ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В ЛЕЧЕНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА

А.С. Плюшкина [1,2], М.С. Калигин [2]

[1] Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия
[2] Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия

Perspectives of using stem cells in diabetes mellitus treatment

A.S. Plushkina [1,2], M.S. Kaligin [2]
[1] Kazan State Medical University, Kazan, Russia
[2] Kazan (Volga region) Federal University, Kazan, Russia

Весьма перспективным решением проблемы сахарного диабета может стать применение медицинских биотехнологий, а именно клеточных технологий, в основе которых лежит использование стволовых клеток. На сегодняшний день с этой целью исследуются различные клеточные популяции. Наиболее физиологически обоснованным является применение стволовых клеток самой поджелудочной железы. Обзор посвящен обсуждению новых методов терапии сахарного диабета с использованием клеточных технологий и перспектив применения C-kit-позитивных клеток и десмин-позитивных звёздчатых клеток поджелудочной железы — предполагаемых клеток-предшественников β-инсулоцитов — для клеточной терапии сахарного диабета.

Ключевые слова: поджелудочная железа, сахарный диабет, регенерация, стволовые клетки, рецептор фактора стволовых клеток.

Using stem cells is one of the most perspective methods of diabetes mellitus treatment. Different stem cells populations are used for this purpose. Pancreatic stem cells are considered to be the most appropriate. This review is devoted to new methods of diabetes mellitus treatment by using stem cells and perspectives of using C-kit- positive pancreas cells and desmin-positive stellate pancreas cells as the main candidate to the role of pancreatic stem cells.

Key words: pancreas, diabetes mellitus, regeneration, stem cells, stem cell factor receptor.

Сахарный диабет (СД) является одной из важнейших проблем современной медицины в связи с неуклонным ростом числа больных в большинстве стран мира. Согласно прогнозам, к 2030 г. число людей, страдающих сахарным диабетом, возрастет до 552 млн [1]. СД является хроническим заболеванием, при котором в результате аутоиммунных процессов происходит разрушение инсулин-продуцирующих β-клеток поджелудочной железы (ПЖ). Основным способом коррекции гипергликемии у пациентов, страдающих инсулинзависимым СД, является введение экзогенного инсулина. Однако инсулинотерапия не позволяет восстановить нормальную физиологическую регуляцию уровня глюкозы в крови и устранить риск возможных осложнений [2]. Развитие тяжёлых и необратимых осложнений, определяющих качество жизни пациентов, позволяет отнести СД к заболеваниям, имеющим медико-социальное значение. Существенные экономические потери государства, связанные с расходами на лечение заболевания и его осложнений, ранней инвалидизацией пациентов с утратой трудоспособности, смертностью в трудоспособном возрасте, являются весомым аргументом в определении социальной значимости проблемы СД. Именно эти обстоятельства обусловливают пристальный интерес ученых к всестороннему изучению данной патологии. Несмотря на понимание особенностей развития этого заболевания вопросы его лечения продолжают вызывать дискуссии, и их нельзя считать окончательно решёнными.

В настоящее время единственным возможным способом излечения пациентов с СД I типа является пересадка островков поджелудочной железы, а также самого органа [3]. Пересадка целого органа является эффективным способом в достижении и поддержании длительного физиологического уровня глюкозы в крови. Однако данный метод довольно редко используется для лечения СД вследствие различных рисков, связанных с выполнением хирургического вмешательства [4]. Пересадка островков ПЖ требует малоинвазивного хирургического вмешательства [5]. Тем не менее, в настоящее время эта процедура тоже не может считаться стандартом лечения, поскольку имеет свои недостатки. Прежде всего, это проблема нехватки доноров, а также необходимость пожизненной иммунносупрессии. Одним из наиболее очевидных способов получения большого количества островков, необходимых для трансплантации при СД, является использование островков Лангерганса, полученных от других видов млекопитающих. Большинство попыток в данной области было направлено на использование островков поджелудочной железы свиньи [6–8]. Основной проблемой при применении ксеногенного материала, помимо риска заражения зоонозом, является развитие иммунологической реакции отторжения трансплантата [9]. Преодолеть проблему иммуногенности свиных клеток пытаются иммунизацией донорских клеток. Так, в капсулу из полупроницаемой мембраны помещают поджелудочную железу (макрокапсуляция) или отдельные островки (микрокапсуляция) реципиента [10]. Полупроницаемая мембрана препятствует контакту трансплантированного материала с иммунокомпетентными клетками реципиента, но сохраняется диффузное поступление питательных веществ к клеточному материалу, секреция и выход инсулина [11]. Однако и у этой методики есть свои недостатки. Капсулы воспринимаются организмом реципиента как инородные тела. Возникает выраженная пролиферативная реакция вокруг капсул, которая ведет к неадекватному питанию островков, клеточному апоптозу и гибели островковых клеток [12].

