, позднее — открытые; число их по мере развития возрастает, а расположение становится более упорядоченным (Bankston, Pino, 1980; Бобрик и др., 1987). По некоторым данным, приобретение эндотелием синусоидного фенотипа регулируется гепатоцитами зародышевой печени (Módos, Martínez-Hernandez, 1991). К концу пренатального онтогенеза эндотелий синусоидов приобретает маркеры, свойственные ему в зрелой печени, — CD4, ICAM-1, CD32 и CD14 (Couvelard et al., 1996), а его пористость снижается за счет исчезновения крупных фенестр (Barberá-Guillem et al., 1986).

Зародышевая печень содержит большое количество эндотелиальных родоначальных клеток, способных к клоногенному росту *in vitro* и образованию сосудистых структур в матригеле. У мыши они имеют фенотип CD31⁺Sca-1⁺ (Cherqui et al., 2006); кроме того, из печени зародышей этого вида животных выделены клетки Flk-1⁺, способные к дифференцировке не только в эндотелий, но

и в гладкие мышцы (Jin et al., 2010). У человека эндотелиальные предшественники (ангиобласты) зародышевой печени экспрессируют рецептор фактора роста сосудистого эндотелия (VEGF), CD133, CD117, фактор фон Виллебранда и низкий уровень CD31 (Schmelzer et al., 2007). В печени плодов человека предшественники эндотелия наиболее многочисленны на ранних сроках развития (Nava et al., 2005). Дифференцированные эндотелиоциты зародышевой печени имеют ограниченную способность к пролиферации *in vitro*, однако из них могут быть получены иммортализованные линии, сохраняющие характерную морфологию и фенотип, в частности экспрессию фактора фон Виллебранда, виментина, коллагена IV типа и фибронектина (Hering et al., 1991).

Эндотелий синусоидов является одним из важнейших компонентов кровяного микроокружения зародышевой печени. Благодаря экспрессии таких молекул адгезии, как E-селектин и VCAM-1 (Schweitzer et al., 1996; Wittig et al., 2010), и хемоаттрактанта SDF (Sawitza et al., 2009) он способен контролировать хоминг кровяных клеток, удержание их в нише и выход в кровяной ток. Кроме того, роль эндотелия в поддержании гемопоза в зародышевой печени, как и в других кровяных органах, может состоять в секреции цитокинов и регуляции пролиферации и дифференцировки кровяных клеток путем прямого контактного взаимодействия. Об этом свидетельствует способность различных линий эндотелиальных клеток, в том числе и полученных из печени зародышей, или кондиционированной ими среды к поддержанию эритроидной и гранулоцитарно-макрофагальной дифференцировки *in vitro* (Toksoz, Brown, 1984; Li, Congote, 1995; Ohneda, Bautch, 1997). Имеются также данные о дифференцировке кровяных родоначальных клеток костного мозга под влиянием эндотелия зародышевой печени в В-лимфоциты (Wittig et al., 2010). Не следует недооценивать и роль эндотелия в регуляции гепатогенеза. В частности, показаны стимуляция пролиферации печеночных родоначальных клеток при совместном культивировании с эндотелиоцитами (Xiong et al., 2008) или ангиобластами (Schmelzer et al., 2007) и повышенная длительность выживания гепатоцитов *in vitro* в присутствии линии эндотелиальных клеток (Herring et al., 1991). Возможно, отчасти эти эффекты связаны с продукцией эндотелием зародышевой печени HGF (Ishikawa et al., 2001) и Wnt9a (Matsumoto et al., 2008).

Гладкомышечные клетки

В печени зародыша, как и зрелого организма, гладкие миоциты являются одним из компонентов стенки кровеносных сосудов. Предполагается, что при повреждении печени они способны принимать фенотип миофибробластов и вносить вклад в фиброгенез наряду с активированными клетками Ито и портальными миофибробластами (Guyot et al., 2006).

Начальные этапы дифференцировки клеток в гладкомышечном направлении характеризуются экспрессией SMA, тромбоспондина-1 и специфической изоформы фибронектина (EDa⁺); на более поздних стадиях появляются такие маркеры, как h1-кальпонин, метавинкулин, h-кальдесмон, а также гладкомышечные формы α -актинина и миозина (Charbord et al., 2000, 2002; Dennis, Charbord, 2002). В печени зародыша человека дифференцированные гладкие миоциты, экспрессирующие h-каль-

десмон, присутствуют только в tunica media ветвей печеночной артерии, и в ходе развития их численность возрастает. В других клетках портальной области, а также в печеночных дольках h-кальдесмон отсутствует (Villeneuve et al., 2009). Однако вышеуказанные маркеры разных стадий гладкомышечной дифференцировки обнаружены в культурах стромальных клеток из печени зародышей мыши. Предполагается, что *in vivo* этим клеткам соответствуют перicyты вокруг венозных капилляров, или аблюминальные периваскулярные клетки (Charbord et al., 2000, 2002; Dennis, Charbord, 2002).

Происхождение клеток с подобными фенотипическими характеристиками в строме развивающейся печени предположительно связывают с МСК (Dennis, Charbord, 2002), что подтверждается способностью последних к гладкомышечной дифференцировке *in vitro* (Gao et al., 2010). Впрочем, не исключено также образование гладких миоцитов зародышевой печени из портальных миофибробластов (Villeneuve et al., 2009) и, как было упомянуто выше, их гистогенетическое родство с эндотелием (Dennis, Charbord, 2002; Jin et al., 2010).

О возможном участии гладкомышечных клеток печени в регуляции гемопоза свидетельствует способность многих линий стромальных клеток, экспрессирующих маркеры разных стадий дифференцировки в этом направлении, к поддержанию кровяного *in vitro*. Следует отметить, что линии клеток из зародышевой печени и других кровяных органов, находящиеся на ранних и средних стадиях гладкомышечной дифференцировки, поддерживают пролиферацию примитивных кровяных клеток эффективнее, чем клетки, находящиеся на завершающих стадиях, или клетки, лишенные гладкомышечных маркеров (Charbord et al., 2000). Показано, что гладкомышечные (миоидные) клетки стромы костного мозга продуцируют широкий спектр кровяных цитокинов и других факторов роста (Sensebe et al., 1997a; Sensebe et al., 1997b). Вероятно, подобной секреторной активностью обладают и миоцитоподобные клетки зародышевой печени. Кроме того, благодаря своему сократительному фенотипу они могут регулировать перемещение кровяных клеток (Dennis, Charbord, 2002).

