

## ГЕТЕРОГЕННОСТЬ И ВОЗМОЖНАЯ СТРУКТУРА ПОПУЛЯЦИИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК

© O. V. Паюшина,<sup>1</sup> Е. И. Домарацкая

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

<sup>1</sup>*электронный адрес: payushina@mail.ru*

Популяция мезенхимных стромальных клеток (МСК) представляет собой гетерогенную совокупность клеток, различающихся по морфологии, фенотипу, способности к росту и дифференцировке и другим характеристикам. Отчасти различия между МСК связаны с влиянием микроокружения, но в значительной степени неоднородность их свойств обусловлена различным положением клеток в гистогенетическом ряду. Иерархическая организация популяции МСК, включающей в себя различные категории олигопотентных и мультипотентных клеток, сложна и недостаточно изучена. В обзоре рассмотрены данные о морфологической, фенотипической и функциональной гетерогенности популяции МСК и ее возможной связи со структурой стромального дифферона.

**Ключевые слова:** мезенхимные стромальные клетки, гетерогенность, гистогенетический ряд, структура популяции.

**Принятые сокращения:** КОЕ-Ф — колониеобразующие единицы фибробластов, МСК — мезенхимные стромальные клетки, МАРС — multipotent adult progenitor cells (мультипотентные взрослые прогениторные клетки), МАСС — multipotent adult stem cells (мультипотентные взрослые стволовые клетки), МИАМи — marrow-isolated adult multilineage inducible cell (взрослые мультипотентные индуцируемые клетки из костного мозга), МРС — mesodermal progenitor cells (мезодермальные прогениторные клетки), Мусе — клетки, способные к мультилинейной дифференцировке и устойчивые к стрессу (multilineage-differentiating stress-enduring cells), РС — rapidly self-renewing cells (клетки, быстро самообновляющиеся), УССС — unrestricted somatic stem cells (неограниченные соматические стволовые клетки), ВСЕЛ — very small embryonic like cells (очень мелкие эмбриональноподобные клетки).

Существование мезенхимных стромальных клеток (МСК) — мультипотентных предшественников, способных дифференцироваться в различные типы клеток соединительной ткани, — впервые показал Фриденштейн (Friedenstein et al., 1976), выявивший их в строме органов гемопоэза как колониеобразующие единицы фибробластов (КОЕ-Ф). КОЕ-Ф костного мозга обладали множественными потенциями к дифференцировке *in vitro* и *in vivo*, сохраняющиеся после длительного культивирования у клонов, по крайней мере у некоторых. Совокупность этих данных позволяла считать КОЕ-Ф кандидатами на роль стромальных стволовых клеток (Owen, Friedenstein, 1988).

Новый импульс к их изучению дали работы Каплана (Caplan, 1991), предложившего концепцию мезенхимной стволовой клетки и объединившего под этим названием адгезивные к пластику фибробластоподобные клетки с множественными потенциями к дифференцировке в мезенхимные производные. Однако определяемая таким образом популяция включает в себя не только истинно стволовые клетки, но и более зрелые, коммитированные к дифференцировке и утратившие способность к самоподдержанию — один из важнейших атрибутов стволовых клеток. В связи с этим Международное общество клеточной терапии рекомендовало обозначать популяцию этих

клеток как «мультипотентные мезенхимные стромальные клетки», сохранив термин «мезенхимные стволовые клетки» лишь за теми из них (пока не поддающимися надежной идентификации), которые удовлетворяют строгим критериям стволовости (Horwitz et al., 2005).

В настоящем обзоре рассмотрены данные о морфологических, фенотипических и физиологических различиях между клетками, принадлежащими к категории МСК, и возможной связи неоднородности этой популяции с иерархической организацией стромального дифферона.

### Морфологическая, фенотипическая и функциональная гетерогенность популяции МСК

Уже в ранних работах по изучению клonalного роста КОЕ-Ф было замечено, что в пределах одной культуры образуемые ими колонии значительно варьируют по размеру, что указывало на неодинаковую способность клоногенных клеток к пролиферации (Owen et al., 1987). Неодинакова и плотность колоний: одни клонны, по-видимому активно пролиферирующие, характеризуются компактным расположением клеток, в других, растущих менее активно, клетки расположены диффузно (Лебединская и

др., 2005). Показано, что КОЕ-Ф, образующие эти типы колоний, различаются по устойчивости к радиации: клетки, дающие рыхлые колонии, резистентны к ней, а предшественники плотных колоний — высокочувствительны (Колесникова и др., 1992).

Неодинаковый пролиферативный потенциал разных клонов обнаруживается и при анализе пассиуемых культур МСК (Kuci et al., 2013). Кроме того, в этих культурах описаны клетки нескольких морфологических типов — тонкие веретеновидные, крупные распластанные и мелкие округлые (Colter et al., 2001; Prockop et al., 2001; Izadpanah et al., 2005). Различия в их морфологии отражают неодинаковые зрелость, пролиферативную активность и потенции к дифференцировке. Так, клонированная субпопуляция плоских клеток, выделенная из культуры костного мозга, в ходе пассирования быстро теряет адипо- и хондрогенные потенции, тогда как клонированные веретеновидные клетки сохраняют их (Neuhuber et al., 2008). По данным из литературы (Prockop et al., 2001), веретеновидные клетки имеют более высокую скорость пролиферации по сравнению с плоскими (видимо, представляющими собой наиболее зрелую субпопуляцию МСК), а наибольшая скорость роста свойственна очень мелким круглым клеткам с высоким ядерно-плазменным отношением, названным RS-клетками (*rapidly self-renewing cells*). RS-клетки отличаются от остальных клеток той же культуры по фенотипу и имеют наибольшие потенции к дифференцировке.

Антигенный фенотип МСК также неоднороден. В то время как одни поверхностные маркеры (в частности, CD73, CD90 и CD105) стабильно экспрессируются большинством клеток этого типа, экспрессия других (например, Stro-1, CD106 и MSCA-1) варьирует, что, видимо, связано с различиями в потенциях и степени зрелости клеток (Boxall, Jones, 2012). Известно, что МСК костного мозга человека, несущие CD56, отличаются от лишенных его большей способностью к колониеобразованию, наличием хондрогенных и отсутствием адипогенных потенций (Battula et al., 2009), а повышенный уровень экспрессии CD146 характерен для трипотентных клонов МСК в противоположность монопотентным (Russell et al., 2010). Гетерогенность популяции МСК проявляется и в неодинаковой активности щелочной фосфатазы, различия в которой отмечаются как между клонами, образуемыми КОЕ-Ф (Owen et al., 1987; Phinney et al., 1999), так и в пределах одного клона (Van Den Heuvel et al., 1991). Активность этого фермента в первичной культуре МСК не зависит от клоногенной способности клеток и присутствия на них антигенов CD105 и CD29, однако содержащие его клетки отличаются более крупным размером, меньшей скоростью роста и повышенными потенциями к остогенезу (Kim et al., 2012).