e-mail: ob_alexa@mail.ru

Еще одной из причин, сдерживающих клиническое применение свиных островковых клеток, является обнаружение в клетках этих животных эндогенного ретровируса (PERV), который потенциально может инфицировать клеточные линии человека [13, 14]. Однако сведений о заболевании пациентов, перенесших ранее ксенотрансплантацию свиных островковых клеток, в настоящее время нет. Серологические исследования у реципиентов, проведенные через 4–7 лет после ксенотрансплантации свиных островков, не обнаружили маркерных генов PERV-инфекции [15].

В последние годы ведутся исследования возможности применения для коррекции сахарного диабета клеток костного мозга, гемопоэтических, мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток (ММСК), клеток, продуцирующих инсулин в результате дифференцировки или генетической модификации костномозговых и ММСК [16–19].

С физиологической точки зрения наиболее подходящими являются стволовые клетки самой поджелудочной железы. Однако в данном случае проблема, затрудняющая применение стволовых клеток в регенеративной медицине, заключается в сложности их идентификации и выделения из-за отсутствия чётких сведений об их фенотипе. На сегодняшний день одним из наиболее перспективных маркёров клеток-предшественниц эндокриноцитов ПЖ является рецептор фактора стволовых клеток C-kit, или CD117, поскольку он располагается на мембране клеток и может быть использован в качестве маркёра для их выделения. C-kit – трансмембранный рецептор белка тирозинкиназы (receptor protein tyrosine kinase, RPTK), который кодируется у грызунов доминантной аллелью *white-spotting* (*w*), располагающейся на 5 хромосоме; человеческий гомолог расположен на 4 хромосоме (4 qll-12). Данный рецептор называется также CD 117, рецептор фактора стволовых клеток (stem cell factor receptor, SCF-R), Kit/SCF-R, рецептор к фактору роста тучных клеток (mast cell growth factor (MGF) receptor) [20, 21].

C-kit-позитивные клетки были обнаружены у 14–16-недельных плодов человека в островках поджелудочной железы, которые при культивировании в присутствии экзогенного фактора стволовых клеток (stem cell factor, SCF) начинали синтезировать глюкагон и инсулин. Показано, что SCF/C-kit взаимодействие может играть важную роль в дифференцировке эндокринных клеток поджелудочной железы человека на сроке 14–16 нед. гестации [22]. Экспрессия C-kit обнаружена также и в островках поджелудочной железы крысы [23]. Кроме того, установлено, что первые C-kit-позитивные клетки появляются в эпителии протоков на сроке 8,5 нед. гестации, далее образуются C-kit-позитивные островки, напоминающие островки Лангерганса, которые сохраняются после рождения. Интересно, что на сроке 11,5 нед. внутриутробного развития в островках были обнаружены клетки, одновременно синтезирующие и инсулин, и глюкагон, а также сохраняющиеся в островках после рождения. Авторы предполагают, что популяция C-kit-позитивных клеток может служить общим источником как β- так и α-клеток, которые сначала синтезируют глюкагон, а затем и инсулин [24]. При изучении регенерации ПЖ после наложения лигатуры на протоковую систему также показано появление C-kit-позитивных клеток в протоках и островках Лангерганса с максимальной экспрессией маркёра на 3 сут. эксперимента [25]. При экспериментальном аллоксановом диабете в островках поджелудочной железы крыс C-kit-позитивные клетки, синтезирующие инсулин, появляются уже через сутки экспериментальной гипергликемии, и эти клетки присутствуют в ПЖ на всех экспериментальных сроках. Было показано, что C-kit-позитивные клетки участвуют в коррекции морфологических изменений в островках и уровня глюкозы в крови крыс при экспериментальном диабете (ЭД) путём дифференцировки в β-клетки через стадию глюкагон-продуцирующих клеток [26]. Таким образом, C-kit-позитивные клетки поджелудочной железы являются основными претендентами на роль стволовых клеток ПЖ – предшественников β-клеток. Интересен факт, что при ЭД наряду с повышением экспрессии C-kit, в ацинусах и островках ПЖ появляются десмин-позитивные звёздчатые клетки. Эти клетки по своему фенотипу и свойствам очень напоминают звёздчатые клетки печени. Клетки обеих популяций накапливают витамин А, секретируют широкий спектр факторов роста, синтезируют макромолекулы межклеточного вещества. В литературе встречаются данные о том, что эти клетки могут быть источником развития эндокриноцитов [27]. Было показано, что при ЭД звёздчатые клетки увеличивались количественно, однако в этих клетках секреции гормонов выявлено не было. По мнению авторов, звёздчатые клетки обеспечивают необходимое микроокружение для дифференцировки C-kit-позитивных клеток в эндокриноциты. Таким образом, авторы делают предположение, что при ЭД происходит активация звёздчатых клеток ПЖ, которые начинают синтезировать факторы роста и цитокины. Синтезированные факторы роста взаимодействуют с рецепторами прогениторных клеток, в частности с рецептором фактора стволовых клеток C-kit. Это взаимодействие приводит к дифференцировке C-kit$^+$ клеток в β-клетки через стадию глюкагон-продуцирующих клеток [28].