Интересно, что помимо стромальных клеток на разных стадиях гладкомышечной дифференцировки в печени зародышей различных видов животных обнаружены клетки-предшественники скелетных мышц. Они экспрессируют маркеры ранних стадий скелетного миогенеза (в частности, фактор транскрипции MyoD), а при помещении в культуру спонтанно образуют миотубы. По некоторым данным, по своему положению в гистогенетическом ряду эти эктопические предшественники соответствуют миообластам (Gerhart et al., 2001; Gornostaeva et al., 2006; Шевелева и др., 2011). Их происхождение и функции в печени зародыша остаются неясными.

Эпителио-мезенхимная трансформация. Гистогенетические отношения между компонентами стромы

Помимо вышеперечисленных типов стромальных клеток, имеющих четкие фенотипические признаки принадлежности к тому или иному мезенхимному дифферону, развивающаяся печень содержит также клетки со смешанными свойствами, находящиеся в состоянии так называемой эпителио-мезенхимной трансформации (ЭМТ).

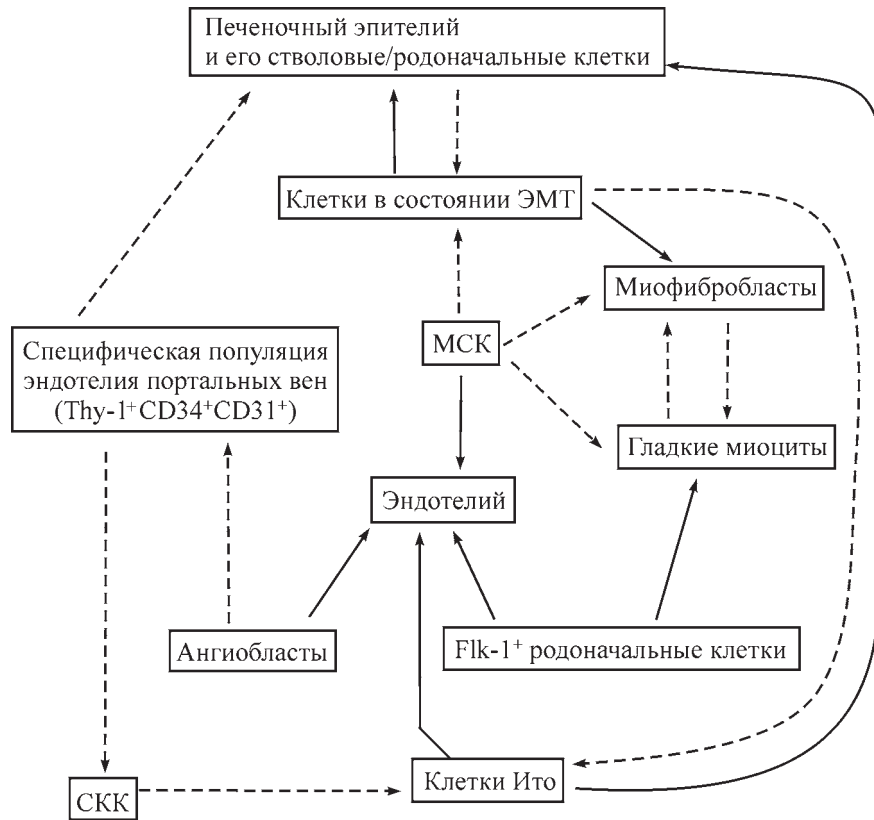


Схема возможных гистогенетических связей между популяциями клеток развивающейся печени.

Сплошными стрелками обозначены направления дифференцировки, экспериментально подтвержденные для клеток зародышевой или зрелой печени; штриховыми — предполагаемые. МСК — мезенхимные стромальные клетки, СКК — стволовые кроветворные клетки, ЭМТ — эпителио-мезенхимная трансформация.

Они сочетают экспрессию маркеров, характерных для печеночного эпителия (альфа-фетопротеин, цитokerатины 7, 8 и 18, альбумин и Е-кадгерин) и для клеток мезенхимного происхождения (виментин, Stro-1, остеопонтин, коллаген I типа, SMA, тромбоспондин-1, EDa фибронектин, кальпонин, CD29, CD44, CD49 и CD54) (Chagraoui et al., 2003; Zhang et al., 2005). Коэкспрессия маркеров эпителия и мезенхимы отмечена как в нативной печени зародышей мыши (Chagraoui et al., 2003; Li et al., 2011), так и в полученных из нее культурах клеток (Chagraoui et al., 2003; Zhang et al., 2005), а также в печеночных стволовых клетках (Deng et al., 2011; Li et al., 2011). В качестве предполагаемых источников клеток в состоянии ЭМТ рассматриваются как мезенхима, так и паренхима печени; не исключено также их происхождение из плюрипотентных клеток, способных давать начало одновременно энтодермальным и мезодермальным производным, или из СКК, заселяющих зародышевую печень (Chagraoui et al., 2003; Deng et al., 2011).

Многочисленные клетки в состоянии ЭМТ обнаруживаются в печени в фазе активного кроветворения и исчезают в ходе дальнейшего развития (Chagraoui et al., 2003; Li et al., 2011). В то же время сочетание маркеров мезенхимы и цитокератинов 8 и 18 отмечено и в некоторых популяциях фибробластов, выделенных из печени взрослого человека (Jodon de Villeroché, Brouty-Boyé, 2008). Существует гипотеза, согласно которой в постнатальном онтогенезе взаимные переходы между эпителием и мезенхимой играют роль в регенерации печени при ее хронических повреждениях. При этом исход повреждения зависит от соотношения этих процессов: преобладание эпителио-мезенхимного перехо-

да приводит к фиброгенезу, мезенхимо-эпителиальному — к полноценной регенерации (Choi, Diehl, 2009).

Клетки в состоянии ЭМТ рассматриваются в качестве одного из важных компонентов кроветворного микроокружения зародышевой печени. Показано, что при сокультивировании с кроветворными клетками они способны поддерживать СКК в недифференцированном состоянии (Zhang et al., 2005). При этом индукция их гепатоцитарной дифференцировки онкостатином М ведет к потере способности поддерживать гемопоэз (Chagraoui et al., 2003). Продукция фибронектина клетками портальных триад, имеющими признаки ЭМТ, коррелирует с выраженностью гемопоэза в печени на разных стадиях пренатального развития и, как предполагают, играет важную роль в регуляции миелоидной и особенно эритроидной дифференцировки (Lambropoulou et al., 2007).

