

Звёздчатые клетки печени –

региональные стволовые клетки или фактор микроокружения?

А.К. Шафигуллина, А.А. Гумерова, А.П. Киясов

КПФУ, Казань

420018, Казань, Университетская, 18

+79274197879

sh.aygul@gmail.com

Реферат. На протяжении многих лет ведутся споры о природе и локализации стволовой клетки печени. В последние годы особый интерес вызывают звёздчатые клетки печени. Согласно проведённым исследованиям, данные клетки принимают активное участие в восстановлении популяции гепатоцитов при различных повреждениях печени и обладают рядом свойств, характерных для стволовых клеток. Необходимо отметить, что звёздчатые клетки печени способны сохранять жизнеспособность в культуре и дифференцироваться в гепатоцитарном направлении при определённых условиях *in vitro*. Интересно, что сами звёздчатые клетки могут создавать подобные условия для прогениторных клеток, как *in vivo*, так и *in vitro*. Достигается это благодаря секреции звёздчатыми клетками печени белков межклеточного матрикса, комплекса факторов роста и установлению непосредственных межклеточных контактов. Сами звёздчатые клетки, находящиеся в перисинусоидальном пространстве, также находятся под влиянием окружающих гепатоцитов и эндотелиальных клеток. Таким образом, перисинусоидальное пространство – своеобразная динамическая система, в которой гепатоциты и эндотелиальные клетки определяют «покоящееся» состояние звёздчатых клеток, а последние, в случае необходимости, могут активироваться и принимать активное участие в восстановлении клеточных популяций печени. Основываясь на этих данных, исследователи предполагают, что перисинусоидальное пространство печени – ниша звёздчатых клеток печени, региональной стволовой клетки печени.

Ключевые слова: звёздчатые клетки печени, микроокружение, региональные стволовые клетки печени.

Hepatic stellate cells – regional stem cells of the liver or a component of microenvironment?

A.K. Shafigullina, A.A. Gumerova, A.P. Kiassov

Kazan (Volga region) Federal University, Kazan

420018, Kazan, University str., 18

+79274197879 sh.aygul@gmail.com

Abstract. For years, it is debated about the nature and localization of stem cell of the liver. In recent years, a particular interest is paid to hepatic stellate cells. According to the conducted researches, these cells are actively involved in restoring of hepatocytes population by different liver damages and they have a number of properties specific to stem cells. It should be noted that hepatic stellate cells are able to maintain viability in culture and differentiate into hepatocyte direction under certain conditions *in vitro*. Interestingly, hepatic stellate cells may themselves create such conditions for progenitor cells *in vivo*, as well as *in vitro*. This is achieved thanks to the hepatic stellate cells secretion of the extracellular matrix proteins, a complex of growth factors and establishment of direct intercellular contacts. Stellate cells, localized in perisinusoidal space, are also influenced by the surrounding hepatocytes and endothelial cells. Thus, perisinusoidal space is a kind of dynamic system, in which hepatocytes and endothelial cells determine the "resting" state of stellate cells, and the latter, if necessary, can be activated and participate in restoration of the liver cell populations. Based on these data, the researchers suggest that the hepatic perisinusoidal space - a niche of hepatic stellate cells, regional stem cells of the liver.

Key words: hepatic stellate cells, microenvironment, hepatic regional stem cells.

С давних времён известно, что печень обладает высоким регенеративным потенциалом, а значит, в печени должен быть резерв клеток-предшественников [1]. Несмотря на множество исследований и предположений, единого мнения о региональной стволовой клетке печени до сих пор нет. Не меньше исследований ведётся и по поиску оптимальных условий культивирования, в которых стволовые клетки сохраняли бы жизнеспособность в течение длительного периода времени, а при необходимости дифференцировались в определённые клеточные типы, в первую очередь – в гепатоциты. В последнее время всё больше исследователей предполагают, что звёздчатые клетки печени (ЗКП) могут быть региональной стволовой клеткой печени, а перисинусоидальное пространство, в котором расположены ЗКП, – нишей стволовых клеток. Что же представляет собой региональная стволовая клетка печени и где её ниша? На чём основаны подобные предположения?

Общие понятия о микроокружении стволовых клеток

Стволовые клетки – уникальные клеточные популяции, обладающие тремя свойствами: способностью к самоподдержанию в течение длительного времени, отсутствием в фенотипе клеток тканеспецифичных маркёров, и возможностью дифференцировки в различные типы специализированных клеток [2].

Процессы самоподдержания и дифференцировки стволовых клеток находятся под влиянием собственных генов стволовых клеток, а также под воздействием внешних сигналов от окружающих клеток, осуществляемых посредством межклеточных контактов, секретлируемых клетками факторов роста и других биологически активных веществ, а также компонентов межклеточного матрикса. Данный комплекс взаимодействий был объединён и назван микроокружением, или нишей стволовых клеток [3]. В условиях своей ниши стволовые клетки сохраняют характерные для них свойства на протяжении длительного периода времени, а в случае повреждения ткани или органа ниша становится благоприятной средой для дифференцировки стволовых клеток в требуемый клеточный тип.