Клетки в составе популяции МСК неодинаковы по чувствительности к цитотоксическим агентам. При введении животным бусульфана, метотрексата, циклофосфамида (Nifontova et al., 2008), 5-фторурацила (Старостин и др., 1995) или дипина (Домарацкая и др., 2005) часть КОЕ-Ф костного мозга выживает и сохраняет клоногенную способность. Во многих случаях чувствительность МСК к цитотоксическим препаратам коррелирует с их положением в гистогенетическом ряду. Так, к ингибитору синтеза ДНК цитозинарабинозиду устойчивы клетки с высоким пролиферативным потенциалом, образующие очень крупные колонии (Ben-Ishay et al., 1986). При обработке 5-фторурацилом, по некоторым данным, избиратель-

но сохраняются покоящиеся некоммитированные клетки, способные к самоподдержанию (Conget et al., 2001), тогда как алкилирующий препарат дипин поражает, по-видимому, наиболее молодую категорию МСК с высоким reparativeным потенциалом (Домарацкая и др., 2005).

Неодинаковы и адгезивные свойства МСК. При посеве в первичную культуру часть КОЕ-Ф прикрепляется к субстрату в первые часы или дни, тогда как другие клетки длительное время остаются во взвеси, сохраняя клоногенность (Wan et al., 2006; Буеверова и др., 2008). Математический анализ структуры популяции стромальных клеток костного мозга выявил в ней субпопуляции с различной степенью адгезии к пластинке и фибронектину (MacArthur et al., 2006). Взаимосвязь адгезивных свойств МСК с другими их характеристиками не вполне ясна. Есть данные о том, что низкая адгезивность к пластинке свойственна наиболее ранним стромальным клеткам (Tanaka-Douzono et al., 2001); с другой стороны, сравнение фракций МСК, прикрепляющихся к пластинке в разные сроки, не обнаруживает различий в их чувствительности к факторам роста и способности к основным дифференцировкам (Wan et al., 2006; Молчанова и др., 2011).

Наконец, клоны и субпопуляции МСК, даже полученные из одного источника, различаются широтой спектра потенций к дифференцировке (Owen, 1988; Muraglia et al., 2000; De Bari et al., 2001; Russell et al., 2010) и их выраженностю (DiGirolamo et al., 1999; Sekiya et al., 2002; Gronthos et al., 2003).

Отчасти различия в свойствах МСК связаны с влиянием микроокружения. Так, клетки из центральных и периферических областей одной и той же клональной колонии могут иметь разные остеогенные и адипогенные потенции. Предполагаемая причина этих различий — неодинаковая плотность расположения клеток в различных участках колонии, влекущая за собой различия в экспрессии регуляторных молекул (в частности, ингибитора сигнального пути *Wnt Dkk-1*) и компонентов внеклеточного матрикса, что предрасполагает клетки к тому или иному направлению дифференцировки (DiGirolamo et al., 1999; Gregory et al., 2005). Но, несомненно, в значительной степени гетерогенность морфологических, фенотипических и функциональных характеристик МСК отражает внутренние различия между клетками, занимающими то или иное положение в гистогенетическом ряду, и может свидетельствовать о сложной, к настоящему времени еще недостаточно изученной иерархической структуре популяции.

### Возможная организация стромального дифферона

Коммитированные стромальные предшественники. Единой общепринятой модели гистогенетического ряда мезенхимных клеток до сих пор не существует. В частности, не вполне ясен вопрос о том, как происходит коммитирование МСК к дифференцировке. Есть мнение о том, что в отличие от кроветворного дифферона с его строгой иерархией мульти-, олиго- и монопотентных клеток в стромальном выбор направления дифференцировки совершается на уровне мультипотентной клетки под влиянием сигналов микроокружения (Zirgori, 2005). Авторы этой гипотезы полагают, что различия в структуре популяции кроветворных и стромальных предшественников обусловлены неодинаковой потребно-

стью организма в зрелых клетках этих тканей: если клетки различных рядов гемопоэза должны постоянно обра зовываться в большом количестве, чему и способствует иерархическая организация дифферона, то МСК дифференцируются главным образом в ответ на необходимость репарации локальных тканевых повреждений, что не требует постоянной продукции множества зрелых клеток.

Однако существование клонов МСК с различным набором потенций — как трипотентных, дающих костную, хрящевую и жировую ткани (Neuhuber et al., 2008; Kuçi et al., 2013), и квадрипотентных, обладающих помимо вышеперечисленных потенций способностью к миогенезу (De Bari et al., 2001) или дифференцировке в строму, поддерживающую формирование остеокластов (Dennis et al., 1999), так и моно- или бипотентных (Dennis et al., 1999; Neuhuber et al., 2008; Kuçi et al., 2013) — свидетельствует в пользу последовательного ограничения потенций при коммитировании стромальных клеток. Попытку выяснить иерархическую структуру популяции МСК предприняли Муралья с коллегами (Muraglia et al., 2000), оценившие остео-, адипо- и хондрогенные потенции 185 клонов стромальных клеток из костного мозга человека. Из них ос теогенными потенциями обладали практически все изученные клоны, остео- и хондрогенными — 60—80 %, способностью ко всем трем дифференцировкам — 30 %. Монопотентных адипогенных или хондрогенных, а также бипотентных остео-адипогенных и хондро-адипогенных клонов выявлено не было. На этом основании авторы предположили модель дифференцировки МСК от трипотентного остео-хондро-адипогенного предшественника через бипотентный остео-хондрогенный к монопотентному остеогенному. Однако позднее в костном мозге были найдены и немногочисленные клоны МСК с иным сочетанием потенций, что может указывать на более сложный характер коммитирования. Возможно, оно происходит случайным образом во всех возможных направлениях, но условия микроокружения благоприятствуют сохранению хондро-остеогенных и остеогенных клеток, чем и объясняется их количественное преобладание над остальными вариантами моно- и бипотентных МСК (Russell et al., 2010).

Некоторые данные указывают на обратимость потери потенций в диффероне стромальных клеток. В частности, хондроциты суставного хряща могут дедифференцироваться до стадии мультипотентных клеток, способных к ос тео-, адипо- и хондрогенезу (De La Fuente et al., 2004), а полученные из МСК адипоциты — давать начало клонам клеток, формирующих костную ткань при имплантации животным-реципиентам (Bennett et al., 1991). Таким образом, коммитированные и даже дифференцированные клетки, видимо, способны к репрограммированию в пределах стромального дифферона и смене направления дифференцировки под влиянием соответствующих индукторов или условий микроокружения.