ЭМТ — не единственный пример сочетания признаков различных рядов дифференцировки в клетках зародышевой печени. Так, в эндотелии портальных вен печени человека в первом триместре пренатального развития обнаружены клетки с фенотипом Thy-1⁺CD34⁺CD31⁺, коэкспрессирующие маркеры эндотелиоцитов, СКК и печеночных родоначальных клеток и способные дифференцироваться в гепатобласты и клетки крови (Terrace et al., 2010). Существование подобных «промежуточных» клеточных типов делает картину гистогенетических связей между стромальными и другими клетками зародышевой печени весьма запутанной. Еще более осложняют ситуацию данные о возможности неортодоксальной дифференцировки некоторых типов клеток стромы этого органа, в

частности МСК в гепатоциты (Zhao et al., 2004) или клеток Ито в гепатоциты и эндотелий (Kordes et al., 2007; Гумерова, Киясов, 2010). По-видимому, клеткам развивающейся печени свойственна определенная пластичность. Не исключено, что она связана с меньшей зрелостью клеток зародыша по сравнению со зрелым организмом, что может проявляться в менее жесткой определенности путей их дифференцировки. Впрочем, подтверждение пластичности клеток развивающейся печени и определение границ этой пластичности требуют дальнейших исследований.

Схема возможных гистогенетических отношений различных популяций стромальных клеток печени зародыша между собой, а также с эпителиальными и кроветворными клетками приведена на рисунке.

Действуя в совокупности, различные элементы стромы за счет контактных взаимодействий с кроветворными клетками и продукции хемоаттрактантов, цитокинов и компонентов внеклеточного матрикса обеспечивают необходимые условия для поддержания гемопоэтической активности печени. Организуемое ими микроокружение для СКК при всей общности функций с кроветворным микроокружением зрелого костного мозга имеет специфические особенности. Так, стромальные клетки зародышевой печени человека превосходят таковые из костного мозга по пролиферативной активности и уровню экспрессии регуляторов сигнального пути Wnt, но характеризуются более слабой экспрессией компонентов сигнального пути Notch (Martin, Bhatia, 2005). Кроме того, для линий стромальных клеток из печени зародышей мыши характерна сниженная по сравнению с клетками из костного мозга экспрессия VCAM-1, однако при этом они более эффективно обеспечивают прикрепление кроветворных клеток, опосредуемое, очевидно, другими молекулами адгезии (Koenig et al., 2002). Не исключено, что различия в механизмах регуляторного влияния со стороны стромального микроокружения приводят к неодинаковому поведению СКК в этих кроветворных органах, в частности к их активной пролиферации в печени зародыша в противоположность зрелому костному мозгу.

Возникает вопрос о пространственной локализации различных стадий и направлений кроветворной дифференцировки в печени зародыша. Как следует из вышеизложенного, большинство типов стромальных клеток, способных участвовать в регуляции гемопоэза, находится в стенке кровеносных сосудов или в непосредственной близости от нее, что позволяет предполагать особое значение периваскулярной ниши для кроветворения в печени. Показано, что в печени зародышей мыши СКК прилежат к синусоидной сети или интегрированы в нее, и их самоподдержание требует взаимодействия с клетками синусоидов через определенные регуляторные молекулы, в частности через активированный белок С (Iwasaki et al., 2010). На срезах кроветворяющей печени дифференцирующиеся гранулоциты обнаруживаются преимущественно вокруг сосудов порталных триад и под капсулой, тогда как клетки эритроидного ряда на ранних стадиях дифференцировки тесно контактируют с гепатоцитами, а на более поздних окружают центральные макрофаги эритробластических островков. Мегакариоциты располагаются среди гепатоцитов в контакте с отростками стромальных клеток, а В-лимфоциты и их предшественники рассеяны по паренхиме, не образуя очагов (Emura et al., 1984; Timens, Kamps, 1997; Ayres-Silva et al., 2011). Такое пространственное распределение кроветворных клеток может свиде-

тельствовать о важной роли стромальных элементов печени в регуляции, прежде всего, гранулоцитарной дифференцировки, тогда за поддержание эритропоэза, по-видимому, в первую очередь ответственны клетки печеночной паренхимы.

Морфологический субстрат микроокружения, в котором происходит дифференцировка эпителия зародышевой печени, исследован значительно слабее, чем ниша для кроветворных клеток. Однако вышеописанные данные о стимулирующем влиянии различных стромальных популяций на выживание, пролиферацию и дифференцировку печеночных стволовых и родоначальных клеток *in vitro* указывают на существенную роль мезенхимного компонента развивающейся печени в контроле не только гемопоэза, но и гепатогенеза. Выяснение молекулярных механизмов регуляции этих гистогенетических процессов и оценка функционального значения конкретных типов стромальных клеток требуют дальнейшего исследования и тщательной систематизации полученных экспериментальных данных.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 09-04-00002).

Список литературы

- Бобрин И. И., Шевченко Е. А., Алимов Г. А. 1987. Ультраструктурная организация эндотелиоцитов синусоидов печени человека в пренатальном периоде. *Арх. анат. гистол. эмбриол.* 92 (6) : 43—46.
- Гумерова А. А., Киясов А. П. 2010. Могут ли перисинусоидальные клетки быть региональными стволовыми (прогениторными) клетками печени? *Клеточная трансплантология и тканевая инженерия.* 5 (1) : 33—40.
- Домарацкая Е. И. 2011. Стволовые клетки — резиденты костного мозга. *Изв. РАН. Сер. биол.* 3 : 1—12.
- Киясов А. П., ван Еукен П., ван Пелт Е., Ян С. Х. 1997. Экспрессия десмина и цитокератинов № 8 и 18 в некроветворных клетках печени крыс. *Онтогенез.* 28 (3) : 217—222.
- Кожевникова М. Н., Микаелян А. С., Старостин В. И. 2009. Молекулярно-генетический и иммунофенотипический анализ антигенного профиля, остеогенных и адипогенных потенциалов мезенхимных стромальных клеток из печени зародышей и костного мозга половозрелых крыс. *Цитология.* 51 (6) : 526—538.
- Паюшина О. В., Буеверова Э. И., Сатдыкова Г. П., Старостин В. И., Домарацкая Е. И., Хрущов Н. Г. 2004. Сравнительное исследование мезенхимных стволовых клеток, выделенных из костного мозга и эмбриональной печени мыши и крысы. *Изв. РАН. Сер. биол.* 6 : 659—664.
- Скоробогатова Н. Г., Волкова Н. А., Петренко А. Ю. 2008. Остеогенные и адипогенные свойства фибробластоподобных клеток-предшественников фетальной печени человека. *Цитология.* 50 (4) : 317—322.
- Фриденштейн А. Я., Чайлахян Р. К., Лалыкина К. С. 1970. О фибробластоподобных клетках в культурах кроветворной ткани морских свинок. *Цитология.* 12 (9) : 1147—1155.
- Шевелева О. Н., Паюшина О. В., Кожевникова М. Н., Буторина Н. Н., Старостин В. И. 2011. Спонтанный и индуцированный миогенез при культивировании клеток из печени зародышей крысы. *Цитология.* 53 (11) : 874—883.
- Aiuti A., Cicchini C., Bernardini S., Fedele G., Amicone L., Fantoni A., Tripodi M. 1998. Hematopoietic support and cytokine expression of murine-stable hepatocyte cell lines (ММН). *Hepatology.* 28 : 1645—1654.
- Amenta P. S., Harrison D. 1997. Expression and potential role of the extracellular matrix in hepatic ontogenesis: a review. *Miscrosc. Res. Tech.* 39 : 372—386.

