

---

---

# ЛЕКЦИИ

---

---

## СПОСОБНОСТЬЮ К ТРАНСДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ ОБЛАДАЮТ ЭРИТРОИДНЫЕ ПРЕДШЕСТВЕННИКИ! ПОЧЕМУ НЕТ?

**В.А. Козлов**

*ГУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН, г. Новосибирск*

В литературе имеется достаточно много данных, указывающих на то, что при многих и многих ситуациях в организме эритропоэз, по-видимому, является по начальному времени преимущественным направлением дифференцировки СКК [1]. В эмбриогенезе первыми в желточном мешке появляются предшественники эритропоэза, а уже потом предшественники других ростков кроветворения. Было обнаружено, что после воздействия ионизирующей радиацией, цитостатиками отмечается восстановление эритропоэза в первую очередь. Даже после иммунизации многими антигенами изменения в эритропоэзе предшествуют видимым изменениям в иммунной системе. Показано, что при культивировании ЭСК в определенных условиях *in vitro* предшественники примитивного эритроидного направления в эмбриональных тельцах появляются на 24 ч раньше, чем предшественники макрофагов и дефинитивных эритроидных клеток [6]. Было обнаружено, что при дифференцировке ЭСК в условиях образования эмбриональных телец (ЭТ) одним из первых рецепторов к факторам роста начинает экспрессироваться рецептор к Эпо (эритропоэтин) (на День 0 — День 1), в то время как рецептор к Тпо (тромбопоэтин) Мр1 экспрессируется только на День 6. При сравнении CD34+CD38- СКК, полученных либо из ЭСК, либо из костного мозга взрослых животных, оказалось, что первые экспрессируют только эмбриональный тип глобина, вторые — только взрослый тип [8]. Возможность переключения с эмбрионального на взрослый тип глобина была описана только при трансплантации СКК из ЭСК в организм взрослого ре-

ципиента. Авторами предполагается наличие стадии дифференцировки ЭСК в виде общего предшественника для примитивного эритропоэза и для дефинитивного эритроидного и миелоидного направлений [9]. Даже когда СК из нервной ткани подсаживали в бластоцист, то они сначала дифференцировались в эритроидные, а уже потом — в клетки нервной ткани. Почему? Либо индукторы эритропоэза (все скопом) действуют как бы сильнее, чем индукторы всех других поэзов? Но это можно было бы понять для таких ситуаций, как гипоксия, состояния после облучения и химических препаратов, ранний эмбриогенез. При всех этих ситуациях существует повышенный запрос на эритропоэз. Организму необходим кислород, ему дышать надо. Однако почему эритропоэз возникает в первую очередь в случае подсадки кусочка селезенки под почечную капсулу, как это было показано в наших исследованиях. Организм в нормальном состоянии — гипоксии нет, кислород в достаточном насыщении, а сначала возникают эритроидные клетки, почему? Возможно, дело в строме и в факторах, индуцирующих дифференцировку СКК в эритропоэз, их как бы больше при пустой строме. Но почему существует такая очередность, и затем все-таки возникают другие ростки кроветворения? Можно, конечно, объяснить наличием механизмов регуляции внутри возникшего эритрона, их достаточно много, и они весьма разнообразны, что было описано нами в случае эритроидных клеток как мышей, так и человека. Весьма вероятно, что именно эти механизмы эритроидного происхождения и определяют последующую дифференцировку

СКК в других направлениях. Сами СКК к тому же экспрессируют гены многих регуляторных факторов, которые могут иметь отношение к автономной смене направлений дифференцировки или к смене чувствительности СКК к различным экзогенным факторам регуляции. Несколько главных вопросов: что и как определяет остановку дифференцировки СКК в эритроидном направлении и когда, в какой момент после начала формирования эритрона? Цепь возможных событий при этом: СКК садится на строму, начинает пополнять (скорее, восполнять) свой пул, т.е. какое-то время только пролиферирует, затем пошла дифференцировка в эритроидном направлении, и какое-то время сколько-то СКК дифференцируются, потом, по-видимому, дифференцировка в эритроидном направлении останавливается, и начинают работать регуляторные механизмы внутри эритрона, клетки которого могут препятствовать дифференцировке СКК в других направлениях. Из литературы известно, что, по крайней мере, они обладают таковой способностью в отношении лимфоцитов. Нами показано, что эритроидные клетки могут продуцировать цитокины TGF- $\beta$ , IL-1, TNF- $\alpha$  и др., которые могут напрямую ингибировать пролиферацию СКК. Тогда почему они не продолжают это действие, и другие диффероны не должны были бы появляться вообще. Если это не так или хотя бы не совсем так, то что является индуктором дифференцировки СКК в других направлениях и когда он(они) начинает действовать?

