

УДК 612.119:616.155.05



Никольская Е. И., Бутенко Г. М.

ГУ «Институт генетической и регенеративной медицины НАМН», Киев, Украина

e-mail: nakato@bigmir.net

# СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ КОСТНОМОЗГОВЫХ НИШ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

## РЕЗЮМЕ

В статье анализируется структурно-функциональная организация костномозговых ниш гемопоэтических стволовых клеток, сравнивается роль межклеточных контактных взаимодействий и факторов гуморальной регуляции в нишах, особенно цитокинов CXCL12, SCF и TGFβ, а также внутриклеточных сигнальных путей Notch, Wnt, Shh. Выделяются два типа переходящих друг в друга ниш: эндостальные, расположенные по поверхности эндоста на границе с костномозговой полостью, и сосудистые, включенные в костномозговую паренхиму. Подчеркивается, что главную роль в формировании ниш обоих типов играют мультипотентные стромальные клетки, из которых дифференцируются остеобласты, веретенообразные N кадгерин<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> остеобласты (SNO-клетки), клетки, экспрессирующие нестин (Nes<sup>+</sup> клетки), клетки с лептиновым рецептором (LepR<sup>+</sup> клетки), обильно продуцирующие CXCL12 ретикулярные клетки (CAR-клетки) и NG2-перичиты. Большое значение имеют и эндотелиальные клетки. В функционировании ниш принимают участие также адипоциты, остеокласты, макрофаги, мегакариоциты, регуляторные T-клетки и нейральные клетки. Постулируется, что в генезе клеток иммунной системы: общих лимфоидных предшественников, B-лимфоцитов, NK- и дендритных клеток основную роль играют остеобласты и CAR-клетки.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** костный мозг, ниши гемопоэтических стволовых клеток, мультипотентные стромальные клетки, гемопоэз.

Иммунная система представляет собой структурно-функциональную и взаимосвязанную общность гемопоэтических и стромальных клеток. Различные по происхождению, структуре и функциям популяции и субпопуляции лимфоидных и миелоидных клеток объединены в определенные ткани и органы, где они функционируют при тесном взаимодействии с негемопоэтическими элементами. Постоянная и строго регулируемая интенсивность гемопоэза с продукцией разнообразных типов клеток также обусловлена и контролируется кооперацией гемопоэтических и стромальных клеток. А своевременное пополнение иммунной системы вновь созревающими в костном мозге гемопоэтическими клетками-предшественниками, лимфоцитами, лейкоцитами и стромальными клетками является главным условием эффективного функционирования иммунной системы. Количество образующихся в единицу времени клеток очень велико. Так, приводятся данные о том, что за сутки в организме человека образуется и выходит в кровоток около  $10^{11}$  нейтрофилов, что по массе составляет около 100 г. В крови человека содержится  $7 \cdot 10^9$  нейтрофилов и моноцитов на 1 л, составляющих 50-70 % от общего количества лейкоцитов крови. Остальное огромное количество клеток крови представлено лимфоцитами и клетками минорных популяций. К этому нужно добавить, что ежедневно в организме человека продуцируется и впечатляющее число ( $250 \cdot 10^9$ ) эритроцитов,

характеризующих своим количеством напряженность кроветворения [1], создаваемую функционированием гемопоэтической стволовой клетки (ГСК) в кооперации со стромальными элементами на территории костномозговых ниш.

## ГЕМОПОЭТИЧЕСКИЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ - САМОПОДДЕРЖАНИЕ И ПОЛИПОТЕНТНОСТЬ

Исключительными свойствами ГСК являются самоподдержание и полипотентность. Как было постулировано в начале XX века А. А. Максимовым и окончательно установлено в конце прошлого столетия, не только количество, но и все известное многообразие клеточных элементов систем иммунитета и кроветворения происходит всего лишь из одного типа родоначальных элементов – ГСК (унитарная теория) [2].

«Жизненная сила» и производительность ГСК видна, например, из того, что у облученных мышей может погибнуть 99,9 % всех кроветворных клеток, включая и ГСК, а сохранившиеся стволовые клетки быстро восстанавливают кроветворение, в том числе свою собственную популяцию, а также все типы коммитированных предшественников [3]. В этом же ряду находится факт неистощаемости кроветворения после многократных повреждающих воздействий, также объясняющийся наличием и функционированием ГСК [1].

ГСК – это родоначальные высокоспециализированные клетки взрослого и фетального периодов онтогенеза, пребывающие в костном мозге (КМ) в состоянии покоя, способные вместе с кроветворным микроокружением к реализации заложенных в них программ самоподдержания и полипотентности, позволяющей им при сохранении константного количества ГСК выводить необходимое количество клеток в дифференцировку по различным направлениям, что в итоге приводит к образованию всех форменных элементов крови, в том числе и клеток иммунной системы.

Следует отметить, что свойство самоподдержания не тождественно понятию бессмертия. Для стволовых клеток характерна довольно большая продолжительность жизни, соизмеримая с продолжительностью жизни всего организма. Обнаружено несколько генетических регуляторных программ, имеющих большое значение в процессе самоподдержания ГСК. Известно также, что стволовые клетки в различных тканях управляются общими генетическими программами, поддерживающими их природу [4, 5]. Существует представление о том, что стволовые клетки представляют собой клоногенные единицы и в определенных условиях могут увеличиваться в количестве за счет клональной экспансии. Это свойство авторы также считают обязательным для стволовых клеток.

Тем не менее, по отношению к потенциалу самообновления ГСК проявляют большую гетерогенность [6]. У мышей высокообогащенной ГСК является фракция костномозговых клеток CD34<sup>c</sup>-Kit<sup>+</sup>Sca-1<sup>hi</sup>. А самой высокой способностью к самообновлению в ней обладают клетки минорной субпопуляции, экспрессирующие CD150 [7-9]. Потенциал самообновления обычно обратно пропорционален числу делений, которые претерпела отдельная клетка [10]. Большинство ГСК входят в клеточный цикл один раз в месяц [11-13]. А остальные, так называемые «покоящиеся», включаются в него значительно реже [14], но обе субпопуляции исходно находятся в фазе G<sub>0</sub>. Исследования трансплантации отдельных клеток выявили редкую субпопуляцию латентных ГСК, которые проявляют значительную репопулирующую активность только в результате их серийной трансплантации, свидетельствуя о том, что латентные ГСК имеют более длительные периоды покоя [9]. Кроме того, в периоды покоя ГСК могут находиться под влиянием микроокружения. Так, являющиеся функционально активными, костномозговые и селезеночные ГСК имеют различную по длительности фазу покоя [15].

Исследования свойства полипотентности также развиваются. Считается, что она реализуется процессами коммитирования, дифференцировки и созревания. Первым этапом дифференцировки является коммитирование, в результате которого у ГСК уменьшается и способность к самоподдержанию, и потентность. В результате в пуле ГСК возникает выраженная дифференцировочная иерархия. Последующие этапы являются ключевыми в окончательном выборе пути дифференцировки, по завершении которой образуются монопотентные клетки-предшественники. Процесс дальнейшего развития этих клеток по открытому направлению с образованием зрелых кроветворных элементов (созревание) зачастую обозначается как «терминальная дифференцировка», а о возникающих клетках говорят как о «тупиковых» [1].

Степень потентности у различных типов стволовых клеток сильно различается. Так, оплодотворенные яйцеклетки и примордиальные зародышевые клетки могут дать начало всему организму (тотипотентность), из клеток внутренней массы бластоцисты образуются клетки всех трех зародышевых листков (плюрипотентность). Родоначальные для 1-2 зародышевых листков стволовые клетки считаются мульти- или полипотентными, а клетки-предшественники уже могут быть ограничены в возможностях вплоть до олигопотентности.

Между ГСК и их ближайшими потомками имеются существенные различия по механизмам регуляции их активности: если для ГСК последняя определяется величиной и качеством микроокружения кроветворных территорий с главенствующей ролью межклеточных контактов, то их потомки, вышедшие в дифференцировку, сильно

зависят от гуморальной, главным образом цитокиновой, регуляции [16]. Еще в 80-х годах прошлого века сформировано представление о континууме ГСК, в значительной мере объясняющее высокую гетерогенность в свойствах этих клеток. В состав континуума входят клеточные элементы, различающиеся по длительности самоподдержания и клоногенности, потентности и чувствительности к различным регуляторным влияниям. Он включает три совокупности клеток: 1) ГСК, которые находятся в нишах, обладают максимальной способностью к самоподдержанию и наиболее высокой полипотентностью, не чувствительны к гуморальной регуляции; 2) ГСК вне ниш, когда существенно снижается способность к самоподдержанию и ограничивается потентность, появляется заметная чувствительность к гуморальной регуляции; 3) не полипотентные коммитированные предшественники, потерявшие практически полностью способность к самоподдержанию.

По мнению авторов [1], деление достаточно условное, однако оно упорядочивает представления о системе ГСК и объясняет многие научные факты. Так, например, вероятно, что на границе с классом коммитированных предшественников располагается основная масса колониобразующих единиц селезенки (КОЕс). Они дают транзиторные колонии, которые можно наблюдать только через 7-8 суток после введения костномозговых клеток летально облученным мышам, а далее КОЕс исчезают за счет полного созревания входящих в их состав кроветворных клеток и через 10-11 суток выявить эти колонии в селезенке уже не удастся. В транзиторных колониях не образуются дочерние КОЕс [17].

При трансплантации КМ облученным мышам в восстановлении гемопоэза отмечается три волны: первая – за счет клеток 3-й категории континуума (линейно рестриктивных клеток, которые в результате дифференцировки и пролиферации быстро пополняют пул зрелых лейкоцитов); вторая обусловлена дифференцировкой и пролиферацией прогениторов 2-й категории (мультипотентные коротко репопулирующие ГСК – short-term HSCs, ST-HSCs); и третья, отражающая функционирование собственно ГСК (длительно репопулирующие ГСК – long-term HSCs, LT-HSCs) [18].

Развитие ГСК у мышей и становление гемопоэза происходит в несколько, зависимых в том числе и от особенностей микроокружения, этапов, начиная с эмбрионального. Расселению ГСК сопутствуют мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК). Показано, что эмбриональные МСК, способные к линейной дифференцировке, рассредоточены по местам нахождения ГСК. Впервые они появляются в области аорто-гонадо-мезонефроса. Значительно, с выходом на плато, количество МСК увеличивается во взрослом КМ. К тому же важно отметить, что МСК у эмбриона циркулирует в крови. Таким образом, совместная локализация МСК и ГСК в онтогенезе на определенных территориях очевидна и свидетельствует о возможной кооперации этих клеток в процессе гемопоэза [19, 20].

Пройдя этапные изменения в аорто-гонадо-мезонефральной (АГМ) зоне, ГСК по не вполне понятным причинам и механизмам переносятся в эмбриональную печень, а затем – в селезенку и костный мозг, где они находят микроокружение, необходимое для их поддержки и функционирования на протяжении всей жизни индивидуума. Исключение, по-видимому, составляет инволюционирующий КМ (желтый), содержащий большое количество адипоцитов, расположенных перисинусоидально и, вероятно, происходящих из адвентиция [1]. Обычно имеется обратная зависимость между содержанием адипоцитов и интенсивностью гемопоэза [21]. Жировой костный мозг может превращаться в красный во время сильного гемопозитического стресса (фенилгидразиновая анемия). Однако по завершению регенерации в обновленных участках восстанавливается структура жирового костного мозга. Содержание жира в клетках КМ не снижается во время голодания и, таким образом, вряд ли они служат простым жировым депо [21].

У человека кроветворение в КМ устанавливается во втором триместре [22, 23]. В длинных костях оно прекращается между 5-м

и 7-м годами жизни с замещением красного костного мозга желтым [24]. Селезенка после рождения в кроветворении не участвует, хотя экстрамедуллярный гемопоэз в ней может осуществляться во время гемопоэтического стресса за счет пролиферации коммитированных предшественников [25], по-видимому, третьей и второй части континуума. У грызунов селезенка остается гемопоэтически активной в течение всей жизни [26].

Все же главным и несравненно более важным местом кроветворения, особенно у человека, является КМ – по сути, единственный специализированный орган гемопоэза, где ГСК и гемопоэтические прогениторы формируют сам процесс гемопоэза, тесно взаимодействуя со стромальными элементами в нишах [27-29].

### ГЕМОПОЭТИЧЕСКАЯ ИНДУКТИВНАЯ МИКРОСРЕДА (ГИМ)

Ниши ГСК являются анатомо-функциональными образованиями, в которых ГСК располагаются в поддерживающей их жизнедеятельности строме, самообновляются и дифференцируются, знаменуя старт процесса производства гемопоэтических клеток всех линий, включая лимфоидные и миелоидные элементы, формирующие системы адаптивного и врожденного иммунитета.

Впервые активная роль стромальных клеток в функционировании ГСК, по-видимому, показана более сорока лет тому назад. Участвующие в этом процессе элементы стромы были обозначены как гемопоэтическая индуктивная микросреда (ГИМ) [30].

При трансплантации костного мозга в селезенку облученных мышей обнаружили, что колонии в центральных участках введенного КМ были преимущественно гранулоцитарными, в то время как клетки КМ, окруженные стромой селезенки, давали, главным образом, эритроидные колонии. В то же время в области перекрывающихся границ обоих типов стромы располагались смешанные колонии [31], что явно указывало на большую роль стромы в функционировании собственно гемопоэтических клеток.

Исследователям удалось перенести кроветворное микроокружение методом гетеротопной трансплантации стромальных клеток КМ [30, 32]. При трансплантации КМ фрагментом ткани гемопоэтические клетки покидают трансплантат, а стромальные предшественники строят новое микроокружение, заселяющееся репопулирующими гемопоэтическими клетками реципиента. Исследования такого процесса формирования очагов эктопического кроветворения принесли убедительные доказательства в пользу огромной роли взаимодействия ГСК со стромой [33, 34].

Доказательства донорского происхождения стромы в эктопических очагах впервые получены в тонких экспериментах с использованием иммунологического подхода. КМ мышей линии C57BL/6 имплантировали гибридам первого поколения этой и аллогенной ей линии RIII. В силу кодоминантного наследования трансплантационных антигенов гибрид F1 принимает ткани от обеих родительских линий, в связи с чем трансплантат не отторгается и образуется очаг эктопического кроветворения. Через 4 недели его переносили животным линии донора или F1 гибридам. В обоих случаях возникали и длительно функционировали вторичные эктопические очаги, что, безусловно, доказывает донорское происхождение строящей очаг стромы. При трансплантации очага, действующего даже 12-14 месяцев, он хорошо приживается у родителей и, следовательно, за это время не пополняется потенциально способными к формированию очага стромальными клетками реципиента [35].

Кариологический и антигенный анализ выявил, что в очаге реципиенту принадлежат только кроветворные клетки. Стромальные клетки, в частности фибробластоподобные, в эктопических очагах имеют донорское происхождение. Если имплантировать КМ в непроницаемой для клеток диффузионной камере, в ней также возникает кость и кроветворное микроокружение, пригодное для заселения кроветворными клетками, например, после нарушения целостности камеры [36].

Важные данные по изучению стромальной регуляции ГСК получены на мышах-мутантах с генетически обусловленным дефектом

стромальной регуляции. Фенотипически плейотропная мутация по гену Sl выражается в тяжелой макроцитарной анемии, стерильности, связанной с отсутствием зародышевых клеток, и белом цвете шерсти у животных [37]. ГСК у мутантов нормальны, что выявляется при трансплантации их облученным сингенным мышам дикого типа (+/+), у которых полностью при этом восстанавливается кроветворение. Однако, при обратной схеме опыта, при трансплантации нормальных ГСК мутантам, восстановления кроветворения не происходит и анемию у мутантов не удается излечить трансплантацией нормального КМ [38].

Если перенести селезенку мышей Sl/Slid спленэктомированным однопометным сибсам, через некоторое время облучить их и ввести нормальные ГСК, то в перенесенной селезенке кроветворные колонии не возникают. Наоборот, в случае трансплантации +/- селезенки мышам Sl/Slid на возникающей кроветворной территории происходит интенсивный гемопоэз, достаточный даже для коррекции анемии [39]. Далее, селезенку +/- мышей подшивали к селезенке мутантов или наоборот. Затем мышей облучали и трансплантировали им КМ. В обоих случаях в селезенке типа +/- колоний было больше, чем в Sl/Slid селезенке. Можно ввести строму КМ мутантов в селезенку +/- мышей или наоборот, после чего облучить их и защитить сингенным нормальным КМ. В первом случае активный эритропоэз выявлялся только в селезенке, окружающей имплантат, во втором – только в имплантированной строме КМ [40].

Таким образом, у мышей с генетически нарушенной стромой кроветворных органов выявляется отсутствие какого-либо дистантно и системно действующего фактора регуляции ГСК. В одном и том же организме может происходить нормальное кроветворение в одних участках и патологическое – в соседних. Все это однозначно свидетельствует о локальном характере регуляции пролиферации ГСК стромальным гемопоэтическим микроокружением.

В последующем представления о ГИМ расширились до выделения объясняющего основные закономерности участия ГСК в кроветворении положения о нишах, где ГСК могут сохраняться, самообновляться и дифференцироваться [41]. Основу ниш составляют МСК, остеобласты, ретикулярные и эндотелиальные клетки. Остеокласты, макрофаги, перитциты, мегакарициты, адипоциты и внеклеточный матрикс ее дополняют.

Роль стромы КМ в функционировании ГСК, как и многие другие взаимосвязи, наиболее удобно изучать в культуре клеток вне сложных организменных процессов. Однако в течение десятилетий создать длительную культуру кроветворных клеток не удавалось. Как оказалось, неудачные попытки объясняются отсутствием в культурах необходимых для жизнедеятельности ГСК стромальных элементов.

Со временем удалось наладить длительное поддержание органических культур, во многом сохраняющих тканевую цитоархитектонику. Было установлено, что в органичной культуре эмбриональной печени происходит поддержание ГСК, формирующих *in vitro* различные колонии кроветворных клеток. *In vivo* клетки этих культур защищают летально облученных мышей. Причем интенсивно пролиферируют только глубоко расположенные ГСК, находящиеся в непосредственном контакте с печеночным микроокружением [42].

Прорывной технологией стала разработка монослойных «декстеровских» культур ГСК с участием стромальных элементов [43-45]. При посеве в культуру костномозговых клеток можно увидеть образование колоний фибробластов, синтезирующих входящее в клеточное микроокружение молекулы в виде коллагена I, III типов и фибронектина [46]. В монослойных культурах КМ [43] гемопоэтические клетки часто располагаются поверх фибробластов, создавая вид «булыжной мостовой» (cobblestone area). Считается, что именно в этих участках происходит взаимодействие ГСК и МСК, индуцируется активное кроветворение и в культуре стабильно поддерживаются ГСК и пролиферирующие клетки-предшественники. Это происходит только в условиях прямого контакта кроветворных клеток с клетками подслоя. При разделении их фильтром, не проницаемым для клеток, гемопоэз быстро истощается [47]. Причем, по некоторым данным,

именно фибробласты КМ, но не селезенки, кожи или кости, значительно улучшали выживание ГСК *in vitro* [48].

