



Российский
научный
фонд



МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ М.В.ЛОМОНОСОВА



ОБЩЕСТВО
РЕГЕНЕРАТИВНОЙ
МЕДИЦИНЫ



ШКОЛА МОЛОДОГО УЧЕНОГО РНФ

ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ
РЕГЕНЕРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ:
РЕГУЛЯЦИЯ ОБНОВЛЕНИЯ
И РЕПАРАЦИИ ТКАНЕЙ ЧЕЛОВЕКА





Глубокоуважаемые коллеги!

17 ноября 2021 года в Московском университете прошла очередная Школа молодого ученого РНФ в рамках гранта РНФ 19-75-30007 «Фундаментальные проблемы регенеративной медицины: регуляция обновления и репарации тканей человека». Проведение Школы позволило обсудить самые актуальные направления регенеративной биомедицины, клеточной биологии, физиологии и биохимии, которые все теснее связываются с вопросами долголетия человека, обновления и восстановления тканей и органов после повреждения и болезней.

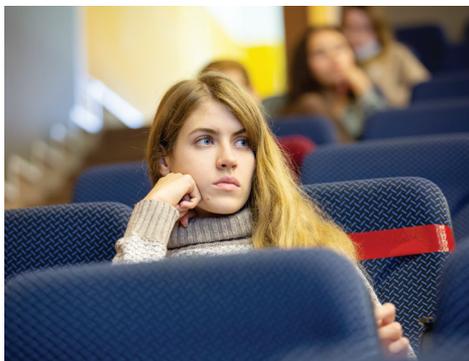
Программа Школы включала актовую лекцию руководителя проекта и два симпозиума. В актовой лекции были освещены основные направления, по которым в ближайшие годы будет развиваться регенеративная медицина, и обозначены перспективы трансляции новых современных регенеративных подходов в клиническую практику. Среди научных тематик первого симпозиума большое внимание было уделено механизмам метаболической, нейроэндокринной и эпигенетической регуляции активности постнатальных стволовых клеток человека. Второй симпозиум был сфокусирован на механизмах дифференцировки и трансдифференцировки клеток в процессах репарации и регенерации тканей.

В работе Школы приняли участие ведущие ученые в области регенеративной медицины, а сопредседателями выступили молодые ученые - основные исполнители проекта.

Мы благодарим всех за участие в работе Школы и будем рады видеть вас на будущих мероприятиях, посвященных регенеративной медицине.

Руководитель проекта
Декан ФФМ МГУ
Директор Института регенеративной медицины МНОЦ МГУ
академик **Ткачук В.А**







Руководитель гранта:
академик

Ткачук Всеволод Арсеньевич,
Директор Института регенеративной
медицины, зав. кафедрой биохимии и
молекулярной медицины,
Декан Факультета фундаментальной
медицины МГУ имени М.В. Ломоносова

Регенеративная биомедицина – современная область медицинской науки, ставящая своей целью выяснение фундаментальных механизмов взаимодействия стволовых и прогениторных клеток в тканях взрослого организма и создание лекарственных препаратов, которые регулируют обновление клеток в теле человека. Поиск таких механизмов в последние годы привел к изменению парадигмы современной биомедицинской науки. Оказалось, что стволовые клетки взрослого организма способны в ответ на определенные сигналы перепрограммировать соседние клетки. Этот процесс происходит и в ходе нормального онтогенеза, и при повреждении тканей, в том числе при развитии онкологии, воспаления и фиброза.

Симпозиум 1 Механизмы регуляции регенеративных процессов в тканях

Симпозиум «Механизмы регуляции регенеративных процессов в тканях» посвящен обсуждению различных механизмов метаболической, нейроэндокринной и эпигенетической регуляции активности постнатальных стволовых клеток человека.

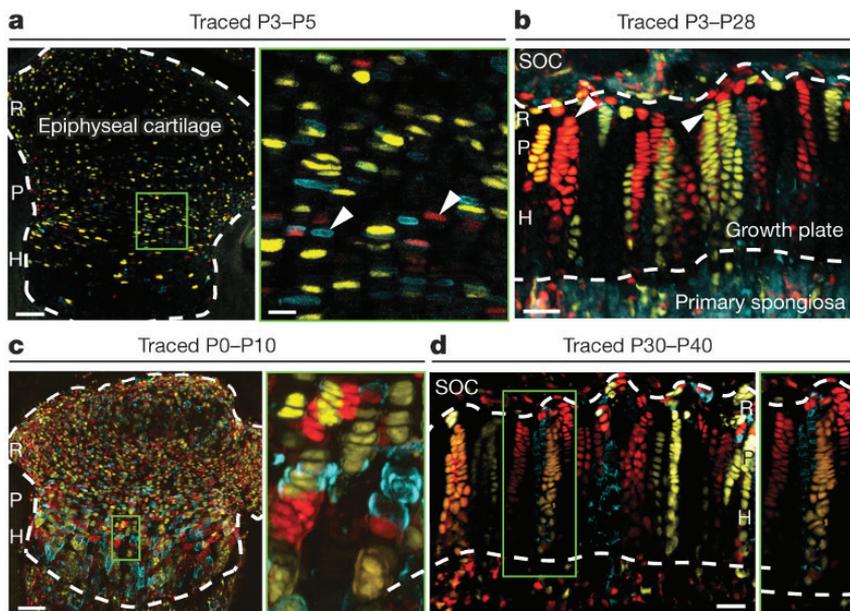


Докладчики:

- **Andrei S. Chagin** «Regulation of the Epiphyseal Stem Cells in the Growth Plate by Growth Hormone»
- **Воронцова Мария Владимировна, Кулебякин Константин Юрьевич** «Участие паратиреоидного гормона в контроле обновления костной ткани»
- **Зубарев Илья Владимирович** «Использование механизмов слияния мембран и сортировки РНК во внеклеточных везикулах в регенеративной медицине»
- **Семина Екатерина Владимировна** «Ген PLAUR как морфогенетический фактор головного мозга»
- **Ефименко Анастасия Юрьевна** «Механизмы гетерогенности ответа мезенхимных стромальных клеток на профибротические стимулы»

**Andrei S. Chagin,**

Karolinska Institutet, Stockholm (Швеция), Institute for Regenerative Medicine, Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow (РФ)



Regulation of the Epiphyseal Stem Cells in the Growth Plate by Growth Hormone

Recent findings identified novel stem cells (epiphyseal stem cells, epSCs) and the corresponding stem cell niche in the growth plate^{1,2}. The epSCs can be identified based on parathyroid hormone-related protein (PTHrP) expression. Growth hormone (GH) is a key regulator of longitudinal bone growth used clinically to promote growth among undergrown children. However, whether GH can regulate these novel epSCs remains unknown. To address this, we first pulsed PTHrP-mCherry reporter mice with single injection of either GH or vehicle and harvested them 2 hours later. Activation of JAK2-STAT5 pathway was observed in PTHrP+ epSCs of GH-treated mice, indicating direct action of GH (Fig.a). Consecutive injections of GH for 10 days (from postnatal day 28 (P28) to P37) decreased the number of PTHrP+ epSCs ($p < 0.0001$) (Fig.b). To assess proliferation of these slow-dividing cells, EdU was injected consecutively for the last 4 days (P34-37). The percentage of EdU+/mCherry+ cells showed no difference between GH- and vehicle-treated mice, suggesting that proliferation of epSCs was not affected by GH. Next, PTHrP-CreERT:R26tdTomato mice were pulsed with tamoxifen at P25 and the epSCs were traced in vehicle- and GH-treated mice (treatment from P28 to P37). The percentage of single Tomato+ cells decreased in GH-treated group ($38.4 \pm 6.4\%$ versus $51.3 \pm 2.6\%$, $p < 0.005$) whereas the percentage of large clones (> 5 cells/clone) increased from $4.6 \pm 4.0\%$ to $12.0 \pm 2.1\%$ ($p < 0.005$) (Fig.c). Importantly, the clones were arranged in longitudinally oriented columns indicating their recruitment toward chondrogenesis. Altogether, the data indicate that GH promotes committed differentiation of epiphyseal stem cells in the growth plate.

Reference

1. Mizuhashi, K. et al. Resting zone of the growth plate houses a unique class of skeletal stem cells. *Nature* 563, 254–258 (2018).
2. Newton, P. T. et al. A radical switch in clonality reveals a stem cell niche in the epiphyseal growth plate. *Nature* 567, 234–238 (2019).



**Воронцова
Мария Владимировна,**
Факультет фундаментальной
медицины МГУ имени М.В.
Ломоносова



**Кулебякин
Константин Юрьевич,**
Факультет фундаментальной
медицины МГУ имени М.В.
Ломоносова

ВЛИЯНИЕ ПТГ НА КОСТНУЮ ТКАНЬ

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ

мезенхимные стромальные клетки

- способны дифференцироваться в клетки костной ткани – остеобласты
- продуцируют широкий спектр пара- и аутокринных факторов, определяющих гомеостаз ткани
- находятся под строгим контролем со стороны системно действующих в организме гормональных факторов

ДЕЙСТВИЕ ПТГ НА МСК	напрямую (взаимодействие с рецептором на поверхности МСК)	<ul style="list-style-type: none"> • увеличение количества прогениторных клеток • активация пролиферации нестин-положительной популяции МСК (сопряжена с активацией сигналинга через Gas, нокаут данного G-белка в мышиных моделях приводит к накоплению адипоцитарных предшественников в костной ткани) • активация проостеогенных транскрипционных факторов, приводящих к индукции дифференцировки стволовых клеток в остеобласты и формирование кости
	опосредованно (через активацию других клеточных типов, которые регулируют стволовые клетки)	<ul style="list-style-type: none"> • гормон-зависимая стимуляция CD8+ Т клеток костного мозга (под действием ПТГ продукция большого количества фактора Wnt10b - активация пролиферации и дифференцировки МСК) • повышение локальной продукции ангиогенного фактора VEGF-A (Vascular endothelial growth factor A) и его рецепторных белков нейропилинов 1 и 2 - стимуляция перемещения малых капилляров костного мозга ближе к области остеогенеза - доступ питательных веществ и метаболитов для активных резидентных стволовых клеток (контроль васкуляризации костной ткани)

Участие паратиреоидного гормона в контроле обновления костной ткани

Паратиреоидный гормон (паратгормон, ПТГ) – пептидный гормон, который состоит из 84 аминокислотных остатков и является основным регулятором фосфорно-кальциевого обмена и метаболизма костной ткани. ПТГ реализует свои эффекты, связываясь со своим рецептором в почках и костной ткани. В почках ПТГ участвует в реабсорбции кальция путем активного транспорта. На реабсорбцию фосфатов в почках ПТГ оказывает ингибирующее действие. Помимо этого, ПТГ стимулирует синтез активной формы витамина D (1,25(OH)2D) в проксимальных почечных канальцах, а также подавляет транскрипцию гена 24-гидроксилазы, который инактивирует 1,25(OH)2D.

