

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-314

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ КЛЕТОЧНЫХ ПЛАСТОВ ИЗ МСК ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ В ЦЕЛЯХ ПОДАВЛЕНИЯ ФИБРОЗА^{*}

CLINICAL DEVELOPMENT OF MSC CELL SHEET TRANSPLANTATION TO INHIBIT FIBROSIS

В. С. Глазьева¹, М. А. Водопетова¹, А. В. Шершнева²,
К. Г. Каргалинина², П. И. Макаревич¹, Н. А. Александрушкина¹

¹ Центр регенеративной медицины МНОИ МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва

² Национальный медицинский исследовательский центр
детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачева, Москва

V. S. Glazieva¹, M. A. Vodopetova¹, A. V. Shershneva²,
K. G. Kargalinina², P. I. Makarevich², N. A. Alexandrushkina¹

¹ Center for Regenerative Medicine, Lomonosov Moscow State University

² Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow

✉ glazieavalentina@mail.ru

Аннотация

С использованием мезенхимных стромальных клеток (МСК) нами создана перспективная платформа для получения тканеинженерных конструкций (клеточных пластов). Стандартизация протоколов получения клеточных пластов — ключевой этап их клинического внедрения. Изучение механизмов организации тканеинженерных конструкций позволит оптимизировать производство клеточных продуктов и раскрыть принципы действия МСК в составе пластов.

Abstract

Using mesenchymal stromal cells (MSCs), we have developed a promising platform for generating tissue-engineered constructs (cell sheets). Standardization of cell sheet production protocols is a crucial step for their clinical implementation. Investigating the mechanisms underlying the organization of tissue-engineered constructs will enable optimization of cell product manufacturing and elucidate the mechanisms of action of MSCs within the cell sheets.

Мезенхимные стромальные клетки (МСК) в настоящее время рассматривают как наиболее перспективный источник для разработки биомедицинских клеточных продуктов. Высокий регенеративный потенциал МСК *in vivo* может быть реализован при условии сохранения ими жизнеспособности, а также при обеспечении целостности пространственных и физиологических взаимодействий, характерных для формирующейся или полноценной ткани. Одним из способов решения этих задач является технология клеточных пластов (КП), которые представляют собой самоорганизующиеся конструкции, состоящие из МСК и наработанного ими внеклеточного матрикса (ВКМ). Эффекты КП из МСК были успешны продемонстрированы нашей группой на моделях ишемизированной скелетной мышцы мыши, пролежневых дефектах и глубоких ранах кожи. В настоящее время активно изучается потенциал КП из МСК как перспективного клеточного продукта с антифибротическими свойствами на модели послеоперационных структур пищевода.

Ограничения, связанные со свойствами МСК и методами сборки из них КП, приводят к проблемам стандартизации протоколов получения готовых конструкций с заданными характеристиками в установленные сроки. В нашем исследовании был отработан протокол получения КП из МСК, а также проведена характеристика МСК, полученных из жировой ткани разных доноров. Было показано, что скорость сборки КП не зависит от пола и возраста донора. При анализе кривых роста клеточной культуры было обнаружено, что МСК с длительным временем лаг-фазы формируют КП в более длительные сроки. В то же время количественное содержание коллагена I и IV типа положительно коррелировало со сроками сборки КП. Данные характеристики МСК могут быть использованы для отбора клеточных линий на начальных этапах культивирования.

Помимо различий в скорости сборки КП из МСК, которая варьирует от донора к донору, существует проблема спонтанной контракции КП, которая ведет к потере конструктов. Нами было предположено, что процесс контракции КП может быть аналогичен процессу контракции соединительной ткани в ходе заживления и опосредован миофибробластами.

* Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ им. М. В. Ломоносова и по перспективному направлению научно-образовательного развития Московского университета «Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология».

При дифференцировке в миофибробласты клетки приобретают не только сократительный фенотип с повышенной экспрессией α -гладкомышечного актина (α ГМА), но также увеличивают продукцию ВКМ, что может влиять на темпы контракции, которая наблюдается на финальных этапах сборки КП. Тем не менее нам не удалось установить зависимость скорости сборки КП от количественного и качественного содержания α ГМА-положительных МСК. Однако нами также была установлена связь сроков сборки КП из МСК с содержанием активированных МСК промежуточного фенотипа, положительных по FAP α (белок активации фибробластов α), что указывать на идущие в составе конструкции процессы дифференцировки МСК.

Таким образом, комплексная задача по стандартизации протоколов сборки клеточных пластов из МСК для клинического применения позволит оптимизировать производство клеточных продуктов и уточнить принципы действия МСК в составе КП при повреждениях тканей различного генеза.