Следует отметить, что при длительном культивировании МСК многие авторы отмечают снижение их потенций к дифференцировке (Muraglia et al., 2000; Bonab et al., 2006; Neuhuber et al., 2008), а также изменение морфологии (Bonab et al., 2006; Neuhuber et al., 2008), замедление роста (Liu et al., 2003) и уменьшение клоногенной способности (DiGirolamo et al., 1999). Эти признаки репликативного старения, связанного с низким уровнем теломеразной активности (Pittenger et al., 1999; Izadpanah et al., 2005), свидетельствуют об ограниченной способности МСК к самоподдержанию, хотя выраженность этой способности в разных субпопуляциях МСК может быть нео-

динаковой в зависимости от их положения в гистогенетическом ряду.

Предполагаемые мезенхимные стволовые клетки. Кандидатами на роль наиболее ранних стволовых клеток стромального дифферона, самоподдерживающихся в течение жизни организма, являются вышеупомянутые RS-клетки — минорная субпопуляция, присутствующая в культурах костного мозга. Среди них выявляются два подтипа — агранулярные RS-1-клетки, находящиеся преимущественно в G<sub>1</sub>-фазе клеточного цикла, и пролиферирующие гранулярные RS-2-клетки. Предполагается, что RS-клетки вступают в пролиферацию под влиянием факторов, продуцируемых более зрелыми клетками стромы; при этом асимметричное деление клетки RS-2 ведет к образованию клетки RS-1 и зрелой МСК (Colter et al., 2000, 2001; Prockop et al., 2001). По сравнению с более зрелыми МСК RS-клетки имеют повышенную способность к клonalному росту и основным дифференцировкам (Colter et al., 2001; Prockop et al., 2001), а также к приживлению в организме реципиента (Lee et al., 2006). Они несут ряд маркеров, отсутствующих на зрелых МСК, в частности аннексин II, рецепторы факторов роста VEGF, NGF и трансферрина, однако лишены антигенов, экспрессируемых частью зрелых клеток — Stro-1, CD10 и CD147, а также рецепторов факторов роста PDGF и EGF, и отличаются более слабой экспрессией CD90, CD105, CD29, CD166, CD44, CD49e, CD54 и CD13 (Colter et al., 2001; Zhou et al., 2005). При этом популяция RS-клеток неоднородна. Так, наличие CD117 и эпитопа множественной лекарственной устойчивости свойственно лишь некоторым из них (Colter et al., 2001). Кроме того, среди клеток RS-1 описаны три субпопуляции, различающиеся по морфологии, степени зрелости и потенциям: наиболее ранние RS-1A-клетки с максимальными адипогенными потенциями, клетки RS-1B с более высокой способностью к хондрогенезу и поздние клетки RS-1C (Sekiya et al., 2002).

Субпопуляции МСК, предположительно являющиеся наиболее примитивными в стромальном диффероне, были описаны и другими авторами. В частности, среди МСК костного мозга, устойчивых к 5-фторурацилу, обнаружена популяция покоящихся клеток, способных к самоподдержанию и продукции коммитированных остеогенных и адипогенных предшественников (Conget et al., 2001). Клетки со сходными свойствами могут быть выделены из костного мозга человека как популяция с фенотипом Stro-1<sup>bright</sup>/VCAM-1<sup>+</sup>; для них показаны нахождение вне цикла, конститутивная активность теломеразы, способность к активной пролиферации и мультипотентность (Gronthos et al., 2003). Клоны МСК с активной теломеразой, способные длительно пролиферировать с сохранением адипогенных, хондрогенных и миогенных потенций, были получены и из соединительной ткани скелетных мышц крысы (Seruya et al., 2004). Более того, среди МСК костного мозга приматов обнаружены клетки, экспрессирующие гены Oct-4, Sox-2, Nanog и Rex-1, активность которых характерна для эмбриональных стволовых клеток и считается маркером стволовости (Izadpanah et al., 2005).

Остается неясным, насколько перечисленные популяции идентичны друг другу, однако, судя по их характеристикам, они могут представлять собой наиболее ранние стромальные клетки, способные к длительному самоподдержанию.

Общие предшественники стромальных и кроветворных клеток. Стромальные и кроветвор-

ные клетки традиционно считаются гистогенетически независимыми, несмотря на их происхождение из мезенхимы и колокализацию в органах гемопоэза. Такое мнение подтверждается клиническими данными об отсутствии донорских МСК в костном мозге реципиентов после трансплантации аллогенных стволовых кроветворных клеток (Koç et al., 1999). Нет и сообщений о способности трансплантированных МСК восстанавливать гемопоэз после летального облучения. Однако некоторые данные позволяют предполагать наличие у кроветворных клеток и МСК общего предшественника. Так, еще в 1980-е годы при изучении длительных культур костного мозга пациентов с клonalными миелопролиферативными заболеваниями было обнаружено, что в некоторых случаях строма этих культур происходит из того же клона, который вовлечен в опухолевый рост кроветворных клеток (Singer et al., 1984). Те же авторы показали, что трансформация адгезивных клеток длительных культур костного мозга вирусом SV40 позволяет получить линии, дифференцирующиеся на клональном уровне в клетки с характеристиками стромальных и кроветворных (Singer et al., 1987). Позднее из костного мозга половозрелой собаки получены клонды фибробластоподобных клеток, способных и создавать кроветворное микроокружение, и дифференцироваться в кроветворные клетки (Huss et al., 1995), а из костного мозга мыши получили не адгезивные к пластику клетки, восстанавливающие гемопоэз у облученного реципиента и приживающиеся в его костной ткани с образованием остеобластов и остеоцитов (Dominici et al., 2004). Способность к костной дифференцировке после трансплантации облученным мышам обнаружена и у побочной популяции клеток костного мозга, выявляемой по способности к выбросу ДНК-связывающих красителей и восстановлению кроветворного компартмента (Olmsted-Davis et al., 2003). Вероятно, в гистогенетическом ряду клетки с характеристиками общих стромально-кроветворных предшественников предшествуют некоммитированным МСК.

**Мезодермальные родонаучальные клетки.** Еще одна популяция клеток, более примитивных по сравнению с МСК, была выделена из костного мозга и пуповинной крови человека и получила название мезодермальных родонаучальных клеток (mesodermal progenitor cells, MPCs). При культивировании с аутологичной сывороткой эти клетки находятся в покое, будучи при этом высокоадгезивными к пластику и устойчивыми к трипсину. Они экспрессируют Oct-4, Nanog и SSEA-4, что указывает на их способность к самоподдержанию, и обладают альдегиддегидрогеназной активностью, характерной для кроветворных, но не мезенхимных клеток. При смене аутологичной сыворотки на фетальную телячью MPCs вступают в пролиферацию, теряют эмбриональные маркеры и дифференцируются в клетки с фенотипом МСК, проявляющие остео-, адipo- и хондрогенные потенции и неспособные к обратной дифференцировке в MPCs (Petrini et al., 2009). MPCs могут быть также индуцированы к дифференцировке в эндотелий (Petrini et al., 2009) и кардиомиоциты (Pacini et al., 2010). Широкий спектр потенций MPCs, уникальный фенотип, покоящийся статус и высокий пролиферативный потенциал позволяют рассматривать их как примитивные предшественники МСК, сохраняющие некоторые черты эмбриональных клеток.