Рецепторы ПТГ являются G-белок-ассоциированными рецепторами (GPCR) и относятся к классу В. Выделяют несколько изоформ рецепторов, способных связывать ПТГ:

- Тип 1 – классический рецептор ПТГ, который в основном экспрессируется в костной ткани и почках и может быть активирован как ПТГ, так и ПГПП.
- Тип 2 – рецептор, который в основном экспрессируется в ЦНС и поджелудочной железе.

В костной ткани ПТГ вызывает местами противоречащие друг другу эффекты в связи с наличием нескольких групп клеток, которые по-разному реагируют на данный лиганд. Так, ПТГ оказывает прямое действие на остециты и остеобласты, а также регулирует резидентные стволовые клетки кости – предшественники остеобластов (МСК), в то время как действие ПТГ на остеокласты является опосредованным.

Кроме того, было показано, что при постоянном введении ПТГ в большой концентрации усиливаются процессы резорбции кости и мобилизации кальция из костей. При этом интермиттирующее введение ПТГ активирует костеобразование. Данная двойственность действия ПТГ может определять его роль как координатора баланса в процессах ремоделирования кости. Вместе с тем молекулярные механизмы, лежащие в основе столь отличных друг от друга процессов, изучены недостаточно.

Процессы ремоделирования происходят в кости человека постоянно. Скелет человека полностью замещается несколько раз в течении жизни, не меняя существенно формы и объема. Выделяют такое понятие как костная единица ремоделирования (basic multicellular unit (англ.), BMU) – это группа клеток, которая принимает участие в удалении и замещении структурной единицы костной ткани – остеона или трабекулы. В состав костной единицы ремоделирования входят остеокласты и остеобласты, которые и обеспечивают необходимые процессы для резорбции

имеющейся костной ткани (остеокласты) и закладки новой (остеобласты). Тонкий баланс между резорбцией и образованием костной ткани контролируется множеством факторов – эндокринных, паракринных и аутокринных. Дисбаланс между этими двумя процессами вследствие нарушений на различных уровнях регуляции костного ремоделирования является причиной целого ряда патологий.

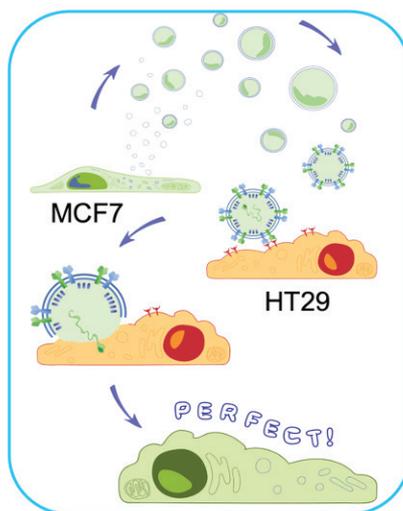
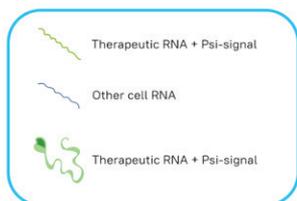
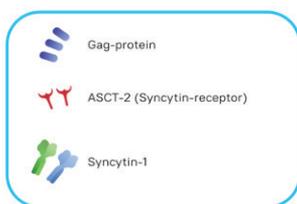
В докладе были обсуждены основные механизмы ПТГ-опосредованной регуляции ремоделирования костной ткани и особенности ответа МСК из разных тканевых источников на ПТГ.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №19-75-30007.



Зубарев Илья Владимирович,
Факультет фундаментальной медицины
МГУ имени М.В. Ломоносова

Дизайн эксперимента



Использование вирусных систем слияния мембран и сортировки нуклеиновых кислот для доставки РНК в целевые клетки во внеклеточных везикулах

В настоящее время разработка системы адресной доставки лекарственных средств становится все более актуальной. Этот способ терапии различных заболеваний является принципиально важным, так как позволяет таргетно воздействовать на целевые клетки; при этом увеличивается фармакотерапевтическая эффективность, а также снижается вероятность побочного действия. Целью проекта было получение системы, которая в дальнейшем могла быть использована для терапии различных заболеваний.

В любом органе есть специфичные молекулы, по которым можно нацелить систему доставки. Распространяясь по кровотоку, везикулы могут ориентироваться по тненеспецифичным молекулам эндотелия и клеток непосредственно целевого органа. Липосомами как возможные системы доставки не показали высокой эффективности, что связано с неспособностью специфично сливаться к нужным клеткам. В то же время, в ходе эволюции вирусы научились распознавать целевые клетки и преодолевать энергетический барьер слияния мембран. Однако они имеют ряд недостатков, связанных с ограниченной емкостью и иммуногенностью. Обе эти проблемы решаются применением везикул – их емкость значительно выше, а иммуногенность ниже. Слияние клеток и везикул является высококонтролируемым процессом, в нём участвуют специальные белки слияния. Эти белки деформируют билипидные слои, сближают их друг с другом и объединяют два компартмента. В работе использовался эндогенный ретровирусный белок слияния синцитин, рецепторы ASCT2 к которому оверэкспрессируются на клетках некоторых опухолей, например, колоректального рака (линия HT-29).