- Anker P., in't, Noort W. A., Scherjon S. A., Kleijburg-van der Keur C., Kruisselbrink A. B., Bezooijen R. L., Beekhuizen W., Willemze R., Kanhai H., Fibbe W. E. 2003. Mesenchymal stem cells in human second-trimester bone marrow, liver, lung and spleen exhibit a similar immunophenotype but a heterogeneous multilineage differentiation potential. *Haematologica*. 88 : 845—852.
- Asahina K., Tsai S. Y., Li P., Maxson R. E., jr., Sucov H. M., Tsukamoto H. 2009. Mesenchymal origin of hepatic stellate cells, submesothelial cells, and perivascular mesenchymal cells during mouse liver development. *Hepatology*. 49 : 998—1011.
- Ayres-Silva J. D., Manso P. P., Madeira M. R., Pelajo-Machado M., Lenzi H. L. 2011. Sequential morphological characteristics of murine fetal liver hematopoietic microenvironment in Swiss Webster mice. *Cell Tissue Res*. 344 : 455—469.
- Ballardini G., Groff P., Badiali de Giorgi L., Schuppan D., Bianchi F. B. 1994. Ito cell heterogeneity: desmin-negative Ito cells in normal rat liver. *Hepatology*. 19 : 440—446.
- Bankston P. W., Pino R. M. 1980. The development of the sinusoids of fetal rat liver: morphology of endothelial cells, Kupfer cells, and the transmural migration of blood cells into the sinusoids. *Amer. J. Anat.* 159 : 1—15.
- Barberá-Guillem E., Arrue J. M., Ballesteros J., Vidal-Vanaclocha F. 1986. Structural changes in endothelial cells of developing rat liver in the transition from fetal to postnatal life. *J. Ultrastruct. Mol. Struct. Res.* 97 : 197—206.
- Blair A., Thomas D. B. 1998. The proliferative status of hematopoietic progenitor cells in the developing murine liver. *J. Anat.* 193 : 443—447.
- Campagnoli C., Roberts A. G., Kumar S., Bennett P. R., Belantuno L., Fisk N. M. 2001. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow. *Blood*. 98 : 2396—2402.
- Cassiman D., Barlow A., Vander Borgh S., Libbrecht L., Pachnis V. 2006. Hepatic stellate cells do not derive from the neural crest. *J. Hepatol.* 44 : 1098—1104.
- Cassiman D., van Pelt J., De Vos R., Van Lommel F., Desmet V., Yap S. -H., Roskams T. 1999. Synaptophysin: a novel marker for human and rat hepatic stellate cells. *Amer. J. Pathol.* 155 : 1831—1839.
- Chagraoui J., Lepage-Nolt A., Anjo A., Uzan G., Charbord P. 2003. Fetal liver stroma consists of cells in epithelial-to-mesenchymal transition. *Blood*. 101 : 2973—2982.
- Charbord P., Oostendorp R., Pang W., Herault O., Noel F., Tsuji T., Dzierzak E., Peault B. 2002. Comparative study of stromal cell lines derived from embryonic, fetal and postnatal mouse blood-forming tissues. *Exp. Hematol.* 30 : 1202—1210.
- Charbord P., Remy-Martin J. P., Tamayo E., Bernard G., Keating A., Peault B. 2000. Analysis of the microenvironment necessary for engraftment: role of the vascular smooth muscle-like stromal cells. *J. Hematother. Stem Cell Res.* 9 : 935—943.
- Cherqui S., Kurian S. M., Schussler O., Hewel J. A., Yates III J. R., Salomon D. R. 2006. Isolation and angiogenesis by endothelial progenitors in the fetal liver. *Stem Cells*. 24 : 44—54.
- Choi S. S., Diehl A. M. 2009. Epithelial-to-mesenchymal transitions in the liver. *Hepatology*. 50 : 2007—2013.
- Corlu A., Lamy I., Ilyin G. P., Fardel O., Kneip B., Le Josic C., Guguen-Guillouzo C. 1998. Hematopoiesis-promoting activity of rat liver biliary epithelial cells: involvement of a cell surface molecule, liver-regulating protein. *Exp. Hematol.* 26 : 382—394.
- Corselli M., Chen C. -W., Crisan M., Lazzari L., Péault B. 2010. Perivascular ancestors of adult multipotent stem cells. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 30 : 1104—1109.
- Couvelard A., Scoazec J. Y., Dauge M. C., Binguier A. F., Potet F., Feldmann G. 1996. Structural and functional differentiation of sinusoidal endothelial cells during organogenesis in humans. *Blood*. 87 : 4568—4580.
- Dan Y. Y., Riehle K. J., Lazaro C., Teoh N., Hague J., Campbell J. S., Fausto N. 2006. Isolation of multipotent progenitor cells from human fetal liver capable of differentiating into liver and mesenchymal lineages. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 103 : 9912—9917.
- Deng H., Wang H. F., Gao Y. B., Jin X. L., Xiao J. C. 2011. Hepatic progenitor cell represents a transitioning cell population between liver epithelium and stroma. *Med. Hypotheses*. 76 : 809—812.
- Dennis J. E., Charbord P. 2002. Origin and differentiation of human and murine stroma. *Stem Cells*. 20 : 205—214.
- Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop D., Horwitz E. 2006. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 8 : 315—317.
- Dudas J., Mansuroglo T., Batusic D., Ramadori G. 2009. Thy-1 is expressed in myofibroblasts but not found in hepatic stellate cells following liver injury. *Histochem. Cell Biol.* 131 : 115—127.
- Dudas J., Mansuroglo T., Batusic D., Saile B., Ramadori G. 2007. Thy-1 is an *in vivo* and *in vitro* marker of liver myofibroblasts. *Cell Tissue Res*. 329 : 503—514.
- Eckardt K. U. 1996. Erythropoietin production in liver and kidneys. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 5 : 28—34.
- Emura I., Sekiya M., Ohnishi Y. 1984. Ultrastructural identification of the hemopoietic inductive microenvironment in the human embryonic liver. *Arch. Histol. Jpn.* 47 : 95—112.
- Enzan H., Himeno H., Hiroi M., Kiyoku H., Saibara T., Ohnishi S. 1997. Development of hepatic sinusoidal structure with special reference to the Ito cells. *Microsc. Res. Tech.* 39 : 336—349.
- Feng R. Q., Du L. Y., Guo Z. Q. 2005. *In vitro* cultivation and differentiation of fetal liver stem cells from mice. *Cell Res*. 15 : 401—405.
- Fomin M. E., Tai L. K., Barcena A., Muench M. O. 2010. Co-expression of CD14 and CD326 discriminate hepatic precursors in the human fetal liver. *Stem Cell Develop.* 20 : 1247—1257.
- Friedenstein A. J., Gorskaja J. F., Kulagina N. N. 1976. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp. Hematol.* 4 : 267—274.
- Fromigüé O., Hamidouche Z., Chateauvieux S., Charbord P., Marie P. J. 2008. Distinct osteoblastic differentiation of murine fetal liver and bone marrow stroma-derived mesenchymal stem cells. *J. Cell. Biochem.* 104 : 620—628.
- Fujio K., Evarts R. P., Hu Z., Marsden E. R., Thorgeirsson S. S. 1994. Expression of stem cell factor and its receptor, c-kit, during liver regeneration from putative stem cells in adult rat. *Lab. Invest.* 70 : 511—516.
- Fukamoto T. 1992. Possible developmental interactions of hematopoietic cells and hepatocytes in fetal rat liver. *Biomed. Res.* 13 : 385—413.
- Gao L., McBeath R., Chen C. S. 2010. Stem cell shape regulates a chondrogenic versus myogenic fate through Rac-1 and N-cadherin. *Stem Cells*. 28 : 564—572.
- Gerhart J., Bast B., Neely C., Iem S., Amegbe P., Niewenhuis R., Miklasz S., Cheng P. F., George-Weinstein M. 2001. MyoD-positive myoblasts are present in mature fetal organs lacking skeletal muscle. *J. Cell Biol.* 155 : 381—392.
- Gornostaeva S. N., Rzhainova A. A., Gol'dstein D. V. 2006. Myogenesis in hemopoietic tissue mesenchymal stem cell culture. *Bull. Exp. Biol. Med.* 14 : 493—499.
- Götherström C., Ringden O., Westgren M., Tammik C., Le Blanc K. 2003. Immunomodulatory effects of human foetal liver-derived mesenchymal stem cells. *Bone Marrow Transplant.* 32 : 265—272.
- Götherström C., West A., Liden J., Uzunel M., Lahesmaa R., Le Blanc K. 2005. Difference in gene expression between human fetal liver and adult bone marrow mesenchymal stem cells. *Haematologica*. 90 : 1017—1026.
- Guillot P. V., De Bari C., Dell'Accio F., Kurata H., Polak J., Fisk N. M. 2008. Comparative osteogenic transcription profiling of various fetal and adult mesenchymal stem cell sources. *Differentiation*. 76 : 946—957.
- Guillot P. V., Gotherstrom C., Chan J., Kurata H., Fisk N. M. 2007. Human first-trimester fetal MSC express pluripotency markers and grow faster and have longer telomeres than adult MSC. *Stem Cells*. 25 : 646—654.
- Guo Y., Zhang J., Zeng Y., Liu W., Geng C., Li K. W., Yang D., Wu S., Wei H., Han Z., Qian X., Jiang Y., He F. 2009. Relationship