Способность C-kit-позитивных клеток дифференцироваться в α- и β-клетки поджелудочной железы позволяет утверждать, что именно этот маркёр является истинным для клеток-предшественниц эндокриноцитов. Это открывает перспективы для разработки новых методов лечения сахарного диабета I типа путём трансплантации C-kit-позитивных клеток поджелудочной железы, которые будут синтезировать гормоны и способствовать коррекции нарушений углеводного обмена. Кроме того, имеющиеся данные об изменении популяции звёздчатых клеток ПЖ при ЭД позволяют предполагать, что одновременная трансплантация звёздчатых клеток ПЖ и C-kit$^+$ клеток может быть более эффективной, чем изолированная трансплантация только C-kit-позитивных клеток.

Таким образом, использование C-kit-позитивных клеток поджелудочной железы может стать одним из перспективных методов клеточной терапии СД. Основными вопросами, требующими дальнейшего изучения, являются методика выделения этих клеток (поскольку C-kit – трансмембранный рецептор, то он является наиболее удобным маркёром с точки зрения выделения этих клеток для последующего культивирования и трансплантации) и разработка методов экспансии клеток в культуре для получения необходимого для трансплантации количества клеточного материала.

Благодарности

Работа выполнена в рамках государственной программы повышения конкурентоспособности Казанского (Приволжского) федерального университета среди ведущих мировых научно-образовательных центров и субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания в сфере научной деятельности.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Дедов И.И. Эпидемиология сахарного диабета. Пособие для врачей. Москва; 2003: 23-35.
2. Маслова О.В., Сунцов Ю.И. Эпидемиология сахарного диабета и микрососудистых осложнений. Сахарный диабет 2011; 3: 6–11.
3. Пеллегрини С., Сорди В., Пьемонти Л. Замещение β-клеток поджелудочной железы при сахарном диабете. Сахарный диабет 2013; 3(60): 11-21.
4. Ichii H., Ricordi C. Current status of islet cell transplantation. J. Hepato-Biliary-Pancreatic Surg. 2009; 16(2): 101–12.
5. Venturini M., Angeli E., Maffi P. et al. Technique, Complications, and Therapeutic Efficacy of Percutaneous Transplantation of Human Pancreatic Islet Cells in Type 1 Diabetes: The Role of US1. Radiology 2005; 234(2): 617–24.
6. Шумаков В.И., Игнатенко С.Н., Блюмкин В.Н. и др. Клинические результаты аллогенной и ксеногенной трансплантации культур островковых клеток поджелудочной железы больным сахарным диабетом. Бюл. эксперим. биол. и мед. 1984; 126: 19-21.
7. Скалецкий Н.Н., Гончарова Т.Н., Засорина Л.В. и др. Ксенотрансплантация культур островковых клеток на пути достижения длительной инсулиннезависимости у больных сахарным диабетом I типа. Вестн. трансплантологии и искусственных органов 2002; 3: 85-6.
8. McKenzie I.F.C., Koulmanda M., Mandel T. et al. Cutting Edge: Pig Islet Xenografts Are Susceptible to "Anti-Pig" But Not Galα(1,3) Gal Antibody Plus Complement in Gal o/o Mice. J. Immunol 1998; 161(10): 5116–9.
9. van der Laan L.J.W., Lockey C., Griffeth B. et al. Infection by porcine endogenous retrovirus after islet xenotransplantation in SCID mice. Nature 2000; 407(6800): 90–4.
10. Beck J., Angus R., Madsen B. et al. Islet encapsulation: strategies to enhance islet cell function. Tissue 2007; 13: 589-99.