**Общие предшественники экто-, энто- и мезодермальных производных.** Помимо мультипотентных стволовых клеток, потенциал которых ограни-

чен дифференцировкой в производные одного зародышевого листка, в тканях не только зародыша, но и полновозрелого организма обнаружены немногочисленные клетки с еще более широким спектром потенций, способные давать начало производным как мезодермы и мезенхимы, так и экто- и энтодермы. Различными группами авторов было идентифицировано несколько популяций подобных клеток, возможно, частично перекрывающихся (см. таблицу).

Первыми были описаны так называемые мультипотентные взрослые родонаучальные клетки (multipotent adult progenitor cells, MAPC), обнаруженные в костном мозге мыши и человека (Jiang et al., 2002a), а также в мышцах и головном мозге (Jiang et al., 2002b). Их потенции к дифференцировке в производные трех зародышевых листков показаны не только *in vitro*, но и *in vivo* после инъекции в бластоциту или трансплантации необлученным мышам (Jiang et al., 2002a). К MAPC близки по свойствам индуцируемые клетки из костного мозга человека (marrow-isolated multilineage inducible cells, MIA-MI), полученные путем культивирования в условиях, воспроизводящих естественное микроокружение примитивных стволовых клеток — на фибронектине при низком содержании кислорода (D'Ippolito et al., 2004). Еще одна популяция подобных клеток, обозначенная авторами как мультипотентные взрослые стволовые клетки (multipotent adult stem cells, MASC), содержится в сердце, печени и костном мозге взрослого человека. Эти клетки, способность которых дифференцироваться в производные трех зародышевых листков показана на клональном уровне, способны пролиферировать *in vitro* при низком содержании глюкозы и сыворотки (Beltrami et al., 2007). Устойчивость к различным стрессовым воздействиям (низкому содержанию сыворотки или кислорода, обработке трипсином) обладают и Muse-клетки (multilineage-differentiating stress-enduring cells), которые могут быть выделены из костного мозга или культуры фибробластов кожи человека (Kuroda et al., 2010). При культивировании в виде суспензии в метилцеллюлозной среде Muse-клетки образуют трехмерные агрегаты подобно эмбриональным стволовым клеткам, но в отличие от них менее активно пролиферируют и не образуют тератом *in vivo*.

Среди других популяций с расширенным дифференцировочным потенциалом следует упомянуть так называемые неограниченные соматические стволовые клетки (unrestricted somatic stem cells, USSC) пуповинной крови человека (Kögler et al., 2004), клонды клеток костного мозга человека (Yoon et al., 2005) и мыши (Anjos-Afonso, Bonnet, 2007), способные дифференцироваться в эндотелий, нервную ткань и клетки энтодермального происхождения; стволовые клетки из мышц крысы, дающие начало остеобластам, хондробластам, адипоцитам, эндотелию, мышцам, нейронам, олигодендроцитам и гепатоцитам (Schultz et al., 2006), и, видимо, клетки из печени плода человека, дифференцирующиеся не только в гепатоциты и желчный эпителий, но и в мезенхимные производные — кость, жировую ткань, хрящ и эндотелий, хотя их дифференцировка в эктодермальном направлении не показана (Dan et al., 2006).

Несколько особняком стоят очень мелкие эмбриональноподобные стволовые клетки (very small embryonic-like stem cells, VSELs) из костного мозга и других органов. Они отличаются от вышеуказанных популяций очень малым размером и неадгезивностью и, возможно, представляют собой мобильный пул примитивных стволовых кле-

### Характеристики популяций клеток, способных к дифференцировке в производные экто-, энто- и мезодермы

Популяция (литературный источник)	Маркеры плюрипотентности	Фенотип	Дифференцировка	Пролиферативный потенциал, число удвоений
MAPC (Jiang et al., 2002a, 2002b)	Oct-4 <sup>+</sup> , Rex-1 <sup>+</sup> , SSEA1 <sup>+</sup> Nanog <sup>-</sup> , Sox2 <sup>-</sup>	CD117 <sup>+</sup> AC133 <sup>+</sup> , Sca-1 <sup>low</sup> MHC <sup>dim/-</sup> /MHC II-CD34 <sup>-</sup> , CD10 <sup>-</sup>	Мышцы, эндотелий, кроветворные клетки, нейроны, глия, гепатоциты, эпителий легкого и кишечника	До 100
Пре-МСК (Anjos-Afonso et al., 2007)	Oct-4 <sup>+</sup> , Nanog <sup>+</sup> , Rex-1 <sup>+</sup> , SSEA1 <sup>+</sup>	Brachyury (T) <sup>+</sup> , CD44 <sup>+</sup> , CD105 <sup>+</sup> , CD73 <sup>+</sup>	Остеобlastы, хондробlastы, адипоциты, миобlastы, эндотелий, кроветворные клетки, астrocиты, гепатоциты	Более 40
MIAMI (D'Ippolito et al., 2004)	Oct-4 <sup>+</sup> , Rex-1 <sup>+</sup> , TRT <sup>+</sup> , SSEA-4 <sup>+</sup>	CD90 <sup>+</sup> , CD10 <sup>+</sup> , CD164 <sup>+</sup> , CD34 <sup>-</sup> , c-Met <sup>+</sup> , HLA-DR <sup>-</sup>	Остеобlastы, хондробlastы, адипоциты, нейральные и панкреатические клетки	Более 50
USSC (Kögler et al., 2004)	—	CD13 <sup>+</sup> , CD29 <sup>+</sup> , CD44 <sup>+</sup> , CD90 <sup>+</sup> , CD105 <sup>+</sup> , Flk-1 <sup>+</sup> , CD117 <sup>-</sup>	Остеобlastы, хондробlastы, адипоциты, кардиомиоциты, кроветворные клетки, нейроны, астrocиты, гепатоциты	Более 40 (более 20 пассажей)
MASC (Beltrami et al., 2007).	Oct-4 <sup>+</sup> , Nanog <sup>+</sup> , Rex1 <sup>+</sup>	CD73 <sup>+</sup> , CD90 <sup>+</sup> , CD105 <sup>+</sup> , CD117 <sup>-</sup> , CD34 <sup>-</sup> , MHC I <sup>+</sup> , HLA-DR <sup>-</sup>	Мышцы, эндотелий, нейроны, гепатоциты	Более 40
Muse (Kuroda et al., 2010)	Oct-4 <sup>+</sup> , Nanog <sup>+</sup> , Sox2 <sup>+</sup> , SSEA3 <sup>+</sup>	CD105 <sup>+</sup> , CD117 <sup>-</sup> , CD34 <sup>-</sup>	Мышцы, клетки нервной ткани, эпидермис, гепатоциты	5 генераций
VSELs (Kucia et al., 2006, 2007)	Oct-4 <sup>+</sup> , Nanog <sup>+</sup> , SSEA1 <sup>+</sup> (мышь), SSEA4 <sup>+</sup> (человек)	Sca-1 <sup>+</sup> , CXCR4 <sup>+</sup> , AC133 <sup>+</sup> , CD34 <sup>+</sup> , c-Met <sup>+</sup> , CD90 <sup>-</sup> , CD105 <sup>-</sup> , CD117 <sup>-</sup> , MHC I <sup>-</sup>	Остеобlastы, адипоциты, кардиомиоциты, кроветворные, нейральные, панкреатические клетки	5—7 пассажей