Были обнаружены клетки, поддерживающие кроветворение в длительной культуре костного мозга (long term culture initiating cells – LTC-ICs), получившие такое название, поскольку проявляли невиданную способность к колониеобразованию в течение 5 недель и более, и только при кокультивировании со стромальными фибробластами. Последние продуцировали SCF (stem cell factor), ИЛ-3 и гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (КСФ-Г). CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> клетки в этих условиях обнаруживали способность к самообновлению в пределах 6-недельного периода. Инкубация ГСК и клеток-предшественников в бессывороточной среде с добавлением FLT3-лиганда, SCF, ИЛ-3, ИЛ-6, КСФ-Г и фактора роста нервов (NGF) индуцировала пролиферацию с образованием через 10 дней колоний, содержащих от 4 до 1000 клеток, 40 % из которых включали более одной LTC-IC. В течение первых 10 дней количество LTC-IC возрастало в 30 раз, а к концу 1–3 недели – в 50 раз. В отсутствие растворимых стромальных факторов отмечалось снижение эффекта [10].

Лучшие результаты получены при культивировании ГСК в тесном контакте со стромой. Авторы пришли к выводу, что для увеличения количества и улучшения свойств ГСК, культивируемых с цитокинами, необходим контакт ГСК со стромальными клетками [49].

Тем не менее значительная роль в реализации эффекта стромальных клеток цитокинов очевидна. МСК конститутивно экспрессируют mPNC ИЛ-6, ИЛ-11, ингибиторный фактор лейкемии (LIF), моноцитарный колониестимулирующий фактор (КСФ-М) и SCF. В МСК, стимулированных ИЛ-1, усиливается экспрессия mPNC ИЛ-6, ИЛ-11, LIF, а также начинается экспрессия КСФ-Г и гранулоцито-моноцитарного колониестимулирующего фактора (КСФ-ГМ). У культивируемых в остеогенной среде МСК уровень mPNC ИЛ-6, ИЛ-11 и LIF снижается, тогда как экспрессия КСФ-М и SCF не нарушается; КСФ-Г и КСФ-ГМ не определяются, а ИЛ-3 не обнаруживается в МСК ни при каких обстоятельствах. Однако МСК, преинкубированные в контрольной или остеогенной среде, имеют сходную способность к поддержанию LTC-ICs [50].

При сокультивировании CD34<sup>+</sup>-клеток пуповинной крови и МСК КМ в присутствии SCF, flt3-лиганда и ИЛ-3, прикрепленные к МСК клетки располагались в двух уровнях: на и под монослоем МСК. С МСК связывались преимущественно эритроидные и мультипотентные предшественники. Открепленные гемопоэтические клетки имели фенотип CD34<sup>+</sup>CD45<sup>low</sup>, аналогичный по этим маркерам у свежывыделенных CD34<sup>+</sup>-клеток пуповинной крови. Относительное содержание CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>-ГСК (ранние, репопулирующие ГСК) возрастало с 4–9 % до 53–55 % [51]. Также показано многократное увеличение количества CD34<sup>+</sup> клеток пуповинной крови, культивируемых с МСК пуповинно-плацентарного происхождения [52].

Предприняты исследования по моделированию ниши ГСК *ex vivo*. Одной из предпосылок стало обнаружение необходимости для сохранения покоя ГСК *in vivo* и *in vitro* взаимодействия их с МСК [53]. Показано также, что межклеточные контакты *in vitro* оказывают значительное влияние на функциональные, фенотипические и клоногенные показатели ГСК. Непосредственный контакт с МСК действует на миграцию ГСК и профиль экспрессии генов поддержания ГСК во время экспансии *ex vivo* [54].

При совместном культивировании ГСК и МСК удалось выделить по объективным критериям три различных компартмента: 1) среда, в которой ГСК растут без перманентного контакта с МСК; 2) поверхность МСК; 3) окружающая среда под слоем МСК. При выполнении фазово-контрастной, конфокальной и электронной микроскопии были идентифицированы неприлипающие клетки, прилипающие к поверхности МСК и клетки, которые мигрировали под фидерный слой. При этом слившийся монослой МСК может служить в качестве границы двух различных компартментов. Причем эти пространственные ограничения влияют на пролиферацию и дифференцировку ГСК. Так, примечательным признаком стало

состояние клеточного цикла культивируемых ГСК. Уместно отметить, что, по литературным данным, сразу после выделения ГСК из периферической крови они находятся в фазе G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> [55] и их статус изменяется в пользу пролиферирующих клеток при выращивании со стимулирующими факторами [56]. В рассматриваемой работе при совместном культивировании ГСК и МСК значительное и последовательное увеличение G2/M-клеток наблюдалось над слоем МСК, а не среди неприлипающих клеток или находящихся под слоем МСК. Таким образом, межклеточные контакты на поверхности слоя МСК способствуют делению клеток, а ГСК, мигрировавшие под слой МСК, сохраняют фенотип и значительно замедленную скорость деления. Формирование подслоевой фракции ГСК замедлялось при блокировании β1-интегринов или CXCR4. Эффект еще более усиливался при комбинированной блокаде, указывая на синергическую роль β1-интегринов и оси SDF1/CXCR4 в образовании этой фракции. Неясно, поддерживает ли активно среда под слоем МСК незрелое состояние ГСК или МСК создают обстановку ниши, которая своими механизмами привлекает покоящиеся ГСК. Участвовать могут оба механизма. В одной из работ авторам удалось показать, что мигрируют через слой МСК преимущественно CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> ГСК [57].

### ЭНДОСТАЛЬНАЯ НИША И ОСТЕОБЛАСТЫ

Самоподдержание, дифференцировка и пролиферация ГСК происходит в нишах двух типов: эндостальной и сосудистой, в каждой из которых осуществляется особое контактное и гуморальное взаимодействие между различными субпопуляциями стромальных клеток и ГСК, определяющее дальнейшее развитие последних.

У мышей кроветворение осуществляется в костном мозге, расположенном в полостях костей. КМ хорошо васкуляризован [58]. Через паренхиму КМ проходит центральная продольная артерия, от которой отходят радиальные артерии меньшего калибра, уменьшающиеся постепенно в диаметре и переходящие в артериолы. Ветвь, последние образуют возле эндоста густую сосудистую сеть [59]. Здесь наблюдается переход к венозным сосудам, выстланным Sca-1<sup>+</sup> эндотелием. Венозные синусоиды укрупняются и ближе к центральной части КМ впадают в центральный синус. Синусоиды содержат фенестральные участки, обеспечивающие выход в кровь образующихся в КМ клеток [60].

Костная ткань подвергается постоянному ремоделированию путем тесной кооперации созидающих стромальных клеток-остеобластов и остеокластов, гемопоэтических по происхождению, резорбирующих определенные участки ткани [61]. Разрушая компоненты эндоста, остеокласты индуцируют также мобилизацию ГСК [62]. Остеобласты обнаруживаются вдоль эндоста на границе раздела между костью и КМ. Веретенообразные N-кадгерин<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> остеобласты (spindle-shaped N-cadherin<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> osteoblastic cells – SNO-клетки), экспрессирующие высокий уровень N-кадгерина, представляют собой незрелые остеобласты и также расположены вдоль костномозговой поверхности эндоста. Морфологически SNO-клетки значительно отличаются от кубических зрелых остеобластов [63].

Основной функцией остеобластов при костном ремоделировании является секреция протеинов неминерализованного костного матрикса, именуемого остеоидом. Внеклеточный матрикс играет большую роль в функционировании ниш, в частности, во влиянии на миграцию ГСК. Коллаген I, IV типов и фибронектин находятся в эндосте. Коллаген IV типа и ламинин связаны с костномозговыми сосудами, включая артериолы, вены и синусы. Фибронектин распределен и в центральной части КМ. Все белки, за исключением коллагена IV типа, присутствуют в кости. Фибронектин, коллаген III, IV типов и ламинин находятся также в периосте [64]. Синтез матриксных белков интенсифицируется клетками остеобластической линии по мере их дифференцировки от преостеобластов к зрелым остеобластам. Остеокальцин практически продуцируется только зрелыми клетками. Они производят в большом количестве и коллаген I типа, остеопонтин, сиалопротеин и щелочную фосфатазу [65–67].

Определенное место в нише принадлежит также и полисахаридам, в частности, гиалуроновой кислоте [68]. Введение гиалуронидазы мышам способствует мобилизации МСК [69].

Также важно, что остеобласты регулируют дифференцировку остеокластов [61, 70]. Как и адипоциты, остеобласты происходят из дифференцирующихся МСК [71, 72]. Способность МСК к мультилинейной дифференцировке и наличие изначально общих межлинейных генетических механизмов в ее процессе подтверждается временной экспрессией в преадипоцитах продуктов, характерных для остеобластической линии, и наоборот [73].

Было установлено, что первичные человеческие остеобласты поддерживают пролиферацию примитивных гемопозитических прогениторов *in vitro*, что может свидетельствовать о возможном участии остеобластов в гемопоэзе [74-77].

Активная роль остеобластов в качестве регулятора ГСК в нишах *in vivo* была показана в двух взаимодополняющих работах. Calvi L. и др. использовали влияние конститутивно активированной системы паратгормон (PTH)/пептидный рецептор паратгормона (PPR), находящейся под контролем остеобластного промотора коллагена  $\alpha 1$  (I) – Col $\alpha 1$ (I) [78]. У PPR-трансгенных мышей значительно увеличивалось содержание ГСК в КМ в сочетании с расширением площади губчатой кости и повышением количества трабекулярных остеобластов, экспрессирующих высокий уровень Jagged-1 – лиганда сигнального пути Notch. Активация PPR паратиреоидным гормоном приводила к возрастанию количества остеобластов в стромальных культурах, а добавление ингибитора  $\gamma$ -секретазы, подавляющей активацию Notch, предотвращало этот эффект. Наконец, при исследовании стромальных культур мышей дикого типа, стимулированных паратгормоном, воспроизводилась ситуация, наблюдавшаяся в культуре клеток PPR-трансгенных мышей, что позволило авторам сделать вывод об участии остеобластов в качестве регуляторного компонента при формировании костномозговых ниш ГСК.

Иной подход продемонстрировали Zhang J. и др., которые с использованием системы Mx1-Cre/LoxP осуществляли условный нокаут остеобластного гена рецептора костного морфогенетического протеина Ia (BMPRIa) и исследовали таким образом роль в функционировании ниши передачи сигналов, опосредованных взаимодействием костного морфогенетического протеина (BMP) со своим рецептором [63]. В системе LoxP/Cre целевой ген фланкируется последовательностями LoxP, узнаваемыми Cre-рекомбиназой, а ген Cre помещается под промотор гена, активирующегося только при определенных условиях. Известно, что путь сигнализации BMP-BMPRIa играет большую роль в формировании эмбрионального и постнатального гемопоэза. В результате проведенного эксперимента у животных наблюдалось формирование эктопических трабекулярных губчатых костных зон и значительное увеличение в них количества веретенообразных N-кадгерин<sup>+</sup> SNO-клеток. В 2,2 раза возрастала и численность LT-HSCs, прилипающих к этим клеткам через N-кадгерин. При этом наблюдалась корреляция между количеством SNO-клеток на эктопически расположенной костной поверхности и возрастанием в ткани числа ГСК.

Обнаружено, что резистентные к 5-фторурацилу (5-ФУ) и экспрессирующие Tie2 и N-кадгерин ГСК пребывают в контакте с синтезирующими остеокальцин остеобластами [79], а истощение остеобластов, экспрессирующих тимидинкиназу (Col2,3 $\Delta$ tk), введением ганцикловира нарушало развитие клеток эритроидного ряда и В-лимфоцитов. По-видимому, компенсаторно происходила активация экстрамедулярного гемопоэза в селезенке и печени [80]. В результате абляции эндостальных остеобластов нарушался процесс самообновления LT-HSCs и в то же время ускорялось развитие лейкемии [81]. Таким образом, также была продемонстрирована существенная роль клеток остеобластной линии в гемопоэзе и получены данные о том, что вне костного мозга также имеются клеточные элементы, способные поддерживать кроветворение.

Во многих исследованиях с мечеными ГСК установлена их локализация после трансплантации в эндостальном регионе [43, 58-60,

82-85] и это соответствует данным о том, что длительно репопулирующие и удерживающие бромдеоксиуридин (BrdU) ГСК преимущественно локализованы вблизи SNO-клеток в эндосте [60].

Таким образом, экспансия SNO-osteoblastов в результате повышенной функциональной нагрузки системы PTH/PPR [78] или в результате условной инактивации BMPRIa ассоциируется с возрастанием количества ГСК, а истощение остеобластов ганцикловиrom у соответствующих трансгенных мышей приводит к определенному снижению содержания ГСК в КМ и значительной редукции В-клеток и эритроидных прогениторов [80, 86]. Приведенных данных казалось бы достаточно для закрепления за остеобластами основной роли в создании ниш ГСК.

Однако PPR, BMPRIa и Col $\alpha 1$ (I) экспрессируются и CAR-клетками (CXCL12-abundant reticular cells), находящимися в некотором отдалении от эндоста [87]. К тому же данные о вкладе остеобластов, особенно зрелых, в поддержании ГСК при дальнейшем рассмотрении оказались противоречивым. Показано, что обработка паратгормоном увеличивает количество короткоживущих ГСК не вследствие экспансии остеобластов, а благодаря продукции Wnt-лиганда Wnt10B T-клетками [88]. Более того, не всегда увеличение количества остеобластов достаточно для экспансии ГСК. Обработка мышей костным анаболиком стронтином (strontin) ведет к экспансии зрелых остеобластов, но не оказывает влияния ни на количество, ни на функцию ГСК [89]. Наоборот, у мышей с хроническим воспалительным артритом, истощающим количество остеобластов, ГСК остаются нормальными [90]. Ранее также было установлено, что количество ГСК не уменьшалось у мышей с редуцированным количеством зрелых остеобластов [53, 91]. И наконец, условная делеция CXCL12 [92-96] или SCF [94] в зрелых остеобластах не оказывает влияния на содержание ГСК в КМ.

В оценке ситуации важно то обстоятельство, что линия остеогенных клеток гетерогенна и клетки различной степени зрелости могут обладать разной функциональной активностью. Так, примитивные остеогенные клетки экспрессируют более высокий уровень CXCL12 и SCF и поддерживают длительную репопулирующую активность ГСК лучше, чем более дифференцированные клетки [97]. Исследования в системе сигнализации CXCL12-CXCR4 выявило ее необходимость для хоуминга и поддержания ГСК и развивающихся иммунных клеток, включая В-лимфоциты, плазматические дендритные клетки (pDC) и NK-клетки в КМ [92, 93, 98-107].

На завершающем этапе остеогенной дифференцировки экспрессируется транскрипционный фактор Osx (Osterix), известный также как Sp7 и экспрессируемый в основном остеогенными клетками [108, 109]. В его отсутствие остеогенной дифференцировки не происходит и у Osx-null мышей костная ткань отсутствует. У таких мышей сохранена экспрессия Runx2, но экспрессия других остеогенных маркеров резко снижена, вплоть до полного их исчезновения [110]. У нормальных Osx<sup>+</sup> преosteoblastов экспрессируются маркеры экстрацеллюлярного матрикса [110], среди которых коллаген I, остеокальцин, костный сиалопротеин и щелочная фосфатаза. Большинство Osx<sup>+</sup> клеток в костном мозге представлены эндостальными остеобластами и субэндостальными преosteoblastами. Эти Osx<sup>+</sup> клетки также экспрессируют CXCL12. Jung Y. и др. показали, что *in vitro* CXCL12 секретируется, главным образом, на ранних этапах дифференцировки и практически исчезает в зрелых остеобластах [111]. Если cxcl12 ген селективно подавить в Osx<sup>+</sup> клетках, значительных изменений в количестве и функции ГСК не происходит. Вместе с тем усиливалась мобилизация из КМ гемопоэтических прогениторов так, что в крови и селезенке их количество возрастало в 10 и 8 раз соответственно [93].

Условная делеция CXCL12 в Osx<sup>+</sup> клетках [93], Col2,3-Cre остеобластах [92, 95] или BGLAP-Cre остеобластах [96] не приводит к каким-либо дефектам собственно ГСК. В то же время делеция CXCL12 в остеобластах (Col2,3-Cre) сопровождается уменьшением в КМ общих лимфоидных предшественников [92], а делеция в Osx<sup>+</sup> остеоген-

ных клетках приводит к снижению численности коммитированных предшественников В-лимфоцитов [93]. Складывается впечатление, что в развитии различных субпопуляций ГСК и их прогениторов принимают участие разные определенные субпопуляции стромальных клеток. По-видимому, эндостальный регион представляет собой микроокружение, включающее остеогенные клетки разной степени зрелости, подходящее для поддержания лимфоидных предшественников, и, возможно, большую роль в этом отношении играет N-кадгерин. Последний является кальций-зависимой гомофильной молекулой, формирующей адгезивные соединения. Он экспрессируется субпопуляциями остеогенных клеток с высокой активностью у незрелых клеток, а также ГСК и их клетками-предшественниками [97]. По крайней мере, некоторые субпопуляции ГСК локализируются вблизи SNO-клеток [60, 84, 85] и N-кадгерин включается в адгезию ГСК к остеогенным прогениторам [97]. Предполагалось, что остеобласты контактируют с ГСК путем прямого взаимодействия через N-кадгерин-опосредованную адгезию [63]. Однако при использовании условного нокаута N-кадгерина (Cdh2) в гемопоэтических клетках [112], остеопрогениторах [113] и остеобластах [114] не обнаружено существенных изменений в числе ГСК, хотя суперэкспрессия N-кадгерина несколько увеличивала их количество [115, 116].

Продуцируя остеопонтин, остеобласты могут снижать пул костномозговых ГСК [117]. Экспрессия ангиопоэтина и тромбопоэтина, которые связываются с Tie2 и Mpl соответственно, также препятствует увеличению количества ГСК [118-120].

При резорбции кости остеокластами происходит высвобождение кальция, который может активировать N-кадгериновые взаимодействия. Это может способствовать сохранению ГСК в эндостальном регионе [121], но по другим данным активация остеокластов вызывает мобилизацию ГСК [62].

Можно предположить, что определенная противоречивость некоторых результатов обусловлена тем, что либо в нише функционируют различные специфические популяции остеобластов, либо для осуществления определенных функций не требуются исключительно остеобласты, и они могут вытесняться другими типами клеток, компенсируя количественную или функциональную нестабильность остеопрогениторов.

Положительным регулятором ГСК является также Jagged-1 при условии активации PPR [78, 79, 119]. Несмотря на то что Jagged-1 проявляет себя как решающий фактор при PPR-активированном остеобластом наращивании ГСК, он не участвует в их гомеостазе [121]. Связанными с остеобластами негативными регуляторами считаются остеопонтин и Dkkorf 1 (ингибитор Wnt/ $\beta$ -катенин-сигнализации) [117, 123-127].

