

ОБЗОР ДОКЛАДОВ, ПРЕДСТАВЛЕННЫХ НА 13-Й ВСТРЕЧЕ МЕЖДУНАРОДНОГО ОБЩЕСТВА ПО ИССЛЕДОВАНИЮ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ISSCR (24-27 июня 2015 г., Стокгольм, Швеция)

24-27 июня 2015 года в г. Стокгольм (Швеция) состоялась 13-я ежегодная встреча Международного общества по исследованию стволовых клеток (International Society for Stem Cell Research – ISSCR).

Пленарные заседания конференции были посвящены следующим тематическим рубрикам:

- Моделирование болезней
- Создание тканей и органов
- Иммунология и стволовые клетки
- Плюрипотентность, механизмы репрограммирования
- Регенерация и приживление
- Терапия стволовыми клетками

В докладах были представлены результаты современных исследований по актуальным вопросам жизнедеятельности клетки, в частности клеточной адгезии и миграции, контроля и индукции плюрипотентности, трансдифференциации, репрограммирования; биологии эпителиальных, гемопоэтических и мезенхимальных стволовых клеток (МСК), стволовых клеток нервной системы, поджелудочной железы, легких, печени, кишечника, раковых стволовых клеток и их регуляторных сетей; моделирования болезней; затронуты этические аспекты работы со стволовыми клетками.

В рамках конференции состоялся президентский симпозиум «Манипулирование стволовыми клетками в процессах развития и при патологии». На президентском симпозиуме прочитали лекции ведущие мировые ученые, среди которых проф. Fred H. Gage (Salk Institute For Biological Studies, США), проф. Jurgen Knoblich (Institute of Molecular Biotechnology, Австрия), проф. Shinya Yamanaka (Kyoto University, Япония и University of California, США).

Ученые Irving Weissman (Stanford School of Medicine, США) и Hans Clevers (Hubrecht Institute, Нидерланды) на 13-й встрече ISSCR получили престижную награду – McEwen Award for Innovation от McEwen Centre for Regenerative Medicine (Канада) за оригинальное мышление и новаторские исследования по изучению стволовых клеток и регенеративной медицине. А исследователь Alan Trounson (MIMR-PHI Institute of Medical Research, Австралия) удостоен награды Public Service Award. Д-р Ala Trounson заслужил признание за свои пионерские работы по экстракорпоральному оплодотворению и других репродуктивных технологиях.

Одним из почетных спикеров данной конференции был проф. Shinya Yamanaka, лауреат Нобелевской премии по медицине и физиологии 2012 г. за открытие индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPS). В настоящее время проф. Yamanaka возглавляет Центр исследований и применения iPS клеток в университете Киото (Япония) и является старшим исследователем при Гладстоунском институте сердечно-сосудистых заболеваний в Сан-Франциско (США). На президентском симпозиуме проф. Yamanaka прочитал лек-

цию «Последние достижения применения iPS-клеток». Он обратил внимание, что iPS клетки обладают неограниченной способностью дифференцироваться в различные линии. Это сделало их бесценным инструментом для клеточной терапии, моделирования заболеваний и исследования лекарственных средств. На сегодняшний день ученым удалось оптимизировать технологии применения индуцированных плюрипотентных стволовых клеток в регенеративной медицине, достигнув уменьшения туморогенности. В 2014 г. было начато первое в мире клиническое исследование по применению iPS клеток, в рамках которого пигментный эпителий сетчатки, полученный из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, пересаживался пациентам с возрастной макулярной дегенерацией. Ученый предполагает, что индуцированные плюрипотентные стволовые клетки будут еще более широко применяться в медицине в скором будущем. Так, в ближайшие годы ожидаются клинические исследования по применению iPS клеток для лечения болезни Паркинсона и тромбоцитопении. Также инициирован коммерческий проект по созданию банка клонов индуцированных плюрипотентных стволовых клеток от доноров с гомологическим HLA-фенотипом. Применение подобных клонов должно уменьшить иммунный ответ и снизить риск отторжения трансплантата. Другие векторы применения iPS клеток включают исследования новых лекарственных средств, исследования по токсичности и изучению механизмов развития заболеваний. Также использование индуцированных плюрипотентных стволовых клеток может иметь профилактические преимущества, т.к. с помощью этих клеток можно предвидеть состояние пациента и предотвратить развитие определенного заболевания.