Впервые концепция ниши стволовых клеток была предложена в 1978 году Шофилдом для гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) [4]. В последующем было установлено, что ГСК, находящиеся в нише, отличаются способностью к самоподдержанию популяции без последующей дифференцировки путём медленного асимметричного деления. Данное свойство обеспечивается благодаря внутриклеточному Notch-зависимому Wnt-сигнальному пути [5, 6]. Немалую роль в поддержании ниши ГСК костного мозга отводится симпатической иннервации. Норадренергические сигналы симпатической нервной системы играют критическую роль в мобилизации ГСК из костного мозга, индуцируемой гранулоцит колониестимулирующим фактором (Granulocyte Colony-Stimulating Factor, G-CSF) [7].

На сегодняшний день подобные ниши описаны для стволовых клеток ряда других тканей млекопитающих: клеток-сателлитов, находящихся под базальной мембраной миофибрилл мышечной ткани [8], стволовых клеток сперматогенного эпителия яичка [9], а также стволовых клеток центральной нервной системы, волосяного фолликула и эпителия кишки [10, 11].

Микроокружение стволовых клеток печени

В качестве подобной ниши в печени некоторые авторы рассматривают каналы Геринга и концевые жёлчные протоки [12], однако в последнее время всё больше исследователей предполагают, что нишей стволовых клеток печени является перисинусоидальное пространство Диссе [1]. Впервые данное предположение было высказано в 2009 году [13]. Доводом в пользу этой гипотезы стало наличие в перисинусоидальном пространстве компонентов, необходимых для формирования ниши стволовых клеток. Так, перисинусоидальное пространство располагается между гепатоцитами и базальной пластинкой, на которой располагаются эндотелиальные клетки [10, 13]. Белки базальной мембраны, ламинин и коллаген IV типа, необходимы

для поддержания покоящегося состояния стволовых клеток и сдерживания их тканеспецифичной дифференцировки [14]. В свою очередь, эндотелиальные клетки синусоидов печени вырабатывают растворимый фактор стромальных клеток (Stromal Cell-Derived Factor-1, SDF-1) [13]. Функция фактора SDF-1 за пределами печени заключается в стимуляции миграции ГСК к своей нише в костном мозге на этапе онтогенеза и последующего нахождения в ней [15], а в случае необходимости – миграции в периферическую кровь [16]. Возможно, что функцией фактора SDF-1 в печени также является привлечение в орган и удержание в нём стволовых клеток в ходе её регенерации.

Как было сказано выше, миграция ГСК из костного мозга в ткани во многом зависит также от фактора G-CSF, уровень секреции которого находится под влиянием норадренергических сигналов симпатической нервной системы [7]. Установлено, что рядом с перисинусоидальным пространством и ЗКП находятся нервные окончания симпатической нервной системы [18], а в ответ на симпатическую стимуляцию ЗКП активируют гликогенолиз в паренхиматозных клетках путём секреции простагландинов F2a и D [19]. Таким образом, данное перисинусоидальное пространство, также как и ниша ГСК, находится под влиянием симпатической нервной системы. Опираясь на вышеупомянутые данные можно сказать, что перисинусоидальное пространство действительно обладает чертами ниши стволовых клеток, необходимыми для поддержания их свойств и фенотипа.

Поскольку в данном пространстве располагаются ЗКП, которые благодаря секреции множества различных факторов роста (HGF, FGF4, SCF и др.) активно участвуют в процессе регенерации печени [20], то сами ЗКП некоторыми учёными рассматриваются в качестве возможных региональных стволовых/прогениторных клеток печени [21, 22, 23]. Подтверждение этому – наличие трёх основных свойств стволовых клеток:

- 1) Способность к самоподдержанию в течение длительного времени – ЗКП можно культивировать в течение длительного периода времени, при этом не требуется внесения в питательную среду дополнительных ростовых факторов и покрытия чашки компонентами межклеточного матрикса. Данное свойство свидетельствует о том, что ЗКП сами вырабатывают все необходимые факторы роста и компоненты межклеточного матрикса [20, 24].

- 2) Отсутствие в фенотипе клеток тканеспецифичных маркёров. Несмотря на большую историю изучения звёздчатых клеток, специфичного маркёра ЗКП человека до сих пор не найдено, тогда как в печени крыс таким маркёром является белок

промежуточных филаментов десмин [24, 25, 26], не относящийся, однако, к тканеспецифичным маркерам печени. Другими, менее специфичными маркерами, по экспрессии которых можно обнаружить ЗКП печени, являются VCAM-1 и кислый глиальный фибриллярный белок (Glial Fibrillary Acidic Protein, GFAP) [24, 27]. В дополнение к этому в фенотипе ЗКП была обнаружена экспрессия некоторых маркеров стволовых клеток, в частности, CD133 [28], Bcl-2, C-kit [21], Thy-1 [29], Oct4 [13].

