

Основная масса клеток крови – это клетки, не способные к дальнейшему делению и имеющие небольшую продолжительность жизни: лейкоциты, которые обеспечивают защиту от инфекций и живут несколько дней, и эритроциты, переносящие кислород и живущие несколько месяцев. В течение всей жизни человека или животного происходит образование клеток крови в специальном кроветворном органе – костном мозге.



Белые кровяные клетки

Количество клеток крови огромно: в 1 мл крови содержится около 5 млрд эритроцитов и 5 млн лейкоцитов, а объем крови у взрослого человека достигает 5 л. Кроветворение – исключительно интенсивный процесс, в результате которого производится поистине астрономическое число клеток – более 300 млн в 1 мин, или почти 200 трлн в год.

Новые клетки образуются путем деления материнских клеток, получивших название клеток-предшественников и находящихся в костном мозге. Регуляция процесса кроветворения осуществляется гормонами – регуляторами клеточного роста, как стимулирующими, так и тормозящими размножение клеток, а также факторами, способствующими прикреплению клеток к соответствующим участкам костного мозга. Такая регуляция обеспечивает образование определенного количества клеток нужного вида в нужное время.

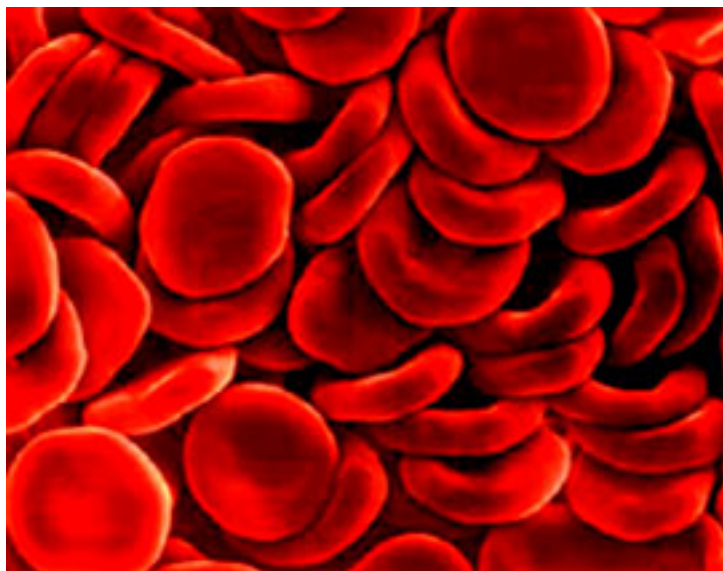
Как же работает эта замечательная клеточная фабрика?

Было выдвинуто предположение, что в кроветворной системе существуют особые «бессмертные» клетки. При делении они образуют дочерние клетки, идентичные родительским по всем свойствам, включая способность к размножению. Всего в костном мозге образуется восемь основных клеточных линий, т.е. должно существовать восемь основных типов клеток-родоначальников, способных производить клетки только определенного типа. Образовавшиеся клетки обладают ограниченной способностью к размножению и относительно быстро, обычно в течение нескольких дней (реже – недель), созревают, образуя конечные клетки со специализированной функцией. Одна

ко недавно было доказано существование единого предшественника, из которого могут образовываться все ныне известные типы клеток крови. Такой предшественник был назван стволовой кроветворной клеткой (СКК). Но оставалось неясным, действительно ли СКК способна бесконечно воспроизводить идентичные себе стволовые клетки, образующие клеточный клон, и тем самым поддерживать сколь угодно долго интенсивное кроветворение.

Это предположение можно было бы проверить, наблюдая за судьбой отдельных СКК. Для этого необходимо уметь отличать одну СКК от другой и различать соответствующие клоны. Успехи молекулярной биологии позволили разработать метод маркирования отдельных СКК путем переноса в них чужеродного гена. Осуществляется такой перенос с помощью специально сконструированного вируса, который не способен к размножению, но может встраиваться в ДНК клетки. Так можно маркировать отдельные СКК в костном мозге.