Экспрессируемый остеобластами CXCL12 вместе с CXCR4 играют одну из главных ролей в хемотаксисе, выживании и удержании ГСК в КМ [105, 128-130]. Большое значение имеют также SCF, ИЛ-8 и меньше – некоторые другие цитокины, активирующие клетки через LFA-1, VLA-4, VLA-5, CD44 и MT1-матриксную металлопротеиназу [131].

Выделение ГСК из различных регионов КМ показало, что CD150<sup>+</sup>CD48<sup>-</sup> LSK (Lin-Sca-1<sup>+</sup>c-Kit<sup>+</sup>)-клетки из эндостальной ниши обладают более высоким пролиферативным и хоуминговым потенциалом, чем ГСК такого же фенотипа, полученные из центральной части КМ. Установлено также, что CD150<sup>+</sup>CD48<sup>+</sup> LSK-клетки, ранее определенные как предшественники В-лимфоцитов, способны к мультилинейной дифференцировке, однако только в случае, если они изолированы из эндостальной области [29].

После трансплантации КМ ГСК мигрируют внутрь КМ, а затем частично из него в течение нескольких часов [132]. Это свойство лучше выражено у CD34<sup>+</sup> клеток кордовой крови, которые быстрее и эффективнее приживляются при трансплантации мышам NOD/SCID [133].

В другой работе на 3D-модели *ex vivo* двунаправленная миграция CD34<sup>+</sup> клеток достигала пика через 24 часа культивирования в простых, состоящих из неиндуцированных МСК, сфероидов. А из сфероидов, состоящих из остеиндуцированных МСК, или смешанных,

эти клетки практически не мигрировали. Они оставались в центральной части смешанного сфероидов, сформированного остеиндуцированными клетками, что свидетельствует о существенных различиях в активности адгезии в зависимости от свойств стромальных клеток. Важно также отметить, что у адгезирующих к остеиндуцированным МСК ГСК в значительной мере угнетается пролиферативная активность, что наблюдается и в нишах ГСК *in vivo*. [134].

Остеобластная ниша поддерживает ГСК в покоящемся состоянии в фазе G<sub>0</sub>, а известно, что наибольшая активность в восстановлении гемопоэза обусловлена ГСК, находящимися в состоянии покоя [12, 19, 79, 135, 136].

Покоящиеся ГСК входят также в SP (side population) – небольшую фракцию клеток, занимающих боковые положения на гистограммах при фенотипировании методом проточной цитометрии и слабо метящихся красителем Hoechst 33342 (Ho) [137]. Клетки этой фракции экспрессируют транспортер ABC (ABCG2), который обеспечивает удаление красителя из клетки [138].

Анализ состояния клеточного цикла LSK-клеток, составляющих фракцию SP-клеток, по окрашиванию пиронином Y (pyronin Y – PY) показывает, что более 90 % LSK SP-клеток находятся в фазе G<sub>0</sub> [79]. PY<sup>low</sup>- и PY<sup>+</sup> клетки находятся в фазах клеточного цикла G<sub>0</sub> и G<sub>1</sub>, соответственно [139]. LSK-SP-клетки проявляют резистентность к 5-фторурацилу, в то время как не-SP-фракция LSK-клеток чувствительна к нему [79]. Поскольку 5-ФУ индуцирует апоптоз активно делящихся клеток, ясно, что SP-клетки являются митотически не активными. При этом показано, что ГСК мышей, получавших 5-ФУ, экспрессирующие Tie2, N-кадгерин и остеокальцин, находились в контакте с выстилающими кость остеобластами [79].

Считается, что состояние покоя ГСК достигается взаимодействием молекул на поверхности остеобластов (N-кадгерин, ангиопоэтин-1 и тромбопоэтин) со своими рецепторами на ГСК (N-кадгерин, Tie-2 или Mpl, соответственно) [53, 63, 79, 119, 120, 140, 141]. А избыточная экспрессия канонического Wnt ингибитора Dkkorf 1 приводит к утрате состояния покоя ГСК, сопровождающейся снижением серийного трансплантационного потенциала [126]. Также обнаружена поддерживающая роль Wnt в регуляции остеобластами В-лимфоцитопоза [142].

В эндостальной области располагаются длительно репопулирующие и сохраняющие метку BrdU ГСК [11]. Однако только 6 % длительно репопулирующих ГСК, идентифицированных по маркерам SLAM (signaling lymphocytic activation molecule), были положительны по BrdU [135]. Дискуссионное значение имеют и данные о том, что в некоторых экспериментах количество ГСК не уменьшалось у мышей с редуцированным количеством остеобластов [53, 91]. Также количество ГСК не снижалось и при условном дефиците у остеобластов N-кадгерина [112] и CXCL12 [92-96]. А некоторые последующие исследования не подтвердили значимой ассоциации между остеобластами и ГСК [59, 143]. К тому же определенное влияние на ГСК соответствующих лигандов в экспериментах с изучением роли PPR и BMPRIa может быть связано с экспрессией этих молекул на CAR-клетках.

Тем не менее совершенно очевидно, что остеогенные клетки играют определенную роль в формировании микроокружения ГСК в эндосте, формируя так называемую эндостальную нишу. Ее влияние на функционирование ГСК и гемопоэза может определяться мембранными контактными взаимодействиями и цитокин-рецепторными связями, реализация которых во многом зависит от субпопуляционной принадлежности и степени зрелости взаимодействующих клеток, что не всегда может быть учтено в экспериментах.

И все же исключительность роли остеогенных клеток в формировании костномозговой ниши оспаривается еще и тем, что в онтогенезе кроветворение последовательно развивается в желточном мешке, АГМ-области, фетальной печени, плаценте и может осуществляться в селезенке. Однако во всех этих областях, из которых могут быть выделены ГСК, отсутствуют остеобласты, но зато везде содержатся

периваскулярные клетки, пространственно тесно связанные с генерацией ГСК. Также было показано, что линия эндотелиальных клеток фекальной печени АГТ024 эффективно поддерживает ГСК *in vitro* [144].

Отмеченная противоречивость результатов изучения роли остеобластов и других стромальных клеток в формировании эндостальной ниши ГСК и, с другой стороны, появление данных об участии в процессе эндотелиальных и периваскулярных клеток аргументировали исследования их значения и способствовали формированию представлений о сосудистой нише.

## СОСУДИСТАЯ НИША

### Периваскулярные и эндотелиальные клетки

Важную роль в качестве компонентов ниши играют периваскулярные и эндотелиальные клетки. Изучение сосудистого компонента в формировании ниш ГСК позволило по-новому взглянуть и на эндостальную нишу, так как стало понятно, что влияние этого региона не ограничивается собственно эндостальной поверхностью, как предполагалось изначально [145, 146]. Как уже упоминалось, КМ в области эндоста хорошо васкуляризован и артериолами, и венозными синусоидами с CAR-клетками [105]. После сингенной трансплантации нормальным мышам ГСК распределяются в КМ случайным образом. Однако при пересадке облученным животным они собираются преимущественно у эндостальной поверхности. Это объясняется тесной близостью кровеносных сосудов и остеобластов в слое, покрывающем эндостальную поверхность [85, 147], а также повреждающим сосуды действием облучения с выходом ГСК из сосудов и прикреплением их к остеобластам [148].

Именно поблизости от синусоидальных сосудов эндоста обнаружили ГСК по SLAM-маркерам (CD150<sup>+</sup>, CD48<sup>+</sup> и CD41<sup>+</sup>) [7]. С использованием линии мышей, экспрессирующей GFP (green fluorescent protein – зелёный флуоресцентный белок) вследствие внедрения гена белка в *cxcl12*-локус, выявляли CAR-клетки в контакте с ГСК как в эндостальном, так и в неэндостальном слое, но, главным образом, возле синусоидов [105]. В синусоидальных участках губчатой кости обнаруживаются зоны с высокой экспрессией CXCL12 и E-селектинов, важных для хоуминга и расселения нормальных и лейкоэмических ГСК [58]. О тесной ассоциации ГСК с сосудами и периваскулярными клетками свидетельствуют и результаты активации симпатических нервов, окончания которых оплетают периваскулярные клетки, что позволяет регулировать циркадную, стрессовую и индуцированную мобилизацию ГСК посредством освобождения норадреналина, изменяющего сосудистую проницаемость и модулирующего экспрессию CXCL12 [149, 150]. К тому же симпатическая нервная система играет критическую роль в регенерации КМ, по-видимому, путем реализации схожих механизмов, когда вызванная химиотерапией абляция адренергической иннервации тормозит восстановление численности ГСК [151].

### CAR-клетки

Популяция периваскулярных отростчатых стромальных клеток, экспрессирующих большое количество CXCL12, известна как CAR-клетки. Они являются мезенхимальными прогениторами, способными к дифференцировке в адипоциты и остеобласты [105]. Большинство индивидуальных CAR-клеток экспрессируют одновременно и адипогенные, и остеогенные гены, включая *ppary*, *runx2* и *osx*, а также имеют потенциал к дифференцировке в адипоциты и остеобласты в культуре. В соответствии с этим, кратковременная абляция CAR-клеток *in vivo* нарушает адипогенный и остеогенный дифференцировочный потенциал костномозговых клеток [87]. Точный клеточный состав CAR-субпопуляции не известен, хотя установлено, что в ней представлены клетки, экспрессирующие лептиновый рецептор (LepR), нестин, Mx-1, транскрипционный фактор Prx-1, выявляемый у 95 % CD45-TER119-PDGFRa<sup>+</sup> МСК КМ, и транскрипционный фактор Osx, который необходим для дифференцировки МСК в остеобласты [93, 94, 152-154].

LepR на периваскулярных клетках специфичен к активирующему метаболизм и секретируемому адипоцитами гормону лептину [155]. LepR<sup>+</sup> клетки имеют фенотип предшественников МСК, составляют 70 % CD45-TER119-PDGFRa<sup>+</sup> МСК КМ и синтезируют SCF и CXCL12. При фенотипировании они частично перекрываются с клетками, позитивными на нестин [143, 156], и являются самообновляющейся популяцией, необходимой для остео- и адипогенной регенерации [157, 158].

В контакте с CAR-клетками обнаруживается большинство CD150<sup>+</sup>CD48<sup>+</sup>CD41<sup>+</sup> ГСК (97 %), ранних предшественников В-клеток, плазматических клеток, pDCs и NK-клеток, свидетельствуя, что они функционируют как элементы ниши для ГСК и предшественников всех иммунных клеток, генерируемых костным мозгом (так называемые «ретикулярные ниши») [103, 105-107].

CAR-клетки тесно прилегают к синусоидальному эндотелию [105]. Однако они не экспрессируют пан-эндотелиальный маркер PECAM-1 и маркер гладкомышечных клеток α-актин (SMAα), свидетельствуя, что CAR-клетки представляют собой популяцию, отличную от эндотелиальных и гладкомышечных клеток [103]. CAR-клетки не экспрессируют также CD45, Sca-1, но обнаруживают VCAM-1, CD44, PDGFRα и PDGFRβ, свидетельствуя, что они представляют собой относительно гомогенную популяцию стромальных клеток [87].

Для освещения роли CAR-клеток *in vivo* использована модель трансфекции рецептора дифтерийного токсина (DTR). Комплекс DTR-GFP был внедрен в *cxcl12*-локус (*cxcl12*-DTR-GFP), что позволило удалять CXCL12-экспрессирующие клетки введением мышам дифтерийного токсина [159]. Укрывающие кость остеобласты и эндотелиальные клетки в этих условиях не поражались, но наблюдалась выраженная деплеция CAR-клеток с 2-кратным уменьшением содержания в КМ ГСК; снижалось также и количество пролиферирующих В-клеточных и эритроидных прогениторов. Большинство из оставшихся ГСК пребывало в состоянии покоя с высокой экспрессией генов, ответственных за миелоидный путь развития [87].

У отсортированных CAR-клеток CXCL12-GFP-мышей экспрессия CXCL12 и SCF была выше, нежели в других костномозговых популяциях. В соответствии с этим краткосрочная абляция CAR-клеток *in vivo* заметно угнетала продукцию SCF и CXCL12, указывая, что CAR-клетки являются главным продуцентом CXCL12 и SCF в КМ. Причем индивидуальные CAR-клетки экспрессируют и CXCL12, и SCF [87].

В целом результаты показывают, что CAR-клетки являются адипо-остеогенными клетками-предшественниками, продуцирующими большое количество критически важных для функционирования ниши цитокинов и которые необходимы для пролиферации В-клеточных, эритроидных прогениторов и в то же время сохранения ГСК в недифференцированном состоянии.

У человека CAR-клетками, возможно, являются обильно продуцирующие CXCL12 костномозговые стромальные предшественники, экспрессирующие ассоциированную с меланомой молекулу клеточной адгезии MCAM, именуемую также CD146 [160].

### Клетки, экспрессирующие нестин

Белок промежуточных филаментов нестин (nestin – Nes) экспрессируется нейрональными клетками [161], а также выявляется в различных периваскулярных и эндотелиальных клетках [162]. В КМ трангенных мышей, у которых GFP экспрессируется под контролем нейроспецифического регуляторного элемента Nes-гена, Nes-GFP<sup>+</sup> клетки обнаруживают исключительно периваскулярное расположение. Установлено, что Nes-GFP<sup>+</sup>-клетки экспрессируют различные уровни GFP в зависимости от локализации. Периаартериально расположены Nes-GFP<sup>bright</sup> клетки, а перисинусоидально – Nes-GFP<sup>dim</sup> клетки. С первыми ассоциируются покоящиеся ГСК, сохраняющиеся после введения 5-ФУ. Маркер перичитов NG2 ассоциируется с Nes-GFP<sup>bright</sup> клетками, а LepR обнаруживается преимущественно на Nes-GFP<sup>dim</sup> клетках. Делеция NG2-клеток приводит к переходу ГСК в процесс пролиферации и смене места пребывания [143].

К Nes-GFP<sup>+</sup> клеткам прилегают 60 % CD150<sup>+</sup>CD48<sup>-</sup>Lin<sup>-</sup> ГСК. Экспрессия mPNC CXCL12 и SCF много выше у отсортированных CD45<sup>-</sup>Nes-GFP<sup>+</sup> клеток в сравнении с отсортированными CD45<sup>-</sup>Nes-GFP<sup>-</sup> [153]. После *in vivo* деплеции нестин-положительных клеток с использованием DTR-опосредованной нокаутной технологии количество ГСК в КМ редуцировалось в 2 раза, но возрастало в селезенке, что свидетельствует о вовлечении нестин-экспрессирующих клеток в поддержание ГСК в КМ.

Отсортированная фракция Nes-GFP<sup>+</sup> содержала клетки, формирующие мезенхимальные сферы, колониобразующие единицы фибробластов (КОЕ-Ф), а также дифференцирующиеся в адипоциты и остеобласты. С учетом указанных свойств, клетки квалифицированы как МСК [153]. Считается, что последние вносят очень существенный вклад в формирование ниши [163-165]. Нестин обнаруживается также в субпопуляции CD146<sup>+</sup> клеток у человека и экспрессируется большой фракцией периваскулярных стромальных клеток мышей вместе с тромбоцитарным рецептором ростового фактора PDGFR- $\alpha$  [153, 156]. По тесту образования КОЕ-Ф эти клетки составляют практически все костномозговые МСК [156]. Они располагаются вблизи ГСК у волокон симпатических нервов и экспрессируют гены, ответственные за сохранение и удержание ГСК в КМ, включая контролирующие CXCL12 и SCF [156].

В КМ человека содержатся периваскулярные CD146<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup> МСК. Они способны к формированию гетеротопических ниш ГСК и инициации гемопоэза [159]. Им близки мышинные CD51<sup>+</sup>CD105<sup>+</sup>CD90<sup>-</sup>CD45<sup>-</sup>Tie2<sup>-</sup> МСК, также способные индуцировать ниши ГСК, создавая костномозговую полость с сосудами и ГСК хозяйского происхождения в донорской эктопической кости [166]. Большое значение костномозговых МСК для формирования гемопоэтического микроокружения подчеркивается и данными о способности PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup>Sca1<sup>+</sup>CD45<sup>-</sup>Ter119<sup>-</sup> МСК дифференцироваться в остеобласты, ретикулоциты и адипоциты *in vivo* [167].

Ясно, что МСК – один из основных элементов ниши, поддерживающих самообновление ГСК. Важно отметить, что по отношению к примитивным CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> эта способность наиболее выражена у МСК из КМ, кордовой крови и менее – у МСК адипозного происхождения, что, при отсутствии корреляции по цитокинному профилю, согласуется с высокой степенью адгезии к ГСК стромальных клеток костного мозга и кордовой крови против МСК адипозного происхождения. Известно, что только МСК КМ и кордовой крови продуцируют большое количество N-кадгерина, VCAM-1, NCAM-1 и интегринов. По мнению авторов, все вместе взятое свидетельствует о том, что один из основных механизмов поддержки самообновления ГСК посредством МСК состоит в межклеточном контактом взаимодействии [168].

### Эндотелиальные клетки

Эндотелиальные клетки, выстилающие синусоидальные кровеносные сосуды в КМ, также являются претендентами на одну из главных ролей в регуляции функций ГСК. Важность сосудистого компонента в формировании ниш можно было предположить уже на основании тесной структурной связи гемопоэза с сосудистой сетью.

Сосудистую сеть КМ начинают артерии, которые входят в КМ через кортикальную кость [169] и продолжают типичными капиллярами, которые сливаются с системой тонкостенных синусоидов, ветвящихся по всей костномозговой полости. Некоторые из этих капилляров имеют «открытые окна» (lumen) и характеризуются медленным кровотоком с переносом клеток, генерированных в КМ.

С синусоидальным эндотелием ассоциируются высокообогатенные LT-HSCs (CD150<sup>+</sup>CD48<sup>-</sup>CD41<sup>-</sup>Lin<sup>-</sup>) [7, 170] и Hoxb5<sup>+</sup> ГСК, непосредственно прилегающие к VE-кадгерин<sup>+</sup> клеткам [171]. VE-кадгерин (CD144) – гомофильный адгезивный белок, экспрессируемый сосудистым эндотелием, что уже само по себе может рассматриваться в качестве веского аргумента в пользу эндотелиальных клеток как элементов, определяющих основные свойства ниши. Эффективное

участие эндотелиальных клеток в гемопоэзе можно также предполагать на том основании, что они экспрессируют E-селектин [172] и секретируют высокоактивные ангиогенные факторы: FGF2, DLL-1, IGFBP2, ANGPT 1 (ангиопоэтин 1), DHH и EGF [148, 173-176]. Ангиогенные факторы Akt-активированных эндотелиальных клеток могут играть ключевую роль в поддержании баланса между процессами самообновления и дифференцировки ГСК. Селективная активация AKT1 в эндотелиальных клетках взрослых мышей после миелоабляции увеличивает количество ГСК и ускоряет гематологическое восстановление [174].