ток (Kucia et al., 2006, 2007; Домарацкая, 2011). Впрочем, результаты некоторых исследований заставляют усомниться в таком статусе VSELs. Так, сообщалось, что VSELs из пуповинной крови человека не соответствуют по фенотипу и транскрипционному профилю ни эмбриональным, ни тканеспецифическим стволовым клеткам, не пролиферируют *in vitro* и часто имеют aberrантный кариотип (Danova-Alt et al., 2012), а VSELs из костного мозга мыши — гетерогенная популяция, обогащенная клетками на ранних стадиях апоптоза (Szade et al., 2013).

Общим свойством остальных перечисленных клеток является помимо способности к дифференцировке в производные трех зародышевых листков значительный пролиферативный потенциал, свидетельствующий о высокой способности к самоподдержанию (Jiang et al., 2002a; D'Ippolito et al., 2004; Kögler et al., 2004; Yoon et al., 2005; Dan et al., 2006; Beltrami et al., 2007); при этом ряд авторов сообщают об их нормальном кариотипе (Kögler et al., 2004; Anjos-Afonso, Bonnet, 2007; Beltrami et al., 2007; Kuroda et al., 2010). Во многих случаях показано присутствие в клетках активной теломеразы, которая позволяет им длительно пролиферировать без потери потенций (D'Ippolito et al., 2004; Yoon et al., 2005; Beltrami et al., 2007; Kucia et al., 2007). Большинство клеток подобных типов экспрессирует маркеры,ственные эмбриональным стволовым клеткам (см. таблицу), но встречаются и исключения. Так, одна из популяций клеток костного мозга человека лишена Oct-4 (Yoon et al., 2005); в стволовых клетках из мышц крысы не выявлены SSEA-1 и SSEA-3 (Schultz et al., 2006); в USSC отсутствует экспрессия генов Oct-4, Sox-2 и Nanog (Santourlidis et al., 1011). Между рассматриваемыми популяциями есть и другие фенотипические различия (см. таблицу).

Предполагается, что присутствующие в различных органах клетки, способные давать производные трех зародышевых листков, являются недифференцированными потомками клеток эпикаста, сохраняющимися в постнатальном онтогенезе и, возможно, служащими резервом для регенерации тканей (Kucia et al., 2006, 2007; Домарацкая, 2011). Гистогенетические связи между различными популяциями этих клеток остаются невыясненными; возможно, внутри их компартмента существует своя иерархия, однако исследование данного вопроса затруднено неодинаковыми условиями их выделения и культивирования, применяемыми различными авторами.

### Заключение

Таким образом, популяция МСК представляет собой неоднородную совокупность клеток различной зрелости, иерархическая структура которой изучена далеко не полностью. В настоящее время не существует надежных методов, позволяющих выделить из нее гомогенные фракции клеток, хотя с этой целью неоднократно предпринимались попытки сортировки их по размеру (Ghilzon et al., 1999; Hung et al., 2002) или экспрессии поверхностных антигенов (Gronthos et al., 2003; Kuçi et al., 2013). Гетерогенность МСК приводит к невозможности прямого сравнения результатов, получаемых разными авторами, и может являться причиной неверной интерпретации экспериментальных данных. В частности, одним из объяснений наблюдаемой во многих случаях картины «неортодоксальной» дифференцировки МСК в экто- и энтодермальные производные может быть присутствие в изучаемой популяции примеси клеток с расширенным потенциалом (Ку-

cia et al., 2006). Отсутствие маркеров, позволяющих уверенно идентифицировать субпопуляции с требуемыми свойствами, создает проблемы и для применения МСК в регенеративной медицине, затрудняя стандартизацию клеточных препаратов и определение терапевтической дозы. Очевидно, для успешного исследования и практического использования МСК необходимо совершенствовать методы их выделения и фракционирования, а также учитывать при анализе экспериментальных данных неоднородность этой категории клеток и сложную организацию стромального дифферона.