На пленарном заседании «Регенерация и приживление» проф. Jonas Frisen (Швеция) прочитал лекцию «Нейрогенез во взрослом возрасте человека». Известно, что у большинства млекопитающих нейроны способны к восстановлению в области обонятельных лукович и гиппокампа. Генерация нейронов во взрослом головном мозге позволяет поддерживать пул нервных клеток с уникальными свойствами. Известно, что нейрогенез снижается с возрастом, и возможность восстановления нейронов у людей на протяжении долгого времени была предметом многочисленных научных дискуссий. Ученый представил результаты гистохимических исследований по изучению нейрогенеза у взрослых людей. Так, показано, что нейроны гиппокампа восстанавливаются на протяжении всей жизни человека. Люди уникальны по сравнению с другими млекопитающими в том, что у человека не определяется нейрогенез в области обонятельных лукович. Исследование имеет огромное фундаментальное значение для понимания процессов регенерации нервной ткани и создания предпосылок для регенеративной терапии нейродегенеративных заболеваний.

Проф. Kari K. Alitalo и соавт. (Финляндия) представили чрезвычайно интересную работу «Изучение эндотелиального факто-

ра роста при раке и сердечно-сосудистых заболеваниях». В последние годы получено ряд новых данных о молекулярных механизмах ангиогенеза, что чрезвычайно важно для манипуляции этим процессом, направленной на лечение злокачественных и ишемических заболеваний, создания проангиогенных и антиангиогенных лекарственных средств. Учеными даже предпринято несколько попыток стимуляции неоангиогенеза. Однако во многих патологических процессах, таких как воспаление, метастазирование, нарушение функции иммунной системы, принимают участие лимфоангиогенные факторы роста. Исследование и манипулирование секрецией лимфоангиогенных факторов роста может иметь терапевтическое значение в лечении ряда заболеваний.

Д-р Mohammed Al Bagami и соавт. (Франция) в работе «Сравнение между донорскими мезенхимальными стволовыми клетками костного мозга и дермальными фибробластами: влияние на клиническое применение мезенхимальных столовых клеток» сравнили фенотип и функциональные свойства МСК костного мозга и фибробластов кожи человека. Предложенные параметры дифференциации популяции этих клеток, прежде всего профиль экспрессии генов, важны для оценки контаминации костного мозга фибробластами и исключения непрогнозируемых эффектов терапевтического применения МСК костного мозга.

Д-р Anna Vadner и соавт. (Канада) представили доклад «Вазопротективное влияние раннего внутривенного введения мезенхимальных стволовых клеток после травматического повреждения спинного мозга». В работе исследована эффективность ранней системной инфузии МСК на модели травматического повреждения спинного мозга у крыс. Показано, что подобное лечение значительно уменьшает патологические проявления и прогрессирование заболевания, хотя механизм положительного воздействия стволовых клеток при травме спинного мозга до конца не изучен. Применение стромальных клеток, выделенных из ткани пупочного канатика и эмбрионального головного мозга, приводило к снижению проницаемости сосудов, уменьшению кровоизлияний и размеров очага повреждения. Однако приживление клеток в ткани спинного мозга было незначительным. Ученые делают вывод, что терапевтическое воздействие инфузии стволовых клеток обусловлено действием множества трофических факторов, выделяемых введенными клетками.

Заслуживает внимания доклад д-ра Alix Kay Berglund и соавт. (США) на тему «TGF- β 2 уменьшает поверхностную экспрессию МНС-I на мезенхимальных стромальных клетках лошадей». МСК костного мозга нашли широкое применение в лечении заболеваний опорно-двигательного аппарата, однако показано, что несовместимость по системе МНС-I между донором и реципиентом может привести к иммунологическим осложнениям. Поэтому учеными разработаны методы молекулярных манипуляций с МСК для создания иммунопривилегированного трансплантата, одним из которых является применение культуры клеток с TGF- β 2.