between hematopoiesis and hepatogenesis in the midtrimester fetal liver characterized by dynamic transcriptomic and proteomic profiles. *PLoS ONE*. 4 : e7641.

Guyot C., Lepreux S., Combe C., Doudnikoff E., Bioulac-Sage P., Balabaud C., Desmouliere A. 2006. Hepatic fibrosis and chirrosis: the (myo)fibroblastic cell subpopulations involved. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 38 : 135—151.

Hering S., Griffin B. E., Strauss M. 1991. Immortalization of human fetal sinusoidal liver cells by polyoma virus large T antigen. *Exp. Cell Res.* 195 : 1—7.

Holyoake T. L., Nicolini F. E., Eaves C. J. 1999. Functional differences between transplantable human hematopoietic stem cells from fetal liver, cord blood, and adult marrow. *Exp. Hematol.* 27 : 1418—1427.

Hoppo T., Fujii H., Hirose T., Yasuchika K., Azuma H., Baba S., Naito M., Machimoto T., Kai I. 2004. Thy1-positive mesenchymal cells promote the maturation of CD49f-positive hepatic progenitor cells in the mouse fetal liver. *Hepatology*. 39 : 1362—1370.

Hu Y., Zhang L. Y., Ma G. J., Jiang X. Y., Zhao C. H. 2001. Phenotypical and biological characteristics of human fetal marrow and liver mesenchymal stem cells. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 9 : 289—293.

Ishikawa K. S., Masui T., Ishikawa K., Shojiri N. 2001. Immunolocalization of hepatocyte growth factor and its receptor (c-Met) during mouse liver development. *Histochem. Cell Biol.* 116 : 453—462.

Iwasaki H., Arai F., Kubota Y., Dahl M., Suda T. 2010. Endothelial protein C receptor-expressing hematopoietic stem cells reside in the perisinusoidal niche in fetal liver. *Blood*. 116 : 544—553.

Jin C. H., Yonemitsu Y., Ding W. R., Sueishi K. 2010. FLK-1⁺ cells derived from mouse fetal liver could differentiate into endothelial cells and smooth muscle cells. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*. 38 : 1108—1112.

Jodon de Villeroché V., Brouty-Boye D. 2008. Establishment and characterization of atypical fibroblasts from human adult liver contributing to hepatocyte cord-like arrangement. *Cell Biol. Int.* 32 : 605—614.

Jordan C. T., Astle C. M., Zawadski J., Mackarehstschian K., Lemischka I. R., Harrison D. E. 1995. Long-term repopulating abilities of enriched fetal liver stem cells measured by competitive repopulation. *Exp. Hematol.* 23 : 1011—1015.

Kamiya A., Kojima N., Kinoshita T., Sakai Y., Miyajima A. 2002. Maturation of fetal hepatocytes *in vitro* by extracellular matrices and oncostatin M: induction of tryptophan oxygenase. *Hepatology*. 35 : 1351—1359.