### Список литературы

- Буеверова Э. И., Брагина Е. В., Молчанова Е. А. 2008. Недгезивные популяции в культурах мезенхимных стромальных клеток из кроветворных органов крысы и мыши. Онтогенез. 39 (6) : 420—429. (Bueverova E. I., Bragina E. V., Molchanova E. A. 2008. Nonadhesive populations in cultures of mesenchymal stromal cells from hematopoietic organs in mouse and rat. Russ. J. Develop. Biol. 39 : 337—345.)
- Домарацкая Е. И. 2011. Стволовые клетки-резиденты костного мозга. Изв. РАН. Сер. биол. 3 : 1—12. (Domaratskaya E. I. 2011. Stem cells as bone marrow residents. Biol. Bull. 38 : 211—221.)
- Домарацкая Е. И., Буеверова Э. И., Паюшина О. Д., Старостин В. И. 2005. Повреждение алкилирующим препаратором дипином кроветворных и стромальных клеток костного мозга. Изв. РАН. Сер. биол. 3 : 267—272. (Domaratskaya E. I., Bueverova E. I., Payushina O. D., Starostin V. I. 2005. Alkylating damage by dipin of hematopoietic and stromal cells of the bone marrow. Biol. Bull. 32 : 216—220.)
- Колесникова А. И., Кальсина С. Ш., Конопляников А. Г., Лепехина Л. А. 1992. Радиочувствительность клеток-предшественников гемопоэтической стromы при действии гамма-излучения 60Co в разных условиях. Радиобиология. 32 (6) : 844—850. (Kolesnikova A. I., Kal'sina S. S., Konoplyannikov A. G., Lepikhina L. A. 1992. Radiosensitivity of cells-precurors of hemopoietic stroma (CFU-F) in the rat bone marrow under the effect of 60Co gamma irradiation in various conditions. Radiobiologiya. 32 (6) : 844—850.)
- Лебединская О. В., Горская Ю. Ф., Шуклина Е. Ю., Латиник Н. В., Нестеренко В. Г. 2005. Анализ изменений количества стромальных клеток-предшественников в тимусе и селезенке животных различных возрастных групп. Морфология. 127 (3) : 41—44. (Lebedinskaya O. V., Gorskaia Yu. F., Shuklina E. Yu., Latinik N. V., Nesterenko V. G. 2005. Analysis of the changes of stromal precursor cell numbers in the thymus and the spleen of animals of different age groups. Morfologiya. 127 (3) : 41—44.)
- Молчанова Е. А., Буеверова Э. И., Старостин В. И., Домарацкая Е. И. 2011. Чувствительность к действию факторов роста EGF, bFGF и PDGF субпопуляций мезенхимных стромальных клеток, происходящих из органов миелоидного кроветворения и отличающихся по времени проявления адгезивных свойств. Изв. РАН. Сер. биол. 2 : 133—144. (Molchanova E. A., Bueverova E. I., Starostin V. I., Domaratskaya E. I. 2011. The sensitivity of mesenchymal stromal cells subpopulations with different adhesion properties and derived from hematopoietic organs to growth factors EGF, BFGF, and PDGF. Biol. Bull. 38 : 99—108.)
- Старостин В. И., Домарацкая Е. И., Буеверова Э. И., Брагина Е. В. 1995. Чувствительность к 5-фторурацилу кроветворной стromы костного мозга и селезенки. Изв. РАН. Сер. биол. 4 : 496—500. (Starostin V. I., Domaratskaya E. I., Bueverova E. I., Bragina E. V. 1995. The 5-fluorouracil sensitivity of the hematopoietic stroma of the bone marrow and spleen. Izv. Akad. Nauk. Ser. Biol. 4 : 496—500.)
- Anjos-Afonso F., Bonnet D. 2007. Non-hematopoietic/endothelial SSEA-1 pos cells defines the most primitive progenitors in the adult murine bone marrow mesenchymal compartment. Blood. 109 : 1298—1306.
- Battula V. L., Treml S., Bareiss P. M., Gieseke F., Roelofs H., de Zwartz P., Müller I., Schewe B., Skutella T., Fibbe W. E., Kanz L., Bühring H.-J. 2009. Isolation of functionally distinct mesenchymal stem cell subsets using antibodies against CD56, CD271, and mesenchymal stem cell antigen-1 (MSCA-1). Haematologica. 94 : 173—184.
- Beltrami A. P., Cesselli D., Bergamin N., Marcon P., Rigo S., Puppato E., A'Aurizio F., Verardo R., Piazza S., Pignatelli A., Poz A., Baccarani U., Damiani D., Fanin R., Mariuzzi L., Finato N., Masolini P., Burelli S., Belluzzi O., Schneider C., Beltrami C. A. 2007. Multipotent cells can be generated *in vitro* from several adult human organs (heart, liver, and bone marrow). Blood. 110 : 3438—3446.
- Ben-Ishay Z., Prindull G., Sharon S., Borenstein A. 1986. Pre-CFU-f: young-type stromal stem cells in murine bone marrow following administration of DNA inhibitors. Int. J. Cell Cloning. 4 : 126—134.
- Bennett J. H., Joyner C. J., Triffitt J. T., Owen M. E. 1991. Adipocytic cells cultured from marrow have osteogenic potential. J. Cell Sci. 99 : 131—139.
- Bonab M. M., Alimoghadam K., Talebian F., Ghaffari S. H., Ghavamzadeh A., Nikbin B. 2006. Aging of mesenchymal stem cell *in vitro*. BMC Cell Biol. 7 : 14.
- Boxall S. A., Jones E. 2012. Markers for characterization of bone marrow multipotential stromal cells. Stem Cells Int. 2012 : 975871.
- Caplan A. I. 1991. Mesenchymal stem cells. J. Orthop. Res. 9 : 641—650.
- Colter D. C., Class R., DiGirolamo C. M., Prockop D. J. 2000. Rapid expansion of recycling stem cells in cultures of plastic-adherent cells from human bone marrow. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 97 : 3213—3218.
- Colter D. C., Sekiya I., Prockop D. J. 2001. Identification of a subpopulation of rapidly self-renewing and multipotential adult stem cells in colonies of human marrow stromal cells. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 98 : 7841—7845.
- Conget P. A., Allers C., Minguez J. J. 2001. Identification of a discrete population of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells exhibiting properties of uncommitted progenitors. J. Hematother. Stem Cell Res. 10 : 749—758.
- 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.
- Danova-Alt R., Heider A., Egger D., Cross M., Alt R. 2012. Very small embryonic-like stem cells purified from umbilical cord blood lack stem cell characteristics. PLoS ONE. 7 : e34899.
- De Bari C., Dell'Accio F., Tylzanowski P., Luyten F. P. 2001. Multipotent mesenchymal stem cells from adult synovial membrane. Arthritis Rheum. 44 : 1928—1942.
- De La Fuente R., Abad J. L., Garcia-Castro J., Fernandez-Miguel G., Petriz J., Rubio D., Vicario-Abejon C., Guillen P., Gonzalez M. A., Bernad A. 2004. Dedifferentiated adult articular chondrocytes: a population of human multipotent primitive cells. Exp. Cell Res. 297 : 313—328.
- Dennis J. E., Merriam A., Awadallah A., Yoo J. U., Johnstone B., Caplan A. I. 1999. A quadrupotent mesenchymal progenitor cell isolated from the marrow of an adult mouse. J. Bone Miner. Res. 14 : 700—709.
- DiGirolamo C. M., Stokes D., Colter D. C., Phinney D. G., Class R., Prockop D. J. 1999. Propagation and senescence of human marrow stromal cells in culture: a simple colony-forming assay identifies samples with the greatest potential to propagate and differentiate. Br. J. Haematol. 107 : 275—281.
- D'Ippolito G., Diabira S., Howard G. A., Menei P., Roos B. A., Schiller P. C. 2004. Marrow-derived adult multilineage (MIAMI) cells, a unique population of postnatal young and old human cells with extensive expansion and differentiation potential. J. Cell Sci. 117 : 2971—2981.
- Dominici M., Pritchard C., Garlits J. E., Hoffmann T. J., Persons D. A., Horwitz E. M. 2004. Hematopoietic cells and osteoblasts are derived from a common marrow progenitor after bone