11. Gray D. Encapsulated islet cells: the role of direct and indirect presentation and the relevance to xenotransplantation and autoimmune reccurence. Br. Med. Bull. 1997; 53: 777-8.
12. De Vos P., Hamel A.F., Tatarkiewicz K. reviews: Considerations for successful transplantation of encapsulated pancreatic islets. Diabetologia 2002; l45: 159-67.
13. Appel J.Z., Alwayn J.P.N., Cooper D.K.C. Xenotransplantation: the challenge to current psychological attitudes. Progress in Transplantation. 2000; 10: 217-25.
14. Lee J.-H., Webb G.C., Allen R.D.M. et al. Characterizing and mapping porcine endogenous retroviruses in Westran pigs. Virology 2002; 176 (11): 5548-56.
15. Heneine W., Tibell A., Switzer W.M. et al. No evidence of infection with endogenous retrovirus in recipients of porcine islet-cell xenografts. Lancet 1998; 352; 695-9.
16. Beilhack G., Scheffold C., Weissman I. et al. Purified allogenic hematopoetic stem cell transplantation block diabetes pathogenesis in NOD mice. Diabetes 2003; 52: 59-68.
17. Esquer F., Esquer M., Parrau D. et al. Systemic administration of multipotent mesenchymal stromal cells reverts hyperglycemia and prevents nephropathy in type I diabetic mice. Biol. Blood Marrow Transplant. 2008; 14: 631-40.
18. Karnieli O., Izhar-Prato Y., Bulvik S. et al. Generation of insulin-producing cells from human bone marrow mesenchymal stem cells by genetic manipulation. Stem Cells 2007; 25: 2837-24.
19. Li M., Ihaba M., Gou K. et al. Treatment of streptozotocin-induced diabetes mellitus in mice by intra-bone marrow transplantation plus portal vein injection of beta cells induced from bone marrow cells. Int. J. Hematol. 2007; 86: 438-45.
20. Ashman L.K. The biology of stem cell factor and its receptor c-Kit. Int. J. Biochem. Cell Biol.1999; 31: 1037–51.
21. Blume-Jensen P., Claesson-Welsh L., Siegbahn A. et al. Activation of the human c-kit product by ligand-induced dimerization mediates circular actin reorganization and chemotaxis. EMBO J. 1991; 10: 4121–8.
22. Li J., Goodyer C.G., Fellows F. et al. Stem cell factor/c-Kit interactions regulate human islet-epithelial cluster proliferation and differentiation. Int. J. Bioch. Cell Biol. 2006; 38: 961–72.
23. Yashpal N.K., Li J., Wang R. Characterization of c-Kit and nestin expression during islet cell development in the prenatal and postnatal rat pancreas. J. Dev. Dyn. 2004; 229: 813–25.
24. Калигин М.С., Гумерова А.А, Титова М.А и др. C-kit маркёр стволовых клеток эндокриноцитов поджелудочной железы. Морфология 2011; 140 (4): 32-7.
25. Peters K., Panienka R., Li J. et al. Expression of stem cell markers and transcription factors during the remodeling of the rat pancreas after duct ligation. Virchows Arch. 2005; 446(1): 56-63.
26. Плюшкина А.С., Калигин М.С., Андреева Д.И. и др. C-kit-позитивные клетки островков поджелудочной железы крысы как клетки-предшественницы эндокриноцитов при аллоксановом диабете. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2012; 7 (3): 138-41.
27. Kordec C., Sawitza I., Götze S., Häussinger D. Stellate cells from rat pancreas are stem cells and can contribute to liver regeneration. PloS ONE 2012; 12: e51878.
28. Калигин М.С., Плюшкина А.С., Титова А.А. и др. C-kit и десмин-позитивные клетки островков поджелудочной железы при экспериментальном диабете у крыс. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия 2013; 8 (3): 113-5.

Поступила: 05.07.2014