Poszukiwanie pluripotencjalnych komórek macierzystych w skórze ludzkiej

Julia Borowczyk-Michałowska
Zakład Biologii Komórki Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii
Uniwersytetu Jagiellońskiego

STRESZCZENIE

Skóra jest jednym z największych narządów organizmu, który stanowi wyspecjalizowaną barierę oddzielającą wnętrze ustroju od środowiska zewnętrznego. Dla zapewnienia pełnej jej funkcjonalności niezbędna jest obecność wytworzonych przez nią przydatków, do których zalicza się włosy, paznokcie, gruczoły łojowe i potowe. Zewnętrzną warstwę skóry tworzy naskórek charakteryzujący się zdolnością do samoodnowy. Kluczową rolę w zachow aniu homeostazy tej tkanki w warunkach fizjologicznych odgrywają komórki progenitorowe naskórka, które cechuje wysoki potencjał proliferacyjny. Z kolei komórki progenitorowe/ macierzyste rezydujące w obrębie przydatków odpowiadają nie tylko za ich regenerację, ale także biorą aktywny udział w odbudowie samego naskórka w przypadku zranienia.

Unipotencjalne komórki macierzyste naskórka nie warunkują odbudowy w pełni funkcjonalnej powłoki w przypadku rozległych i głębokich uszkodzeń skóry. Uzasadnione jest zatem poszukiwanie w skórze komórek o szerszym potencjale do różnicowania, których łatwe pozyskiwanie dla zastosowań klinicznych mogłoby zapewnić skuteczniejszą regenerację. Jednym z głównych antygenów powierzchniowych charakteryzujących macierzyste komórki pluripotencjalne jest glikosfingolipid SSEA-4. Celem przedstawionych badań było sprawdzenie, czy komórki posiadające antygen embrionalny SSEA-4 występują w dojrzałej skórze ludzkiej, a jeśli tak, czy komórki te mają charakter pluripotenjalny i mogą odpowiadać bardzo małym komórkom macierzystym o charakterze embrionalnym (VSEL).

W poniższej pracy zidentyfikowano populację komórek naskórka, które posiadają na swojej powierzchni embrionalny antygen powierzchniowy SSEA-4. Stwierdzono, że komórki te nie wykazują ekspresji czynników cechujących pluripotencjalne komórki macierzyste, a zatem nie odpowiadają one populacji komórek o fenotypie VSEL w skórze ludzkiej. Wcześniej opublikowane badania naszego zespołu wykazały, że rozległe oparzenia skutkują mobilizacją komórek VSEL ze szpiku kostnego do krwioobiegu. Interesującym zatem było zbadanie

udziału tej populacji komórek w regeneracji skóry. Doświadczenia *in vivo* przeprowadzone na modelu mysim nie wykazały jednak udziału komórek VSEL w gojeniu ran.

Analiza cytometryczna wykazała, że obecne w naskórku komórki SSEA-4$^+$ posiadają markery powierzchniowe charakterystyczne dla komórek macierzystych naskórka tj. β1- i α6-integryny. Zaobserwowano również zależność pomiędzy liczbą komórek SSEA-4$^+$ a miejscem pobrania tkanki, wskazującą na ich najliczniejsze występowanie w naskórku brzucha lub piersi.

Barwienia immunohistochemiczne pozwoliły na zlokalizowanie komórek SSEA-4$^+$ w ujściu przewodu wyprowadzającego gruczołu potowego (tzw. akrosyryngium). Potwierdzono obecność antygenu SSEA-4 zarówno na powierzchni komórek warstwy podstawnej jak i powierzchniowej przewodów gruczołów potowych. W zależności od badanego materiału mniejszy poziom glikosfingolipidu SSEA-4 obserwowano również na komórkach cewek wydzielniczych gruczołów lub na komórkach podścieliska. Analiza immunohisto-fluorescencyjna pokazała, że komórki SSEA-4$^+$ warstwy powierzchniowej przewodów wyprowadzających wykazują ekspresję antygenu CEA, będącego powszechnie stosowanym markerem gruczołów potowych. W przypadku, gdy obserwowano obecność SSEA-4 również w cewkach gruczołów, słabą ekspresję wykazywały zarówno komórki wydzielnicze posiadające keratynę 7, jak i komórki mioepitelialne, które cechuje ekspresja α-aktyny mięśni gładkich (αSMA).

Wykonane barwienia immunocytofluorescencyjne komórek SSEA-4$^+$ izolowanych enzymatycznie z naskórka, a następnie rozdzielonych przy zastosowaniu fluorescencyjnie aktywowanego sortera wykazały, że posiadają one ekspresję β1- i α6-integryny, a także antygenu CEA i potwierdziły, że istotnie populacja komórek SSEA-4 obserwowana w zawiesinie komórek naskórka pochodzi z akrosyryngium.

Podjęto także próby izolacji i hodowli *in vitro* komórek gruczołów potowych. Przeprowadzone analizy wykazały, że w hodowli *in vitro* obecne były jedynie komórki wydzielnicze cewek gruczołów potowych, wśród których znajdowały się pojedyncze komórki SSEA-4$^+$. Konieczne są dalsze badania, które pozwolą na optymalizację i hodowle komórek pochodzących również z przewodów wyprowadzających gruczołów potowych.

Podsumowując, w trakcie badań odkryto nie opisaną wcześniej populację komórek naskórka, które posiadają embrionalny antygen powierzchniowy SSEA-4. Uzyskane wyniki pozwoliły na zidentyfikowanie SSEA-4 jako nowego markera charakteryzującego najbardziej prymitywne komórki przewodów gruczołów potowych. Istnieje konieczność optymalizacji pozyskiwania i hodowli komórek SSEA-4^{+}, a powierzchniowy charakter antygenu mógłby pozwolić na efektywną izolację komórek gruczołów potowych, które mogą uczestniczyć w odbudowie gruczołów, a także naskórka i znaleźć w przyszłości zastosowanie w medycynie regeneracyjne.