Kawai S., Enzan H., Hayashi Y., Jin Y. L., Guo L. M., Miyazaki E., Toi M., Kuroda N., Hiroi M., Saibara T., Nakayama H. 2003. Vinculin: a novel marker for quiescent and activated hepatic stellate cells in human and rat livers. *Virchows Arch.* 443 : 78—86.

Kinoshita T., Sekiguchi T., Xu M.-J., Ito Y., Kamiya A., Tsuji K., Nakahata T., Miyajima A. 1999. Hepatic differentiation induced by oncostatin M attenuates fetal liver hematopoiesis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 96 : 7265—7270.

Knittel T., Kobold D., Saile B., Grundmann A., Neubauer K., Piscaglia F., Ramadori G. 1999. Rat liver myofibroblasts and hepatic stellate cells: different cell populations of the fibroblast lineage with fibrogenic potential. *Gastroenterology*. 117 : 1205—1221.

Kobold D., Grundmann A., Piscaglia F., Eisenbach C., Neubauer K., Steffgen J., Ramadori G., Knittel T. 2002. Expression of reelin in hepatic stellate cells and during hepatic tissue repair: a novel marker for the differentiation of HSC from other liver myofibroblasts. *J. Hepatol.* 36 : 607—613.

Koenig J. M., Ballantyne C. M., Kumar A. G., Smith C. W., Yoder M. C. 2002. Vascular cell adhesion molecule-1 expression and hematopoietic supportive capacity of immortalized murine stromal cell lines derived from fetal liver and adult bone marrow. *In Vitro Cell. Develop. Biol. Anim.* 38 : 538—543.

Kordes C., Sawitza I., Müller-Marbach A., Ale-Agha N., Keitel V., Klonowski-Stumpe H., Haussinger D. 2007. CD133⁺ hepatic stellate cells are progenitor cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 352 : 410—417.

Krupnick A. S., Balsara K. R., Kreisel D., Riha M., Gelman A. E., Estives M. S., Amin K. M., Rosengard B. R., Flake A. W. 2004. Fetal liver as a source of autologous progenitor cells for perinatal tissue engineering. *Tissue Eng.* 10 : 723—735.

Kubota H., Yao H. -L., Reid L. M. 2007. Identification and characterization of vitamin A-storing cells in fetal liver: implications for functional importance of hepatic stellate cells in liver development and hematopoiesis. *Stem Cells*. 25 : 2339—2349.

Kucia M., Wu W., Ratajczak M. Z. 2007. Bone marrow-derived very small embryonic-like stem cells: their developmental origin and biological significance. *Develop. Dyn.* 236 : 3309—3320.

Kung J. W. C., Currie I. S., Forbes S. J., Ross J. A. 2010. Liver development, regeneration and carcinogenesis. *J. Biomed. Biotechnol.* 2010 : ID984248.

Lambropoulou M., Tamiolakis D., Venizelos I., Alexiadis G., Anastasopoulos G., Limberis V., Galazios G., Tsikouras P., Simopoulou M., Nikolaidou S., Petrakis G., Papadopoulos N. 2007. Induction of hepatic haematopoiesis with fibronectin expression by EMT stromal cells during the second trimester of development. *Clin. Exp. Med.* 7 : 115—121.

LeBlanc K. 2003. Immunomodulatory effects of fetal and adult mesenchymal stem cells. *Cytherapy*. 5 : 485—489.

Li B., Zheng Y. W., Sano Y., Taniguchi H. 2011. Evidence for mesenchymal-epithelial transition associated with mouse hepatic stem cell differentiation. *PLoS ONE*. 6 : e17092.

Li Q., Congote L. F. 1995. Bovine fetal-liver stromal cells support erythroid colony formation: enhancement by insulin-like growth factor II. *Exp. Hematol.* 23 : 66—73.

Libbrecht L., Cassiman D., Desmet V., Roskams T. 2002. The correlation between portal myofibroblasts and development of intrahepatic bile ducts and arterial branches in human liver. *Liver*. 22 : 252—258.

Lim Y. S., Kim K. A., Jung J. H., Suh K. S., Kim C. Y., Lee H. S. 2002. Modulation of cytokeratin expression during *in vitro* cultivation of human hepatic stellate cells: evidence of transdifferentiation from epithelial to mesenchymal phenotype. *Histochem. Cell Biol.* 118 : 127—136.

Lim Y. S., Lee H. S. 2002. The expression of E-cadherin in human and rat hepatic stellate cells: evidence of epithelial-mesenchymal transition. *Taehan Kan Hakhoe Chi*. 8 : 90—99.

Liu Y.-N., Zhang J., He Q.-H., Dai X., Shen L. 2008. Isolation and characterization of epithelial progenitor cells from human fetal liver. *Hepatology Res.* 38 : 103—113.

Loo C. K., Wu X. J. 2008. Origin of stellate cells from submesothelial cells in a developing human liver. *Liver Int.* 28 : 1437—1445.

Mahli H., Irani A. N., Gagandeep S., Gupta S. 2002. Isolation of human progenitor liver epithelial cells with extensive replication capacity and differentiation into mature hepatocytes. *J. Cell Sci.* 115 : 2679—2688.

Majumdar M. K., Thiede M. A., Mosca J. D., Moorman M., Gerson S. L. 1998. Phenotypic and functional comparison of cultures of marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) and stromal cells. *J. Cell. Physiol.* 176 : 57—66.

Martin M. A., Bhatia M. 2005. Analysis of the human fetal liver hematopoietic microenvironment. *Stem Cells Develop.* 14 : 493—504.

Matsumoto K., Miki R., Nakayama M., Tatsumi N., Yokouchi Y. 2008. Wnt9a secreted from the walls of hepatic sinusoids is essential for morphogenesis, proliferation, and glycogen accumulation of chick hepatic epithelium. *Develop. Biol.* 319 : 234—247.

Mendes S. C., Robin C., Dzierzak E. 2005. Mesenchymal progenitor cells localize within hematopoietic sites throughout ontogeny. *Development*. 132 : 1127—1136.

Miyata E., Masuya M., Yoshida S., Nakamura S., Kato K., Sugimoto Y., Shibasaki T., Yamamura K., Ohishi K., Nishii K., Ishikawa F., Shiku H., Katayama N. 2008. Hematopoietic origin of hepatic stellate cells in the adult liver. *Blood*. 111 : 2427—2435.

Módis L., Martínez-Hernández A. 1991. Hepatocytes modulate the hepatic microvascular phenotype. *Lab. Invest.* 65 : 661—670.