3) Возможность дифференцировки в специализированный тип клеток. Показано, что при культивировании ЗКП в среде, индуцирующей эндотелиальную дифференцировку благодаря содержанию сосудистого эндотелиального фактора роста (VEGF164), основного фактора роста фибробластов (bFGF), эритропоэтина (EPO) и интерлейкина-6 (IL-6), ЗКП в течение 7-ми дней начинали формировать трубочки и экспрессировать белок зрелых эндотелиальных клеток eNOS, ve-CAD. Помимо дифференцировки в клетки эндотелия сосудов, ЗКП способны дифференцироваться в гепатоциты. В нескольких исследованиях было продемонстрировано, что для гепатоцитарной дифференцировки необходимо культивировать ЗКП в среде с добавлением фактора роста фибробластов – 4 (FGF4), фактора роста гепатоцитов (HGF), инсулин-трансферрин-селенита натрия (ITS) [24, 28]. При добавлении данной комбинации факторов роста к мезенхимным стволовым клеткам также была обнаружена их способность к дифференцировке в гепатоциты [21, 22, 24, 30, 31]. Таким образом, ЗКП могут, как и стволовые клетки, дифференцироваться в другие клеточные типы. Способность ЗКП дифференцироваться в эндотелиальные клетки и в гепатоциты может играть важную роль в восстановлении данных клеточных популяций при повреждении печени. Кроме того, на мембране ЗКП, расположенных в перисинусоидальном пространстве печени, есть рецептор Cystein-X-Cystein Receptor 4 (CXCR4) для специфичного связывания с фактором SDF-1, отвечающего за стимуляцию миграции стволовых клеток. Добавление же этого фактора в культуру ЗКП стимулирует их миграцию в условиях *in vitro* [13]. Таким образом, можно предположить, что секреция эндотелиальными клетками синусоидов печени фактора SDF-1 необходима для удержания ЗКП в перисинусоидальном пространстве.

Интересно, что в формировании перисинусоидального пространства и поддержании «покоящегося», недифференцированного состояния стволовых клеток также участвуют и гепатоциты. В качестве доказательства можно привести результаты эксперимента Ирис Савитца [13] по культивированию ЗКП с гепатоцитами, разделёнными полупроницаемой мембраной. В ходе этого исследования было показано, что в фенотипе ЗКП сохранялась экспрессия маркеров стволовых клеток

CD133, Oct4 и не наблюдалось трансдифференцировки ЗКП в миофибробласты, которая обычно происходит в монокультуре ЗКП уже к концу первой недели культивирования. Установлено, что подобное влияние гепатоцитов на ЗКП обусловлено секрецией ими факторов Wnt и Jag1, связывающихся с рецепторами Musc, Notch1 на ЗКП [13]. Как было сказано ранее, в нише ГСК Wnt/b-catenin и Notch сигнальные пути обеспечивают медленное асимметричное деление стволовых клеток [5].

Таким образом, не без оснований ряд исследователей предполагают, что ЗКП могут быть региональными стволовыми клетками печени. Согласно последней работе под руководством К. Кордес ЗКП являются клетками-предшественниками овальных клеток [32], которые большинством исследователей рассматриваются в качестве стволовых клеток печени [33] и не отличаются по своему фенотипу от гепатобластов [34].

Исследования свойств ЗКП показали, что эти клетки сами также могут влиять на фенотип и свойства окружающих их клеток, создавая для них своего рода микроокружение. Это микроокружение устанавливается благодаря растворимым факторам роста, секретиремым ЗКП, а также продуцируемым ЗКП компонентам межклеточного матрикса и непосредственным межклеточным контактам [20]. Рассмотрим каждый из компонентов микроокружения, создаваемого ЗКП, более подробно.

Растворимые факторы роста, секретиремые ЗКП

Среди факторов роста, секретиремых ЗКП, наиболее важным является фактор роста гепатоцитов – Hepatocyte Growth Factor, HGF. Необходимо заметить, что ЗКП – единственный источник данного фактора роста в печени [35, 36]. Действие HGF направлено на гепатоциты [37, 38] и приводит к активации синтеза ДНК при их повреждении. Также данный фактор роста необходим для нормального развития эпителиальных клеток печени, а именно, для их выживания, пролиферации и миграции (другое его название – рассеивающий фактор, scatter factor [37, 39]), а также фактор эпителиально-мезенхимной трансдифференцировки [40]. Известно, что при остром повреждении печени синтез HGF запускается одним из первых, уже через 3-6 часов после частичной гепатэктомии, и длится порядка 24-х часов. За этот период времени происходит 20-ти кратное увеличение концентрации HGF в плазме крови [41], что стимулирует миграцию прогениторных клеток в печень [42]. Установлено, что дефект данного фактора роста и/или его рецептора C-met у мышей приводит к недоразвитию (гипоплазии) печени, ингибированию пролиферации гепатобластов и, как следствие,

разрушению её паренхимы, а также повышению уровня апоптоза и снижению клеточной адгезии [43]. Помимо действия *in vivo* HGF также является сильным митогеном для гепатоцитов *in vitro* [44]. Кроме того, HGF является одним из главных факторов роста, добавляемых к стволовым клеткам для индуцирования гепатоцитарной дифференцировки, при этом его действие направлено на культуру клеток, образовавших монослой и прекративших активную пролиферацию [45, 46]. Предполагают, что предтрансплантационная дифференцировка МСК в гепатоциты при культивировании с HGF способствует регенерации печени после воздействия четырёххлористого углерода (CCl₄), что проявляется уменьшением уровня трансаминаз в крови и повышением количества сывороточного альбумина [47]. Более того, те же исследователи предполагают, что трансплантация преддифференцированных таким образом МСК снижает риск развития фиброза печени, который теоретически мог быть спровоцирован введением фракции стромальных клеток [47].