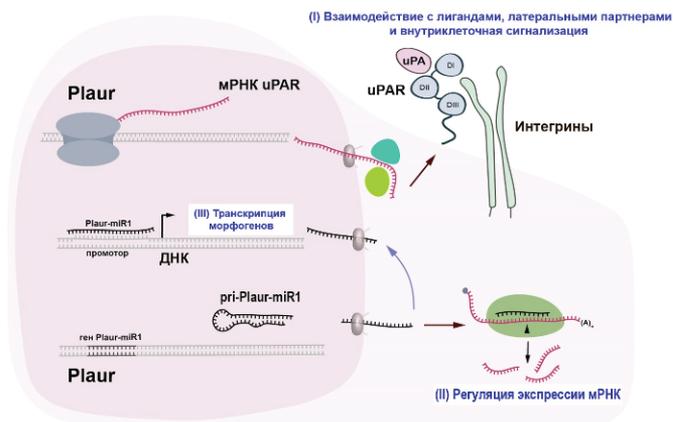
Мы разработали метод сортировки РНК, упаковки её во внеклеточные везикулы с последующей таргетной доставкой ее в клетки. Для упаковки РНК в везикулы мы получили клеточную линию продуцент MCF7 с постоянной экспрессией вирусного gag-белка. NC-домен gag-белка способен распознавать и связывать определённую РНК, закореваться с ней в мембрану клетки с помощью миристильных групп M-домена. Связывание с мембраной вызывает кластеризацию gag-белков друг с другом и образование липидных плотов. р6 домен gag-белка вовлекает компоненты ESCRT комплекса, необходимые для отпочковывания мембранных пузырьков - внеклеточных везикул. Специфические мотивы в структурных белках вируса обеспечивают рекрутирование аппарата ESCRT в сайты сборки вируса. gag-белок узнаёт нужную РНК для упаковки за счёт вставки участка сигнал упаковки ВИЧ1 в 5'-нетранслируемую область. Для визуализации работы сигнала упаковки использовался слитый ген GFP и b-галоксидазы.

Планируется осуществить доставку таким же образом РНК функциональных белков, определяющих репрограммирование клеток, способных влиять на метаболизм и жизнедеятельность клетки.



Семина Екатерина Владимировна,
Факультет фундаментальной медицины
МГУ имени М.В. Ломоносова, НМИЦ
кардиологии Минздрава РФ

Ген PLAUR как морфогенетический фактор головного мозга



Ген **PLAUR** как морфогенетический фактор головного мозга

Морфогенез представляет собой процесс формирования пространственной организации органов и тканей во время развития организма. Сложенная работа транскрипционных факторов в ядре, экспрессия навигационных рецепторов на мембране растущих клеток, а также присутствие растворимых морфогенетических факторов задают итоговый вектор развития органа и дифференцировку стволовых и прогениторных клеток, определяющих его функцию. В головном мозге правильная закладка структур важна для формирования нейронных сетей и кодирования когнитивной информации нервными клетками.

Урокиназный рецептор (uPAR) играет особую роль в процессах формирования и функционирования головного мозга. В головном мозге мыши *Plaur* является непосредственно ранним геном; высокая его экспрессия стимулирует радиальную миграцию нейронов к внешним слоям формирующейся коры в эмбриогенезе, поддерживает выживаемость и дифференцировку нейронов, защищает их от апоптотической гибели. Блокирование экспрессии uPAR нарушает траекторию роста аксона и усиливает ветвление, что определяет uPAR как навигационную молекулу в нервной системе. У человека полиморфизмы гена *uPAR (Plaur)* и/или его лигандов коррелируют с развитием когнитивных и нейродегенеративных расстройств, в т.ч. эпилепсии, расстройств аутистического спектра, шизофрении, болезни Альцгеймера, и др.

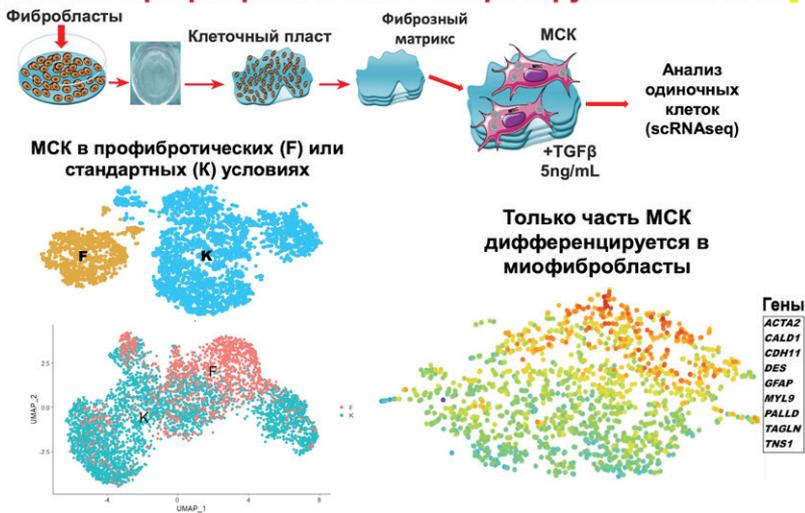
Мы обнаружили в последовательности интронов *Plaur* ранее неизвестную микроРНК - *Plaur-miR1*, потенциально определяющую тот спектр эффектов, который не может быть объяснен функцией uPAR как белка. Уровень экспрессии *Plaur-miR1* в головном мозге мыши регулируется уровнем экспрессии самого гена *Plaur*, и в случае экспериментального нокаута *Plaur* происходит полное подавление экспрессии *Plaur-miR1*. Проведя биоинформатический, а далее экспериментальный поиск мишеней, контролируемых экспрессией *Plaur-miR1*, мы определили две мишени – это транскрипционные факторы *Emx2 (Empty Spiracles Homeobox 2)* и *Mef2d (Myocyte-specific enhancer factor 2D)*. *Emx2* играет основополагающую роль в формировании структуры и отделов ЦНС, определяя локализацию и судьбу клеток в развивающемся неокортексе, и, возможно, что морфогенетическая функция *Plaur* в головном мозге реализуется именно за счет *Plaur-miR1* и её мишени *Emx2*. Другая мишень *Plaur-miR1*, *Mef2d*, координирует программу экспрессии генов, определяющих развитие и поддержание нейрогенеза, апоптоз и дифференцировку нейронов, а нарушение экспрессии *Mef2d* является фактором риска возникновения патологий в развитии мозга и целого ряда психических заболеваний: аутизма, когнитивных расстройств и шизофрении. Учитывая данные об ассоциации полиморфизмов *Plaur* с когнитивными расстройствами, а нокаута гена *Plaur* с нарушениями формирования структур головного мозга, девиантным поведением и эпилепсией, можно предполагать реализацию нейропротекторных эффектов uPAR через *Plaur-miR1* и её мишень *Mef2d*.

