ЦИТОЛОГИЯ, 2020, том 62, № 4, с. 238–249

УДК 57.085.23

ОСТЕОИНДУКТИВНЫЕ СВОЙСТВА СЕКРЕТОМА МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА, ПОЛУЧЕННОГО С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СИСТЕМЫ ДЛЯ АВТОМАТИЧЕСКОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КЛЕТОК

© 2020 г. С. А. Александрова[1, *], Ю. А. Нащекина[1], С. В. Надеждин[2], С. А. Васильев[3], Р. Р. Савченко[3], Л. А. Покровская[4], М. И. Блинова[1], Н. А. Михайлова[1], М. Г. Хотин[1]

[1]Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, 194064 Россия

[2]Белгородский национальный исследовательский университет, Белгород, 308015 Россия

[3]Научно-исследовательский институт медицинской генетики Томского национального исследовательского медицинского центра РАН, Томск, 634050 Россия

[4]Национальный исследовательский Томский государственный университет, Томск, 634050 Россия

**E-mail: alekssvet2205@gmail.com*

С целью разработки технологии восстановительной терапии костных тканей получен секретом мезенхимных стволовых клеток (МСК) человека после остеогенной дифференцировки МСК линии FetMSC *in vitro*. Для получения стандартного образца секретома использовали бессывороточную кондиционированную среду (БКС), в которой культивировали большое число клеток FetMSC (до 700 млн). Все этапы клеточного процессинга проводили в автоматизированной системе CompacT SelectT (Sartorius, Великобритания). БКС концентрировали путем ультрафильтрации, затем подвергали диализу, высушивали в вакуумном ротационном испарителе. Остеоиндуктивные свойства концентрата БКС (КБКС) тестировали на клетках линии FetMSC при его добавлении в ростовую среду в разных концентрациях. Не было выявлено изменений морфологии клеток в процессе культивирования в присутствии КБКС. Анализ экспрессии транскрипционных факторов Runx2 и YAP1 (маркеров остеогенной дифференцировки клеток), с помощью иммунофлуоресцентного окрашивания и полимеразной цепной реакции в реальном времени (RT-PCR), показал повышение уровня их экспрессии в клетках в присутствии КБКС. Результаты позволяют сделать заключение о возможности использования КБКС, полученного от остеогенных МСК, для индукции дифференцировки других МСК. Полученные результаты могут быть использованы при разработке биомедицинских клеточных продуктов для восстановления костной ткани на основе секретома МСК.

Ключевые слова: мезенхимные стволовые клетки костного мозга человека, клеточная линия FetMSC, остеогенная дифференцировка, Runx2, YAP1, секретом, автоматизированная станция для культивирования клеток

DOI: 10.31857/S0041377120040021

В последние несколько десятилетий мезенхимные стволовые клетки (МСК), выделенные из тканей человека и культивируемые *in vitro*, активно изучаются с целью использования их в регенеративной медицине (Murphy et al., 2013; Mizukami, Swiech, 2018). Интерес к ним обусловлен высокой пролиферативной активностью, способностью к дифференцировке в различных направлениях, в частности, остеогенном, хондрогенном и адипогенном, а также способностью вырабатывать различные белки внеклеточного матрикса, ростовые факторы, цитокины и другие вещества, активно участвующие в регулировке клеточных функций, связанных с тканевым обновлением и репарацией (Pittenger et al., 2001; Da Silva Meirelles et al., 2009; Caplan, 2019). Регенеративная медицина костной ткани развивается в направлении создания трехмерных конструкций (графтов) с целью замещения патологических тканей или восстановления целостности кости. Для создания графтов используются материалы различной природы: костный матрикс животных, фосфаты кальция, полимеры, силикаты и др. Модификация материалов для придания им новых свойств, связанных с остеоиндукцией, достигается присутствием клеток (тканевая инженерия), белками внеклеточного матрикса, ростовыми факторами или генетическими конструкциями (Deev et al., 2015).

Активно обсуждаются подходы к выбору материалов и свойства каждого из этих элементов, а также целесообразность (экономичность) их применения.

Принятые сокращения: БКС – бессывороточная кондиционированная среда; ДС – дифференцировочная среда; КБКС – концентрат БКС; КМ – костный мозг; МСК – мезенхимные стволовые клетки; RT-PCR – полимеразная цепная реакция в реальном времени; СЭК – сыворотка эмбрионов коров; PBS – фосфатно-солевой буферный раствор.