

Характеристика фибриллярного внеклеточного матрикса культивируемых мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК) при "физиологической" гипоксии

Научный руководитель – Андреева Елена Ромуальдовна

Матвеева Д.К.¹, Живодерников И.В.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра клеточной биологии и гистологии, Москва, Россия; 2 - Государственный научный центр Российской Федерации – Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, Россия

В настоящее время ММСК, благодаря их способности к самообновлению, мультилинейному потенциалу дифференцировки и иммуногенным свойствам, рассматриваются как перспективный источник клеток для регенеративной медицины. В реализации функциональной активности ММСК важную роль играет их микроокружение. Внеклеточный матрикс (ВКМ) представляет собой один из основных регуляторных компонентов ниши ММСК. Молекулы матрикса соединены в строго определенную трехмерную сеть, которая модулирует адгезию, миграцию, пролиферацию, дифференцировку и выживаемость клеток, а также функционирует как резервуар для факторов роста, делая их временно нерастворимыми. Другим не менее важным фактором микроокружения ММСК является концентрация кислорода. Показано, что стволовые клетки многих органов находятся в областях с пониженным по сравнению с атмосферным содержанием кислорода - в условиях «физиологической» гипоксии. Целью работы стало исследование особенностей внеклеточного матрикса, продуцируемого ММСК при «физиологической» гипоксии. Для исследования компонентов фибриллярного внеклеточного матрикса ММСК из жировой ткани человека культивировали при близком к тканевому - «физиологическом» (5%) и для сравнения стандартном лабораторном (20%) уровне кислорода. Плотность посадки составила 5000/см² и 15000/см², время культивирования 3 и 2 недели, соответственно. Для стимуляции продукции компонентов матрикса в среду добавляли аскорбиновую кислоту (50 мкг/мл). Для получения препаратов внеклеточного матрикса методом децеллюляризации использовали раствор 0,5% Triton-X100 в PBS, содержащем 20 mM NH₄OH в 37 С 5 мин. Для анализа характеристики и структуры компонентов матрикса применяли методы гистологического окрашивания, иммуноцитохимии и сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Анализ внеклеточного матрикса с помощью СЭМ на клеточных и бесклеточных препаратах позволил выявить сеть волокон матрикса, занимающего пространство между ММСК и на их поверхности. Морфологические различия были незначительными, при этом результаты полногеномного анализа экспрессии генов ВКМ показали значимые отличия в экспрессии генов ВКМ между ММСК при различном содержании O₂. Использование Sirius Red позволило выявить фибриллярные компоненты ВКМ. Иммуноцитохимически показано, что большая часть коллагена I типа локализуется внутриклеточно и выявляется как точечное окрашивание в околоядерной зоне, тогда как фибронектин образует сеть пересекающихся длинных волокон, располагающихся во внеклеточном пространстве. Таким образом, ММСК, культивируемые в условиях «физиологической» гипоксии, так же как и при стандартном лабораторном содержании кислорода, продуцируют значительные количества фибриллярного ВКМ. Это может представлять интерес с точки зрения изучения влияния матрикса ММСК при «физиологической» гипоксии на активность других типов клеток. Кроме того, такой ВКМ может быть востребован в регенеративной медицине, как источник биосовместимых покрытий для покрытия скаффолдов. Работа выполнена при поддержке Программы Президиума РАН №43П.