Д-р Emma Board-Davies и соавт. (Швеция) представила перспективную работу «Клетки-предшественники слизистой оболочки полости рта обладают широким спектром противобактериальной активности благодаря секреции остеопротегерина». Хорошо известно, что стволовые клетки-предшественники, выделенные из слизистой оболочки полости рта – новая популяция стволовых клеток с выраженными иммуносупрессивными свойствами, возможностью ингибировать пролиферацию лимфоцитов. Причем последний эффект характеризуется дозо- и контакт-зависимым характером. Однако в данном исследовании коллегами показаны революционные данные о том, что стволовые клетки-предшественники, выделенные из слизистой оболочки полости рта, способны значительно уменьшать рост бактерий.

Изучению биологических свойств мезенхимальных стволовых клеток зубной пульпы посвящена и презентация д-ра Annelies Bronckaers и соавт. (Бельгия) «Ангиогенные свойства стволовых клеток зубной пульпы человека *in vitro* и *in vivo*». Этот тип клеток

легко выделять, культивировать, криоконсервировать и они представляют собой привлекательный источник материала для клеточной терапии. В данной работе исследованы ангиогенные свойства МСК зубной пульпы. Показано, что эти клетки выделяют как про-, так и антиангиогенные факторы, в частности васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF), моноцитарный хемотаксический белок-1 (MCP-1), эндостатин. Изучено *in vitro* влияние МСК зубной пульпы на процессы пролиферации и миграции клеток, как ключевые этапы ангиогенеза. Показано, что эти МСК стимулируют развитие кровеносных сосудов по паракринному механизму и, поэтому, могут служить важным клеточным сырьем для целей тканевой инженерии, а также лечения заболеваний, которые сопровождаются недостаточным ангиогенезом.

Д-р Campos de Carvalho и соавт. (Бразилия) представили уникальные данные по изучению влияния аутологичных МСК костного мозга на показатели деятельности сердечно-сосудистой системы собак, инфицированных *Trypanosoma cruzi* в хронической фазе. Ученые сделали вывод, что терапия стволовыми клетками приводит к улучшению функциональной активности миокарда при поражении сердца трипаносомами, однако, данный эффект не наблюдался при применении аллогенных клеток.

Д-р Giuliana Castello Coatti и соавт. (Бразилия) представила работу «Перициты, полученные из жировой ткани человека, повышают выживаемость мышей с индуцированным амиотрофическим латеральным склерозом, но только мужского пола». Несмотря на противоречивые результаты доклинических исследований, направленных на лечение амиотрофического латерального склероза с применением МСК, известно, что эти клетки обладают иммуносупрессивным и нейропротективным действием, уменьшают проявления окислительного стресса, что создает теоретические предпосылки для клеточной терапии данного заболевания. Перициты представляют собой более гомогенную клеточную популяцию, и кроме секреции ряда паракринных факторов, обладают уникальным преимуществом – способностью поддерживать гематоэнцефалический барьер, что важно при нейродегенеративных заболеваниях. На модели амиотрофического латерального склероза у мышей исследован терапевтический эффект применения культуры перицитов и мезенхимальных стволовых клеток, полученных из жировой ткани человека. Интересно, что у мышей-самцов отмечался более высокий терапевтический эффект проведенного лечения.

Д-р Caroline E.Gargett и соавт. (Австралия) выступила с работой «Экспансия недифференцированных эндометриальных мезенхимальных стволовых клеток человека с применением ингибитора малых молекул». Эндометриальные МСК – это новый тип стволовых клеток, выделяемых из внутренней оболочки матки, обладающей чрезвычайно высоким регенеративным потенциалом. В докладе представлено возможное применение ингибитора малых молекул, таких как A83-01, для экспансии эндометриальных МСК с целью тканевой инженерии.

