

ХАРАКТЕРИСТИКА МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК ХОРИОНА ЧЕЛОВЕКА ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ КЛЕТОК В КУЛЬТУРУ

© 2019 г. М. А. Шилина¹*, Д. Н. Силачев², К. В. Горюнов², И. В. Кожухарова¹, Н. А. Пуговкина¹, О. Г. Люблинская¹, Ю. С. Иванова¹, Н. Н. Никольский¹, Т. М. Гринчук¹

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

²Национальный Медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова, Москва, 117198 Россия

*E-mail: shili-mariya@yandex.ru

Поступила в редакцию 19.08.2019 г.

После доработки 16.09.2019 г.

Принята к публикации 20.09.2019 г.

Хорион — это наружная оболочка зародыша, развивающаяся из трофобласта и подстилающей его мезенхимы. Задачей настоящей работы было охарактеризовать клеточные линии, полученные из хориона разных доноров. Фенотипический анализ 3-х линий, полученных от трех разных доноров, показал, что клетки имеют профиль экспрессии поверхностных CD-маркеров, типичный для мезенхимных стромальных клеток (МСК) человека. В процессе культивирования клетки характеризовались фибробластоподобной морфологией. На пассажах 4–5 динамика клеточного цикла была характерной для нормальных клеток человека мезенхимного ряда: в логарифмической фазе роста регистрировали увеличение доли клеток в фазах синтеза ДНК и митоза, которая снижалась впоследствии при уплотнении культуры. На пассажах 6–7 характер распределения клеток по фазам клеточного цикла менялся: доля клеток в фазе синтеза ДНК уменьшалась. Клетки накапливались в фазе G₂/М и увеличивалась доля полиплоидов, с количеством генетического материала >2n. Методом проточной цитометрии было показано быстрое снижение пролиферативной активности клеток проанализированных линий по мере их пассирования. Время удвоения клеточной популяции на пассажах 4–5 для одной линии составляло 40 ч, а к пассажу 6–7 увеличилось до 52 ч. Для двух других линий время удвоения на пассажах 4–5 составляло около 80 ч. После 6–7-ого пассажа клетки погибали. Методом ELISA был выявлен значительный уровень секреции VEGF. Кариологический анализ показал, что клетки хориона в культуре имеют околодиплоидный кариотип, склонный к поломкам хромосомного материала. По результатам настоящей работы можно заключить, что МСК хориона не являются самым оптимальным объектом для использования в лабораторных исследованиях с длительными экспериментами. Высокий уровень секреции VEGF позволяет рассматривать их как источник кондиционной среды для лечебных целей.

Ключевые слова: мезенхимные стромальные клетки человека, хорион

DOI: 10.1134/S0041377119120046

Регенеративная медицина, основанная на использовании клеток взрослого организма, развивается с каждым годом. Для ее целей чаще всего используют мезенхимные стромальные клетки (МСК) человека. В 2006 г. Международным обществом клеточной терапии были утверждены критерии по определению мультипотентных МСК человека. Такие клетки должны обладать: 1) адгезивностью к пластику при стандартных условиях культивирования; 2) позитивной экспрессией маркеров CD105, CD73, CD90 и отсутствием экспрессии гемопоэтических маркеров CD19, CD34, CD45 и HLA-DR (класса II); 3) способностью дифференцироваться

под воздействием определенных стимулов в другие клетки мезодермы *in vitro* (Dominici et al., 2006). Долгое время главным источником МСК для научных и клинических исследований оставался костный мозг. В настоящее время, кроме костного мозга, распространены источники для выделения МСК являются жировая ткань (Parker, Katz, 2006), пуповинная кровь (Harris et al., 2007), амниотическая жидкость (De Coppi et al., 2007) и ткань эндометрия (Cho et al., 2004; Gargett, 2006). Продолжаются работы по постоянному поиску новых источников МСК и сравнительный анализ таких клеток для отбора наиболее удобного источника МСК в целях регенеративной медицины. Важным при этом является рассмотрение не только их физиологических и генетических параметров, но и их секреторной способности. В

Принятые сокращения: МСК — мезенхимные стромальные клетки, СК — стволовые клетки, VEGF — фактор роста эндотелия сосудов.