Показано, что синусоидальные эндотелиальные клетки поддерживают самообновление и предотвращают истощение ГСК в бессывороточной культуре и *in vivo* через Notch-сигнализацию. Большую роль в этих процессах играют VEGF2 и VE-кадгерин-зависимые сигнальные пути [177]. Таким образом, то, что эндотелиальные клетки способствуют самообновлению ГСК, следует также из экспериментов с делецией Jagged1 при использовании VE-кадгерин-cre, когда периваскулярные клетки, включая PDGFR $\alpha$ <sup>+</sup>CD51<sup>+</sup> МСК, не изменяются ни количественно, ни функционально [178]. В то же время установлено, что CD31<sup>hi</sup>endomucin<sup>hi</sup> эндотелиальные клетки модулируют неоангиогенез опосредованно через Notch-сигнализацию в периваскулярных прогениторах [179, 180]. Прямое участие эндотелиальных клеток в поддержании ГСК показано с использованием Tie-Cre-мышей [92-94].

Продукция CXCL12 васкулярным эндотелием укрепляет адгезию CD34<sup>+</sup> клеток посредством усиления экспрессии взаимодействующих интегринов VLA-4 и LFA-1 с соответствующими эндотелиальными лигандами – VCAM-1 и ICAM-1. Известно также, что эндотелиальные клетки, полученные из различных тканей, могут поддерживать ГСК в культуре клеток [181-183]. Высказывается предположение, что влияние на ГСК оказывает SCF, продуцируемый эндотелиальными клетками и вне ниш [94].

Экспрессия E-селектина (находящегося исключительно на эндотелиальных клетках) способствует ГСК-пролиферации, тогда как антагонисты E-селектина способствуют состоянию покоя и самообновлению [184]. Возможно, эндостальная ниша обеспечивает гипоксическую среду для поддержания ГСК в состоянии покоя, в то время как сосудистая ниша позволяет ГСК пролиферировать и дифференцироваться в среде с более высоким содержанием кислорода [14, 185].

### ГЕМОПОЭТИЧЕСКИЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И ГИПОКСИЯ

Кислород играет хорошо известную роль в клеточном дыхании, и его напряжение существенно сказывается на функциональном состоянии различных клеток, тканей, органов и систем. Не составляя исключения и МСК, ГСК, а также такие структурно-функциональные единицы ниши. КМ представляют собой уникальный тканевой тип, имеющий сложную иерархическую организацию, основанную на взаимодействии различных типов стромальных и гемопоэтических стволовых клеток в пределах определенных компартментов, некоторые из которых для эффективного функционирования могут нуждаться в пониженном, физиологичном именно для них, уровне насыщения кислородом [186-188].

Показано, что гемопоэз улучшается *ex vivo* при выдерживании культуры клеток при 1-3 % насыщении кислородом. Этот прием стал использоваться как один из наиболее эффективных подходов к улучшению условий культивирования стромальных и гемопоэтических клеток [189-191]. В культуре мышинных костномозговых клеток при 1 % насыщении кислорода лучше сохраняется баланс между самообновлением LT-HSCs и клоногенной экспансией прогениторов, чем при 20 % кислорода. Эти результаты интересны для работы *ex vivo* с человеческими клетками-предшественниками, так как низкое напряжение кислорода может сдерживать избыточный пролиферативный потенциал клеток, получаемых методом афереза. Так, например, экспансия CD34<sup>+</sup> клеток и клоногенных клеток-предшественников



(CFU-GM, CFU-E, CFU-Mix) была значительно ниже в культурах с 1 % кислорода, чем при 20 %. Напротив, человеческие LT-HSCs лучше сохранялись и росли при 1 % кислорода [190].

Chow D. и др., используя математическую модель распределения кислорода в костном мозге, высказали мнение о том, что стволовые клетки находятся в области с очень низким, почти до аноксии, уровнем кислорода и это предохраняет их от действия кислородных радикалов [192]. Совершенствование техники использования гипоксических клеточных маркеров вместе с применением рутинных методов измерения перфузии крови, используемыми изначально для изучения биологии опухолей, в настоящее время представляет достаточно возможностей для исследования кислородных градиентов в костном мозге. В результате получены прямые данные о том, что ГСК в костном мозге изолированы в гипоксическом микроокружении, из чего следует, что низкий уровень кислорода играет фундаментальную роль в сохранении нормальной функции стволовых клеток.

В большом количестве исследований для визуализации зон гипоксии применялось внутривенное введение красителя Hoechst 33342 с последующей флуоресцентной микроскопией. Установлено, что гипоксические клетки с низкой флуоресценцией локализуются на более или менее постоянной и относительно большой дистанции от кровеносных сосудов в гипоксических областях с низким окрашиванием Hoechst [193–195]. При использовании цитометрического анализа дезагрегированных клеток удается выявить количественное распределение градиента внутриклеточной концентрации красителя Hoechst, что позволяет установить корреляцию между интенсивностью окрашивания и степенью оксигенации [196–199]. Так, после внутривенного введения красителя среди клеток костного мозга наблюдалось широкое распределение интенсивности флуоресценции (от интенсивной до малой) с формированием таким образом четкого градиента. Это контрастировало с высоким уровнем флуоресценции в хорошо оксигенированных лейкоцитах крови, которые практически не изгоняли краситель, и очень низким уровнем окрашивания в тимусе, где большинство клеток пребывает в относительно гипоксическом состоянии [199]. В КМ наиболее гипоксическим оказался эндостальный регион, где находятся дормантные (от англ. «dormancy» – состояние покоя) ГСК [14, 198, 200].

Методами проточной цитометрии и флуоресцентной микроскопии установлено, что имеется большое соответствие между кислородным градиентом и окрашиванием клеток после внутривенного введения красителя Hoechst. Показана возможность сортировки костномозговых клеток по исключению красителя Hoechst и таким образом изолированы различные субпопуляции ГСК [193–196].

Для определения клеток с низким напряжением кислорода, производных из костного мозга, используется также и методический подход с применением качества химического маркера гипоксии соединения 2-нитроимидазола – пимонидазола (PIM), который при введении *in vivo* формирует стабильные отложения в гипоксических регионах и может быть затем идентифицирован анти-PIM антителами. Обработкой *in vitro* PIM-клеток, изолированных из SP, подтверждено, что этот маркер в самом деле селективен для костномозговых клеток, находящихся в гипоксических условиях. Наиболее интенсивное окрашивание анти-PIM антителами наблюдалось в условиях экспозиции при аноксии (95 % N<sub>2</sub> с 5 % CO<sub>2</sub>). В костном мозге не-SP-клетки демонстрировали только небольшое PIM-окрашивание. В SP-клетках низкое содержание красителя Hoechst сочеталось с усиленным анти-PIM окрашиванием. Наиболее способные к исключению красителя Hoechst SP-клетки имели самый высокий уровень PIM-окраски [201]. Показано, что формирование отложений PIM зависит от напряжения кислорода в клетках и является эффективным маркером для клеток с напряжением кислорода менее 10 мм рт. ст. [202]. Интенсивное анти-PIM-окрашивание наблюдалось во фракции «tip»-SP-клеток, в которой имеется высокая концентрация ГСК [201, 203, 204].

Тропный к гипоксическим клеткам цитотоксин тирапазамин (TPZ) селективно уменьшает количество ГСК в костном мозге. После обработки TPZ происходит выраженное уменьшение количества клеток, экспрессирующих SP-фенотип, вплоть до 5 % от исходной численности. Действие вещества обусловлено тем, что в условиях гипоксии TPZ редуцируется в бензотриазиниловый радикал и другие промежуточные соединения, что в конце концов приводит к разрыву двойной спирали ДНК и клеточной смерти. А в присутствии кислорода TPZ-радикал окисляется в нетоксическое исходное соединение [205].

Полученные данные свидетельствуют о том, что ниши ГСК в костном мозге организованы относительно кровоснабжения и уровня оксигенации. Более того, по-видимому, относительно низкий уровень оксигенации может являться критерием костномозговой ниши ГСК. Вероятно, кислородный градиент может осуществлять позиционный эффект, определяющий пространственную конфигурацию гемопозитической системы и защищающий ГСК от токсических и мутагенных эффектов свободных кислородных радикалов. Так как длительно репопулирующие ГСК в основном являются медленно делящимися клетками с небольшой потребностью в эффективном кислородном дыхании, для их поддержания в состоянии покоя просто необходимо пребывание в адекватных гипоксических условиях [206]. К этому нужно добавить, что некоторые костномозговые клетки экспрессируют высокий уровень гликолитических ферментов [207], что свидетельствует об их адаптации к анаэробному метаболизму [208, 209].

Имеются данные о контроле фактором HIF-1α хемокина CXCL12, ведущим, с учетом существующих в норме инверсионных взаимоотношений между уровнем кислорода и CXCL12, к возможности формирования механизма хоуминга, посредством которого ГСК удерживаются в нишах, а трансплантированные ГСК находят свои ниши. Индуцируемые гипоксией транскрипционные факторы участвуют также в контроле генов, ассоциированных с самообновлением ГСК, включая гены теломеразы [210, 211], Oct4 [49] и Notch [212]. Угнетение синтеза HIF-1α приводит к потере у ГСК состояния покоя и снижению репопулирующей активности, в то время как стабилизация уровня HIF-1α индуцирует состояние покоя и усиливает репопулирующую активность ГСК [213, 214].

## ФАКТОРЫ ГУМОРАЛЬНОЙ РЕГУЛЯЦИИ В НИШАХ

### CXCL12 и SCF

CXCL12 и SCF являются факторами, регулируемыми такие важные свойства ГСК, как сохранение их в КМ, поддержание покоя и мультипотентности [93, 215]. SCF синтезируется эндотелиальными клетками, остеобластами, костномозговыми фибробластами, CAR-клетками, Nestin- и Lep<sup>r</sup>-экспрессирующими МСК [78, 87, 153, 216–218]. Однако существенное уменьшение количества костномозговых ГСК наблюдалось только в результате условной Cre-делеции SCF в эндотелиальных клетках и Lep<sup>r</sup>-экспрессирующих периваскулярных стромальных клетках, а наибольший эффект предопределялся делецией SCF в этих обоих типах клеток [94].

CXCL12 продуцируется многими типами стромальных и гемопозитических клеток. Значение этого цитокина для отправления функций ГСК довольно существенно. Делеция CXCL12 в эндотелиальных клетках с использованием Tie2-Cre привела к снижению количества ГСК в КМ и их способности к репликации [92, 93]. Выхода из состояния покоя и выраженного снижения численности CD34<sup>+</sup>cKit<sup>+</sup>Sca1<sup>+</sup>Lin<sup>-</sup> ГСК можно достичь делецией у Mx1-Cre-мышей CXCL12 – рецептора CXCR4 [105]. Lep<sup>r</sup>-Cre-делеция или истощение CXCL12 в CAR-клетках с использованием Osx-Cre-системы было наиболее эффективным в плане снижения тканевого уровня CXCL12, что приводило к мобилизации ГСК в кровь [93]. Однако концентрация CXCL12 не всегда является определяющей. Условная делеция CXCL12 в остеобластах (Col2.3-Cre или BGLAP-Cre) не влияла на свойства ГСК [95, 96]. Однако при этом угнеталось развитие ранних лимфоидных прадшественников и В-лимфоцитов [92].

### TGF- $\beta$

TGF- $\beta$  контролирует широкий спектр биологических процессов, участвует в гомеостазе иммунной системы, поддержании и самообновлении ГСК [219]. Немиелинизированные Шванновские клетки, облегающие нервные волокна в КМ, могут секретировать активаторные молекулы для TGF- $\beta$  в нише и индуцировать TGF- $\beta$ /SMAD-сигнализацию в ГСК, с вкладом в их поддержание и самообновление посредством возрастающего фосфорилирования SMAD2 и SMAD3, вызывающих дормантность ГСК [220]. Показано, что миелоидные потомки ГСК под влиянием TGF- $\beta$  стимулируются к пролиферации, в то время как лимфоидные прогениторы угнетаются [221]. Блокада TGF- $\beta$  у мышей показала, что угнетение TGF- $\beta$  вскоре после химиотерапии приводит к ускорению восстановления гемопоэза, в то время как ингибция в ходе гомеостаза не влияет на ГСК-циклинг [222]. Это свидетельствует о том, что блок TGF- $\beta$ -сигнализации может усиливать гемопоэтическое восстановление главным образом в течение регенерации.

Cripto – белок, блокирующий TGF- $\beta$ -сигнализацию, связывается с GRP78, также известным как HSPA5, на гипоксических ГСК и активирует P13K-Akt-путь, который приводит к поддержанию ГСК, находящихся в эндостальной нише. Блокирование Cripto-GRP78-сигнализации блокирующими антителами N-20 ведет к мобилизации ГСК из эндостального региона в центральную часть КМ, но не может изменить численности ГСК в КМ, периферической крови и селезенке, показывая, что локальная мобилизация может происходить без таковой в периферическую кровь [223]. Эндостальные клетки, экспрессирующие Cripto на поверхности, включают ALCAM-Sca-1<sup>+</sup> и, в меньшей степени, ALCAM-Sca-1<sup>-</sup> клетки [223].

## ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ

### Sonic hedgehog (Shh)

Shh – классический путь регуляции эмбриогенеза. В последнее время рассматривается и как регулятор функциональной активности ГСК. Shh и его рецепторы Patches и Smoothed экспрессируются в субпопуляции CD34<sup>+</sup>Lin<sup>-</sup>CD38<sup>-</sup> ГСК. *In vitro* растворимые Shh-белки стимулируют увеличение количества ГСК и повышают их репопулирующую способность [224].

### Notch

Notch-сигнализация играет важную роль во многих процессах эмбрионального и постнатального развития и регулирует судьбу различных популяций взрослых стволовых клеток [222, 226]. Notch участвует в самоподдержании ГСК. Активация Notch происходит в результате связывания лигандов Jagged-1, Jagged-2 или DLL-1 с рецептором Notch [227] и формирования транскрипционного активатора с последующей транскрипцией генов-мишеней Notch, вовлеченных в процесс самоподдержания [173, 174, 228]. Подобным образом действуют и ангиопозитин-подобные белки [229]. Ингибирование сигнала Notch в ГСК ведет к их ускоренной дифференцировке *in vitro* и истощению *in vivo*, из чего следует, что Notch-сигнал играет важную роль в сохранении ГСК в недифференцированном состоянии [230], и что канонический Notch-путь промотирует самообновление и поддержание ГСК [178].

Однако хотя Notch стимулирует восстановление ГСК у мышей после повреждения, остается неясным, вносит ли вклад канонический Notch-путь в гомеостатическое поддержание ГСК [173, 226, 231-233]. Экспрессия Notch-рецепторов на ранних стадиях гемопоэза, вероятно, вовлечена в выбор пути дифференцировки и может быть использована для идентификации специфических прогениторных клеток с предопределенной судьбой [233]. Так, установлено, что Notch1 облегчает коммитирование Т-клеток и направляет развитие мегакариоцитов, тогда как Notch2 маркирует первичные эритроидные прогениторы [232-234].

### Wnt

Wnt, подобно Notch, является еще одним путем регуляции формирования различных тканей, включая гемопоэтическую [235, 236].

$\beta$ -катенин (кодируется геном CTNNB1) – наиболее важный компонент Wnt пути, активируясь в ГСК, ведет к экспансии клеточек *in vitro* при сохранении незрелого статуса ГСК [237, 238]. Делеция лиганда Wnt3a канонического Wnt ведет к уменьшению количества ГСК и прогениторов в фетальной печени, угнетает их самообновление и способность к длительной репопуляции [239], также подтверждая роль канонического Wnt в регуляции самообновления ГСК.

Хотя большинство исследований посвящено каноническому Wnt, показано, что и неканонический Wnt-путь также влияет на свойства ГСК. Установлено, что неканонический Wnt-лиганд Wnt5a угнетает Wnt-сигнализацию, клеточную пролиферацию *in vitro* и повышает репопулирующую способность ГСК в опытах на мышинной модели [240], действуя через рецептороподобную тирозинкиназу (Ryk) [241].

Установлено, что LT-HSCs экспрессируют неканонический Wnt сигнальный белок flamingo (Fmi, также называемый Celsr) и frizzled 8 (Fzd8), которые промотируют состояние покоя в течение гомеостатической регуляции, предотвращая нуклеарную локализацию нуклеарного фактора активированных Т-клеток, супрессируют экспрессию интерферона- $\gamma$  и выступают антагонистами канонической Wnt сигнализации. Frizzled 6 (Fzd6) регулируют экспансию ГСК. Дефицит Fzd6 приводит к уменьшению способности ГСК к самоподдержанию [242]. Стресс-индуцированная активация ГСК у мышей может приводить к регрессии неканонической Wnt сигнализации и усиливать каноническую Wnt сигнализацию, способствуя активации ГСК [243].

Очевидна важность генерации градиента уровней канонической Wnt-сигнализации. Это подтверждается различиями, обнаруженными в поведении ГСК: в одном случае для ГСК предпочтителен низкий уровень Wnt-сигнализации, ведущий к поддержанию незрелого фенотипа и усиленной длительной регулирующей способности – что противоположно среднему и высокому уровню, когда способность ГСК к репопуляции повреждается. Однако полная потеря Wnt-сигнализации также повреждает самообновление, что демонстрирует высокую дозозависимость [244].

Таким образом, существуют довольно сложные механизмы контроля ГСК посредством Notch- и Wnt-сигнализации, требующие учета экспрессии канонического и неканонического Wnt определенным типом клеток, количественных соотношений, сочетания различных факторов, времени их действия, исходного состояния рецепторного аппарата и других влияний, происходящих в определенным образом устроенной композиции ниши.

## ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ ФАКТОРЫ

Важную роль в жизнедеятельности ниши и ГСК могут играть и универсальные внутриклеточные факторы: антиапоптотические белки (Bcl-2, Mcl-1), факторы транскрипции (Tel/Etv 6, c-мус, HoxB4, HoxA4, HoxC4, Gfi1, STAT5, NF- $\kappa$ B, Hmgb3, SCL), ингибиторы клеточного цикла (p21, p27), белки семейства Polycomb group – PcG (Bmi-1, Mel18, Rae28), белки, вовлеченные в процесс модификации хромосом (теломераза) [245, 246].

Важно отметить заметную роль в рассматриваемых процессах микро РНК. Так, усиление экспрессии miR-132 в КМ мышей ведет к стимуляции пролиферации ГСК с уменьшением их количества. При этом установлено, что эффект miR-132 опосредуется транскрипционным фактором FOXO3 [146].

Вместе взятые данные о регуляции ниши растворимыми факторами и сигнальными путями подтверждают представления о васкулярной нише как регуляторе поддержания и самообновления ГСК.

## ДРУГИЕ КЛЕТКИ И МОЛЕКУЛЫ, УЧАСТВУЮЩИЕ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ НИШИ

### Симпатическая иннервация

Благодаря симпатической иннервации и поступающим в КМ адренергическим сигналам, выход ГСК в циркуляцию подчиняется циркадному ритму [150]. Во многом это осуществляется потому, что окончания симпатических нервов оплетают нестин-положительные

МСК, которые экспрессируют гены поддержания ГСК. Эти клетки реагируют на раздражители вместе с симпатической нервной системой через  $\beta$ 3-адренергические рецепторы, что ведет к угнетению экспрессии вышеупомянутых генов CXCL12, ANGPT 1, c-Kit, VCAM-1. В результате происходит миграция ГСК из КМ в циркуляцию [149, 153]. Мобилизирующую ГСК роль может играть нейропептид Y (NPY). У NPY-дефицитных мышей количество ГСК в КМ значительно снижено [149].