А. А. Пулин и соавт. (Россия) представили собственный опыт применения стволовых клеток в челюстно-лицевой хирургии и имплантологии в докладе «Тканеинженерные графты костей для челюстно-лицевой хирургии (из лаборатории в клинику)». В челюстно-лицевой хирургии наблюдается большой спрос на костные графты для замещения дефектов лицевого черепа. Нарращивание костной ткани часто является и первым этапом стоматологической имплантации, без которого невозможно успешное установление импланта зуба. Как известно, мезенхимальные стволовые клетки обладают высоким остеогенным потенциалом и могут рассматриваться как идеальный биоматериал для биоинженерии кости. Ученые использовали синтетические матрицы из трикальция фосфата и аутологичские стволовые клетки (МСК десны, васкулярную фракцию жировой ткани) с целью создания различных тканеинженерных конструкций. Полученные тканеинженерные конструкции трансплантировали в качестве костных графтов пациентам с целью увеличения десны

верхней челюсти как первого этапа имплантации зубов. В настоящее время по данной методике пролечено 4 пациента. У всех пациентов послеоперационный период прошел без осложнений, побочных эффектов от проводимого хирургического лечения не наблюдалось. Согласно данным компьютерной томографии, через 3-6 месяцев после лечения в зоне тканеинженерного трансплантата отмечено гетероморфный регенерат, плотно прилегающий к окружающей костной ткани. Плотность регенерата незначительно превышала показатели интактной трабекулярной кости. Новообразованная костная ткань подтверждена гистологическим исследованием биоптата. Клинические исследования продолжаются.

В докладе группы ученых Sofia Bernat и соавт. из Испании были представлены промежуточные результаты 4 клинических исследований по клеточной трансплантации при критической ишемии конечностей. Необходимость ампутации нижних конечностей – главное осложнение сахарного диабета, которое приводит к значительному снижению качества жизни пациента и высокой смертности. Известно, что в лечении критической ишемии нижних конечностей успешно применяется интраартериальная инфузия моноклеарных клеток костного мозга. Авторы данной работы в своей презентации рассказали о трех текущих рандомизованных и контролируемых клинических исследованиях, начатых для более глубокого изучения данного метода лечения. В рамках проводимых клинических испытаний больным проводятся интраартериальные инфузии аутологичных МСК жировой ткани в 2 дозах ($0.5 \cdot 10^6$ клеток/кг и $1 \cdot 10^6$ клеток/кг веса пациента). Другой группе пациентов проводили инфузии $150\text{--}250 \cdot 10^6$ аутологичных моноклеарных клеток костного мозга, или $2\text{--}7 \cdot 10^6$ аутологичных CD133⁺ клеток, или $0.5 \cdot 10^6$ аутологичных МСК. Интраартериальные инфузии стволовых клеток проведены 48 пациентам с сахарным диабетом 2 типа с критической ишемией конечностей. Динамический контроль за состоянием пациентов включал оценку безопасности и эффективности проводимого лечения, а также определение резистентности к инсулину и потребности в инсулине. Через 12 месяцев после проведенного лечения у всех пациентов отмечено значительное улучшение состояния согласно классификации Рутерфорда-Бекера, шкалы ран Техасского университета и лодыжечно-плечевого индекса. Клиническое улучшение коррелировало с процессами неангиогенеза, подтвержденными методом цифровой ангиографии.

Sabena Sultan и соавт. (Великобритания и Греция) выступили с постерной презентацией «Иммуномодулирующие свойства прогениторных клеток: новая аллогенная терапия пациентов с ишемической кардиомиопатией, которым проводится шунтирование коронарных артерий». Иммуномодулирующие прогениторные клетки – это новое определение мезодермальных клеток-предшественников, но не мезенхимальных стволовых клеток, принятое Международным обществом клеточной терапии (International Society for Cellular Therapy). Иммуномодулирующие прогениторные клетки характеризуются определенным фенотипом (MIC A/B, CD178, CD289, CD99 и EGF-R), а также экспрессируют специфические кардиальные маркерами (CD181, CD126, CD304, CD363 и CD182). Аллогенные иммуномодулирующие прогениторные клетки применяются во II фазе клинического исследования Heartcel у пациентов с декомпенсированной сердечной недостаточностью, не полностью реваскуляризированной аортокоронарным шунтированием. Клиническое исследование Heartcel выполнено в 2014 г. Иммуномодулирующие прогениторные клетки вводили интрамиокардиально в очаги гипокинетического миокарда. В результате лечения отмечено клиническое и статистически достоверное улучшение фракции выброса левого желудочка LVEF (на 30%), уменьшение размера шрама левого желудочка (на 40%) и повышение качества жизни пациента (на 50%).