Следующий важный фактор роста, секретируемый ЗКП, – фактор стволовых клеток (Stem Cell Factor, SCF), хемокин, связывающийся со своим рецептором C-kit (CD117), также обнаруженным на мембране ЗКП [24]. Данный фактор роста играет важную роль в эмбриональном этапе кроветворения, а именно, отвечает за миграцию ГСК в печень и костный мозг. Данный фактор роста был также обнаружен в печени, регенерирующей после частичной гепатэктомии с введением 2-ацетиламинофлуорена, подавляющего митозы гепатоцитов, что свидетельствует об активации ЗКП и процессов регенерации печени [48]. Помимо HGF и SCF ЗКП продуцируют другие факторы роста, такие как трансформирующий фактор роста- α (Transforming Growth Factor- α , TGF- α) и эпидермальный фактор роста (Epidermal Growth Factor, EGF). Их действие направлено на пролиферацию гепатоцитов во время регенерации печени [49]. TGF- α и EGF оказывают и аутокринное воздействие, стимулируя пролиферацию самих ЗКП [50]. Митоз гепатоцитов может быть инициирован также мезенхимным морфогенным протеином эпиморфином [51] и плейотрофином [52], секретируемыми ЗКП при частичной гепатэктомии [51].

Другим сильным митогеном, продуцируемым ЗКП во внутриутробном периоде и в процессе регенерации печени, является кислый (Acidic Fibroblast Growth Factor, aFGF) и основной (Basic FGF, bFGF) факторы роста фибробластов, среди которых описаны FGF2, FGF3, FGF4, FGF9 [20, 53, 54]. Факторы роста FGF4 и HGF, секретируемые ЗКП, являются ключевыми факторами роста для дифференцировки клеток-предшественниц в эпителиальные клетки печени – гепатоциты и холангиоциты в ходе онтогенеза печени. В частности, FGF4 необходим на начальной стадии

энтодермального преобразования и может играть важную роль в спецификации энтодермы [55], тогда как HGF индуцирует дифференцировку гепатоцитов, прекративших активную пролиферацию [46, 56]. Известно, что факторы роста семейства FGF (aFGF и bFGF) – важные митогены для миофибробластов. Они обладают сильным ангиогенным и нейротрофическим действием, что также необходимо в процессе заживления ткани [57]. Положительное влияние FGF2 на регенерацию печени было показано в работе по комбинированному введению FGF2 и МСК костного мозга. Авторы работы отметили бóльшее количество прижившихся трансплантированных клеток, дифференцировавшихся в гепатоциты. Подобная трансплантация отразилась и на функциональных показателях печени – было отмечено улучшение показателей сывороточного альбумина и повышение выживаемости животных [58].

Помимо влияния на процесс гепатоцитарной дифференцировки стволовых клеток печени, ЗКП принимают активное участие в процессе фетального печёночного гемопоэза. В данном случае ЗКП продуцируют уже другие биологически активные вещества, а именно, хемоаттрактант – SDF-1 α [59] и сосудистую молекулу клеточной адгезии (Vascular Cell Adhesion Molecule-1, VCAM-1) [60] для стимуляции миграции ГСК и поддержания их адгезии в печени. Установлено, что при появлении дефектов рецептора CXCR4 фактора SDF-1 α [59] или гомеобоксного протеина Nix [60] происходит нарушение печёночного гемопоэза, а также нарушение развития печени [61]. Здесь также необходимо отметить, что ЗКП – единственные клетки, которые находятся в островках в ходе печёночного гемопоэза [22], а секретируемые ЗКП эритропоэтин [62] и нейротрофин [62] играют важную роль в процессах дифференцировки кроветворных и эпителиальных клеток [20]. Известно, что ЗКП продуцируют наибольшее количество факторов роста в активированном состоянии, однако своё влияние ЗКП могут оказывать и в покоем состоянии. Так, важную роль в морфогенезе для кроветворных клеток [64] и эпителиев [65] играют ретиноиды, сохраняемые в покоящихся ЗКП.

Таким образом, можно сказать, что ЗКП являются важным источником факторов роста для дифференцировки и поддержания жизнеспособности различных клеточных популяций печени, как в онтогенезе, так и при её регенерации.

Межклеточные контакты и внеклеточный матрикс

ЗКП оказывают влияние на прогениторные клетки печени не только путём секреции растворимых факторов, но и посредством межклеточных контактов. Так, в перисинусоидальном пространстве каждая ЗКП устанавливает межклеточные контакты

с несколькими соседними гепатоцитами, а также эндотелиальными клетками синусоидов печени [20], тем самым распространяя своё влияние на фенотип данных популяций клеток.