Полученные данные о функциях uPAR открывают новые перспективы в понимании развития, функционирования и патологий ЦНС, и расширяют наше представление о роли гена *Plaur* как морфогенетического фактора в развитии головного мозга.



Ефименко Анастасия Юрьевна,
Институт регенеративной
медицины Медицинского научно-
образовательного центра, Факультет
фундаментальной медицины МГУ
имени М.В. Ломоносова

Влияние профибротического микроокружения на МСК



Механизмы гетерогенности ответа мезенхимных стромальных клеток на профибротические стимулы

Прогрессирующий фиброз представляет собой неблагоприятный исход заживления тканей при повреждении. Мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (МСК) играют особую роль в развитии фиброза: с одной стороны, МСК могут дифференцироваться в миофибробласты, способствуя прогрессированию фиброза, но они также могут подавлять фиброз, продуцируя антифибротические факторы и микроРНК. Мы предположили, что МСК могут включать отдельные субпопуляции, которые по-разному отвечают на профибротические стимулы.

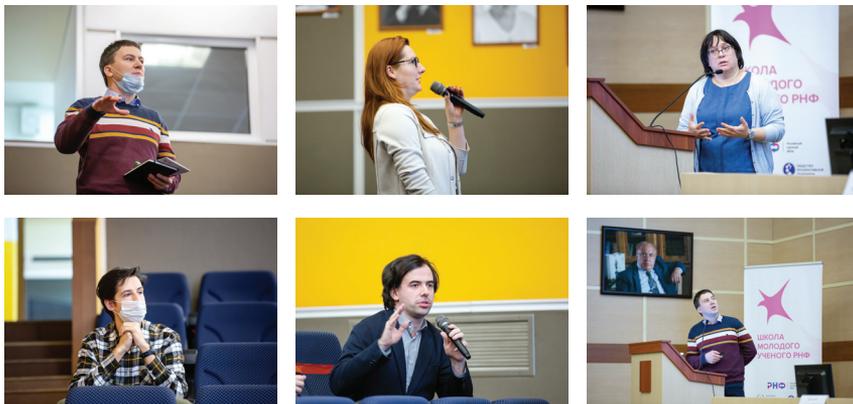
Чтобы проверить эту гипотезу, мы культивировали МСК, полученные из жировой ткани человека, в течение 4 дней с ключевым профибротическим фактором TGF β на фибротическом децеллюляризованном внеклеточном матриксе (ВКМ), продуцируемом фибробластами. Затем мы проанализировали транскриптом единичных клеток в образцах МСК, культивируемых в профибротических условиях по сравнению со стандартными (10x Genomics), с использованием Loupe Browser и Serrat, построением траекторий развития, графика латентного времени (псевдоремя) и скорости РНК. Фенотип субпопуляций клеток предсказывали с использованием библиотек клеточных маркеров (BLUEPRINT, Human Protein Atlas, PanglaoDB) и индивидуального программного обеспечения.

Мы обнаружили, что в профибротических условиях только часть МСК дифференцируются в миофибробласты. Так, в таких условиях клетки могут быть разделены на 2 кластера, значительно различающихся по экспрессии альфа гладкомышечного актина (α SMA) – ключевого маркера миофибробластов. Клетки α SMA + характеризовались повышенной экспрессией генов сократительных белков и белков ВКМ (тропомиозин 1, филамин С, кальдесмон 1, трансгелин и др.), ингибиторов протеаз (PAI-1), белка 3, связывающего инсулиноподобный фактор роста, и фактора роста фибробластов-2. В α SMA-клетках были представлены транскрипты белков ВКМ (дерматопоинтин (DTP), фибулин 1) и протеаз, ремоделирующих матрикс (MMP11, урокиназа), а также факторы, участвующие в секреции внеклеточных везикул. Анализ траекторий развития, псевдоремя и скорости РНК подтвердил идентификацию кластера клеток с маркерами миофибробластов в составе МСК, в то время как гены MMP11, DTP, сортирующего нексина-9 и катепсина К были активированы в α SMA-субпопуляции МСК в профибротических условиях. Методом биоинформатического анализа мы выявили поверхностные маркеры, характерные для α SMA-субпопуляции МСК, среди которых был выбран PDGFR α . С использованием антител к этому маркеру МСК, культивированные в стандартных или профибротических условиях, были разделены на две субпопуляции методом проточного сортирования. Мы показали, что в PDGFR α + субпопуляции МСК действительно снижен уровень экспрессии α SMA и коллагена I типа, а также эти клетки обладают меньшей сократительной способностью по сравнению с PDGFR α - МСК. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №19-75-30007.

Симпозиум 2

Современные подходы к изучению механизмов дифференцировки клеток

Симпозиум был сфокусирован на механизмах дифференцировки и транскрипционной дифференцировки клеток в процессах репарации и регенерации тканей.