- marrow transplantation. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 101 : 11 761—11 766.
- Friedenstein A. J., Gorskaya J. F., Kulagina N. N. 1976. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. Exp. Hematol. 4 : 267—274.
- Ghilzoni R., McCulloch C. A., Zohar R. 1999. Stromal mesenchymal progenitor cells. Leuk. Lymphoma. 32 : 211—221.
- Gregory C. A., Ylostalo J., Prockop D. J. 2005. Adult bone marrow stem/progenitor cells (MSCs) are preconditioned by micro-environmental «niches» in culture: a two-stage hypothesis for regulation of MSC fate. Sci. STKE. 2005 : pe37.
- Gronthos S., Zannettino A. C. W., Hay S. J., Shi S., Graves S., Kortesidis A., Simmons P. J. 2003. Molecular and cellular characterization of highly purified stromal stem cells derived from human bone marrow. J. Cell Sci. 116 : 1827—1835.
- Horwitz E. M., Le Blanc K., Dominici M., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F. C., Deans R. J., Krause D. S., Keating A., International Society for Cellular Therapy. 2005. Clarification of the nomenclature for MSC: the International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy. 7 : 393—395.
- Hung S.-C., Chen N.-J., Hsieh S.-L., Li H., Ma H.-L., Lo W.-H. 2002. Isolation and characterization of size-sieved stem cells from human bone marrow. Stem Cells. 20 : 249—258.
- Huss R., Hong D. S., McSweeney P. A., Hoy C. A., Deeg H. J. 1995. Differentiation of canine bone marrow cells with hemopoietic characteristics from an adherent stromal cell precursor. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 92 : 748—752.
- Izadpanah R., Joswig T., Tsien F., Dufour J., Kirijan J. C., Bunnell B. A. 2005. Characterization of multipotent mesenchymal stem cells from the bone marrow of rhesus macaques. Stem Cells Develop. 14 : 440—451.
- Jiang Y., Jahagirdar B. N., Reinhardt R. L., Schwartz R. E., Keene C. D., Ortiz-Gonzalea X. R., Reyes M., Lenvik T., Lund T., Blackstad M., Du J., Aldrich S., Lisberg A., Low W. C., Largaespada D. A., Verfaillie C. M. 2002a. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. Nature. 418 : 41—49.
- Jiang Y., Vaessen B., Lenvik T., Blackstad M., Reyes M., Verfaillie C. M. 2002b. Multipotent progenitor cells can be isolated from postnatal murine bone marrow, muscle, and brain. Exp. Hematol. 30 : 896—904.
- Kim Y. H., Yoon D. S., Kim H. O., Lee J. W. 2012. Characterization of different subpopulations from bone marrow-derived mesenchymal stromal cells by alkaline phosphatase expression. Stem Cells Develop. 21 : 2958—2968.
- Koç O. N., Peters C., Aubourg P., Raghavan S., Dyhouse S., DeGasperi R., Kolodny E. H., Yoseph Y. B., Gerson S. L., Lazarus H. M., Caplan A. I., Watkins P. A., Krivit W. 1999. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells remain host-derived despite successful hematopoietic engraftment after allogenic transplantation in patients with lysosomal and peroxisomal storage diseases. Exp. Hematol. 27 : 1675—1681.
- Kögler G., Sensken S., Airey J. A., Trapp T., Müschen M., Felddahn N., Liedtke S., Sorg R. V., Fischer J., Rosenbaum C., Greschat S., Knipper A., Bender J., Degistirici O., Gao J., Caplan A. I., Colletti E. J., Almeida-Porada G., Müller H. W., Zanjani E., Wernet P. 2004. A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential. J. Exp. Med. 200 : 123—135.
- Kuci Z., Seiberth J., Latifi-Pupovci H., Wehner S., Stein S., Grez M., Bönig H., Köhl U., Klingebiel T., Bader P., Kuçi S. 2013. Clonal analysis of multipotent stromal cells derived from CD271+ bone marrow mononuclear cells: functional heterogeneity and different mechanisms of allosuppression. Haematologica. 98 : 1609—1616.
- Kucia M., Machalinski B., Ratajczak M. Z. 2006. The developmental deposition of epiblast/germ cell-line derived cells in various organs as a hypothetical explanation of stem cell plasticity? Acta Neurobiol. Exp. 66 : 331—341.
- 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.
- Kuroda Y., Kitada M., Wakao S., Nishikawa K., Tanimura Y., Makinoshima H., Goda M., Akashi H., Inutsuka A., Niwa A., Shigemoto T., Nabeshima Y., Nakahata T., Nabeshima Y., Fujiyoshi Y., Dezawa M. 2010. Unique multipotent cells in adult human mesenchymal cell populations. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 107 : 8639—8643.
- Lee R. H., Hsu S. C., Munoz J., Jung J. S., Lee N. R., Pochampally R., Prockop D. J. 2006. A subset of human rapidly self-renewing marrow stromal cells preferentially engraft in mice. Blood. 107 : 2153—2161.
- Liu Y., Song J., Liu W., Wan Y., Chen X., Hu C. 2003. Growth and differentiation of rat bone marrow stromal cells: does 5-azacytidine trigger their cardiomyogenic differentiation? Cardiovasc. Res. 58 : 460—468.
- MacArthur B. D., Tare R. S., Please C. P., Prescott P., Orefeo R. O. 2006. A non-invasive method for *in situ* quantification of subpopulation behaviour in mixed cell culture. J. R. Soc. Interface. 3 : 63—69.
- Muraglia A., Cancedda R., Quarto R. 2000. Clonal mesenchymal progenitors from human bone marrow differentiate *in vitro* according to a hierarchical model. J. Cell Sci. 113 : 1161—1166.
- Neuhuber B., Swanger S. A., Howard L., Mackay A., Fischer I. 2008. Effects of plating density and culture time on bone marrow stromal cell characteristics. Exp. Hematol. 36 : 1176—1185.
- Nifontova I., Svinareva D., Petrova T., Drize N. 2008. Sensitivity of mesenchymal stem cells and their progeny to medicines used for the treatment of hematoproliferative diseases. Acta Haematol. 119 : 98—103.
- Olmsted-Davis E. A., Gugala Z., Camargo F., Gannon F. H., Jackson K., Kienstra K. A., Shine H. D., Lindsey R. W., Hirshki K. K., Goodell M. A., Brenner M. K., Davis A. R. 2003. Primitive adult hematopoietic stem cells can function as osteoblast precursors. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 100 : 15 877—15 882.
- Owen M. 1988. Marrow stromal stem cells. J. Cell Sci. Suppl. 10 : 63—76.
- Owen M. E., Cave J., Joyner C. J. 1987. Clonal analysis *in vitro* of osteogenic differentiation of marrow CFU-F. J. Cell Sci. 87 : 731—738.
- Owen M., Friedenstein A. J. 1988. Stromal stem cells: marrow-derived osteogenic precursors. Ciba Found Symp. 136 : 42—60.
- Pacini S., Garnicelli V., Trombi L., Montali M., Fazzi R., Lazarini E., Giannotti S., Petrini M. 2010. Constitutive expression of pluripotency-associated genes in mesodermal progenitor cells (MPCs). PLoS ONE. 5 : e9861.
- Petrini M., Pacini S., Trombi L., Fazzi R., Montali M., Ikebara S., Abraham N. G. 2009. Identification and purification of mesodermal progenitor cells from human adult bone marrow. Stem Cells Develop. 18 : 857—866.
- Phinney D. G., Kopen G., Isaacson R. L., Prockop D. J. 1999. Plastic adherent stromal cells from the bone marrow of commonly used strains of inbred mice: variations in yield, growth, and differentiation. J. Cell. Biochem. 72 : 570—585.
- Pittenger M. F., Mackay A. M., Beck S. C., Jaiswal R. K., Douglas R., Mosca J. D., Moorman M. A., Simonetti D. W., Craig S., Marshak D. R. 1999. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. 284 : 143—147.
- Prockop D. J., Sekiya I., Colter D. C. 2001. Isolation and characterization of rapidly self-renewing stem cells from cultures of human marrow stromal cells. Cytotherapy. 3 : 393—396.
- Russell K. C., Phinney D. G., Lacey M. R., Barrilleaux B. L., Meyertholen K. E., O'Connor K. C. 2010. *In vitro* high-capacity assay to quantify the clonal heterogeneity in trilineage potential of mesenchymal stem cells reveals a complex hierarchy of lineage commitment. Stem Cells. 28 : 788—798.
- Santourlidis S., Wernet P., Ghanjati F., Graffmann N., Springer J., Kriegs C., Zhao X., Brands J., Araúzo-Bravo M. J., Neves R., Koegler G., Uhrberg M. 2011. Unrestricted somatic stem cells (USSC) from human umbilical cord blood display uncommitted epigenetic signatures of the major stem cell pluripotency genes. Stem Cell Res. 6 : 60—69.
- Schultz S. S., Abraham S., Lucas P. A. 2006. Stem cells isolated from adult rat muscle differentiate across all three dermal lineages. Wound Repair Regen. 14 : 224—231.