### Мегакариоциты

Мегакариоциты, локализованные рядом с ГСК, поддерживают их покой посредством CXCL4 (тромбоцитарный фактор-4) [247] и TGF- $\beta$ 1 [248]. Продукция мегакариоцитами FGF1 промотирует экспансию ГСК при стрессе [248].

### Макрофаги

Макрофаги являются центральной единицей в эритробластических островках, тем самым как бы образуя нишу для поддержания эритропоэтических клеток в норме, после гемолитического и миелоаблативного стрессов и при развитии гемобластов [249, 250]. Показано, что истощение КМ резидентными макрофагами усиливает пролиферацию ГСК и увеличивает пул покоящихся ГСК [134]. Макрофаги были отнесены к пулу регулирующих свойства ГСК клеток, благодаря их гуморальному влиянию через неидентифицированные цитокины на нестин-положительные клетки, побуждающему их к секреции CXCL12 и, тем самым, удержанию ГСК в нише [251, 252].

Введение животным КСФ-Г, ведущее к мобилизации ГСК и продукции гранулоцитов, угнетает и макрофаги, и остеобласты [252, 253], и при этом активирует секрецию норадреналина симпатическими нейронами костномозгового микроокружения [254]. Поскольку остеобласты не экспрессируют рецептор к КСФ-Г, можно полагать, что супрессия остеобластов происходит опосредованно, возможно, через активацию макрофагов [252, 253] и симпатических нейронов [149, 254]. Также показано, что макрофаги могут задерживать ГСК в селезенке с помощью молекулы адгезии VCAM-1 [255].

### Адиipoциты, остеокласты, регуляторные T-клетки

Некоторые клеточные типы влияют отрицательно на ГСК. После облучения или химиотерапии в КМ возрастает количество адипоцитов вследствие усиленной адипогенной дифференцировки МСК [256]. Большое количество адипоцитов затрудняет гемопозитическую регенерацию и может служить диагностическим критерием аплазии КМ [256].

Остеокласты не влияют на поддержание ГСК у мышей, что показано на модели с дефицитом цитокинов для дифференцировки остеокластов, а также на c-Fos-дефицитных и Rankl-дефицитных мышцах с дефицитом остеокластов [62, 257]. Однако, разрушая эндост, остеокласты способствуют выходу ГСК из КМ в циркуляцию. Регуляторные T-клетки могут создавать в КМ привилегированные зоны, защищающие донорские клетки в нишах после аллотрансплантации [258].

### Плейотрофин

Ростовой фактор плейотрофин, известный также как связывающий гепарин мозговой митоген (HBM), кодируется геном PTN и экспрессируется клетками экто- и мезодермального происхождения. Секреция плейотрофина костномозговыми синусоидальными эндотелиальными клетками регулирует поддержание ГСК посредством связывания и инактивации трансмембранного белкового рецептора тирозинфосфатазы типа Z (PTRZ) и задержки в КМ через ось CXCR4-CXCL12 [175, 259]. Интересно, что плейотрофин из разных первичных стромальных клеточных линий, полученных из аорто-гонадо-мезонефроса мышиноного эмбриона, также способствует гемопозитической регенерации [259], свидетельствуя, что разные источники плейотрофина могут поддерживать ГСК и их регенерацию.

### Ретиновая кислота

Прилипающие к пластику стромальные клетки секретируют ретин-альдегид-инактивирующий энзим CYP26 для поддержки низкого уровня сигнализации ретиновой кислотой, что может промотировать примитивный фенотип ГСК и их самообновление *in vivo* и *in vitro* [260]. Другие клеточные типы КМ – эндотелий и остеобласты – также секретируют CYP26, но их индивидуальная роль в поддержании низкого уровня сигнализации ретиновой кислотой не подтверждена [260, 261].

Таким образом, к настоящему времени убедительно показано, что для успешного кроветворения с генерацией всех типов гемопозитических клеток необходима кооперация ГСК, МСК и их прогениторов, хотя долгое время до и после провозглашения А. А. Максимова унитарной теории кроветворения в центре внимания исследователей гемопоза были, главным образом, наделенные свойством стволовости гемопозитические клетки. Подтверждением этому стал убедительный экспериментальный материал, доказавший, что все клетки крови происходят от единственного уникального клеточного типа – гемопозитических стволовых клеток.

Однако вскоре выяснилось, что полноценное культивирование ГСК возможно только в присутствии стромальных клеток – в так называемых декстеровских культурах. В экспериментах с трансплантацией костного мозга также обнаружилось, что нормальное функционирование ГСК и гемопозз может осуществляться только в окружении стромы. В 1978 году R. Shophild выдвинута теория костномозговых ниш ГСК, как уникальных морфо-функциональных образований, призванных обеспечить деятельность ГСК, их самоподдержание, самообновление, полипотентность, дифференцировку, удержание в костном мозге и миграционную способность. В нишах проходят свой жизненный цикл долгоживущие LT-HSCs, наиболее отвечающие критериям ГСК. Они находятся в top SP-фракции, имеют фенотип LSK CD34<sup>-</sup> клеток, характеризуются также по SLAM-маркерам как CD150<sup>+</sup>CD49 CD41<sup>-</sup>, находятся в фазе G<sub>0</sub> и долго сохраняют метку BrdU. В нишах функционируют и короткоживущие ST-HSCs CD34<sup>+</sup> LSK клетки (более продвинутые на пути дифференцировки), пребывающие в фазе G<sub>1</sub>, а также клетки-предшественники эритроидного, лимфоидного и стромального ростков.

Ниши подразделяют на два вида: эндостальные и сосудистые. Первые расположены близко к эндостальной поверхности и основными их функциональными единицами являются остеобласты и менее зрелые клетки этой линии – SNO-клетки, экспрессирующие N-кадгерин, играющий роль во взаимодействии с ГСК. Благодаря этому, а также продукции CXCL12, тромбопоэтина и некоторых других цитокинов ГСК удерживаются в костном мозге в dormant состоянии.

Однако большая часть ГСК различной степени дифференцировки находится в сосудистых нишах, образованных эндотелиальными и периваскулярными клетками: МСК, CAR-клетками, Lcp<sup>+</sup> клетками, Nestin<sup>+</sup> клетками и NG2<sup>+</sup> перицитами. На функции ГСК стромальные клетки оказывают влияние путем контактного взаимодействия и секреции биологически активных веществ: ангиопоэтина, CXCL12, SCF и некоторых других цитокинов, при участии нейрональной активации и секреции TGF- $\beta$  глиальными клетками. Большое значение имеет и активность Notch-, Wnt- и Shh-сигнальных путей, а также многочисленных внутриклеточных регуляторов: PcG (polycomb group), Gfi1 (Growth factor independence), белков суперсемейства HMG, ингибиторов CDK (cyclin-dependent kinase), RAS- и PI3K-сигнальных путей, теломеразы и некоторых других факторов.

Эндостальная и сосудистая ниши по большей части находятся рядом и практически являются продолжением друг друга и результаты экспериментов показывают, что, например, в функционировании эндостальной ниши, кроме костных клеток, принимают участие периваскулярные клетки, в частности CAR-клетки. При определенных обстоятельствах ГСК мигрируют из эндостальной ниши в сосудистую (внутрикостномозговая мобилизация).

В некотором роде уникальны относительно редкие SNO<sup>+</sup> и Nestin<sup>+</sup> клетки, играющие большую роль в функционировании собственно ГСК. Напротив, CAR-клетки, формирующие ретикулярную сеть благодаря своим длинным отросткам, встречаются в большом количестве. Они важны для жизнедеятельности более дифференцированных прогениторов, включая клетки иммунной системы. В контакте с

CAR-клетками обнаруживаются 97 % CD150<sup>+</sup>CD48<sup>+</sup>CD41<sup>-</sup> ГСК, ранние В-клеточные предшественники, плазматические клетки и НК-клетки. Истощение КМ CAR-клетками ведет к существенной потере перечисленных элементов, свидетельствуя, что в ретикулярной сети сосудистых ниш развиваются все типы иммунных клеток костномозгового происхождения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

**Клеточная композиция эндостальных и сосудистых костномозговых ниш ГСК обустроена так, что разные типы стромальных клеток рассредоточены определенным образом и могут осуществлять контактное взаимодействие с ГСК, которое считают основным в сохранении или изменении свойств последних. При этом особенности клеточных субпопуляций позволяют осуществлять и гуморальную регуляцию в нишах, особенно такими стромальными хемокинами, как CXCL12, SCF, TGFβ, а также внутриклеточными сигнальными путями Notch, Wnt, Shh и некоторыми другими факторами. В кооперацию между ГСК и МСК включены SNO-клетки, Nes<sup>+</sup> клетки, Lep<sup>+</sup> клетки, CAR-клетки, NG2-пернициты и эндотелиальные клетки. Адипоциты, остеокласты, макрофаги, мегакариоциты, нейральные клетки и регуляторные T-клетки также играют определенную, больше вспомогательную, роль.**

## ЛИТЕРАТУРА

1. Чертков И. Л. Стволовая кроветворная клетка и ее микроокружение [Текст] / И. Л. Чертков, О. А. Гуревич // М.: Медицина, 1984. — 240 с.
2. The Miracle of Stem Cells: How Adult Stem Cells Are Transforming Medicine Hardcover [Text] / R. J. Howe, M. A. Howe, N. I. Tankovich, et al. // Rancho Santa Fe: Stemedica Cell Technologies, 2011. — 282 p.
3. Bond V. P. Mammalian radiation lethality [Text] / V. P. Bond, T. M. Fliedner, J. O. Archambeau // New York: Acad. Press, 1965. — 320 p.
4. A stem cell molecular signature [Text] / N. B. Ivanova, J. T. Dimos, C. Schaniel, et al. // Science. — 2002. — Vol. 298, № 5593. — P. 601-4.
5. «Stemness»: transcriptional profiling of embryonic and adult stem cells [Text] / M. Ramalho-Santos, S. Yoon, Y. Matsuzaki, et al. // Science. — 2002. — Vol. 298, № 5593. — P. 597-600.
6. Quantification of self-renewal capacity in single hematopoietic stem cells from normal and Lnk-deficient mice [Text] / H. Ema, K. Sudo, J. Seita, et al. // Dev Cell. — 2005. — Vol. 8, № 6. — P. 907-14.
7. SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells [Text] / M. J. Kiel, O. H. Yilmaz, T. Iwashita, et al. // Cell. — 2005. — Vol. 121, № 7. — P. 1109-21.
8. Kiel M. J. CD150-cells are transiently reconstituting multipotent progenitors with little or no stem cell activity [Text] / M. J. Kiel, O. H. Yilmaz, S. J. Morrison // Blood. — 2008. — Vol. 111, № 8. — P. 4413-14.
9. Morita Y. Heterogeneity and hierarchy within the most primitive hematopoietic stem cell compartment [Text] / Y. Morita, H. Ema, H. Nakauchi // J Exp Med. — 2010. — Vol. 207, № 6. — P. 1173-82.
10. Self-renewal of primitive human hematopoietic cells (long-term-culture-initiating cells) in vitro and their expansion in defined medium [Text] / A. L. Petzer, D. E. Hogge, P. M. Landsdorp, et al. // Proc Natl Acad Sci USA. — 1996. — Vol. 93, № 4. — P. 1470-74.
11. Quiescence, cycling, and turnover in the primitive hematopoietic stem cell compartment [Text] / G. B. Bradford, B. Williams, R. Rossi, et al. // Exp Hematol. — 1997. — Vol. 25, № 5. — P. 445-53.
12. In vivo proliferation and cell cycle kinetics of long-term self-renewing hematopoietic stem cells [Text] / S. H. Cheshier, S. J. Morrison, X. Liao, et al. // Proc Natl Acad Sci USA. — 1999. — Vol. 96, № 6. — P. 3120-25.
13. Age-associated characteristics of murine hematopoietic stem cells [Text] / K. Sudo, H. Ema, Y. Morita, et al. // J Exp Med. — 2000. — Vol. 192, № 9. — P. 1273-80.
14. Hematopoietic stem cells reversibly switch from dormancy to self-renewal during homeostasis and repair [Text] / A. Wilson, E. Laurenti, G. Oser, et al. // Cell. — 2008. — Vol. 135, № 6. — P. 1118-29.
15. Functional characterization of hematopoietic stem cells in the spleen [Text] / Y. Morita, A. Iseki, S. Okamura, et al. // Exp Hematol. — 2011. — Vol. 39, № 3. — P. 351-59.
16. Versatility of stem and progenitor cells and the instructive actions of cytokines on hematopoiesis [Text] / G. Brown, C. J. Mooney, L. Alberti-Servera, et al. // Crit Rev Clin Lab Sci. — 2015. — Vol. 52, № 4. — P. 168-79.
17. Magli M. C. Transient nature of early haemopoietic spleen colonies [Text] / M. C. Magli, N. N. Iscove, N. Odartchenko // Nature. — 1982. — Vol. 295, № 5849. — P. 527-29.
18. Декстер Т. М. Гемопоэтические ростовые факторы: биологические эффекты и перспективы клинического применения [Текст] / Т. М. Декстер // Онтогенез. — 1991. — Vol. 22, № 4. — С. 341-64.
19. Mendes S. C. Mesenchymal progenitor cells localize within hematopoietic sites throughout ontogeny [Text] / S. C. Mendes, C. Robin, E. Dzierzak // Development. — 2005. — Vol. 132, № 5. — P. 1127-36.
20. Al-Drees M. A., Yeo J. H., Boumelhem B. B., et al. Making Blood: The Haematopoietic Niche throughout Ontogeny // Stem Cells Int. — 2015. — 2015. — Available: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/571893>.
21. Tavassoli M. Induction of sustained hemopoiesis in fatty marrow [Text] / M. Tavassoli, A. Maniatis, W. H. Crosby // Blood. — 1974. — Vol. 43, № 1. — P. 33-8.
22. Cumano A. Ontogeny of the hematopoietic system [Text] / A. Cumano, I. Godin // Annu Rev Immunol. — 2007. — Vol. 25. — P. 745-785.
23. Orkin S. H. SnapShot: hematopoiesis [Text] / S. H. Orkin, L. I. Zon // Cell. — 2008. — Vol. 132, № 4. — P. 712.
24. Kricun M. E. Red-yellow marrow conversion: its effect on the location of some solitary bone lesions [Text] / M. E. Kricun // Skeletal Radiol. — 1985. — Vol. 14, № 1. — P. 10-19.

