

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА ЛИНИИ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ ДЕСНЫ ЧЕЛОВЕКА

© 2019 г. А. М. Кольцова¹, 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 26.04.2019 г.

После доработки 21.05.2019 г.

Принята к публикации 22.05.2019 г.

Получена и охарактеризована новая неиммортилизованная клеточная линия из десны здорового донора 35 лет, названная MSC-GING. Анализ разных характеристик проводили на 6-, 7-, 13-, 18-, 20- и 23-м пассажах. В процессе длительного культивирования постепенно увеличивается доля стареющих клеток согласно активности β-галактозидазы. Эффективность клонирования клеток MSC-GING существенно уменьшается в процессе длительного культивирования. Кривые роста свидетельствуют об активной пролиферации клеточной линии на 6-м пассаже и значительном снижении индекса пролиферации к 18- и 20-му пассажам. Кариотипический анализ на 7- и 18-м пассажах показал наличие диплоидного числа хромосом (46) во всех метафазных пластинках. Но на 7-м пассаже доля клеток с нормальным диплоидным кариотипом 46, XX составляет $50 \pm 5\%$, а в остальных клетках выявлена клональная перестройка – инверсия длинного плеча хромосомы 10, inv(10)(q21.1q25.1). Доля этих клеток существенно уменьшается при длительном культивировании до пассажа 18, тогда как доля клеток с нормальным диплоидным кариотипом возрастает. На пассажах 6 и 20 высока доля клеток, несущих поверхностные антигены, характерные для МСК человека: CD44, CD73, CD90, CD105, виментин и HLA-ABC. Выявлена крайне низкая частота клеток с антигенами CD34, CD45 и HLA-DR. Существенно отметить, что на пассажах 6 и 20 отсутствуют клетки, несущие маркеры недифференцированных эмбриональных стволовых клеток: Oct-4, SSEA-4 и SOX2. Показано, что клетки линии MSC-GING обладают способностью дифференцироваться в остеогенном и хондрогенном направлениях. Возможность дифференцироваться в адипогенном направлении проявилась только на уровне экспрессии гена *glut4*. Индукция нейрональной дифференцировки привела к увеличению уровня экспрессии гена *nse* – нейроспецифической энолазы. В целом, представленные результаты подтверждают статус МСК для полученной линии, но свидетельствуют о существенной кариотипической нестабильности на раннем пассаже, которая уменьшается в процессе репликативного старения.

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

DOI: 10.1134/S0041377119080029

В настоящее время мезенхимные стволовые клетки (МСК) широко используются для фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований. Линии МСК человека, будучи неиммортизованными, диплоидными клеточными популяциями, являются удобной моделью для изучения биологических процессов, как в здоровом организме, так и при его патологических состояниях. Согласно требованиям Международного общества клеточной терапии, статус МСК разного происхождения определяется рядом характеристик (Dominici et al., 2006; Sensebé et al., 2010). Тем не менее, по характеристикам линий МСК, как определяющим их статус, так и по другим важнейшим для жизнедеятельности клеток, есть различия между клетками, выделенными из разных источников. В частности, обнаружены межлинейные различия по дифференцировочному потенциалу, по ростовым характеристикам, по ха-

рактеру репликативного старения и по кариотипической нестабильности (Shih et al., 2005; Tomar et al., 2010; Yan et al., 2013; Yannarelli et al., 2013; Gao et al., 2014; Крылова и др., 2014; Boink et al., 2016; Subbarayan et al., 2017; Кольцова и др., 2018; Полянская, 2018). Причин наблюдающихся межлинейных различий может быть несколько: генетические и возрастные особенности доноров, разные условия выделения и культивирования клеточных популяций МСК. Существенной причиной являются особенности взаимодействия МСК с их 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 (Gattazzo et al., 2014; Choi et al., 2015; Darnell et al., 2018; Нирицкий и др., 2018; Niedern-