Для некоторых клеток наличие непосредственных межклеточных контактов является критическим условием выживания и дифференцировки. Особенно это важно для гемопоэтических и эпителиальных клеток [66] в виду их низкой адгезионной способности. Известно, что ГСК могут свободно циркулировать в кровеносном русле, однако встроиться в ткани, дифференцироваться и полноценно функционировать они могут лишь при определённых условиях микроокружения [67]. Так, в работе Нагаи было показано, что при совместном культивировании ЗКП и эпителиальных клеток-предшественниц жизнеспособность последних была выше, а гепатоцитарная дифференцировка достигалась у большего количества клеток, нежели при культивировании тех же клеток, но разделённых полупроницаемой мембраной. Данная мембрана препятствовала непосредственному межклеточному взаимодействию и делала возможным лишь обмен факторами роста между разными популяциями клеток через циркулирующую питательную среду [66]. Таким образом, в этом исследовании была показана значимость непосредственных межклеточных контактов для дифференцировки эпителиальных клеток в гепатоциты.

Межклеточные контакты между ЗКП и предшественниками гепатоцитов важны и *in vivo*, в частности, в процессе пренатального гистогенеза печени крысы. Различными авторами была показана большая плотность десмин-позитивных ЗКП, находящихся в контакте с дифференцирующимися гепатоцитами [22, 68, 69].

Непосредственные межклеточные контакты важны не только для поддержания жизнеспособности клеток, но и для их дифференцировки. В качестве примера можно привести результаты работы по совместному культивированию клеток фетальной печени мыши на 13,5 день гестации с фенотипом Thy-1+/CD49f±/виментин+/десмин+/α-ГМА+ с первичной культурой печёночных энтодермальных клеток с фенотипом CD49f+/ЦК19+/альбумин+/α-ФП+. Результатом этого культивирования стала гепатоцитарная дифференцировка энтодермальных клеток, содержащих гликоген и экспрессирующих тирозинаминотрансферазы и триптофаноксигеназы [70].

Таким образом, можно сказать, что межклеточные контакты между стволовыми клетками и тканеспецифичными клетками (ЗКП или гепатоцитами) вносят значительный вклад в жизнеспособность и дифференцировку стволовых клеток в гепатоциты.

Помимо контактов с тканеспецифичными клетками необходимо принять во внимание контакт клеток с белками межклеточного матрикса, который необходим для лучшей адгезии клеток и формирования благоприятных условий для последующей дифференцировки. Известно, что в печени ЗКП являются основным источником компонентов межклеточного матрикса, таких как коллаген I, III, IV, V, VI типов, тенасцин, ламинин, фибронектин и ряд протеогликанов [71]. Секреторная активность ЗКП в отношении матриксных белков усиливается при их активации и трансдифференцировке в миофибробласты, что происходит при воздействии внешнего повреждающего фактора на клетки печени или при культивировании *in vitro*.

Значимость культивирования клеток на чашках, покрытых особыми белками, была показана в ряде исследований. Среди изученных веществ (коллаген I, IV типов, ламинин и фибронектин) наилучшим для культивирования фетальных гепатоцитов оказалось покрытие фибронектином [72]. Положительное влияние фибронектина на гепатоцитарную дифференцировку МСК было продемонстрировано в работе Шварца в 2002 году [73]. В данном исследовании было проведено культивирование субпопуляции МСК костного мозга человека, мыши и крысы на культуральных чашках, покрытых Матригелем или фибронектином с добавлением в питательную среду смеси факторов роста FGF4 и HGF. При этом на 14-е сутки исследователями были обнаружены клетки, экспрессировавшие маркёры гепатоцитов HNF-3 β , GATA4, цитокератины 18 и 19, транстиретин, α -фетопроtein, альбумин. Для этих клеток были характерны функциональные характеристики гепатоцитов, они секретируют мочевины и альбумин, имели фенобарбитал-индуцированный цитохромом p450, захватывающий липопротеины низкой плотности, и накапливали гликоген. Все эти изменения происходили на неделю раньше, чем при культивировании клеток с добавлением тех же факторов, но на обычном непокрытом матриксом пластике [73]. Таким образом, белки межклеточного матрикса играют важную роль для поддержания жизнеспособности гепатоцитов, а также для гепатоцитарной дифференцировки прогениторных клеток.

Важно заметить, при совместном культивировании ЗКП со стволовыми клетками они оказывают тройное воздействие: 1) вырабатывают белки межклеточного матрикса для лучшей адгезии клеток; 2) продуцируют факторы роста, стимулирующие пролиферацию и гепатоцитарную дифференцировку стволовых клеток; 3) путём обмена трансмембранными сигналами влияют на морфологию и фенотип культивируемых с ними клеток. Все эти три составляющие являются неотъемлемыми компонентами ниши стволовых клеток, поэтому закономерно предположить, что ЗКП

способны создавать микроокружение для прогениторных клеток и уже дифференцированных клеток печени.

Анализируя и подводя итог всему вышесказанному, можно заключить, что ЗКП обладают рядом свойств и фенотипических признаков, позволяющих отнести их к региональным стволовым клеткам печени. В пользу этого свидетельствует также способность ЗКП дифференцироваться в эндотелиальные клетки и гепатоциты. Также необходимо заметить, что ЗКП способны сами создавать благоприятное микроокружение для дифференцировки прогениторных клеток в гепатоцитарном направлении как за счёт вырабатываемых ими факторов роста и компонентов межклеточного матрикса, так и за счёт установления непосредственных межклеточных контактов. А ниша, в которой расположены сами ЗКП, может быть нишей региональных стволовых клеток печени.

