

ные представляют интерес, поскольку мы впервые показали способность TGF- α стимулировать пролиферацию ЭМСК в степени, сопоставимой с ЭФР, однако для понимания сути этого эффекта необходимо подробно сравнить особенности динамики эндоцитоза и сигналинга рецептора ЭФР в этих клетках при активации разными лигандами.

При анализе экспрессии поверхностных маркеров мы заметили, что под действием ЭФР и TGF- α в популяции ЭМСК снижается доля клеток CD146⁺ (см. рисунок, б), в то время как поверхностная экспрессия CD105 и CD140b не изменяется (данные не представлены). Также в исследуемой культуре ЭМСК наблюдается зависимость численности клеток CD146⁺ от пассажа: на 8-м и 13-м оно составляет 80 ± 2 и $49 \pm 4\%$ соответственно (см. рисунок, б, в), что согласуется с данными других авторов (Halfon et al., 2011).

Ранее было показано, что в плотных культурах МСК количество поверхностного CD146 ниже (Kaltz et al., 2010), поэтому, учитывая усиление пролиферации при действии лигандов рецептора ЭФР, мы предположили, что снижение численности клеток CD146⁺ может быть связано с увеличением плотности клеток. Чтобы проверить эту гипотезу, мы сравнили ЭМСК, обработанные ЭФР, с клетками, которые были исходно посеяны с разной плотностью (см. рисунок, в). При посеве 5 тыс. кл./см² через 5 сут число клеток, культивируемых в контрольной среде, составило 17.7 ± 0.4 , а в среде с ЭФР — 23.9 ± 0.08 тыс. кл./см². В то же время при посеве 11 тыс. кл./см² плотность клеток на 5-е сут была даже несколько выше — 28.5 ± 1.3 тыс. кл./см². При этом число ЭМСК CD146⁺ в исходно более плотной культуре в самом деле оказалось ниже, чем в менее плотной (см. рисунок, в). Однако численность ЭМСК CD146⁺ при обработке ЭФР была ниже, чем в контрольной среде, независимо от плотности посева. Таким образом, снижение доли ЭМСК CD146⁺ под действием ЭФР и TGF- α не обусловлено исключительно увеличением плотности клеток, которое является прямым следствием усиления пролиферации.

Полученные данные позволяют предположить, что субпопуляции ЭМСК CD146⁺ и CD146⁻ могут в разной степени отвечать на активацию рецептора ЭФР.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект 18-34-00188).

Список литературы

- Земелько В. И., Гринчук Т. М., Домнина А. П., Арцыбашева И. В., Зенин В. В., Кирсанов А. А., Бичева Н. К., Корсаков В. С., Никольский Н. Н. 2011. Мультипотентные мезенхимные стволовые клетки десквамированного эндометрия. Выделение, характеристика и использование в качестве фидерного слоя для культивирования эмбриональных стволовых линий человека. Цитология. 53 (12) : 919—929. (Zemel'ko V. I., Grinchuk T. M., Domnina A. P., Artsybasheva I. V., Zenin V. V., Kirsanov A. A., Bichevaia N. K., Korsak V. S., Nikolsky N. N. 2011. Multipotent mesenchymal stem cells of desquamated endometrium. Isolation, characterization and using as a feeder layer for human embryonic stem cells cultivation. Tsitologiya. 53 (12) : 919—929.)
- Gargett C. E., Chan R. W. S., Schwab K. E. 2008. Hormone and growth factor signaling in endometrial renewal: role of stem/progenitor cells. Mol. Cell. Endocrinol. 288 : 22—29.
- Halfon S., Abramov N., Grinblat B., Ginis I. 2010. Markers distinguishing mesenchymal stem cells from fibroblasts are downregulated with passaging. Stem Cells Develop. 20 : 53—66.
- Kaltz N., Ringe J., Holzwarth C., Charbord P., Niemeyer M., Jacobs V. R., Peschel C., Häupl T., Oostendorp R. A. 2010. Novel markers of mesenchymal stem cells defined by genome-wide gene expression analysis of stromal cells from different sources. Exp. Cell Res. 316 : 2609—2617.
- Kolch W. 2005. Coordinating ERK/MAPK signalling through scaffolds and inhibitors. Nature Rev. Mol. Cell Biol. 6 : 827—837.
- Krampera M., Pasini A., Rigo A., Scupoli M. T., Tecchio C., Malpeli G., Scarpa A., Dazzi F., Pizzolo G., Vinante F. 2005. HB-EGF/HER-1 signaling in bone marrow mesenchymal stem cells: inducing cell expansion and reversibly preventing multilineage differentiation. Blood. 106 : 59—66.
- Lv F. J., Tuan R. S., Cheung K. M. C., Leung V. Y. L. 2014. Concise review: the surface markers and identity of human mesenchymal stem cells. Stem Cells. 32 : 1408—1419.
- Tamama K., Kawasaki H., Wells A. 2010. Epidermal growth factor (EGF) treatment on multipotential stromal cells (MSCs). Possible enhancement of therapeutic potential of MSC. BioMed Res. Int. 2010. Doi: 10.1155/2010/795385
- Wang Y., Crisostomo P. R., Wang M., Markel T. A., Novotny N. M., Meldrum D. R. 2008. TGF- α increases human mesenchymal stem cell-secreted VEGF by MEK- and PI3-K-but not JNK- or ERK-dependent mechanisms. Amer. J. Physiol. Reg. Integ. Compar. Physiol. 295 : R1115—R1123.
- Wiley H. S., Burke P. M. 2001. Regulation of receptor tyrosine kinase signaling by endocytic trafficking. Traffic. 2 : 12—18.

Поступила 15 V 2018

CD146⁺ CELLS CONTENT IN ENDOMETRIAL MESENCHYMAL STROMAL CELLS (enMSC) POPULATION DECREASED AFTER TREATING WITH EGF AND TGF- α

R. S. Kamentseva,^{1,*} V. V. Kosheverova,¹ M. V. Kharchenko,¹ M. V. Istomina,²
O. M. Semyonov,³ A. N. Shatrova,¹ A. P. Domnina,¹ E. S. Kornilova^{1—3}

¹ Institute of Cytology RAS, St. Petersburg, 194064,

² Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, 195251, and

³ St. Petersburg State University, St. Petersburg, 199034;

* e-mail: rkamentseva@yandex.ru

The heterogeneity of mesenchymal stromal cells (MSC) in surface markers expression is thought to be related to prolonged maintaining in culture, but little is known about differential effects of exogenous factors on distinct cell subpopulations within MSC culture. In this study we have evaluated the effect of epidermal growth factor (EGF) and transforming growth factor (TGF)- α , which are the ligands of EGF receptor, on the human desquamated endometrium-derived MSC (enMSC) proliferation and surface expression of CD146 that is belie-

ved to be a stemness marker. We have found that under EGF or TGF- α treatment enMSC proliferation was increased, but the portion of CD146⁺ cells was significantly decreased. Also the decrease of CD146⁺ cells portion was shown to be unrelated with increased cell density due to strong proliferation in EGF-treated enMSC. The data obtained allow us to suggest that CD146⁺ and CD146⁻ enMSC subpopulations might respond to the EGF receptor activation to a different extent.

Key words: CD146, endometrial mesenchymal stromal, stem cells, epidermal growth factor, transforming growth factor- α