Moreno R., Martínez-González I., Rosal M., Farwati A., Gratacós E., Aran J. M. 2010. Characterization of mesenchymal stem

cells isolated from the rabbit fetal liver. *Stem Cells Develop.* 19 : 1579—1588.

Morrison S. J., Hemmati H. D., Wandycz A. M., Weissman I. L. 1995. The purification and characterization of fetal liver hematopoietic stem cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 92 : 10 302—10 306.

Nagai H., Terada K., Watanabe G., Ueno Y., Aiba N., Shibuya T., Kawagoe M., Kameda T., Sato M., Senoo H., Sugiyama T. 2002. Differentiation of liver epithelial (stem-like) cells into hepatocytes induced by coculture with hepatic stellate cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 293 : 1420—1425.

Nanno M., Hata M., Doi H., Satomi S., Yagi H., Sakata T., Suzuki R., Itoh T. 1994. Stimulation of *in vitro* hematopoiesis by a murine fetal hepatocyte clone through cell-cell contact. *J. Cell. Physiol.* 160 : 445—454.

Nava S., Westgren M., Jaksch M., Tibell A., Broome U., Ericzon B. G., Sumitran-Holgersson S. 2005. Characterization of cells in the developing human liver. *Differentiation.* 73 : 249—260.

Nitou M., Ishikawa K., Shiojiri N. 2000. Immunohistochemical analysis of development of desmin-positive hepatic stellate cells in mouse liver. *J. Anat.* 197 : 635—646.

Oh I.-H. 2010. Mesenchymal stromal cells: new insight on their identity and potential role in cell therapy. *Korean J. Hematol.* 45 : 219—221.

Ohata S., Nawa M., Kasama T., Yamasaki T., Sawanobori K., Hata S., Nakamura T., Asaoka Y., Watanabe T., Okamoto H., Hara T., Terai S., Sakaida I., Katada T., Nishina H. 2009. Hematopoiesis-dependent expression of CD44 in murine hepatic progenitor cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 379 : 817—823.

Ohneda O., Bautsch V. L. 1997. Murine endothelial cells support fetal liver erythropoiesis and myelopoiesis via distinct interactions. *Br. J. Haematol.* 98 : 798—808.

Pan Q., Fouraschen S. M., Kaya F. S., Verstegen M. M., Pescatori M., Stubbs A. P., van Ijcken W., van der Sloot A., Smits R., Kwekkeboom J., Metselaar H. J., Kazemier G., de Jonge J., Tilanus H. W., Wagemaker G., Janssen H. L., van der Laan I. J. 2011. Mobilization of hepatic mesenchymal stem cells from human liver grafts. *Liver Transpl.* 17 : 596—609.

Pan Q., Li D. -G., Lu H. -M., Wang Y. -Q., Zhang W. -Z., Xu Q. -F. 2005. A new immortalized rat cell line, hepatic stellate cell-PQ, exhibiting characteristics of hepatic stellate cell. *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.* 4 : 281—284.

Pawliuk R., Eaves C., Humphries R. K. 1996. Evidence of both ontogeny and transplant dose-regulated expansion of hematopoietic stem cells *in vivo*. *Blood.* 88 : 2852—2858.

Ramadori G., Saile B. 2002. Mesenchymal cells in the liver — one cell type or two? *Liver.* 22 : 283—294.

Rollini P., Faes-Van't Hull E., Kaiser S., Kapp U., Leyvraz S. 2007. Phenotypic and functional analysis of human fetal liver hematopoietic stem cells in culture. *Stem Cells Develop.* 16 : 281—296.

Russo F. P., Alison M. R., Bigger B. W., Amofah E., Florou A., Amin F., Bou-Gharios G., Jeffery R., Iredale J. P., Forbes S. J. 2006. The bone marrow functionally contributes to liver fibrosis. *Gastroenterology.* 130 : 1807—1821.

Ryden M., Dicker A., Götherström C., Aström G., Tammik C., Arner P., Le Blanc K. 2003. Functional characterization of human mesenchymal stem cell-derived adipocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 311 : 391—397.

Samama B., Boehm N. 2005. Reelin immunoreactivity in lymphatics and liver during development and adult life. *Anat. Record Part A.* 285A: 595—599.

Sasaki K., Sonoda Y. 2000. Histometrical and three-dimensional analyses of liver hematopoiesis in the mouse embryo. *Arch. Histol. Cytol.* 63 : 137—146.

Sato M., Suzuki S., Senoo H. 2003. Hepatic stellate cells: unique characteristics in cell biology and phenotype. *Cell Structure and Function.* 28 : 105—112.

Sawitz I., Kordes C., Reister S., Haussinger D. 2009. The niche of stellate cells within rat liver. *Hepatology.* 50 : 1617—1624.

Schmelzer E., Zhang L., Bruce A., Wauthier E., Ludlow J., Yao H. L., Moss N., Melhem A., McClelland R., Turner W., Ku-

lik M., Sherwood S., Tallheden T., Cheng N., Furth M. E., Reid L. M. 2007. Human hepatic stem cells from fetal and postnatal donors. *J. Exp. Med.* 204 : 1973—1987.

Schweitzer K. M., Drager A. M., van der Valk P., Thijsen S. F., Zevenbergen A., Theijssmeijer A. P., van der Schoot C. E., Langenhuijsen M. M. 1996. Constitutive expression of E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 in endothelial cells of hematopoietic tissues. *Amer. J. Pathol.* 148 : 165—175.

Sensebe L., Deschaseaux M., Li J., Herve P., Charbord P. 1997a. The broad spectrum of cytokine gene expression by myoid cells from the human marrow microenvironment. *Stem Cells.* 15 : 133—143.

Sensebe L., Mortensen B. T., Fixe P., Herve P., Charbord P. 1997b. Cytokines active on granulomonopoiesis: release and consumption by human marrow myeloid stromal cells. *Br. J. Haematol.* 98 : 274—282.

Silva Meirelles L., da, Chagastelles P. C., Nardi N. B. 2006. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *J. Cell Sci.* 119 : 2204—2213.

Suzuki A., Zheng Y. -W., Kaneko S., Onodera M., Fukao K., Nakauchi H., Taniguchi H. 2002. Clonal identification and characterization of self-renewing pluripotent stem cells in the developing liver. *J. Cell Biol.* 156 : 173—184.

Tamiolakis D., Venizelos I., Nikolaidou S., Jivanakis T. 2007. Normal development of fetal hepatic haematopoiesis during the second trimester of gestation is upregulated by fibronectin expression in the stromal cells of the portal triads. *Rev. Esp. Enferm. Dig.* 99 : 576—580.