Ситуация с подсадкой в бластоцисты клеток нервной ткани: почему и эти СК дифференцируются сначала в эритроидные клетки, а уже потом, через какой-то период времени, на определенной стадии онтогенеза — в клетки нервной ткани? Может ли это означать, что уже на стадии бластоциста существует набор неких индуцирующих факторов, определяющих дифференцировку любой СК сначала в эритроидном направлении. Однако очевидно это касается только тех стволовых клеточных элементов, которые приобрели эти свойства либо позднее в онтогенезе после внедрения бластоциста в ткань матки, либо только после прохождения определенных стадий дифференцировки при заселении отдельных

СИБИРСКИЙ ОНКОЛОГИЧЕСКИЙ  
ЖУРНАЛ. 2005. №1 (13)

органов в процессе онтогенеза. Иначе, они могли действовать на клетки внутренней массы бластоциста, потенциальных стволовых клеток и заставлять их дифференцироваться в эритроидном направлении и никуда больше. Хотя можно и предположить, что отдельная субпопуляция этих клеток будет вертикально формировать популяции стволовых клеток различной тканевой локализации, и этот набор индуцирующих факторов формируется в онтогенезе одновременно с популяцией СК для оказания регуляторного эффекта первыми на последние. Предположение поддерживается данными о неспособности интактных ЭСК восстанавливать гемопоэз у летально облученных мышей [2]. По-видимому, необходимо время для созревания ЭСК до стадии СКК, обладающих потенциалом восстановления гемопоэза. Возможно, это время равняется 4 сут, как это было показано в *in vitro* условиях культивирования ЭСК [5]. Данные последних авторов позволяют предполагать возможность прямой, поступательной дифференцировки ЭСК в СКК, возможно, через такие стадии, как мезодермальный предшественник, гемангиобласт. И вновь, на стадии после гемангиобласта предполагается существование единого предшественника для примитивного эритропоэза и общего эритро-лимфомиелоидного предшественника с программой уже для дефинитивного эритропоэза [9]. Вновь эритропоэз, хотя и примитивный, как бы обособляется от других дифферонов, предшествуя им во времени в процессе дифференцировочного онтогенеза ЭСК.

Известно, что для каждого кроветворного ростка в организме имеются свои, специфические факторы (гормоны) роста, которыми являются эритропоэтин для эритропоэза, ГМ-КСФ, Г-КСФ и М-КСФ для грануло- и моноцитопоэза, тромбопоэтин — для тромбоцитопоэза и для лимфопоэза целый ряд цитокинов, начиная с тимозина, включая ИЛ-1, ИЛ-2, ИЛ-5 и т.д. Каждый из них обладает определенной специфичностью в отношении клеточных мишеней и является для них фактором, индуцирующим процессы пролиферации и дифференцировки и поддерживающим их. Оказалось, что для эритроидных предшественников эритропоэтин в определенных ситуациях не является облигатным

ростовым фактором. Было показано, что при наличии рецепторов ГМ-КСФ может стимулировать пролиферацию и дифференцировку эритроидных предшественников из эмбриональной печени и взрослого костного мозга эрит-ропоэтин-независимым образом [4]. Подобного рода активность может проявлять и тромбо-поэтин, а при трансфекции рецептора в эритроидные клетки — и пролактин. Возможно, следует подумать о проблеме не клеточной пластичности, где подразумевается способность клеток к дифференцировке в необычном для нее направлении, а о пластичности регуляторных молекул, учитывая плейотропные эффекты последних. Если это действительно может происходить при определенных ситуациях, то целесообразность в этом просматривается. Организм готов идти на все и делает все, чтобы вытянуть эритроидный росток, ибо если не будет кислорода в организме, не будет у него и жизни. То есть в организме в раннем эмбриональном периоде или после каких-либо форс-мажорных воздействий создаются условия, с одной стороны, для дифференцировки СКК прежде всего в направлении эритрона, с другой — для поддержания последнего самыми различными способами. Суммируя результаты исследований по влиянию эритроидного ростка на функциональную активность иммунной системы, проведенных в течение последних 25 лет в Институте клинической иммунологии СО РАМН, следует сказать следующее. Несомненно, что эритробласты можно относить к иммунорегуляторным клеткам, оказывающим иммуносупрессивный эффект в отношении пролиферации В-лимфоцитов прежде всего. Показано, что эритробласты экспрессируют целый ряд важнейших иммунорегуляторных цитокинов. При этом интенсивность экспрессии непосредственно связана с возрастом организма и с отдельными патологическими состояниями. Ну и это еще не все. Оказалось, что эритробласты обладают цитостатическим эффектом, что позволяет им тормозить рост ряда опухолевых клеток. По существу, в этом у них проявляется функция иммунного надзора. Несомненно, здесь следует упомянуть об иммунорегуляторной функции не только клеток эритроидного ряда, но и их гормона эритропоэтина, который может усиливать иммунонаправ-