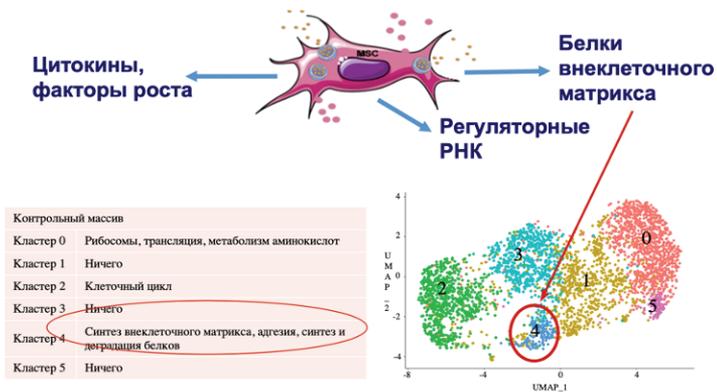
Докладчики:

- **Калинина Наталья Игоревна** «Мезенхимный резерв» соединительных тканей: от Максимова и Заварзина до наших дней»
- **Тарабыкин Виктор Степанович** «Making neuronal circuits: role of Zeb2 transcription factor»
- **Карагяур Максим Николаевич** «Роль мезенхимных стромальных клеток в процессах регенерации нервной ткани»
- **Roman Rodionov, Stefan Bornstein** «Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a major therapeutic target in metabolic and regenerative medicine»
- **Tatiana V. Vyzova** «Toll-like receptor in tissue regeneration»



Калинина Наталья Игоревна,
Факультет фундаментальной медицины
МГУ имени М.В. Ломоносова

Анализ транскриптома одиночных МСК (x10 Genomics) позволил выявить несколько субпопуляций, отличающихся функциональной активностью

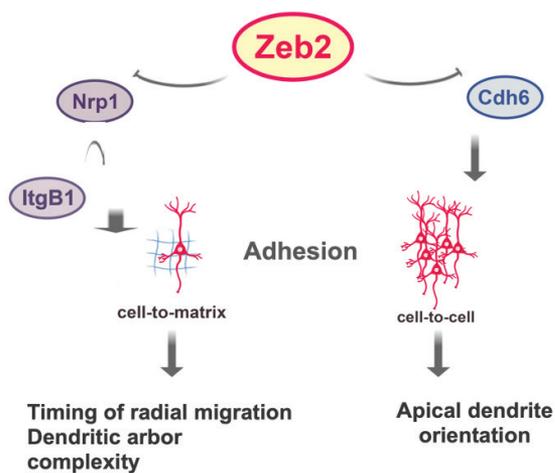


«Мезенхимный резерв» соединительных тканей: от Максимова и Заварзина до наших дней

Более века назад русским ученым А.А. Максимовым была сформулирована гипотеза о том, что способность соединительных тканей к адаптации к внешним воздействиям определяется присутствием малодифференцированных клеток, которые он назвал «клетками мезенхимного резерва». Позже в работах А.А. Заварзина и его учеников были получены доказательства участия таких клеток в обновлении состава соединительных тканей. Прямые доказательства присутствия в соединительных тканях мультипотентных клеток с высокой пролиферативной активностью были получены А.Я. Фриденштейном, который обнаружил в строме костного мозга клетки, способные формировать колонии фибробластов. Современные подходы, позволяющие анализировать транскриптом одиночных клеток, существенно расширили представления как о функциях клеток соединительных тканей, так и о механизмах их обновления. Так, при анализе стромы жировой ткани, в том числе в рамках проекта, поддержанного РНФ, были выделены прогениторные клетки, по крайней мере, двух типов: первый отличался экспрессией генов, свидетельствующей о высокой пролиферативной активности этих клеток, а второй – экспрессией ранних генов адипоцитарной дифференцировки. Кроме того, была обнаружена регуляторная субпопуляция стромальных клеток, секреторная активность которых препятствует адипоцитарной дифференцировке. Анализ субпопуляций фибробластов – основных клеток, формирующих строму тканей – также позволил выявить 2 типа прогениторных клеток, паттерн экспрессии генов которых свидетельствовал о разной локализации относительно кровеносных сосудов и функциональной активности. Интеграция массивов данных с помощью реципрокного анализа главных компонент позволила сопоставить клеточный состав стромы различных тканей. Данные, полученные в результате такого анализа свидетельствуют о том, что транскрипционный профиль фибробластов и их субпопуляционный состав в разных тканях существенно отличаются друг от друга. Однако субпопуляции прогениторных клеток и их экспрессионный профиль в большинстве тканей совпадали. Таким образом, современные подходы позволили подтвердить гипотезу А.А. Максимова о существовании «мезенхимного резерва» соединительных тканей. Задачей будущих исследований должно стать выяснение механизмов специализации (дифференцировки), благодаря которым из фенотипически сходных прогениторных клеток формируются функционально различающиеся субпопуляции фибробластов в разных тканях. Работа выполнена при поддержке гранта РНФ №19-75-30007.



Тарабыкин Виктор Степанович,
НИИ нейронаук Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского, Институт клеточной биологии и нейробиологии клиники Шарите (Германия)