Terrace J. D., Hay D. C., Samuel K., Anderson R. A., Currie I. S., Parks R. W., Forbes S. J., Ross J. A. 2010. Portal venous endothelium in developing human liver contains haematopoietic and epithelial progenitor cells. *Exp. Cell Res.* 316 : 1637—1647.

Timens W., Kamps W. A. 1997. Hemopoiesis in human fetal and embryonic liver. *Microsc. Res. Tech.* 39 : 387—397.

Toksoz D., Brown G. 1984. Maintenance of granulocyte-monocyte progenitor cells in liquid cultures of human foetal liver. *J. Cell. Physiol.* 119 : 227—233.

Van Den Heuvel R. L., Versele S. R. M., Schoeters G. E. R., Vanderborgh O. L. 1987. Stromal stem cells (CFU-F) in yolk sac, liver, spleen and bone marrow of pre- and postnatal mice. *Br. J. Haematol.* 66 : 15—20.

Van Overstraeten-Schlögel N., Beguin Y., Gothot A. 2006. Role of stromal-derived factor-1 in the hematopoietic-supporting activity of human mesenchymal stem cells. *Eur. J. Haematol.* 76 : 488—493.

Vassy J., Rigaut J. P., Braine D., Kraemer M. 1993. Confocal microscopy immunofluorescence localization of desmin and other intermediate filament proteins in fetal rat liver. *Hepatology.* 17 : 293—300.

Versele S. R., Van Den Heuvel R. L., Schoeters G. E., Vanderborgh O. L. 1987. Proliferation activity of stromal stem cells (CFU-f) from hemopoietic organs of pre- and postnatal mice. *Radiat. Res.* 111 : 185—191.

Villeneuve J., Pelluard-Nehme F., Combe C., Carles D., Chaponnier C., Ripoche J., Balabaud C., Bioulac-Sage P., Lepreux S. 2009. Immunohistochemical study of the phenotypic change of the mesenchymal cells during portal tract maturation in normal and fibrous (ductal plate malformation) fetal liver. *Comparative Hepatology.* 8 : 5.

Wagner W., Roderburg C., Wein F., Diehlmann A., Frankhauser M., Schubert R., Eckstein V., Ho A. D. 2007. Molecular and secretory profiles of human mesenchymal stromal cells and their abilities to maintain primitive hematopoietic progenitors. *Stem Cells.* 25 : 2638—2647.

Wagner W., Wein F., Roderburg C., Saffrich R., Diehlmann A., Eckstein V., Ho A. D. 2008. Adhesion of human hematopoietic progenitor cells to mesenchymal stromal cells involves CD44. *Cell Tissues Organs.* 188 : 160—169.

Wang X. Y., Lan Y., He W. Y., Zhang L., Yao H. Y., Hou C. M., Tong Y., Liu Y. L., Yang G., Liu X. D., Yang X., Liu B., Mao N. 2008. Identification of mesenchymal stem cells in aorta-gonad-me-

sonophros and yolk sac of human embryos. *Blood*. 111 : 2436—2443.

Weinstein R., Riordan M. A., Wenc K., Kreczko S., Zhou M., Dainiak N. 1989. Dual role of fibronectin in hematopoietic differentiation. *Blood*. 73 : 111—116.

Wittig O., Paez-Cortez J., Cardier J. E. 2010. Liver sinusoidal endothelial cells promote B lymphopoiesis from primitive hematopoietic cells. *Stem Cells Develop.* 19 : 341—350.

Wolf N. S., Bertoncello I., Jiang D., Priestley G. 1995. Developmental hematopoiesis from prenatal to young-adult life in the mouse model. *Exp. Hematol.* 23 : 142—146.

Xiong A., Austin T. W., Lagasse E., Uchida N., Tamaki S., Bordier B. A., Weissman I. L., Glenn J. S., Millan M. T. 2008. Isolation of human fetal liver progenitors and their enhanced proliferation by three-dimensional coculture with endothelial cells. *Tissue Eng. (Pt A)*. 14 : 995—1006.

Yokota T., Oritani K., Mitsui H., Aoyama K., Ishikawa J., Sugahara H., Matsumura I., Tsai S., Tomiyama Y., Kanakura Y., Matsuzawa Y. 1998. Growth-supporting activities of fibronectin on hematopoietic stem/progenitor cells *in vitro* and *in vivo*: structural requirement for fibronectin activities of CS1 and cell-binding domains. *Blood*. 91 : 3263—3272.

Yui J., Chiu C. P., Lansdorp P. M. 1998. Telomerase activity in candidate stem cells from fetal liver and adult bone marrow. *Blood*. 91 : 3255—3262.

Zhang H., Miao Z., He Z., Yang Y., Wang Y., Feng M. 2005. The existence of epithelial-to-mesenchymal cells with the ability to support hematopoiesis in human fetal liver. *Cell Biol. Int.* 29 : 213—219.

Zhang L., Theise N., Chua M., Reid L. M. 2008. The stem cell niche of human livers: symmetry between development and regeneration. *Hepatology*. 48 : 1598—1607.

Zhao X. Z., Wei L., Han M., Li L. S. 2004. Isolation, culture and multipotent differentiation of mesenchymal stem cells from human fetal livers. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi*. 12 : 711—713.

Zuba-Surma E. K., Kucia M., Rui L., Shin D. M., Wojakowski W., Ratajczak J., Ratajczak M. Z. 2009. Fetal liver very small embryonic/epiblast like stem cells follow developmental migratory pathway of hematopoietic stem cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1176 : 205—218.

Поступила 5 X 2011

CELLULAR COMPOSITION AND REGULATORY FUNCTION OF FETAL LIVER STROMA

O. V. Payushina,¹ E. I. Domaratskaya, V. I. Starostin

N. K. Koltzov Institute of Developmental Biology RAS, Moscow;

¹ e-mail: payushina@mail.ru

Hematopoietic differentiation and formation of hepatic tissue both take place in mammalian liver during its prenatal development. Hematopoietic and hepatic stem cells self-renew, proliferate and differentiate within specific microenvironment that is organized by stromal elements. Stroma of developing liver consists of different cell populations such as mesenchymal stromal cells, Ito cells, portal fibroblasts and myofibroblasts, vascular endothelial and smooth muscle cells, cells undergoing epithelial-to-mesenchymal transition. In this review, their phenotypical and functional properties, possible derivation and role in the regulation of hematopoiesis and hepatogenesis are discussed.

Key words: fetal liver, hematopoiesis, hepatogenesis, stem cells, stroma, microenvironment.