Само перисинусоидальное пространство, в котором находятся ЗКП, – своего рода динамическая система, в которой ЗКП, гепатоциты и эндотелиальные клетки поддерживают и оказывают влияние друг на друга. Эндотелиальные клетки синусоидов путём секреции фактора SDF-1 обеспечивают направленную миграцию ЗКП и удержание их в пределах перисинусоидального пространства. Гепатоциты отвечают за «покоящееся» состояние ЗКП. В свою очередь ЗКП благодаря секреции белков межклеточного матрикса и факторов роста создают благоприятную среду для гепатоцитов и эндотелиальных клеток. При повреждении печени ЗКП способны активироваться и сами дифференцироваться в клетки эндотелия и гепатоциты или же стимулировать гепатоцитарную дифференцировку других стволовых клеток, тем самым восстанавливая утраченную популяцию клеток.

Список литературы:

1. Stewart S. Is There a Liver Stem Cell? *Cancer research*. 1990; 50: 3811-5.
2. Alison M.R., Poulsom R., Wright N.A. An introduction to stem cells. *J.Path.* 2002; 197: 419-23.
3. Zhang J., Niu C., Ye L. et al. Identification of the haematopoietic stem cell niche and control of the niche size. *Nature*. 2003; 425: 836-41.
4. Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood Cells*. 1978; 4: 7-25.
5. Reya T., Duncan A.W., Ailles L. et al. A role for WNT signaling in self-renewal of haemopoietic stem cell. *Nature*. 2003; 423: 409-14.

6. Spradling A., Drummond-Barbosa D., Kai T. Stem cells find their niche. *Nature*. 2001; 414(6859): 98-104.
7. Katayama Y., Battista M., Kao W.M. et al. Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from the bone marrow. *Cell*. 2006; 124: 407-21.
8. Mauro A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J. Biophys Biochem Cytol*. 1961; 9: 493-5.
9. Oakberg E.F. Spermatogonial stem-cell renewal in the mouse. *Anat Rec*. 1971; 169:515-31.
10. Fuchs E., Tumber T., Guasch G. Socializing with the neighbors: stem cells and their niche. *Cell*. 2004; 116: 769-78.
11. Morrison S.J., Spradling A.C. Stem cells and niches: mechanisms that promote stem cell maintenance throughout life. *Cell*. 2008; 132: 598–611.
12. Stewart S. Heterogeneity and Plasticity of Hepatocyte Lineage Cells. *Hepatology*. 2001; 33(3): 738-50.
13. Sawitza I., Kordes C., Haussinger D. The niche of stellate cells within rat liver. *Hepatology*. 2009; 50: 1617-24.
14. Watt F.M., Hogan B.L. Out of Eden: stem cells and their niches. *Science*. 2000; 287: 1427-30.
15. Ara T., Tokoyoda K., Sugiyama T. et al. Long-term hematopoietic stem cells require stromal cell-derived factor-1 for colonizing bone marrow during ontogeny. *Immunity*. 2003; 19(2): 257-67.
16. Aiuti A., Webb I.J., Bleul C. et al. The chemokine SDF-1 is a chemoattractant for human CD34+ hematopoietic progenitor cells and provides a new mechanism to explain the mobilization of CD34+ progenitors to peripheral blood. *J. Exp. Med*. 1997; 185(1): 111-20.
17. Bioulac-Sage P., Lafon M.E., Saric J. et al. Nerves and perisinusoidal cells in human liver. *J. Hepatol*. 1990; 10: 105-12.
18. Ueno T. Intrinsic innervation of the human liver. *J. Clin. Electron. Microsc.* 1988; 21: 481-91.
19. Athary A., Hanecke K., Jungermann K. Prostaglandin F2a and D2 release from primary Ito cell cultures after stimulation with noradrenaline and ATP but not adenosine. *Hepatology*. 1994; 20: 142-8.
20. Friedman S.L. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol. Rev*. 2008; 88: 125-172.
21. Гумерова А.А., Титова М.А., Киясов А.П. Экспрессия маркеров различных типов клеток печени на ранних этапах пренатального развития человека. *Цитология*. 2007; 2: 133-41.