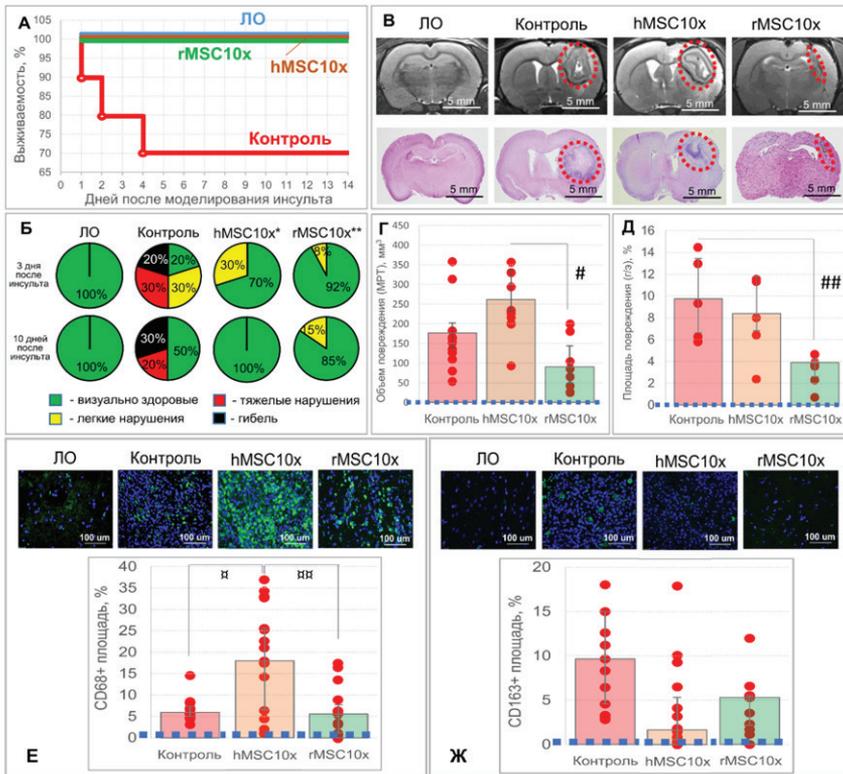


Making neuronal circuits: role of Zeb2 transcription factor

The neocortex is stereotypically organized into layers of excitatory neurons arranged in a precise parallel orientation. Here we show that dynamic adhesion both preceding and following radial migration is essential for this organization. Neuronal adhesion is regulated by the Mowat-Wilson syndrome-associated transcription factor Zeb2 (Sip1/Zfhx1b) through direct repression of independent adhesion pathways controlled by Neuropilin-1 (Nrp1) and Cadherin-6 (Cdh6). We reveal that to initiate radial migration, neurons must first suppress adhesion to the extracellular matrix. Zeb2 regulates the multipolar stage by transcriptional repression of Nrp1 and thereby downstream inhibition of integrin signaling. Upon completion of migration, neurons undergo an orientation process that is independent of migration. The parallel organization of neurons within the neocortex is controlled by Cdh6 through atypical regulation of integrin signaling via its RGD motif. Our data shed light on the mechanisms that regulate initiation of radial migration and the postmigratory orientation of neurons during neocortical development.



Карагаюр Максим Николаевич,
Институт регенеративной
медицины Медицинского научно-
образовательного центра МГУ имени
М.В. Ломоносова



Роль мезенхимных стромальных клеток в процессах регенерации нервной ткани

Мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (МСК) являются важными участниками процессов обновления тканей и их регенерации. Ранее мы показали, что МСК способны стимулировать восстановление структуры и функции периферического нерва и этот эффект основан на их способности продуцировать нейротрофические факторы.

Поскольку МСК показали свою высокую эффективность в стимуляции процессов регенерации периферической нервной ткани, мы решили изучить их нейропротективную активность в отношении головного мозга на модели геморрагического инсульта у крыс. Мы показали, что секретом МСК человека стимулирует выживаемость животных и улучшает восстановление их неврологических показателей в течение 14 дней после моделирования внутримозгового кровоизлияния по сравнению с группами отрицательного (без лечения) и положительного (мозговой нейротрофический фактор BDNF) контроля. Мы установили, что данный эффект, по крайней мере частично, обусловлен нейропротективным действием секрета МСК в отношении нейтральных клеток в условиях глутамат-опосредованной нейротоксичности. В то же время у этих животных обнаружили большой очаг повреждения (МРТ и гистологическое исследование) и выраженную активацию микроглии вокруг очага повреждения. Мы предположили, что активация микроглии может быть вызвана отдельными видоспецифичными компонентами секрета МСК. Чтобы проверить наше предположение, мы использовали аллогенный секретом МСК – секретом из МСК крыс. Он так же эффективно, как секретом МСК человека, стимулировал выживание экспериментальных животных (100%) и предотвращал развитие тяжелых неврологических нарушений, но в противоположность секретому МСК человека уменьшал очаг повреждения и не приводил к активации микроглии. Полученные данные позволяют рассматривать секретом МСК, как перспективный лекарственный препарат для терапии повреждений мозга, но для трансляции результатов этих исследований в клинику необходимо найти клинически-релевантные способы доставки и установить временное «терапевтическое окно».

МСК обладают протективным и прорегенераторным действием в отношении периферической и центральной нервной системы и что данный эффект во многом обусловлен секреторной активностью МСК. Предположительно эндогенные МСК в составе ниши нейтральной стволовой клетки и стромально-сосудистого компонента нервной ткани участвуют в процессах обновления и регенерации схожим образом. Это является целью наших дальнейших исследований.

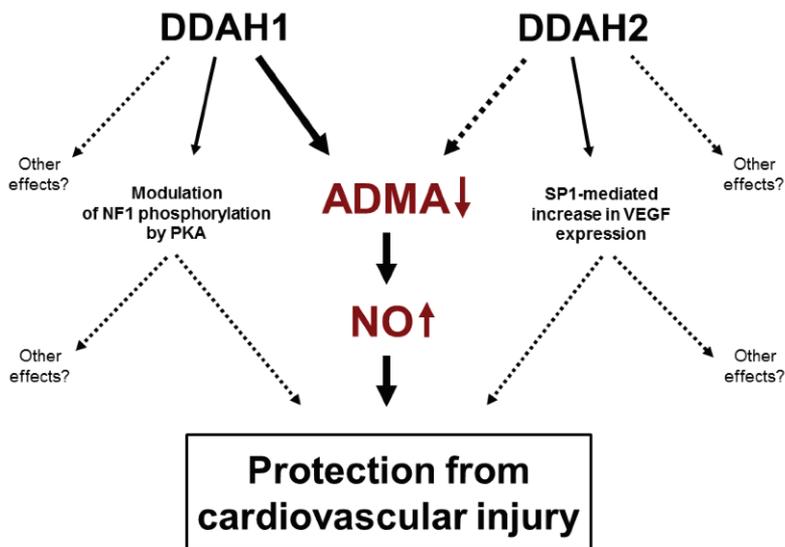
Работа выполнена при поддержке гранта РФ №19-75-30007.