25. Morphologic and immunohistochemical evaluation of splenic hematopoietic proliferations in neoplastic and benign disorders [Text] / D. P. O'Malley, Y. S. Kim, S. L. Perkins, et al. // Mod Pathol. – 2005. – Vol. 18, № 12. – P. 1550-61.
26. Weiss L. A scanning electron microscopic study of the spleen [Text] / L. Weiss // Blood. – 1974. – Vol. 43, № 5. – P. 665-91.
27. Стволовые клетки и микроокружение: интеграция биохимических и механических факторов [Текст] / Д. С. Костюшев, В. Н. Смирский, С. Сонг и соавт. // Успехи современной биологии. – 2014. – Вып. 134, № 1. – С. 3-18.
28. Паюшина О. В. Кроветворное микроокружение и роль мезенхимных стромальных клеток в его организации [Текст] / О. В. Паюшина // Успехи современной биологии. – 2015. – Вып. 135, № 1. – С. 52-63.
29. Goodell M. Introduction to a review series on hematopoietic stem cells [Text] / M. Goodell // Blood. – 2015. – Vol. 125, № 17. – P. 2587.
30. Стромальные клетки, ответственные за перенос микроокружения в кроветворной и лимфоидной ткани [Текст] / А. Я. Фриденштейн, Р. К. Чайлахян, Н. В. Лациник и соавт. // Пробл. гематол. – 1973. – № 10 – С. 14-23.
31. Wolf N. S. Hemopoietic colony studies. V. Effect of hemopoietic organ stroma on differentiation of pluripotent stem cells [Text] / N. S. Wolf, J. J. Trentin // J Exp Med. – 1968. – Vol. 127, № 1. – P. 205-14.
32. Чертков И. Л. Изучение клеток, переносящих кроветворное микроокружение, с помощью гетеротопной трансплантации костного мозга [Текст] / И. Л. Чертков, О. А. Гуревич, Г. А. Удалов // В кн.: Роль стволовых клеток в лейкозо- и канцерогенезе. Киев, 1977. – С. 16-18.
33. The significance of intramedullary cancellous bone formation in the repair of bone marrow tissue [Text] / S. Amsel, A. Maniatis, M. Tavassoli, et al. // Anat Rec. – 1969. – Vol. 164, № 1. – P. 101-11.
34. Stimulation of hematopoiesis by femoral marrow curettage in sublethally irradiated mice [Text] / W. H. Knospe, S. A. Gregory, W. Fried, et al. // Blood. – 1973. – Vol. 41, № 4. – P. 519-527.
35. Mawdsley R. Fate of transplanted bone [Text] / R. Mawdsley, G. A. Harrison // Nature. – 1963. – Vol. 198, № 4879. – P. 495-96.
36. Origin of bone marrow stromal mechanocytes in radiochimeras and heterotopic transplants [Text] / A. J. Friedenstien, A. A. Ivanov-Smolenski, R. K Chajlakjan, et al. // Exp Hematol. – 1978. – Vol. 6, № 5. – P. 440-44.
37. Chui D. H. K. Fetal erythropoiesis in steel mutant mice. I. A morphological study of erythroid cell development in fetal liver [Text] / D. H. K. Chui, E. S. Russel // Developm Biol. – 1974. – Vol. 40, № 2. – P. 256-69.
38. Kitamura Y. Decreased production of mast cells in SI/Sld anemic mice [Text] / Y. Kitamura, S. Go // Blood. – 1979. – Vol. 53, № 3. – P. 492-97.
39. Defect extrinsic to stem cells in spleens of steel anemic mice [Text] / M. S. Altus, S. E. Bernstein, E. S. Russel, et al. // Proc Soc exp Biol Med (N. Y.). – 1971. – Vol. 138, № 3. – P. 985-88.
40. Wolf N. S. Dissecting the hematopoietic microenvironment. II. The kinetics of the erythron of the SI/Sld mouse and the dual nature of its anemia [Text] / N. S. Wolf // Cell Tiss Kinet. – 1978. – Vol. 11, № 4. – P. 325-34.
41. Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell [Text] / R. Schofield // Blood Cells. – 1978. – Vol. 4, № 1-2. – P. 7-25.
42. Самойлина Н. Л. Пролиферативная активность стволовых кроветворных клеток в длительных органотипических культурах эмбриональной печени мышей [Текст] / Н. Л. Самойлина // Бюлл. экспер. биол. – 1982. – № 7. – С. 94-95.
43. Dexter T. M. Maintenance of hemopoietic stem cells and production of differentiated progeny in allogeneic and semiallogeneic bone marrow chimeras *in vitro* [Text] / T. M. Dexter, M. A. S. Moore, A. P. C. Sheridan // J exp Med. – 1977. – Vol. 145, № 6. – P. 1612-16.
44. Prolonged hematopoiesis in a primate bone marrow culture system: characteristics of stem cell production and the hematopoietic microenvironment [Text] / M. A. Moore, A. P. Sheridan, T. D. Allen, et al. // Blood. – 1979. – Vol. 54, № 4. – P. 775-93.
45. Фриденштейн А. Я. Клеточные основы кроветворного микроокружения [Текст] / А. Я. Фриденштейн, Е. А. Лурия // АМН СССР. – М.: Медицина, 1980. – 216 с.
46. Bentley S. A. Some properties of marrow derived adherent cells in tissue culture [Text] / S. A. Bentley, J. M. Foidart // Blood. – 1980. – Vol. 56, № 6. – P. 1006-12.
47. Bentley S. A. Close range cell: cell interaction required stem cell maintenance in continuous bone marrow culture [Text] / S. A. Bentley // Exp Hematol. – 1981. – Vol. 9, № 3. – P. 308-12.
48. Blackburn M. J. Increased haemopoietic cell survival *in vitro* induced by a human marrow fibroblast factor [Text] / M. J. Blackburn, J. M. Goldman // Brit J Haemat. – 1981. – Vol. 48, № 1. – P. 117-25.
49. Stroma-contact prevents loss of hematopoietic stem cell quality during ex vivo expansion of CD34<sup>+</sup> mobilized peripheral blood stem cells [Text] / D. A. Breems, E. A. Blokland, K. E. Siebel, et al. // Blood. – 1998. – Vol. 91, № 1. – P. 111-17.
50. Human marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) express hematopoietic cytokines and support long-term hematopoiesis when differentiated toward stromal and osteogenic lineages [Text] / M. K. Majumdar, M. A. Thiede, S. E. Haynesworth, et al. // J Hematother Stem Cell Res. – 2000. – Vol. 9, № 6. – P. 841-48.
51. Экспансия кроветворных клеток пуповинной крови человека в условиях сокультивирования с мезенхимными стромальными клетками костного мозга [Текст] / Н. В. Петёвка, Н. В. Гончарова, В. С. Костюнина и соавт. // Журнал НАМН України. – 2012. – Т. 18, додаток. – С. 120-21.
52. Мезенхимные стромальные клетки пуповинно-плацентарного происхождения способствуют экспансии гемопоэтических CD34<sup>+</sup>-клеток пуповинной крови человека *in vitro* [Текст] / В. С. Костюнина, Н. В. Петёвка, Н. В. Гончарова и соавт. // Журнал НАМН України. – 2012. – Т. 18, додаток. – С. 74-75.
53. Wilson A. Bone-marrow haematopoietic-stem-cell niches [Text] / A. Wilson, A. Trumpp // Nature Reviews Immunology. – 2006. – Vol. 6, № 2. – P. 93-106.
54. Direct contact with mesenchymal stromal cells affects migratory behavior and gene expression profile of CD133<sup>+</sup> hematopoietic stem cells during ex vivo expansion [Text] / N. Alakel, D. Jing, K. Muller, et al. // Exp Hematol. – 2009. – Vol. 37, № 4. – P. 504-513.
55. The unexpected G0/G1 cell cycle status of mobilized hematopoietic stem cells from peripheral blood [Text] / N. Uchida, D. He, A. M. Frieria, et al. // Blood. – 1997. – Vol. 89, № 2. – P. 465-472.
56. Heike T. Ex vivo expansion of hematopoietic stem cells by cytokines [Text] / T. Heike, T. Nakahata // Biochim Biophys Acta. – 2002. – Vol. 1592, № 3. – P. 313-21.
57. Hematopoietic stem cells in co-culture with mesenchymal stromal cells—modeling the niche compartments *in vitro* [Text] / D. Jing, A. V. Fonseca, N. Alakel, et al. // Haematologica. – 2010. – Vol. 95, № 4. – P. 542-50.
58. In vivo imaging of specialized bone marrow endothelial microdomains for tumour engraftment [Text] / D. A. Sipkins, X. Wei, J. W. Wu, et al. // Nature. – 2005. – Vol. 435, № 7044. – P. 969-973.
59. Quantitative imaging of haematopoietic stem and progenitor cell localization and hypoxic status in the bone marrow microenvironment [Text] / C. Nombela-Arrieta, G. Pivarnik, B. Winkel, et al. // Nat Cell Biol. – 2013. – Vol. 15, № 5. – P. 533-543.
60. Campbell F. Ultrastructural studies of transmural migration of blood cells in the bone marrow of rats, mice and guinea pigs [Text] / F. Campbell // American Journal of Anatomy. – 1972. – Vol. 135, № 4. – P. 521-536.
61. Martin T. J. Osteoclast-derived activity in the coupling of bone formation to resorption [Text] / Martin T. J., Sims N. A. // Trends Mol Med. – 2005. – Vol. 11, № 2. – P. 76-81.

62. Osteoclasts degrade endosteal components and promote mobilization of hematopoietic progenitor cells [Text] / O. Kollet, A. Dar, S. Shvitzel, et al. // Nature Medicine. – 2006. – Vol. 12, № 6. – P. 657–664.
63. Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size [Text] / J. Zhang, C. Niu, L. Ye, et al. // Nature. – 2003. – Vol. 425, № 6960. – P. 836–841.
64. Immunofluorescence characterization of key extracellular matrix proteins in murine bone marrow in situ [Text] / S. K. Nilsson, M. E. Debatis, M. S. Dooner, et al. // J Histochem Cytochem. – 1998. – Vol. 46, № 3. – P. 371–377.
65. Osteoblast and chondroblast differentiation [Text] / J. E. Aubin, F. Liu, L. Malaval, et al. // Bone. – 1995. – Vol. 17, Suppl. 2. – P. 77S–83S.
66. Aubin J. E. Advances in the osteoblast lineage [Text] / J. E. Aubin // Biochem Cell Biol. – 1998. – Vol. 76, № 6. – P. 899–910.
67. Cordeiro-Spinetti E., de Mello W., Trindade L. S., et al. Human bone marrow mesenchymal progenitors: perspectives on an optimized *in vitro* manipulation // Front Cell Dev Biol. – 2014. – 2. – Available: <http://dx.doi.org/10.3389/fcell.2014.00007>
68. Hyaluronic acid facilitates the recovery of hematopoiesis following 5-fluorouracil administration [Text] / V. Y. Matrosova, I. A. Orlovskaya, N. Serobyana, et al. // Stem Cells. – 2004. – Vol. 22, № 4. – P. 544–555.
69. Механізми мобілізації мезенхімальних кліток-предшественників гранулоцитарним колонієстимулюючим фактором і гіалуронідазою [Текст] / Е. Д. Гольдберг, А. М. Дыгай, Г. Н. Зюзьков и соавт. // Бюллетень експериментальної біології і медицини. – 2007. – Т. 144, № 12. – С. 652–656.
70. Lian J. B. Bone formation: maturation and functional activities of osteoblast lineage cells [Text] / J. B. Lian, G. S. Stein, J. E. Aubin // American Society for Bone and Mineral Research, 2003. – Vol. 20, № 11. – P. 13–28.
71. Ducey P. The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance [Text] / P. Ducey, T. Schinke, G. Karsenty // Science. – 2000. – Vol. 289, № 5484. – P. 1501–1504.
72. Mackie E. J. Osteoblasts: novel roles in orchestration of skeletal architecture [Text] / E. J. Mackie // Int J Biochem Cell Biol. – 2003. – Vol. 35, № 9. – P. 1301–1305.
73. Osteoblastic gene expression during adipogenesis in hematopoietic supporting murine bone marrow stromal cells [Text] / M. A. Dorheim, M. Sullivan, V. Dandapani, et al. // J Cell Phys. – 1993. – Vol. 154, № 2. – P. 317–328.
74. Taichman R. S. Human osteoblasts support hematopoiesis through the production of granulocyte colony-stimulating factor [Text] / R. S. Taichman, S. G. Emerson // J Exp Med. – 1994. – Vol. 179, № 5. – P. 1677–1682.
75. Taichman R. Human osteoblasts support human hematopoietic progenitor cells *in vitro* bone marrow cultures [Text] / R. Taichman, M. J. Reilly, S. G. Emerson // Blood. – 1996. – Vol. 87, № 2. – P. 518–524.
76. Tachman R. S. The role of osteoblasts in the hematopoietic microenvironment [Text] / R. S. Tachman, S. G. Emerson // Stem Cells. – 1998. – Vol. 16, № 1. – P. 7–15.
77. Taichman R. S. The Hematopoietic Microenvironment: Osteoblasts and The Hematopoietic Microenvironment [Text] / R. S. Taichman, M. J. Reilly, S. G. Emerson // Hematology. – 2000. – Vol. 4, № 5. – P. 421–426.
78. Osteoblastic cells regulate the haematopoietic stem cell niche [Text] / L. M. Calvi, G. B. Adams, K. W. Weibrecht, et al. // Nature. – 2003. – Vol. 425, № 6960. – P. 841–846.
79. Tie2/Angiopoietin-1 Signaling Regulates Hematopoietic Stem Cell Quiescence in the Bone Marrow Niche [Text] / F. Arai, A. Hirao, M. Ohmura, et al. // Cell. – 2004. – Vol. 118, № 2. – P. 149–161.
80. Hematopoiesis is severely altered in mice with an induced osteoblast deficiency [Text] / D. Vrsnjic, Z. Kalajzic, D. W. Rowe, et al. // Blood. – 2004. – Vol. 103, № 9. – P. 3258–3264.
81. Osteoblast ablation reduces normal long-term hematopoietic stem cell self-renewal but accelerates leukemia development [Text] / M. Bowers, B. Zhang, Y. Ho, et al. // Blood. – 2015. – Vol. 125, № 17. – P. 2678–2688.
82. Long-term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD34<sup>low</sup>/negative hematopoietic stem cell [Text] / M. Osawa, K. Hanada, H. Hamada, et al. // Science. – 1996. – Vol. 273, № 5272. – P. 242–245.
83. Nilsson S. K. Spatial localization of transplanted hemopoietic stem cells: inferences for the localization of stem cell niches [Text] / S. K. Nilsson, H. M. Johnston, J. A. Coverdale // Blood. – 2001. – Vol. 97, № 8. – P. 2293–2299.
84. c-Myc controls the balance between hematopoietic stem cell self-renewal and differentiation [Text] / A. Wilson, M. J. Murphy, T. Oskarsson, et al. // Genes Dev. – 2004. – Vol. 18, № 22. – P. 2747–2763.
85. Detection of functional haematopoietic stem cell niche using real time imaging [Text] / Y. Xie, T. Yin, W. Wiegand, et al. // Nature. – 2009. – Vol. 457, № 7225. – P. 97–101.
86. Osteoblasts support B-lymphocyte commitment and differentiation from hematopoietic stem cells [Text] / J. Zhu, R. Garrett, Y. Jung, et al. // Blood. – 2007. – Vol. 109, № 9. – P. 3706–3712.
87. The essential functions of adipoosteogenic progenitors as the hematopoietic stem and progenitor cell niche [Text] / Y. Omatsu, T. Sugiyama, H. Kohara, et al. // Immunity. – 2010. – Vol. 33, № 3. – P. 387–399.
88. PTH expands short-term murine hemopoietic stem cells through T cells [Text] / J. Y. Li, J. Adams, L. M. Calvi, et al. // Blood. – 2012. – Vol. 120, № 22. – P. 4352–4362.
89. Strontium can increase some osteoblasts without increasing hematopoietic stem cells [Text] / S. Lymperi, N. Horwood, S. Marley, et al. // Blood. – 2008. – Vol. 111, № 3. – P. 1173–1181.
90. Defects in osteoblast function but no changes in long-term repopulating potential of hematopoietic stem cells in a mouse chronic inflammatory arthritis model [Text] / Y. D. Ma, C. Park, H. Zhao, et al. // Blood. – 2009. – Vol. 114, № 20. – P. 4402–4410.
91. Kiel M. J. Lack of Evidence that Hematopoietic Stem Cells Depend on N-Cadherin-Mediated Adhesion to Osteoblasts for Their Maintenance [Text] / M. J. Kiel, G. L. Radice, S. J. Morrison // Cell Stem Cell. – 2007. – Vol. 1, № 2. – P. 204–217.
92. Ding L. Haematopoietic stem cells and early lymphoid progenitors occupy distinct bone marrow niches [Text] / L. Ding, S. J. Morrison // Nature. – 2013. – Vol. 495, № 7440. – P. 231–235.
93. CXCL12 in early mesenchymal progenitors is required for haematopoietic stem-cell maintenance [Text] / A. Greenbaum, Y. M. Hsu, R. B. Day, et al. // Nature. 2013. – Vol. 495, № 7440. – P. 227–230.
94. Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells [Text] / L. Ding, T. L. Saunders, G. Enikolopov, et al. // Nature. – 2012. – Vol. 481, № 7382. – P. 457–462.
95. Hematopoiesis: a human perspective [Text] / S. Doulatov, F. Notta, E. Laurenti, et al. // Cell Stem Cell. – 2012. – Vol. 10, № 2. – P. 120–136.
96. Molecular signatures of tissue-specific microvascular endothelial cell heterogeneity in organ maintenance and regeneration [Text] / D. J. Nolan, M. Ginsberg, E. Israely, et al. // Dev Cell. – 2013. – Vol. 26, № 2. – P. 204–219.
97. Isolation and characterization of endosteal niche cell populations that regulate hematopoietic stem cells [Text] / Y. Nakamura, F. Arai, H. Iwasaki, et al. // Blood. – 2010. – Vol. 116, № 9. – P. 1422–1432.

98. Nagasawa T. Molecular cloning and structure of a pre-B-cell growth-stimulating factor [Text] / T. Nagasawa, H. Kikutani, T. Kishimoto // Proc Natl Acad Sci USA. – 1994. – Vol. 91, № 6. – P. 2305-2309.
99. Defects of B-cell lymphopoiesis and bone-marrow myelopoiesis in mice lacking the CXC chemokine PBSF/SDF-1 [Text] / T. Nagasawa, S. Hirota, K. Tachibana, et al. // Nature. – 1996. – Vol. 382, № 6592. – P. 635-638.
100. The chemokine receptor CXCR4 is essential for vascularization of the gastrointestinal tract [Text] / K. Tachibana, S. Hirota, H. Iizasa, et al. // Nature. – 1998. – Vol. 393, № 6685. – P. 591-594.
101. Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development [Text] / Y. R. Zou, A. H. Kottmann, M. Kuroda, et al. // Nature. – 1998. – Vol. 393, № 6685. – P. 595-599.
102. A role of CXC chemokine ligand 12/stromal cell-derived factor-1/pre-B cell growth stimulating factor and its receptor CXCR4 in fetal and adult T cell development in vivo [Text] / T. Ara, M. Itoi, K. Kawabata, et al. // J Immunol. – 2003. – Vol. 170, № 9. – P. 4649-4655.
103. Cellular niches controlling B lymphocyte behavior within bone marrow during development [Text] / K. Tokoyoda, T. Egawa, T. Sugiyama, et al. // Immunity. – 2004. – Vol. 20, № 6. – P. 707-718.
104. Nagasawa T. Microenvironmental niches in the bone marrow required for B-cell development [Text] / T. Nagasawa // Nat Rev Immunol. – 2006. – Vol. 6, № 2. – P. 107-116.
105. Maintenance of the hematopoietic stem cell pool by CXCL12-CXCR4 chemokine signaling in bone marrow stromal cell niches [Text] / T. Sugiyama, H. Kohara, M. Noda, et al. // Immunity. – 2006. – Vol. 25, № 6. – P. 977-988.
106. Development of plasmacytoid dendritic cells in bone marrow stromal cell niches requires CXCL12-CXCR4 chemokine signaling [Text] / H. Kohara, Y. Omatsu, T. Sugiyama, et al. // Blood. – 2007. – Vol. 110, № 13. – P. 4153-4160.
107. CXCL12-CXCR4 chemokine signaling is essential for NK-cell development in adult mice [Text] / M. Noda, Y. Omatsu, T. Sugiyama, et al. // Blood. – 2010. – Vol. 117, № 2. – P. 451-458.
108. Osteoblast precursors, but not mature osteoblasts, move into developing and fractured bones along with invading blood vessels [Text] / C. Maes, T. Kobayashi, M. K. Selig, et al. // Dev Cell. – 2010. – Vol. 19, № 2. – P. 329-344.
109. Osterix-cre labeled progenitor cells contribute to the formation and maintenance of the bone marrow stroma [Text] / Y. Liu, S. Strecker, L. Wang, et al. // PLoS ONE. – 2013. – Vol. 8, № 8. – P. e71318.
110. The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation [Text] / K. Nakashima, X. Zhou, G. Kunkel, et al. // Cell. – 2002. – Vol. 108, № 1. – P. 17-29.
111. Regulation of SDF-1 (CXCL12) production by osteoblasts; a possible mechanism for stem cell homing [Text] / Y. Jung, J. Wang, A. Schneider, et al. // Bone. – 2006. – Vol. 38, № 4. – P. 497-508.
112. Hematopoietic stem cells do not depend on N-cadherin to regulate their maintenance [Text] / M. J. Kiel, M. Acar, G. L. Radice, et al. // Cell Stem Cell. – 2009. – Vol. 4, № 2. – P. 170-179.
113. N-cadherin in osteolineage cells is not required for maintenance of hematopoietic stem cells [Text] / A. M. Greenbaum, L. D. Revollo, J. R. Woloszynek, et al. // Blood. – 2012. – Vol. 120, № 2. – P. 295-302.
114. Osteoblastic N-cadherin is not required for microenvironmental support and regulation of hematopoietic stem and progenitor cells [Text] / O. Bromberg, B. J. Frisch, J. M. Weber, et al. // Blood. – 2012. – Vol. 120, № 2. – P. 303-313.
115. Cadherin-based adhesion is a potential target for niche manipulation to protect hematopoietic stem cells in adult bone marrow [Text] / K. Hosokawa, F. Arai, H. Yoshihara, et al. // Cell Stem Cell. – 2010. – Vol. 6, № 3. – P. 194-198.
116. Knockdown of N-cadherin suppresses the long-term engraftment of hematopoietic stem cells [Text] / K. Hosokawa, F. Arai, H. Yoshihara, et al. // Blood. – 2010. – Vol. 116, № 4. – P. 554-563.
117. Osteopontin is a hematopoietic stem cell niche component that negatively regulates stem cell pool size [Text] / S. Stier, Y. Ko, R. Forkert, et al. // J Exp Med. – 2005. – Vol. 201, № 11. – P. 1781-1791.
118. Critical role of thrombopoietin in maintaining adult quiescent hematopoietic stem cells [Text] / H. Qian, N. Buza-Vidas, C. D. Hyland, et al. // Cell Stem Cell. – 2007. – Vol. 1, № 6. – P. 671-684.
119. Thrombopoietin/MPL signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence and interaction with the osteoblastic niche [Text] / H. Yoshihara, F. Arai, K. Hosokawa, et al. // Cell Stem Cell. – 2007. – Vol. 1, № 6. – P. 685-697.
120. Zhou B. O., Ding L., Morrison S. J. Hematopoietic stem and progenitor cells regulate the regeneration of their niche by secreting Angiopoietin-1 // Elife. – 2015. – 4. – Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4411515/>
121. Stem cell engraftment at the endosteal niche is specified by the calcium-sensing receptor [Text] / G. B. Adams, K. T. Chabner, I. R. Alley, et al. // Nature. – 2006. – Vol. 439, № 7076. – P. 599-603.
122. Jagged1-dependent Notch signaling is dispensable for hematopoietic stem cell self-renewal and differentiation [Text] / S. J. Mancini, N. Mantei, A. Dumortier, et al. // Blood. – 2005. – Vol. 105, № 6. – P. 2340-2342.
123. Osteopontin, a key component of the hematopoietic stem cell niche and regulator of primitive hematopoietic progenitor cells [Text] / S. K. Nilsson, H. M. Johnston, G. A. Whitty, et al. // Blood. – 2005. – Vol. 106, № 4. – P. 1232-1239.
124. Adams G. B. The hematopoietic stem cells in its place [Text] / G. B. Adams, D. T. Scadden // Nat Immunol. – 2006. – № 7. – P. 333-337.
125. Yin T. The stem cell niches in bone [Text] / T. Yin, L. Li // Journal of Clinical Investigation. – 2006. – Vol. 116, № 5. – P. 1195-1201.
126. Wnt signaling in the niche enforces hematopoietic stem cell quiescence and is necessary to preserve self-renewal in vivo [Text] / H. E. Fleming, V. Janzen, C. Lo Celso, et al. // Cell Stem Cell. – 2008. – Vol. 2, № 2. – P. 274-283.
127. Kiel M. J. Uncertainty in the niches that maintain haematopoietic stem cells [Text] / M. J. Kiel, S. J. Morrison // Nat Rev Immunol. – 2008. – Vol. 8, № 4. – P. 290-301.
128. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1 [Text] / D. J. Ceradini, A. R. Kulkarni, M. J. Callaghan, et al. // Nat Med. – 2004. – Vol. 10, № 8. – P. 858-864.
129. Rapid mobilization of murine and human hematopoietic stem and progenitor cells with AMD3100, a CXCR4 antagonist [Text] / H. E. Broxmeyer, C. M. Orschell, D. W. Clapp, et al. // J Exp Med. – 2005. – Vol. 201, № 8. – P. 1307-1318.
130. Karpova D. Concise Review: CXCR4/CXCL12 Signaling in Immature Hematopoiesis - Lessons From Pharmacological and Genetic Models [Text] / D. Karpova, H. Bonig // Stem Cells. – 2015. – Vol. 33, № 8. – P. 2391-2399.
131. Lapidot T. How do stem cells find their way home? [Text] / T. Lapidot, A. Dar, O. Kollet // Blood. – 2005. – Vol. 106, № 6. – P. 1901-1910.
132. Askenasy N. In vivo imaging studies of the effect of recipient conditioning, donor cell phenotype and antigen disparity on homing of haematopoietic cells to the bone marrow [Text] / N. Askenasy, D. L. Farkas // British Journal of Haematology. – 2003. – Vol. 120, № 3. – P. 505-515.