22. Kiassov A.P., Van Eyken P., van Pelt J.F. et al. Desmin expressing nonhematopoietic liver cells during rat liver development: an immunohistochemical and morphometric study. *Differentiation*. 1995; 59(4): 253-8.
23. Kordes C., Sawitza I., Haussinger D. Hepatic and pancreatic stellate cells in focus. *Biol Chem*. 2009; 390(10): 1003-12.
24. Гумерова А.А., Шафигуллина А.К., Трондин А.А. и др. Звёздчатые клетки печени стимулируют дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток костного мозга крысы в гепатоциты *in vitro*. *Клеточная Трансплантология и Тканевая Инженерия*. 2012; 6(4): 72-81.
25. Burt A.D., Robertson J.L., Heir J. et al. Desmin-containing stellate cells in rat liver; distribution in normal animals and response to experimental acute liver injury. *J. Pathol*. 1986; 150(1): 29-35.
26. Tsutsumi M., Takada A., Takase S. Characterization of desmin-positive rat liver sinusoidal cells. *Hepatology*. 1987; 7(2): 277-84.
27. Knittel T., Dinter C., Kobold D. et al. Expression and regulation of cell adhesion molecules by hepatic stellate cells (HSC) of rat liver: involvement of HSC in recruitment of inflammatory cells during hepatic tissue repair. *Am. J. Pathol*. 1999; 154(1): 153-67.
28. Kordes C., Sawitza I., Müller-Marbach A. et al. CD133+ hepatic stellate cells are progenitor cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007; 352(2): 410-7.
29. Baba S., Fujii H., Hirose T. et al. Commitment of bone marrow cells to hepatic stellate cells in mouse. *J. Hepatol*. 2004; 40(2): 255-60.
30. Snykers S., Vanhaecke T., Papeleu P. et al. Sequential exposure to cytokines reflecting embryogenesis: the key for *in vitro* differentiation of adult bone marrow stem cells into functional hepatocyte-like cells. *Toxicol Sci*. 2006; 94(2): 330-41.
31. Colletti E.J., Airey J.A., Liu W. et al. Generation of tissue-specific cells from MSC does not require fusion or donor-to-host mitochondrial/membrane transfer. *Stem Cell Res*. 2009; 2(2): 125-38.
32. Kordes C., Sawitza I., Götze S. et al. Stellate cells are mesenchymal stem cells. *Eur J Med Res*. 2014; 19(1): S6.
33. Petersen B.E., Zajac V.F., Michalopoulos G.K. Hepatic oval cell activation in response to injury following chemically induced periportal or pericentral damage in rats. *Hepatology*. 1998; 27(4): 1030-8.
34. Киясов А.П., Гумерова А.А., Титова М.А. Мезенхимально-эпителиальная трансформация клеток Ито *in vitro*. *Клеточные технологии в биологии и медицине*. 2006; 3: 150-154.

35. Schirmacher P., Geerts A., Pietrangelo A. et al. Hepatocyte growth factor/hepatopoietin A is expressed in fat-storing cells from rat liver but not myofibroblast-like cells derived from fat-storing cells. *Hepatology*. 1992; 15: 5-11.
36. Maher J.J. Cell-specific expression of hepatocyte growth factor in liver. Upregulation in sinusoidal endothelial cells after carbon tetrachloride. *J. Clin. Invest.* 1993; 91(5): 2244-52.
37. Weidner K.M., Arakaki N., Hartmann G. et al. Evidence for the identity of human scatter factor and human hepatocyte growth factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1991; 88: 7001-5.
38. Gohda E., Tsubouchi H., Nakayama H. et al. Purification and partial characterization of hepatocyte growth factor from plasma of a patient with fulminant hepatic failure. *J. Clin. Invest.* 1988; 81: 414-9.
39. Birchmeier C., Gherardi E. Developmental roles of HGF/SF and its receptor, the c-Met tyrosine kinase. *Trends Cell Biol.* 1998; 8: 404-10.
40. Matsumoto K., Nakamura T. Emerging multipotent aspects of hepatocyte growth factor. *J. Biochem. Tokyo*. 1996; 119(4): 591-600.
41. Zarnegar R., DeFrances M.C., Kost D.P. Expression of hepatocyte growth factor mRNA in regenerating rat liver after partial hepatectomy. *Biochem Biophys Res Commun.* 1991; 177(1): 559-65.
42. Kollet O., Shvitiel S., Chen Y.Q. et al. HGF, SDF-1, and MMP-9 are involved in stress-induced human CD34+ stem cell recruitment to the liver. *J. Clin Invest.* 2003; 112(2): 160-9.
43. Bladt F., Riethmacher D., Isenmann S. et al. Essential role for the c-met receptor in the migration of myogenic precursor cells into the limb bud. *Nature*. 1995; 376: 768-71.
44. Nakamura T., Nishizawa T., Hagiya M. et al. Molecular cloning and expression of human hepatocyte growth factor. *Nature*. 1989; 342(6248): 440-3.
45. Yoon J.H., Lee H.V., Lee J.S. et al. Development of a non-transformed human liver cell line with differentiated-hepatocyte and urea-synthetic functions: applicable for bioartificial liver. *Int. J. Artif. Organs*. 1999; 22(11): 769-77.
46. Hamamoto R., Kamihira M., Iijima S. Growth and differentiation of cultured fetal hepatocytes isolated various developmental stages. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1999; 63(2): 395-401.
47. Oyagi S., Hirose M., Kojima M. et al. Therapeutic effect of transplanting HGF-treated bone marrow mesenchymal cells into CCl₄-injured rats. *J. Hepatol.* 2006; 44(4): 742-8.
48. Fujio K. Expression of stem cell factor and its receptor, c-kit, during liver regeneration from putative stem cells in adult rat. *Lab. Invest.* 1994; 70: 511-6.