Dag Josefsen и соавт. (Норвегия) в докладе «Клиническое применение регенеративных клеток жировой ткани для восстановления тканей после лечебной радиотерапии» представили опыт своей

клиники по лечению пациентов с хроническими ранами после радиотерапии. В настоящее время в лечении пострадиационных ран используются методы пластической хирургии, и, по показаниям, гипербарическая оксигенация. Но, как выявлено недавно, инъекция стволовых клеток жировой ткани непосредственно в очаг хронической раны ускоряет заживление тканей. Регенеративные клетки жировой ткани, которые еще называют стромальной васкулярной фракцией, содержат эндотелиальные клетки-предшественники, гладкомышечные клетки и производные жировой ткани. На сегодняшний день в мире подобным лечением воспользовались пока небольшое число пациентов с ранами, но полученные результаты лечения дают основания утверждать, что подобная терапия перспективна и может рассматриваться как альтернатива традиционному лечению. Как подчеркнули исследователи, процедура выделения стволовых клеток из жировой ткани хорошо отработана, безопасна и позволяет легко получить большое количество клеток. Установлено, что 1 грамм жировой ткани содержит в 300-500 раз больше стволовых клеток, чем костный мозг.

Aurore Lafosse и соавт. (Бельгия) представили работу «Влияние диабета на фибробласты кожи и кератиноциты: потенциал стволовых клеток жировой ткани для лечения хронических диабетических язв», в которой обсудили важную проблему клеточной терапии, а именно, как заболевание влияет на свойства стволовых клеток и пригодность стволовых клеток взрослого пациента для аутологичной терапии. Ведь известно, что с возрастом и в патологических условиях клоногенный и пролиферативный потенциал стволовых клеток снижается, а такие клетки по своему биологическому потенциалу уступают клеточному материалу, полученному от молодого здорового донора. В данной работе ученые подтвердили в исследованиях *in vitro*, что фибробласты кожи очень чувствительны к гипоксии и гипергликемии, имеющим место при сахарном диабете. Однако ученые показали, что стволовые клетки жировой ткани вполне могут выживать в неблагоприятных условиях сахарного диабета и представили клинический опыт лечения пациентов с сахарным диабетом 2-го типа с помощью применения биологических повязок, содержащих стволовые клетки жировой ткани.

Anish Sen Majumdar и соавт. (Индия) представили постер «Эффективность препарата мезенхимальных стволовых клеток человека Stempeucel® на множественных преклинических моделях заболеваний человека с различной патофизиологией». Stempeucel® – это препарат аллогенных мезенхимальных стволовых клеток человека от различных здоровых доноров, который производится в условиях GMP. В настоящее время стромальные/стволовые клетки костного мозга широко исследуются в фундаментальных и трансляционных исследованиях. Установлено, что эти клетки обладают мощными иммуномодулирующими и противовоспалительными свойствами, стимулируют ангиогенез и регенерацию тканей посредством секреции трофических факторов. Способность стромальных/стволовых клеток костного мозга влиять на функциональные свойства практически всех типов иммунных клеток по паракринному механизму и посредством взаимодействия с поверхностью клеток расширило цели применения этих клеток в аллогенной трансплантологии. Ученые надеются, что созданный ими биологический препарат найдет свою нишу в регенеративной медицине.

Catarina Oliveira Miranda и соавт. (Португалия) в докладе «Трансплантация мезенхимальных стволовых клеток уменьшает моторные нарушения и нейропатологию на мышинной модели болезни Мачадо-Джозефа» представили новый подход к лечению данного заболевания с применением трансплантации мезенхимальных стволовых клеток. Болезнь Мачадо-Джозефа или спинозжечковая атаксия 3-го типа – это наиболее распространенная атаксия в мире. Показано, что трансплантация МСК уменьшает проявления болезни Мачадо-Джозефа и может рассматриваться как новый эффективный метод лечения этого пока неизлечимого генетически обусловленного заболевания.

