

ХАРАКТЕРИСТИКА НЕИММОТАЛИЗОВАННОЙ ЛИНИИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЭПИКАРДИАЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ ТКАНИ ЧЕЛОВЕКА

© 2019 г. А. С. Мусорина¹, В. В. Зенин¹, В. И. Турилова¹, Т. К. Яковлева¹, Г. Г. Полянская¹ *

¹Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

*E-mail: poljansk@incras.ru

Поступила в редакцию 15.11.2018 г.

После доработки 28.12.2018 г.

Принята к публикации 10.01.2019 г.

Охарактеризована новая неиммортилизованная линия мезенхимных стволовых клеток (МСК) из эпикардиальной жировой ткани человека (ADH-MSC), полученная от 50-летнего донора в процессе аортокоронарного шунтирования. В процессе длительного культивирования (пассажи 8–16) постепенно увеличивается доля стареющих клеток. Оценка активности β-галактозидазы показывает, что к пассажиру 16 доля стареющих клеток достигает 66%. К этому времени проявляются и другие признаки, свидетельствующие о наступлении активной фазы репликативного старения: увеличиваются размеры клеток и степень их распластанности, существенно снижается эффективность клонирования и индекс пролиферации, увеличивается время удвоения клеточной популяции. В целом, полученные результаты подтверждают ограниченный срок жизни клеток линии ADH-MSC, характерный для неиммортизированных клеточных популяций. Кариотипический анализ показал, что на раннем 8-ом пассаже имеет место нормальный кариотип человека, но уже к пассажиру 12 существенно увеличивается кариотипическая гетерогенность, усиливающаяся к пассажиру 16 и превышающая допустимый уровень хромосомных нарушений в нормальных МСК. Показано образование новых структурных вариантов кариотипа (СВК). Обнаружено преимущественное участие короткого плеча одного из гомологов хромосомы 21 в клональных и неклональных перестройках, а также в дицентриках по типу теломерных ассоциаций. Показано уменьшение частоты полиплоидов в процессе длительного культивирования. На пассажах 8 и 16 выявлена высокая экспрессия поверхностных антигенов, характерных для МСК человека (CD44, CD73, CD90, виментин, CD105, HLA-ABC) и отсутствие экспрессии CD34, CD45, HLA-DR. На 8-м пассаже присутствует значительная экспрессия маркера ранней дифференцировки ЭСК – SSEA-4, которая существенно снижается на пассаже 16. На пассажах 8 и 16 клетки линии ADH-MSC способны с одинаковой интенсивностью дифференцироваться в остеогенном и хондрогенном направлениях. Интенсивность адипогенной дифференцировки снижается к пассажиру 16. В целом, представленные результаты подтверждают статус МСК для полученной линии и свидетельствуют о существенных изменениях, происходящих в процессе раннего репликативного старения, связанных, возможно, с измененным микроокружением, в котором находились клетки донора с заболеванием сердца. Раннее старение и кариотипическая нестабильность могут быть связаны и с более значительными нарушениями системы репарации ДНК клеток ADH-MSC по сравнению с другими линиями.

Ключевые слова: мезенхимные стволовые клетки человека, пролиферация, репликативное старение, поверхностные клеточные маркеры, кариотип, дифференцировка

DOI: 10.1134/S0041377119040047

Важность исследований характеристик МСК вытекает из особенностей взаимодействия их с уникальным микроокружением (нишей), характерным для определенной ткани, которое регулирует пролиферацию, выживаемость, миграцию, старение, дифференцировочный потенциал и другие клеточные свойства посредством межклеточных взаимодействий и различных биоактивных молекул. Таким образом, происхождение МСК может определять их функциональные характеристики. Согласно требованиям Международного общества клеточной тера-

пии, статус МСК разного происхождения определяется рядом общих характеристик. (Dominici et al., 2006; Sensebé et al., 2010).

Многие МСК, полученные из взрослых и эмбриональных тканей, имеют ограниченное применение из-за инвазивного способа их получения, малого количества полученных клеток в связи с невысоким пролиферативным потенциалом или этических проблем (Bongso, Fong, 2013). Тем не менее, несмотря на указанные сложности, отказываться от стволовых клеток из таких тканей нельзя. Благодаря опреде-