49. Mullhaupt B., Feren A., Fodor E. Liver expression of epidermal growth factor RNA. Rapid increases in immediate-early phase of liver regeneration. *J Biol Chem.* 1994; 269(31): 19667-70.
50. Meyer D.H., Bachem M.G., Gressner A.M. Modulation of hepatic lipocyte proteoglycan synthesis and proliferation by Kupffer cell-derived transforming growth factors type beta 1 and type alpha. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1990; 171: 1122-9.
51. Yoshino R., Miura K., Segawa D. et al. Epimorphin expression and stellate cell status in mouse liver injury. *Hepatol. Res.* 2006; 34: 238-49.
52. Asahina K., Sato H., Yamasaki C. et al. Pleiotrophin/heparin-binding growth-associated molecule as a mitogen of rat hepatocytes and its role in regeneration and development of liver. *Am. J. Pathol.* 2002; 160: 2191-2205.
53. Marsden E.R., Hu Z., Fujio K. et al. Expression of acidic fibroblast growth factor in regenerating liver and during hepatic differentiation. *Lab. Invest.* 1992; 67(4): 427-433.
54. Pinzani M., Knauss T.C., Pierce G.F. et al. Mitogenic signals for platelet-derived growth factor isoforms in liver fat-storing cells. *Am J Physiol.* 1991; 260(3): C485-91.
55. Corson L.B., Yamanaka Y., Lai K.M. et al. Spatial and temporal patterns of ERK signaling during mouse embryogenesis. *Development.* 2003; 130(19): 4527-37.
56. Yoon J.H., Lee H.V., Lee J.S. et al. Development of a non-transformed human liver cell line with differentiated-hepatocyte and urea-synthetic functions: applicable for bioartificial liver. *Int J Artif Organs.* 1999; 22(11): 769-77.
57. Flaumenhaft R., Abe M., Mignatti P. et al. Basic fibroblast growth factor-induced activation of latent transforming growth factor beta in endothelial cells: regulation of plasminogen activator activity. *J Cell Biol.* 1992; 118(4): 901-9.
58. Ishikawa T., Terai S., Urata Y. et al. Fibroblast growth factor 2 facilitates the differentiation of transplanted bone marrow cells into hepatocytes. *Cell Tissue Res.* 2006; 323(2): 221-31.
59. Wright D.E., Bowman E.P., Wagers A.J. et al. Hematopoietic stem cells are uniquely selective in their migratory response to chemokines. *J. Exp. Med.* 2002; 195: 1145-54.
60. Kubota H., Yao H.L., Reid L.M. Identification and characterization of vitamin A-storing cells in fetal liver: implications for functional importance of hepatic stellate cells in liver development and hematopoiesis. *Stem Cells.* 2007; 25(9): 2339-49.
61. Lints T.J., Hartley L., Parsons L.M. et al. Mesoderm-specific expression of the divergent homeobox gene *Hlx* during murine embryogenesis. *Dev. Dyn.* 1996; 205: 457-470.
62. Eckardt K.U. Erythropoietin production in liver and kidneys. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 1996; 5(1): 28-34.

63. Passino M.A., Adams R.A., Sikorski S.L. et al. Regulation of hepatic stellate cell differentiation by the neurotrophin receptor p75NTR. *Science*. 2007; 315: 1853-6.
64. Tocci A., Parolini I., Gabbianelli M. et al. Dual action of retinoic acid on human embryonic/fetal hematopoiesis: blockade of primitive progenitor proliferation and shift from multipotent/erythroid/monocytic to granulocytic differentiation program. *Blood*. 1996; 88(8): 2878-88.
65. Evarts R.P., Hu Z., Omori N. et al. Effect of vitamin A deficiency on the integrity of hepatocytes after partial hepatectomy. *Am. J. Pathol.* 1995; 147(3): 699-706.
66. Nagai H., Terada K., Watanabe G. et al. Differentiation of liver epithelial (stem-like) cells into hepatocytes induced by coculture with hepatic stellate cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002; 293(5): 1420-5.
67. Scadden D.T. The stem-cell niche as an entity of action. *Nature*. 2006; 441(7097): 1075-9.
68. Киясов А.П., Гумерова А.А., Билалов М.М. Экспрессия цитокератинов в пре- и постнатальном онтогенезе. *Онтогенез*. 1997; 28(5): 389-93.
69. Vassy J., Rigaut J.P., Briane D. et al. Confocal microscopy immunofluorescence localization of desmin and other intermediate filament proteins in fetal rat livers. *Hepatology*. 1993; 17(2): 293-300.
70. Hoppo T., Fujii H., Hirose T. et al. Thy1-positive mesenchymal cells promote the maturation of CD49f-positive hepatic progenitor cells in the mouse fetal liver. *Hepatology*. 2004; 39: 1362-70.
71. Friedman S.L. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology*. 2008; 134(6): 1655-69.
72. Sánchez A., Alvarez A.M., Pagan R. et al. Fibronectin regulates morphology, cell organization and gene expression of rat fetal hepatocytes in primary culture. *J. Hepatol.* 2000; 32: 242-50.
73. Schwartz R.E., Reyes M., Koodie L. et al. Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J. Clin. Invest.* 2002; 109: 1291-1302.