Для исследования были взяты облученные мыши, у которых кроветворная система после облучения не функционировала. Если такой мыши вводили маркированный костный мозг здоровой мыши, ее кроветворная система восстанавливалась за счет СКК, введенных с донорским костным мозгом. При этом у нее обнаруживали только 1–2 клеточных клон, которые легко выявлялись как в крови, так и на всех кроветворных территориях – в костном мозге, селезенке, тимусе. На основании этих данных был сделан вывод о способности СКК производить клетки различных клеточных линий. Кроме того, из этих данных следовало, что клетки интенсивно мигрируют в различные участки кроветворной системы, в результате чего потомство одной СКК расселяется по всей системе и поддерживает в ней продукцию кроветворных клеток.



Красные кровяные клетки

Через несколько месяцев после восстановления костного мозга у облученной мыши его переносили к следующей облученной мыши с нефункционирующей кроветворной системой. И у этой мыши спустя некоторое время можно было обнаружить тот же

маркерный клон, который обеспечивал кроветворение у первичного реципиента. Отсюда следует, что даже одна СКК может обеспечить длительное, в течение всей жизни мыши, поддержание продукции кроветворных клеток.

С практической точки зрения можно считать, что речь действительно идет о клетке, обладающей способностью к неограниченному размножению и продукции сколь угодно большого числа клеток крови. Это очень редкая категория клеток, которая встречается в костном мозге в количестве примерно 1 на 100 тыс. клеток.

Однако многое в результатах этих исследований остается пока непонятным. Например, почему в организме облученной мыши после введения донорского костного мозга обнаруживается только один (редко два) клон кроветворных клеток? Это можно было бы объяснить тем, что в результате процедуры маркирования выживают лишь очень немногие СКК, поэтому каждая мышь получает лишь 1–2 полноценных стволовых клетки. Однако это предположение оказалось неверным.

Был проведен следующий эксперимент. Определенное количество клеток костного мозга вводили 20 мышам, после чего у каждой из них обнаруживался только 1 клон (одна функционирующая СКК), причем у всех 20 животных эти клоны были разными. Если такое же количество СКК вводили одной мыши, то у нее всегда выявлялся только 1 клон. При этом оказалось, что и у всех вторичных реципиентов обнаруживался тот же клон. Куда же девались остальные СКК? Почему все они могли быть активированы в первом случае?

При использовании же методов, не связанных с маркированием кроветворных клеток, было показано, что кроветворение носит поликлональный характер, т.е. одновременно функционирует много клонов. В чем причина столь существенных различий в результатах?

Вероятно, в том, что использование маркированных стволовых клеток имеет ряд серьезных методических ограничений.

Во-первых, для изучения кроветворных тканей мышь приходится умерщвлять, и подлинной динамики развития индивидуального клона СКК у одного и того же животного установить не удастся – речь всегда идет о «фотографии» состояния, т.е. о состоянии кроветворной системы в момент гибели животного.

Во-вторых, чувствительность метода относительно невелика: маркерный клон можно обнаружить, если количество клеток составляет не менее 10% от общего числа клеток, взятых на анализ. Отсюда следует, что малые клоны могут быть просто пропущены при определении.

Наконец, для переноса маркерного гена требуется, чтобы в маркируемых СКК шел синтез ДНК, т.е. они должны размножаться, иначе вирус не встраивается в геном. Между тем при нормальном кроветворении подавляющее большинство СКК не размножается, и для эффективного вирусного переноса гена приходится искусственно вызывать переход клеток в фазу синтеза ДНК. Для стимуляции пролиферации СКК их культивируют с очень высокими (не физиологическими) концентрациями ростовых факторов, и мы не знаем, как такие воздействия меняют свойства СКК после трансплантации.

Для решения этих проблем была разработана оригинальная методика, давшая возможность прямого изучения динамики клонов в процессе кроветворения, причем исследованию подвергаются не миллионы клеток, а только одна.