133. Wang J. C. Primitive human hematopoietic cells are enriched in cord blood compared with adult bone marrow or mobilized peripheral blood as measured by the quantitative in vivo SCID-repopulating cell assay [Text] / J. C. Wang, M. Doedens, J. E. Dick // *Blood*. – 1997. – **Vol. 89, № 11**. – P. 3919-3924.
134. De Barros A. P., Takiya C. M., Garzoni L. R., et al. Osteoblasts and bone marrow mesenchymal stromal cells control hematopoietic stem cell migration and proliferation in 3D *in vitro* model. // *PLoS One*. – 2010. – 5. - Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2816998/>
135. Haematopoietic stem cells do not asymmetrically segregate chromosomes or retain BrdU [Text] / M. J. Kiel, S. He, R. Ashkenazi, et al. // *Nature*. – 2007. – **Vol. 449, № 7159**. – P. 238-242.
136. Macrophage-Lineage Cells Negatively Regulate the Hematopoietic Stem Cell Pool in Response to Interferon Gamma at Steady State and During Infection [Text] / A. McCabe, Y. Zhang, V. Thai, et al. // *Stem Cells*. – 2015. – **Vol. 33, № 7**. – P. 2294-2305.
137. Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating in vivo [Text] / M. A. Goodell, K. Brose, G. Paradis, et al. // *J Exp Med*. – 1996. – **Vol. 183, № 4**. – P. 1797-1806.
138. The ABC transporter Bcrp1/ABCG2 is expressed in a wide variety of stem cells and is a molecular determinant of the side-population phenotype [Text] / Zhou S., Schuetz J. D., Bunting K. D. et al. // *Nat Med*. – 2001. – **Vol. 7, № 9**. – P. 1028-1034.
139. Functional heterogeneity within rhodamine123(lo) Hoechst33342(lo/sp) primitive hemopoietic stem cells revealed by pyroninY [Text] / A. Huttmann, S. L. Liu, A. W. Boyd, et al. // *Exp Hematol*. – 2001. – **Vol. 29, № 9**. – P. 1109-1116.
140. Dormant and self-renewing hematopoietic stem cells and their niches [Text] / A. Wilson, G. M. Oser, Jaworski, et al. // *Ann NY Acad Sci*. – 2007. – **Vol. 1106, № 1**. – P. 64-75.
141. N-cadherin expression level distinguishes reserved versus primed states of hematopoietic stem cells [Text] / J. S. Haug, X. C. He, J. C. Grindley, et al. // *Cell Stem Cell*. – 2008. – **Vol. 2, № 4**. – P. 367-79.
142. Ablation of Wnt less in endosteal niches impairs lymphopoiesis rather than HSCs maintenance [Text] / J. Cao, L. Zhang, Y. Wan, et al. // *Eur J Immunol*. – 2015. – **Vol. 45, № 9**. – P. 2650-2660.
143. Arteriolar niches maintain haematopoietic stem cell quiescence [Text] / Y. Kunisaki, I. Bruns, C. Scheiermann, et al. // *Nature*. – 2013. – **Vol. 502, № 7473**. – P. 637-643.
144. A molecular profile of a hematopoietic stem cell niche [Text] / J. A. Hackney, P. Charbord, B. P. Brunk, et al. // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2002. – **Vol. 99, № 20**. – P. 13061-13066.
145. Mendelson A. Hematopoietic stem cell niche maintenance during homeostasis and regeneration [Text] / A. Mendelson, P. S. Frenette // *Nat Med*. – 2014. – **Vol. 20, № 8**. – P. 833-846.
146. The MicroRNA-132 and MicroRNA-212 Cluster Regulates Hematopoietic Stem Cell Maintenance and Survival with Age by Buffering FOXO3 Expression [Text] / A. Mehta, J. L. Zhao, N. Sinha et al. // *Immunity*. – 2015. – **Vol. 42, № 6**. – P. 1021-1032.
147. Live animal tracking of individual haematopoietic stem/progenitor cells in their niche [Text] / C. Lo Celso, H. E. Fleming, J. W. Wu, et al. // *Nature*. – 2009. – **Vol. 457, № 7225**. – P. 92-96.
148. Engraftment and reconstitution of hematopoiesis is dependent on VEGFR2-mediated regeneration of sinusoidal endothelial cells [Text] / A. T. Hooper, J. M. Butler, D. J. Nolan, et al. // *Cell Stem Cell*. – 2009. – **Vol. 4, № 3**. – P. 263-274.
149. Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from bone marrow [Text] / Y. Katayama, M. Battista, W. M. Kao, et al. // *Cell*. – 2006. – **Vol. 124, № 2**. – P. 407-421.
150. Haematopoietic stem cell release is regulated by circadian oscillations [Text] / S. Mendez-Ferrer, D. Lucas, M. Battista, et al. // *Nature*. – 2008. – **Vol. 452, № 7186**. – P. 442-447.
151. Chemotherapy-induced bone marrow nerve injury impairs hematopoietic regeneration [Text] / D. Lucas, C. Scheiermann, A. Chow, et al. // *Nat Med*. – 2013. – **Vol. 19, № 6**. – P. 695-703.
152. Mendez-Ferrer S. Cooperation of beta(2)- and beta(3)-adrenergic receptors in hematopoietic progenitor cell mobilization [Text] / S. Mendez-Ferrer, M. Battista, P. S. Frenette // *Ann NY Acad Sci*. – 2010. – **Vol. 1192, № 1**. – P. 139-144.
153. Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche [Text] / S. Mendez-Ferrer, T. V. Michurina, F. Ferraro, et al. // *Nature*. – 2010. – **Vol. 466, № 7308**. – P. 829-834.
154. Endogenous bone marrow MSCs are dynamic, fate-restricted participants in bone maintenance and regeneration [Text] / D. Park, J. A. Spencer, B. I. Koh, et al. // *Cell Stem Cell*. – 2012. – **Vol. 10, № 3**. – P. 259-272.
155. Deciphering hematopoietic stem cells in their niches: a critical appraisal of genetic models, lineage tracing, and imaging strategies [Text] / C. Joseph, J. M. Quach, C. R. Walkley, et al. // *Cell Stem Cell*. – 2013. – **Vol. 13, № 5**. – P. 520-533.
156. PDGFR $\alpha$  and CD51 mark human nestin<sup>+</sup> sphere-forming mesenchymal stem cells capable of hematopoietic progenitor cell expansion [Text] / S. Pinho, J. Lacombe, M. Hanoun, et al. // *J Exp Med*. – 2013. – **Vol. 210, № 7**. – P. 1351-1367.
157. Osterix marks distinct waves of primitive and definitive stromal progenitors during bone marrow development [Text] / T. Mizoguchi, S. Pinho, J. Ahmed, et al. // *Dev Cell*. – 2014. – **Vol. 29, № 3**. – P. 340-349.
158. Leptin-receptor-expressing mesenchymal stromal cells represent the main source of bone formed by adult bone marrow [Text] / B. O. Zhou, R. Yue, M. M. Murphy, et al. // *Cell Stem Cell*. – 2014. – **Vol. 15, № 2**. – P. 154-168.
159. Diphtheria toxin receptor-mediated conditional and targeted cell ablation in transgenic mice [Text] / M. Saito, T. Iwawaki, C. Taya, et al. // *Nat Biotechnol*. – 2001. – **Vol. 19, № 8**. – P. 746-750.
160. Self-renewing osteoprogenitors in bone marrow sinusoids can organize a hematopoietic microenvironment [Text] / B. Sacchetti, A. Funari, S. Michienzi, et al. // *Cell*. – 2007. – **Vol. 131, № 2**. – P. 324-336.
161. Lendahl U. CNS stem cells express a new class of intermediate filament protein [Text] / U. Lendahl, L. B. Zimmerman, R. D. McKay // *Cell*. – 1990. – **Vol. 60, № 4**. – P. 585-595.
162. Nestin-GFP reporter expression defines the quiescent state of skeletal muscle satellite cells [Text] / K. Day, G. Shefer, J. B. Richardson, et al. // *Dev Biol*. – 2007. – **Vol. 304, № 1**. – P. 246-259.
163. Kfoury Y. Mesenchymal cell contributions to the stem cell niche [Text] / Y. Kfoury, D. T. Scadden // *Cell Stem Cell*. – 2015. – **Vol. 16, № 3**. – P. 239-53.
164. Control of bone development by P2X and P2Y receptors expressed in mesenchymal and hematopoietic cells [Text] / L. Y. Lenertz, C. J. Baughman, N. V. Waldschmidt, et al. // *Gene*. – 2015. – **Vol. 570, № 1**. – P. 1-7.
165. LPS-stimulated human bone marrow stroma cells support myeloid cell development and progenitor cell maintenance [Text] / P. Ziegler, S. Boettcher, H. Takizawa, et al. // *Ann Hematol*. – 2016. – **Vol. 95, № 2**. – P. 173-178.
166. Endochondral ossification is required for haematopoietic stem-cell niche formation [Text] / C. K. Chan, C. C. Chen, C. A. Luppen, et al. // *Nature*. – 2009. – **Vol. 457, № 7228**. – P. 490-494.



167. Prospective identification, isolation, and systemic transplantation of multipotent mesenchymal stem cells in murine bone marrow [Text] / *S. Morikawa, Y. Mabuchi, Y. Kubota, et al.* // *J Exp Med.* – 2009. – **Vol. 206, № 11.** – P. 2483-2496.
168. Molecular and secretory profiles of human mesenchymal stromal cells and their abilities to maintain primitive hematopoietic progenitors [Text] / *W. Wagner, C. Roderburg, F. Wein, et al.* // *Stem Cells.* – 2007. – **Vol. 25, № 10** – P. 2638-2647.
169. *De Bruyn P. P.* The microcirculation of the bone marrow [Text] / *P. P. De Bruyn, P. C. Breen, T. B. Thomas* // *Anat Rec.* – 1970. – **Vol. 168, № 1.** – P. 55-68.
170. Deep imaging of bone marrow shows non-dividing stem cells are mainly perisinusoidal [Text] / *M. Acar, K. S. Kocherlakota, M. M. Murphy, et al.* // *Nature.* – 2015. – **Vol. 526, № 7571.** – P. 126-130.
171. Hoxb5 marks long-term haematopoietic stem cells and reveals a homogenous perivascular niche [Text] / *J. Y. Chen, M. Miyanishi, S. K. Wang, et al.* // *Nature.* – 2016. – **Vol. 530.** – P. 223-227
172. A common precursor for primitive erythropoiesis and definitive haematopoiesis [Text] / *M. Kennedy, M. Firpo, K. Choi, et al.* // *Nature.* – 1997. – **Vol. 386, № 6624.** – P. 488-493.
173. Failure of blood-island formation and vasculogenesis in Flk-1-deficient mice [Text] / *F. Shalaby, J. Rossant, T. P. Yamaguchi, et al.* // *Nature.* – 1995. – **Vol. 376, № 6535.** – P. 62-66.
174. Angiocrine factors from Akt-activated endothelial cells balance self-renewal and differentiation of haematopoietic stem cells [Text] / *H. Kobayashi, J. M. Butler, R. O'Donnell, et al.* // *Nat Cell Biol.* – 2010. – **Vol. 12, № 11.** – P. 1046-1056.
175. Pleiotrophin regulates the retention and self-renewal of hematopoietic stem cells in the bone marrow vascular niche [Text] / *H. A. Himburg, J. R. Harris, T. Ito, et al.* // *Cell Reports.* – 2012. – **Vol. 2, № 4.** – P. 964-975.
176. Epidermal growth factor regulates hematopoietic regeneration after radiation injury [Text] / *P. L. Doan, H. A. Himburg, K. Helms, et al.* // *Nat Med.* – 2013. – **Vol. 19, № 3.** – P. 295-304.
177. Endothelial cells are essential for the self-renewal and repopulation of Notch-dependent hematopoietic stem cells [Text] / *J. M. Butler, D. J. Nolan, E. L. Vertes, et al.* // *Cell Stem Cell.* – 2010. – **Vol. 6, № 3.** – P. 251-264.
178. Endothelial Jagged-1 is necessary for homeostatic and regenerative hematopoiesis [Text] / *M. G. Poulos, P. Guo, N. M. Kofler, et al.* // *Cell Reports.* – 2013. – **Vol. 4, № 5.** – P. 1022-1034.
179. *Kusumbe A. P.* Coupling of angiogenesis and osteogenesis by a specific vessel subtype in bone [Text] / *A. P. Kusumbe, S. K. Ramasamy, R. H. Adams* // *Nature.* – 2014. – **Vol. 507, № 7492.** – P. 323-328.
180. Endothelial Notch activity promotes angiogenesis and osteogenesis in bone [Text] / *S. K. Ramasamy, A. P. Kusumbe, L. Wang, et al.* // *Nature.* – 2014. – **Vol. 507, № 7492.** – P. 376-380.
181. Human bone marrow microvascular endothelial cells support long-term proliferation and differentiation of myeloid and megakaryocytic progenitors [Text] / *S. Rafii, F. Shapiro, R. Pettengell, et al.* // *Blood.* – 1995. – **Vol. 86, № 9.** – P. 3353-3363.
182. Ex vivo culture with human brain endothelial cells increases the SCID-repopulating capacity of adult human bone marrow [Text] / *J. P. Chute, A. A. Saini, D. J. Chute, et al.* // *Blood.* – 2002. – **Vol. 100, № 13.** – P. 4433-4439.
183. Endothelial cells mediate the regeneration of hematopoietic stem cells [Text] / *B. Li, A. S. Bailey, S. Jiang, et al.* // *Stem Cell Res.* – 2010. – **Vol. 4, № 1.** – P. 17-24.
184. Hematopoietic stem cell mobilizing agents G-CSF, cyclophosphamide or AMD3100 have distinct mechanisms of action on bone marrow HSC niches and bone formation [Text] / *I. G. Winkler, A. R. Pettit, L. J. Raggatt, et al.* // *Leukemia.* – 2012. – **Vol. 26, № 7.** – P. 1594-1601.
185. *Suda T.* Metabolic regulation of hematopoietic stem cells in the hypoxic niche [Text] / *T. Suda, K. Takubo, G. L. Semenza* // *Cell Stem Cell.* – 2011. – **Vol. 9, № 4.** – P. 298-310.
186. *Nikolsky I.* Role of hypoxia in stem cell development and functioning [Text] / *I. Nikolsky, T. V. Serebrovska* // *Фізіологічний журнал.* – 2009. – **Vol. 55, № 4.** – P. 116-130.
187. *Serebrovska T.* Human Adaptation to Intermittent Hypoxia: Effects on Hematopoietic Stem Cells and Immune Function [Text] / *T. Serebrovska, I. Nikolsky, V. Ishchuk* // *Adaptation Biology and Medicine.* – 2011. – **Vol. 6.** – P. 181-191.
188. *Nombela-Arrieta C.* The science behind the hypoxic niche of hematopoietic stem and progenitors [Text] / *C. Nombela-Arrieta, L. E. Silberstein* // *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* – 2014. – **Vol. 2014, № 1.** – P. 542-7.
189. *Cipolleschi M. G.* The role of hypoxia in the maintenance of hematopoietic stem cells [Text] / *M. G. Cipolleschi, P. P. Dello Sbarba, M. Olivetto* // *Blood.* – 1993. – **Vol. 82, № 7.** – P. 2031-37.
190. Primitive human HPCs are better maintained and expanded in vitro at 1 percent oxygen than at 20 percent [Text] / *Z. Ivanović, P. Dello Sbarba, F. Trimoreau, et al.* // *Transfusion.* – 2000. – **Vol. 40, № 12.** – P. 1482-88.
191. Expansion of human SCID-repopulating cells under hypoxic conditions [Text] / *G. H. Danet, Y. Pan, J. L. Luongo, et al.* // *J Clin Invest.* – 2003. – **Vol. 112, № 1.** – P. 126-35.
192. Modeling pO<sub>2</sub> distributions in the bone marrow hematopoietic compartment. II. Modified Kroghian models [Text] / *D. C. Chow, L. A. Wenning, W. M. Miller, et al.* // *Biophys J.* – 2001. – **Vol. 81, № 2.** – P. 685-96.
193. *Durand R. E.* Cell sorting with Hoechst or carbocyanine dyes as perfusion probes in spheroids and tumors [Text] / *R. E. Durand, D. J. Chaplin, P. L. Olive* // *Methods Cell Biol.* – 1990. – **Vol. 33.** – P. 509-18.
194. Hypoxia in a human intracerebral glioma model [Text] / *H. J. Bernsen, P. F. Rijken, H. Peters, et al.* // *J Neurosurg.* – 2000. – **Vol. 93, № 3.** – P. 449-54.
195. Effects of nicotinamide and carbogen in different murine colon carcinomas: immunohistochemical analysis of vascular architecture and microenvironmental parameters [Text] / *H. W. Van Laarhoven, J. Bussink, J. Lok, et al.* // *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* – 2004. – **Vol. 60, № 1.** – P. 310-21.
196. Comparison between the comet assay and pimonidazole binding for measuring tumour hypoxia [Text] / *P. L. Olive, R. E. Durand, J. A. Raleigh, et al.* // *Br J Cancer.* – 2000. – **Vol. 83, № 11.** – P. 1525-31.
197. *Olive P. L.* Local hypoxia is produced at sites of intratumour injection [Text] / *P. L. Olive, C. M. Luo, J. P. Banáth* // *Br J Cancer.* – 2002. – **Vol. 86, № 3.** – P. 429-35.
198. Distribution of hematopoietic stem cells in the bone marrow according to regional hypoxia [Text] / *K. Parmar, P. Mauch, J. A. Vergilio, et al.* // *Proc Natl Acad Sci USA.* – 2007. – **Vol. 104, № 13.** – P. 5431-36.
199. Hypoxia in the thymus: role of oxygen tension in thymocyte survival [Text] / *L. P. Hale, R. D. Braun, W. M. Gwinn, et al.* // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2002. – **Vol. 282, № 4.** – P. H1467-77.
200. Positioning of bone marrow hematopoietic and stromal cells relative to blood flow in vivo: serially reconstituting hematopoietic stem cells reside in distinct non perfused niches [Text] / *I. G. Winkler, V. Barbier, R. Wadley, et al.* // *Blood.* – 2010. – **Vol. 116, № 3.** – P. 375-85.
201. Sca<sup>+</sup>CD34<sup>-</sup> murine side population cells are highly enriched for primitive stem cells [Text] / *K. Parmar, C. Sauk-Schubert, D. Burdick, et al.* // *Exp Hematol.* – 2003. – **Vol. 31, № 3.** – P. 244-50.