Несовершенному остеогенезу посвящена работа Anna Maria Ranzoni и соавт. (Австралия) «Неонатальная трансплантация стволовых клеток амниотической жидкости человека улучшает качество кости на мышинной модели несовершенного остеогенеза». Несовершенный остеогенез – это врожденное заболевание, которое встречается с частотой 1:10000 детей и проявляется ломкостью костей. Среди методов лечения несовершенного остеогенеза рассматриваются возможности пренатальной трансплантации МСК, способных дифференцироваться в остеобласты. Фетальные мезенхимальные стволовые клетки человека можно получить только из амниотической жидкости в средний период гестации. В представленном исследовании стволовые клетки амниотической жидкости человека вводили новорожденным мышам с несовершенным остеогенезом, контрольные исследования проводили через 8 недель. Отмечено, что у животных, которые получили лечение стволовыми клетками, частота переломов была ниже, чем у нелеченых мышей. Так, переломы бедренной кости встречались с частотой 3,6% против 33%; большеберцовой кости 3,6% против 17%. Терапевтический эффект трансплантации МСК ученые объясняют тем, что созревание пересаженных клеток-предшественников в преостеобласты посредственно или непосредственно улучшает минерализацию и качество костей.

Eric Neely и соавт. с Канады представили доклад «Создание биологического препарата местного действия для комбинированной клеточной и генной терапии артрита». При ревматоидном артрите, наряду с хроническим воспалением, разрушением сустава и снижением качества жизни пациента, повышается образование провоспалительного цитокина – фактора некроза опухоли альфа (TNF- α), который стимулирует пролиферацию иммунных клеток, выделение других провоспалительных цитокинов, что в итоге приводит к повреждению сустава. В настоящее время доступны только средства системного действия для терапии ревматоидного артрита и такое лечение сопровождается побочными действиями – снижением функции иммунной системы и, соответственно, повышенной восприимчивостью к туберкулезу и высоким риском новообразований. Авторами представлен новый биологический препарат, известный как TNF- α «sticky traps».

В Украине членом ISSCR является Институт клеточной терапии и в Стокгольме Украину представляли директор криобанка Института, к.б.н., лауреат Государственной премии Украины Г. С. Лобынцева, а также заместитель директора криобанка к.б.н. В. А. Шаблий. Сотрудники Института клеточной терапии представили три постерных доклада.

В работе «Трансплантация плацентарных мультипотентных клеток не влияет на раннее и позднее прогрессирование опухоли при канцерогенезе толстого кишечника, индуцированного диметилгидразином у крыс» представлены уникальные данные по изучению биологических свойств стволовых клеток плаценты и перспективы их применения в лечении злокачественных опухолевых заболеваний. Колоректальный рак, как известно, одна из наиболее распространенных форм рака, которую редко выявляют на ранних стадиях. С развитием современной науки учеными и клиницистами рассматриваются все новые, более эффективные подходы к лечению данного заболевания, в том числе клеточная терапия. Особенно перспективными для лечения злокачественных заболеваний считаются стволовые клетки плаценты, поскольку плацента не является благоприятной нишей для раковых клеток.

Украинскими учеными изучено влияние внутривенной инфузии плацентарных мультипотентных клеток крысам с диметилгидразин-индуцированным колоректальным раком. Стволовые клетки плаценты вводились крысам на этапе, когда у каждого животного развилась, как минимум, одна аденокарцинома. Показано, что клеточные культуры из плаценты обладали свойствами как мезенхимальных стволовых клеток, так и стволовых клеток трофобласта, что подтверждалось экспрессией маркеров CD90, CD29, CD44, и отсутствием CD45. Также исследованные стволовые клетки плаценты обладали способностью дифференцироваться в адипогенные и остеогенные линии. Под действием проводимого лечения отмечено уменьшение количества и размера раковых образований. Также показано, что стволовые клетки плаценты не стимулировали ранний или поздний канцерогенез.

Кроме этого, было представлено еще два доклада: «Гемопозитические стволовые клетки-предшественники из плаценты человека, пуповинной крови и фетальной печени» и «Мультипотентные клетки плаценты обладают свойствами трофобласта».

Анализ докладов, представленных на конференции Международного общества исследований стволовых клеток, указывает на трансляционный характер большинства исследований, т. е. они направлены на обязательное внедрение новых разработок в практическую медицину, а также о значительных клинических достижениях регенеративной медицины в последнее десятилетие.



Редакция журнала
«Клеточная и органная трансплантология»



СТАТЬЯ НА САЙТЕ
TRANSPLANTOLOGY.ORG