ленные функции самих эритробластов, так же как и действовать непосредственно на иммунокомпетентные клетки.

Учитывая сказанное выше о некоей гомеостатической онтогенетической привилегированности клеток эритроидного ряда, об их иммунорегуляторной и иммуноэффекторной функциях, можно поставить по-новому вопрос о мор-фогенетическом происхождении тех же лимфоцитов, возможно, в первую очередь В-лимфоцитов. А вопрос заключается в следующем: не являются ли эритробласты предшественниками лимфоцитов. В настоящее время широко обсуждается вопрос о способности СКК к трансдифференцировке, к пластичности. В литературе представлены данные, свидетельствующие о такой возможности. Но почему нельзя представить себе, что и эритробласты или/и их коммитированные предшественники могут обладать такой же способностью. Тем более, что они гораздо ближе к лимфоцитам по ряду функциональных показателей, чем СКК, которые и не экспрессируют сравнимое с эритробластами число иммунорегуляторных молекул, и совершенно не обладают цитостатической активностью, которая регистрируется и у лимфоцитов, и у эритробластов. То есть внутриклеточные механизмы у эритроидных клеток как бы более подготовлены для такой трансформации, чем СКК, механизмы дифференцировки которых в лимфоциты до сих пор остаются terra incognita. Возможно, в какой-то момент на каких-то ранних эритроидных клетках появляются рецепторы к Тпо, GM-CSF, G-CSF и т.д. и под их влиянием последние начинают дифференцироваться в соответствующем направлении. Имеются же опубликованные данные, что при наличии рецептора к Эпо про-В-клетки BaF3 в последних начинают экспрессироваться эритропоэз-специфические маркеры [7]. По-видимому, эктопическая экспрессия или активация рецепторов на клетках неродственного генеза имеют отношение как к нормальным регуляторным процессам, так и к патологии. Такая взаимная экспрессия рецепторов описана для Эпо на клетках тромбопоэза и для Тпо на эритроидных клетках. Более того, эти поэтины могут действовать и через "не свои" рецепторы [10]. Что касается патологии, то эктопическая экспрессия рецепторов к Эпо кор-

релирует с такими миелопролиферативными состояниями, как хроническая миелогенная лейкемия, тромбоцитопения, полицитемия vera, миелофиброз [3].

Имеются основания подумать о том, что эктопическая экспрессия рецепторов к различным цитокинам при наличии морфофункциональной пластичности у самих факторов роста может лежать в основе возможности существования механизмов трансдифференцировки у клеток различных дифферонов, находящихся на самых ранних стадиях специфической коммитации. Но все же здесь прежде всего можно думать о такой возможности у клеток эритроидного ряда в силу их первоочередности при дифференцировке СКК в онтогенезе и при самых различных нестандартных ситуациях, а также в силу значительного количественного преобладания в нормальном костном мозге.

Если принять за возможное данное предположение, тогда за истинной СКК. остаются как бы две задачи (две возможности): поддерживать свой пул и дифференцироваться только в одном направлении — в эритроидном. При этом перед ней снимается задача выбора направления дифференцировки, чем отменяется множество дифференцировочных проблем. С другой стороны, появление клеток других дифферонов (по крайней мере, кроветворного генеза) из ранних эритроидных предшественников путем трансдифференцировки ставит последний процесс в ряд нормальных физиологических процессов со своими ауто-, пара- и нейроэндокринными механизмами регуляции. В настоящее время предлагается два тривиальных объяснения понятия трансдифференцировки в отношении стволовых клеточных элементов: либо стволовые элементы не обладают такой способностью в местах их органного местонахождения и приобретают ее только в случаях попадания в другие органы при массивном введении их внутривенно; либо трансдифференцировка может отражать определенную величину ошибок клеточной специализации, которые не могут быть вовремя зарегистрированы в силу отсутствия соответствующих молекулярных методов оценки [11]. То есть, по существу, не предполагается в норме функционирования в организме процесса трансдифференцировки.