- Sekiya I., Larson B. L., Smith J. R., Pochampally R., Ciu J.-G., Prockop D. J. 2002. Expansion of human adult stem cells from bone marrow stroma: conditions that maximize the yields of early progenitors and evaluate their quality. *Stem Cells*. 20 : 530—541.
- Seruya M., Shah A., Pedrotty D., du Laney T., Melgiri R., McKee J. A., Young H. E., Niklason L. E. 2004. Clonal population of adult stem cells: life span and differentiation potential. *Cell Transplant.* 13 : 93—101.
- Singer J. W., Charbord P., Keating A., Nemunaitis J., Raucci G., Wight T. N., Lopez J. A., Roth G. J., Dow L. W., Fialkow P. J. 1987. Simian virus 40-transformed adherent cells from human long-term marrow cultures: cloned cell lines produce cells with stromal and hematopoietic characteristics. *Blood*. 70 : 464—474.
- Singer J. W., Keating A., Cuttner J., Gown A. M., Jacobson R., Killen P. D., Moehr J. W., Najfeld V., Powell J., Sanders J. 1984. Evidence for a stem cell common to hematopoiesis and its *in vitro* microenvironment: studies of patients with clonal hematopoietic neoplasia. *Leuk. Res.* 8 : 535—545.
- Szade K., Bukowska-Strakova K., Nowak W. N., Szade A., Kachamakova-Trojanowska N., Zukowska M., Jozkowicz A., Dulak J. 2013. Murine bone marrow Lin<sup>-</sup>Sca-1<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> very small embryonic-like (VSEL) cells are heterogeneous population lacking Oct-4A expression. *PLoS ONE*. 8 : e63329.
- Tanaka-Douzono M., Suzu S., Yamada M., Wakimoto N., Hayasawa H., Hatake K., Motoyoshi K. 2001. Detection of murine adult bone marrow stroma-initiating cells in Lin<sup>-</sup> c-fms<sup>+</sup> c-kit<sup>low</sup> VCAM-1<sup>+</sup> cells. *J. Cell. Physiol.* 189 : 45—53.
- Van Den Heuvel R., Mathieu E., Schoeters G., Leppens H., Vanderborght O. 1991. Stromal cells from murine developing hemopoietic organs: comparison of colony-forming unit of fibroblasts and long-term cultures. *Int. J. Develop. Biol.* 35 : 33—41.
- Wan C., He Q., McCaigue M., Marsh D., Li G. 2006. Nonadherent cell population of human marrow culture is a complementary source of mesenchymal stem cells (MSCs). *J. Orthop. Res.* 24 : 21—28.
- Yoon Y. S., Wecker A., Heyd L., Park J. S., Tkebuchava T., Ku-sano K., Hanley A., Scadova H., Qin G., Cha D. H., Johnson K. L., Aikawa R., Asahara T., Losordo D. W. 2005. Clonally expanded novel multipotent stem cells from human bone marrow regenerate myocardium after myocardial infarction. *J. Clin. Invest.* 115 : 326—338.
- Zhou Z., Jiang E. L., Wang M., Liu Q. G., Zhai W., Huang Y., Wang H. H., Han M. Z. 2005. Comparative study on various subpopulations in mesenchymal stem cells of adult bone marrow. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 13 : 54—58.
- Zipori D. 2005. The stem state: plasticity is essential, whereas self-renewal and hierarchy are optional. *Stem Cells*. 23 : 719—726.

Поступила 31 VII 2014

## HETEROGENEITY AND POSSIBLE STRUCTURE OF MESENCHYMAL STROMAL CELL POPULATION

O. V. Payushina,<sup>1</sup> E. I. Domaratskaya

N. K. Koltsov Institute of Developmental Biology RAS, Moscow;  
<sup>1</sup> e-mail: payushina@mail.ru

Mesenchymal stromal cells (MSC) represent a heterogeneous population of cells that differ in morphology, phenotype, ability to grow and differentiate, and other properties. Differences between MSC are related in part to the influence of their microenvironment. However, the heterogeneity of these cells also is due to their parent-progeny relationship. Hierarchical organization of the MSC population that comprises different categories of oligopotent and multipotent cells, is complicated and poorly understood. This review includes data on morphological, phenotypic and functional heterogeneity of MSC and its possible connection with the population structure.

**Key words:** mesenchymal stromal cells, heterogeneity, parent-progeny relationship, population structure.