202. *Raleigh J. A.* Measuring Tumor Hypoxia [Text] / *J. A. Raleigh, M. W. Dewhirst, D. E. Thrall* // *Semin Radiat Oncol.* – 1996. – **Vol. 6, № 1.** – P. 37-45.
203. Dye efflux studies suggest that hematopoietic stem cells expressing low or undetectable levels of CD34 antigen exist in multiple species [Text] / *M. A. Goodell, M. Rosenzweig, H. Kim, et al.* // *Nat Med.* – 1997. – **Vol. 3, № 12.** – P. 1337-45.
204. Unexpectedly efficient homing capacity of purified murine hematopoietic stem cells [Text] / *Y. Matsuzaki, K. Kinjo, R. C. Mulligan, et al.* // *Immunity.* – 2004. – **Vol. 20, № 1.** – P. 87-93.
205. *Brown J. M.* Exploiting tumor hypoxia in cancer treatment [Text] / *J. M. Brown, W. R. Wilson* // *Nat Rev Cancer.* – 2004. – **Vol. 4, № 6.** – P. 437-47.
206. *Jang Y. Y.* A low level of reactive oxygen species selects for primitive hematopoietic stem cells that may reside in the low-oxygenic niche [Text] / *Y. Y. Jang, S. J. Sharkis* // *Blood.* – 2007. – **Vol. 110, № 8.** – P. 3056-63.
207. Quantitative proteomics reveals posttranslational control as a regulatory factor in primary hematopoietic stem cells [Text] / *R. D. Unwin, D. L. Smith, D. Blinco, et al.* // *Blood.* – 2006. – **Vol. 107, № 12.** – P. 4687-94.
208. Multiparameter analysis of murine bone marrow side population cells [Text] / *D. J. Pearce, C. M. Ridler, C. Simpson, et al.* // *Blood.* – 2004. – **Vol. 103, № 7.** – P. 2541-46.
209. Hematopoietic stem cells do not engraft with absolute efficiencies [Text] / *F. D. Camargo, S. M. Chambers, E. Drew, et al.* // *Blood.* – 2006. – **Vol. 107, № 2.** – P. 501-7.
210. Hypoxia-inducible factor 1 mediates upregulation of telomerase (hTERT) [Text] / *H. Nishi, T. Nakada, S. Kyo, et al.* // *Mol Cell Biol.* – 2004. – **Vol. 24, № 13.** – P. 6076-83.
211. HIF-1-mediated activation of telomerase in cervical cancer cells [Text] / *N. Yatabe, S. Kyo, Y. Maida, et al.* // *Oncogene.* – 2004. – **Vol. 23, № 20.** – P. 3708-15.
212. HIF-2 $\alpha$  regulates Oct-4: effects of hypoxia on stem cell function, embryonic development, and tumor growth [Text] / *K. L. Covello, J. Kehler, H. Yu, et al.* // *Genes Dev.* – 2006. – **Vol. 20, № 5.** – P. 557-70.
213. Regulation of the HIF-1 $\alpha$  level is essential for hematopoietic stem cells [Text] / *K. Takubo, N. Goda, W. Yamada, et al.* // *Cell Stem Cell.* – 2010. – **Vol. 7, № 3.** – P. 391-402.
214. Pharmacologic stabilization of HIF-1 $\alpha$  increases hematopoietic stem cell quiescence in vivo and accelerates blood recovery after severe irradiation [Text] / *C. E. Forristal, I. G. Winkler, B. Nowlan, et al.* // *Blood.* – 2013. – **Vol. 121, № 5.** – P. 759-69.
215. CXCL12 secretion by bone marrow stromal cells is dependent on cell contact and mediated by connexin-43 and connexin-45 gap junctions [Text] / *A. Schajnovitz, T. Itkin, G. D'Uva, et al.* // *Nat Immunol.* – 2011. – **Vol. 12, № 5.** – P. 391-8.
216. Constitutive expression of steel factor gene by human stromal cells [Text] / *M. C. Heinrich, D. C. Dooley, A. C. Freed, et al.* // *Blood.* – 1993. – **Vol. 82, № 3.** – P. 771-83.
217. Parathyroid hormone-regulated production of stem cell factor in human osteoblasts and osteoblast-like cells [Text] / *H. C. Blair, B. A. Julian, X. Cao, et al.* // *Biochem Biophys Res Commun.* – 1999. – **Vol. 255, № 3.** – P. 778-84.
218. *Kimura Y., Ding B., Imai N., et al.* c-Kit-Mediated Functional Positioning of Stem Cells to Their Niches Is Essential for Maintenance and Regeneration of Adult Hematopoiesis // *PLoS One.* – 2011. – DOI: 10.1371/journal.pone.0026918
219. *Blank U.* TGF- $\beta$  signaling in the control of hematopoietic stem cells [Text] / *U. Blank, S. Karlsson* // *Blood.* – 2015. – **Vol. 125, № 23.** – P. 3542-50.
220. Non myelinating Schwann cells maintain hematopoietic stem cell hibernation in the bone marrow niche [Text] / *S. Yamazaki, H. Ema, G. Karlsson, et al.* // *Cell.* – 2011. – **Vol. 147, № 5.** – P. 1146-58.
221. Distinct hematopoietic stem cell subtypes are differentially regulated by TGF $\beta$ 1 [Text] / *G. A. Challen, N. C. Boles, S. M. Chambers, et al.* // *Cell Stem Cell.* – 2010. – **Vol. 6, № 3.** – P. 265-78.
222. TGF $\beta$  restores hematopoietic homeostasis after myelosuppressive chemotherapy [Text] / *F. Brenet, P. Kermani, R. Spektor, et al.* // *J Exp Med.* – 2013. – **Vol. 210, № 3.** – P. 623-39.
223. Cripto regulates hematopoietic stem cells as a hypoxic-niche-related factor through cell surface receptor GRP78 [Text] / *K. Miharada, G. Karlsson, M. Rehn, et al.* // *Cell Stem Cell.* – 2011. – **Vol. 9, № 4.** – P. 330-44.
224. Sonic hedgehog induces the proliferation of primitive human hematopoietic cells via BMP regulation [Text] / *G. Bhardwaj, B. Murdoch, D. Wu, et al.* // *Nat Immunol.* – 2001. – **Vol. 2, № 2.** – P. 172-80.
225. *Pajcini K. V.* Notch signaling in mammalian hematopoietic stem cells [Text] / *K. V. Pajcini, N. A. Speck, W. S. Pear* // *Leukemia.* – 2011. – **Vol. 25, № 10.** – P. 1525-532.
226. *Bigas A.* Hematopoietic stem cells: to be or Notch to be [Text] / *A. Bigas, L. Espinosa* // *Blood.* – 2012. – **Vol. 119, № 14.** – P. 3226-35.
227. Notch1 activation increases hematopoietic stem cell self-renewal in vivo and favors lymphoid over myeloid lineage outcome [Text] / *S. Stier, T. Cheng, D. Dombkowski, et al.* // *Blood.* – 2002. – **Vol. 99, № 7.** – P. 2369-78.
228. *Jacobsen S.* Defining 'stemness': Notch and Wnt join forces? [Text] / *S. Jacobsen* // *Nat. Immunol.* – 2005. – **Vol. 6, № 3.** – P. 234-36.
229. *Lin M. I., Price E. N., Boatman S., et al.* Angiopoietin-like proteins stimulate HSPC development through interaction with notch receptor signaling // *Elife.* – 2015. – 25. – Available: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4371382>
230. Integration of Notch and Wnt signaling in hematopoietic stem cell maintenance [Text] / *A. W. Duncan, F. M. Rattis, L. N. DiMascio, et al.* // *Nat Immunol.* – 2005. – **Vol. 6, № 3.** – P. 314-22.
231. Canonical Notch signaling is dispensable for the maintenance of adult hematopoietic stem cells [Text] / *I. Maillard, U. Koch, A. Dumortier, et al.* // *Cell Stem Cell.* – 2008. – **Vol. 2, № 4.** – P. 356-66.
232. Notch2 governs the rate of generation of mouse long- and short-term repopulating stem cells [Text] / *B. Varnum-Finney, L. M. Halasz, M. Sun, et al.* // *J Clin Invest.* – 2011. – **Vol. 121, № 3.** – P. 1207-16.
233. In vivo mapping of notch pathway activity in normal and stress hematopoiesis [Text] / *P. Oh, C. Lobry, J. Gao, et al.* // *Cell Stem Cell.* – 2013. – **Vol. 13, № 2.** – P. 190-204.
234. Notch signaling specifies megakaryocyte development from hematopoietic stem cells [Text] / *T. Mercher, M. G. Cornejo, C. Sears, et al.* // *Cell Stem Cell.* – 2008. – **Vol. 3, № 3.** – P. 314-326.
235. *Malhotra S.* Wnt-related molecules and signaling pathway equilibrium in hematopoiesis [Text] / *S. Malhotra, P. W. Kincade* // *Cell Stem Cell.* – 2009. – **Vol. 4, № 1.** – P. 27-36.
236. Wnts are dispensable for differentiation and self-renewal of adult murine hematopoietic stem cells [Text] / *Z. Kabiri, A. Numata, A. Kawasaki, et al.* // *Blood.* – 2015. – **Vol. 126, № 9.** – P. 1086-94.
237. A role for Wnt signalling in self-renewal of haematopoietic stem cells [Text] / *T. Reya, A. W. Duncan, L. Ailles, et al.* // *Nature.* – 2003. – **Vol. 423, № 6938.** – P. 409-14.
238. Wnt proteins are lipid-modified and can act as stem cell growth factors [Text] / *K. Willert, J. D. Brown, E. Danenberg, et al.* // *Nature.* – 2003. – **Vol. 423, № 6938.** – P. 448-52.
239. Wnt3a deficiency irreversibly impairs hematopoietic stem cell self-renewal and leads to defects in progenitor cell differentiation [Text] / *T. C. Luis, F. Weerkamp, B. A. Naber, et al.* // *Blood.* – 2009. – **Vol. 113, № 3.** – P. 546-54.

240. Wnt5a inhibits canonical Wnt signaling in hematopoietic stem cells and enhances repopulation [Text] / M. J. Nemeth, L. Topol, S. M. Anderson, et al. // Proc Natl Acad Sci USA. – 2007. – Vol. 104, № 39. – P. 15436-441.
241. Povinelli B. J. Wnt5a regulates hematopoietic stem cell proliferation and repopulation through the Ryk receptor [Text] / B. J. Povinelli, M. J. Nemeth // Stem Cells. – 2014. – Vol. 32, № 1. – P. 105-15.
242. Abidin B. M. Frizzled-6 Regulates Hematopoietic Stem/Progenitor Cell Survival and Self-Renewal [Text] / B. M. Abidin, K. E. Owusu, K. M. Heinonen // J Immunol. – 2015. – Vol. 195, № 5. – P. 2168-76.
243. Non canonical Wnt signaling maintains hematopoietic stem cells in the niche [Text] / R. Sugimura, X. C. He, A. Venkatraman, et al. // Cell. – 2012. – Vol. 150, № 2. – P. 351-65.
244. Canonical Wnt signaling regulates hematopoiesis in a dosage dependent fashion [Text] / T. C. Luis, B. A. Naber, P. P. Roozen, et al. // Cell Stem Cell. – 2011. – Vol. 9, № 4. – P. 345-56.
245. Орловская И. А. Генетические программы регуляции самоподдержания гемопоэтических стволовых клеток [Текст] / И. А. Орловская, Л. Б. Топоркова // Российский иммунологический журнал. – 2008. – Т. 2(11), № 2. – С. 114.
246. Топоркова Л. Б. Механизмы регуляции самоподдержания гемопоэтической стволовой клетки [Текст] / Л. Б. Топоркова, С. К. Халдоянц, И. А. Орловская // Успехи современной биологии. – 2008. – Т. 128, № 5. – С. 458-66.
247. Megakaryocytes regulate hematopoietic stem cell quiescence through CXCL4 secretion [Text] / I. Bruns, D. Lucas, S. Pinho, et al. // Nat Med. – 2014. – Vol. 20, № 11. – P. 1315-20.
248. Megakaryocytes maintain homeostatic quiescence and promote post-injury regeneration of hematopoietic stem cells [Text] / M. Zhao, J. M. Perry, H. Marshall, et al. // Nat Med. – 2014. – Vol. 20, № 11. – P. 1321-26.
249. CD169<sup>+</sup> macrophages provide a niche promoting erythropoiesis under homeostasis and stress [Text] / A. Chow, M. Huggins, J. Ahmed, et al. // Nat Med. – 2013. – Vol. 19, № 4. – P. 429-36.
250. Macrophages support pathological erythropoiesis in polycythemia vera and  $\beta$ -thalassemia [Text] / P. Ramos, C. Casu, S. Gardenghi, et al. // Nat Med. – 2013. – Vol. 19, № 4. – P. 437-45.
251. Bone marrow CD169<sup>+</sup> macrophages promote the retention of hematopoietic stem and progenitor cells in the mesenchymal stem cell niche [Text] / A. Chow, D. Lucas, A. Hidalgo, et al. // J Exp Med. – 2011. – Vol. 208, № 2. – P. 261-71.
252. Expression of the G-CSF receptor in monocytic cells is sufficient to mediate hematopoietic progenitor mobilization by G-CSF in mice [Text] / M. J. Christopher, M. Rao, F. Liu, et al. // J Exp Med. – 2011. – Vol. 208, № 2. – P. 251-60.
253. Bone marrow macrophages maintain hematopoietic stem cell (HSC) niches and their depletion mobilizes HSCs [Text] / I. G. Winkler, N. A. Sims, A. R. Pettit, et al. // Blood. – 2010. – Vol. 116, № 23. – P. 4815-28.
254. Norepinephrine reuptake inhibition promotes mobilization in mice: potential impact to rescue low stem cell yields [Text] / D. Lucas, I. Bruns, M. Battista, et al. // Blood – 2012. – Vol. 119, № 17. – P. 3962-65.
255. Macrophages retain hematopoietic stem cells in the spleen via VCAM-1 [Text] / P. Dutta, F. F. Hoyer, L. S. Grigoryeva, et al. // J Exp Med. – 2015. – Vol. 212, № 4. – P. 497-512.
256. Bone-marrow adipocytes as negative regulators of the haematopoietic microenvironment [Text] / O. Naveiras, V. Nardi, P. L. Wenzel, et al. // Nature. – 2009. – Vol. 460, № 7252. – P. 259-63.
257. Osteoclasts are dispensable for hematopoietic stem cell maintenance and mobilization [Text] / K. Miyamoto, S. Yoshida, M. Kawasumi, et al. // J Exp Med. – 2011. – Vol. 208, № 11. – P. 2175-81.
258. In vivo imaging of Treg cells providing immune privilege to the haematopoietic stem-cell niche [Text] / J. Fujisaki, J. Wu, A. L. Carlson, et al. // Nature. – 2011. – Vol. 474, № 7350. – P. 216-19.
259. Stromal pleiotrophin regulates repopulation behavior of hematopoietic stem cells [Text] / R. Istvanffy, M. Kröger, C. Eckl, et al. // Blood. – 2011. – Vol. 118, № 10. – P. 2712-22.
260. Regulation of human hematopoietic stem cell self-renewal by the microenvironment's control of retinoic acid signaling [Text] / G. Ghiaur, S. Yegnasubramanian, B. Perkins, et al. // Proc Natl Acad Sci USA. – 2013. – Vol. 110, № 40. – P. 16121-126.
261. Retinoic acid and Cyp26b1 are critical regulators of osteogenesis in the axial skeleton [Text] / K. M. Sporendonk, J. Peterson-Maduro, J. Renn, et al. // Development. – 2008. – Vol. 135, № 22. – P. 3765-74.



СТАТЬЯ НА САЙТЕ  
TRANSPLANTOLOGY.ORG

Авторы подтверждают отсутствие возможных конфликтов интересов.

Поступила в редакцию 25.02.2016 г.

Принята к печати 05.05.2016 г.