Если все же принять за возможное наличие подобного рода активности у эритроидных клеток, то тогда можно будет более реально ответить на ряд вопросов, касающихся проблемы дифференцировки СКК. Например, почему не определяются в селезенке летально облученных реципиентов кроветворные клетки лимфоидных колоний и первыми колониями, которые формируются в селезенке, являются эритроидные, а уже потом гранулоидные и тромбоцитарные? Почему не допустить, что сначала должны образоваться некие эритроидные предшественники, которые затем уже трансдифференцируются в те же лимфоциты. Откуда берутся в желточном мешке, одном из первичных в онтогенезе органе кроветворения, гранулоцитарно-макрофагальные предшественники и В-лимфоциты при полном отсутствии в нем зрелых клеточных элементов обоих дифферонов на фоне активного законченного эритропоэза? Индуцирующее гемopoэтическое микроокружение для СКК одно и то же, а результаты дифференцировки разные? Вновь можно думать об эритроидных предшественниках, для которых микроокружение желточного мешка создает условия для трансдифференцировки. При многих патологических ситуациях в организме создаются условия для формирования в самых различных органах очагов эктопического микроокружения, где в первую очередь регистрируются эритроидные очаги. Скорее всего, это является результатом первичной дифференцировки СКК в направлении эритропоэза, из предшественников которого позднее возникают клеточные элементы других дифферонов.

Конечно же, это все гипотеза, и пока очень мало данных, свидетельствующих в ее пользу. Но... будем работать.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Козлов В.А., Журавкин И.К., Цырлова И.Г. Ново сибирск: Наука, 1982. 180 с.
2. Burt P.K., Verda L, Kim D.A. et al. Embryonic stem cells as an alternative marrow donor source: engraftment without graft-versus-host disease // J. Exp. Med. 2004. Vol. 199, № 7. P. 895-904.
3. Ghaffari S., Wu K, Gerlach M, et al. BCR-ABL and c-SRC tyrosine kinase oncoproteins support normal erythroid

development in erythropoietin receptor-deficient progenitors cells//Proc. Natl. Acad. Sci. 1999. Vol. 96. P. 13186-13190.

4. Hisakawa H., Sugiyama D., Nishijima I. et al. Human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (hGM-CSF) stimulates primitive and definitive erythropoiesis in mouse embryos expressing hGM-CSF receptors but not erythropoietin receptors // Blood. 2001. Vol. 98, X» 13. P. 3618-3625.

5. Hole N., Graham G.J., Menzel U., Ansel J.D. A limited temporal window for the derivation of multilineage repopulating hematopoietic progenitor during embryonal stem cell differentiation in vitro // Blood. 1996. Vol. 88, № 4. P. 1266-1276.

6. Keller G., Kennedy M., Papayannopoulou T., Wiles M. V. Hematopoietic commitment during embryonic stem cell differentiation in culture // Mol. Cell. Biol. 1993. Vol. 13, №1. P. 473-486.

7. Kros J., Krystal J., Humphries R. Erythropoietin and interleukin-3 induce distinct events in erythropoietin

receptor-expressing Ba/F3 cells // Blood. 1995. Vol. 85, № 1. P. 50-56.

8. Lu S.-J., Li E, Vida L, Honing G.R. CD34+CD38- hematopoietic precursors derived from human embryonic stem cells exhibit an embryonic gene expression pattern // Blood. 2004. Vol. 103, №11. P. 4134-4141.

9. Perlingerio R.C.R., Kyba M., Daley G.Q. Clonal analysis of differentiating embryonic stem cells reveals a hematopoietic progenitor with primitive erythroid and adult lymphoid-myeloid potential // Development. 2001. Vol. 128, № 22. P. 4597-4604.

10. Rouleau C, Cui K., Feldman L. A functional erythropoietin receptor is necessary for the action of thrombopoietin on erythroid cells lacking c-mpl // Exp. Hematol. 2004. Vol. 32, № 2. P. 140-148.

11. Wells W.A. Is transdifferentiation in trouble? // J. Cell. Biol. 2002. Vol. 157, №1. P. 15-18.

Поступила 13.01.05