Roman Rodionov,
Technische Universität Dresden
(Германия)



Stefan Bornstein,
Technische Universität Dresden
(Германия)



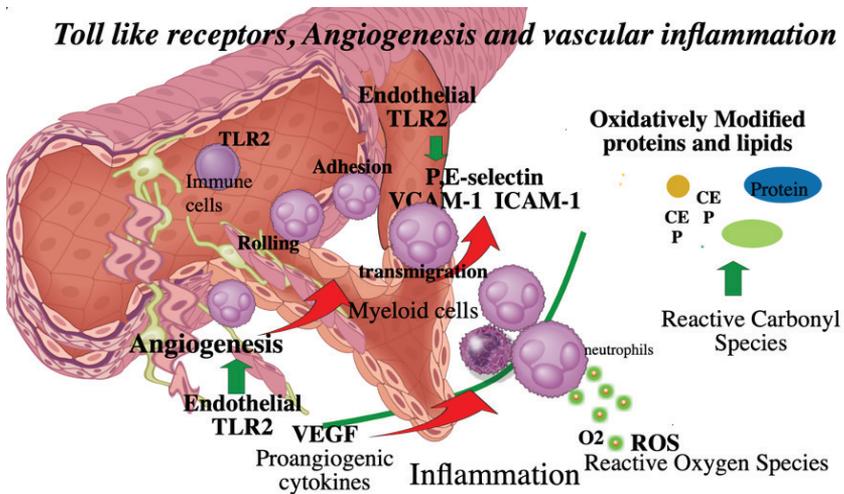
Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a major therapeutic target in metabolic and regenerative medicine

Asymmetric dimethylarginine (ADMA) is an endogenous methylated analogue of L-arginine, which can inhibit all isoforms of nitric oxide synthases. ADMA is derived from the proteolysis of the proteins that are methylated on arginine residues. Elevated levels of ADMA are associated with increased cardiovascular morbidity and mortality, and ADMA has been proposed to be an independent cardiovascular risk factor. Animal and cell culture studies as well as a short-term infusion of ADMA in healthy human volunteers have shown that ADMA can directly cause vascular damage. The major pathway for catabolism of ADMA is to citrulline and methylamines via the enzyme dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH). There are two isoforms of DDAH (DDAH1 and DDAH2) in mammals, each encoded by a separate gene. In addition, ADMA can be metabolized through an alternative pathway by alanine:glyoxylate aminotransferase 2 (AGXT2), which catalyses the transamination of ADMA using either glyoxylate or pyruvate as amino acceptors with formation of asymmetric dimethylguanidinovaleric acid (ADGV). Certain amounts of ADMA are excreted unchanged by kidneys.

We are using complementary cell culture and in vivo approaches to determine the role of ADMA/DDAH/AGXT2 system in different manifestations of cardiovascular disease. The cell culture approaches include gene transfer using viral vectors, siRNA-mediated knockdown and CRISPR-CAS9-mediated knockout of the target genes with subsequent evaluation of changes in cell phenotype, proliferation and production of the signaling molecules. In vivo approaches include virus-mediated overexpression, transgenic overexpression and knockout of the genes of interests with subsequent evaluation of the physiological and morphological end points in the animal model of human diseases.



Tatiana V. Byzova,
 Angiogenesis Center,
 Department of Neuroscience, Lerner
 Research Institute (CША)



Toll like receptors in regeneration and pathologies

Neovascularization and inflammation are intimately coupled physiological processes that contribute to vascular homeostasis, wound healing, and disease. Emerging clinical importance of innate immunity and Toll-like receptors (TLRs) and discoveries of new endogenous TLRs ligands generated by lipid oxidation and their expanding functions in human pathologies underscore importance of TLRs (TLR2 in particular) in vascular processes associated with inflammation. TLR2 expression is not restricted to immune system; it is functional on other cells, including endothelium and can be activated by bacterial and endogenous ligands, including products of lipid peroxidation. Endothelial-specific TLR2 is not only functional in healthy animals but it is necessary for vascular function, and its activation mediates the recruitment of leukocytes to inflammatory sites. TLR2 activation leads to the mobilization of P-selectin on the endothelium, followed by expression of E-selectin, VCAM-1, and ICAM-1 on the cell surface. Using tumor models we establish that endothelial specific knockout of TLR2 diminishes the recruitment of pro-tumorigenic immune cells, resulting in a significant reduction in CEP production, tumor vascularization, and tumor growth. In regeneration models TLR2 controls angiogenesis, tissue regeneration and hair regrowth after injury. While wound closure and revascularization process relies on TLR2 on endothelial cells, hair regeneration is controlled by TLR2 on hair follicles stem cells. Collectively, TLR2 on nonimmune cells plays a multifaceted role in regeneration and angiogenesis.

**Издано при поддержке
Российского научного фонда
(грант РНФ 19-75-30007)**



ШКОЛА
МОЛОДОГО
УЧЕНОГО РНФ