Были использованы приемы стимуляции СКК к делению (синтезу ДНК) с применением

физиологических концентраций ростовых факторов. Костный мозг получали из бедра живой наркотизированной мыши. Так как после такой операции костный мозг полностью регенерирует за 2 месяца, оказалось возможным проследить динамику индивидуальных клонов на протяжении всей жизни мыши, повторно получая у нее костный мозг каждые 3 месяца. Чувствительность метода была увеличена примерно в 1 млн раз.

Полученные результаты неожиданно выявили совершенно новую картину кроветворения. Прежде всего оказалось, что на протяжении всей жизни мыши с «восстановленной» кроветворной системой кроветворение поддерживается многими одновременно функционирующими клонами, число которых составляет несколько десятков.

Продолжительность жизни индивидуального клона невелика и обычно не превышает 3 месяцев. Как правило, клональный состав кроветворной ткани полностью меняется в течение 3 мес, и только очень редкие клоны (их примерно 10%) существуют более 3 месяцев. Из 250 выявленных клонов ни один не сохранялся более 6 месяцев.

Исчезнувшие клоны никогда не появлялись вновь, что говорит об истощении в процессе кроветворения исходной для данного клона стволовой клетки. Как правило, размер клона очень невелик (обычно меньше 0,5–1 млн зрелых клеток), поэтому такие клоны не выявлялись при использовании старых методик, имевших порог чувствительности около 1 млн клеток.

Выяснилось, что различные кроветворные органы обычно заселены разными клонами. Например в бедре, голени, селезенке и тимусе набор клонов оказывался различным. Только очень немногие клоны выявлялись сразу в нескольких кроветворных органах. И ни один клеточный клон не был представлен во всех кроветворных тканях.

Таким образом, было установлено, что подавляющее большинство клонов являются небольшими, локально расположенными. Отсюда следует, что интенсивность обмена кроветворными клетками между различными участками кроветворной системы существенно меньше, чем думали раньше: кроветворные клетки не находятся в состоянии «постоянной трансплантации», а функционируют локально и выходят в кровь главным образом в виде зрелых клеток.

Видимо, даже кратковременное отделение СКК от ее естественной среды оказывает на нее повреждающее воздействие, которое проявляется, например, в том, что выходящие в кровь СКК имеют пониженную способность восстанавливать численность клеток определенного клона в кроветворной системе.

Главный результат проведенной работы – обнаружение того, что у СКК отсутствует способность к самоподдержанию, самовоспроизведению: они закладываются в эмбриогенезе и расходуются последовательно, образуя короткоживущие, локально расположенные, сменяющие друг друга клеточные клоны, подобно тому, как это происходит с яйцеклетками в яичнике.

С теоретической точки зрения это очень важный результат. Трудно представить себе, что какие-либо соматические клетки действительно имеют неограниченный потенциал размножения. Ведь бессмертие клетки, ее неограниченная способность делиться, сильно повышает вероятность ее превращения в раковую клетку – достаточно только одной «поломки». Это объясняет, почему они не превращаются в злокачественные клетки с частотой в сотни тысяч раз большей, чем реально наблюдаемая.

Вместе с тем такое устройство кроветворной системы имеет и очевидный биологический смысл. При необходимости резко усилить кроветворение можно гораздо

быстрее достичь результата за счет созревания большого числа предшественников, чем при наличии немногих СКК, которым нужно длительное время (3–4 недели) для созревания до стадии клеток-предшественников.

Можно надеяться, что в ближайшие годы удастся выяснить, насколько такая модель кроветворения свойственна организму в нормальном состоянии, т.е. провести исследования без таких воздействий на СКК, как культивирование клеток, введение в них чужеродного гена и трансплантация в облученный организм.

{jpageviews 00 none} *Авторы: И.Л. ЧЕРТКОВ, Н.И. ДРИЗ*
