

УДК 572.524.3: 611.018+576.54+57.053



Калмикова О. О.

ДУ «Інститут генетичної та регенеративної медицини НАМН», Київ, Україна
 Навчально-науковий центр «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка,
 Київ, Україна

e-mail: olesyakalmukova@gmail.com

СТОВБУРОВІ КЛІТИНИ НІГТЬОВОГО ОРГАНУ ССАВЦІВ

РЕЗЮМЕ

В огляді проведено аналіз сучасного стану експериментальних досліджень щодо можливостей виділення, культивування стовбурових клітин з нігтьового органу ссавців та можливої їх участі при регенерації кінцівки. Відомо, що нігтьова одиниця має в своєму складі пул малодиференційованих клітин, за рахунок яких відбувається постійний ріст та оновлення нігтьової пластинки протягом всього життя. Проте на сьогодні залишається невирішеним питання локалізації ніші стовбурових клітин в нігтьовому органі. Також дослідниками доведена участь цих клітин у відновленні ампутованих частин кінцівок, зокрема за рахунок активації певних сигнальних шляхів (*Wnt*, *BMP*, *Notch*), та епітеліо-мезенхімальних взаємодій, але детальний механізм цього процесу є маловивченим. Вважають, що нігтьовий орган має два джерела малодиференційованих клітин різного походження: проксимальна нігтьова складка та дорзальна частина нігтьового матриксу (*K15⁺*, *K19⁺*, *PHLDA1⁺*); і оніходерміс (*CD10⁺*, *CD34⁺*). Проте ці маркери не є загальноприйнятими, тому тривають пошуки комбінацій маркерів для вичерпної та повної характеристики стовбурових клітин з нігтьового органу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: стовбурові клітини, нігтьова одиниця, оніходерміс, регенерація кінцівки.

Нігті – структури, що ростуть на дорзальній стороні пальців та містять багато твердих кератинів. Нігті є похідними утвореннями епітеліальних тканин, на рівні з волоссям, копитами та кігтями. Ряд закордонних дослідників називають нігті «нігтьовим органом» або «нігтьовою одиницею», прагнучи підкреслити складність будови та механізмів їх функціонування [1, 2]. Недооцінка значення нігтьового апарату серед інших органів була зумовлена недостатнім знанням про біологію нігтя. На сьогодні останні дослідження в області фізіології нігтя виявили важливі біологічні аспекти, у тому числі наявність стовбурових клітин, комплексних сигнальних шляхів регуляції диференціації та гомеостазу нігтя, залучення цих шляхів у відновленні ушкодженої кінцівки, епітеліо-мезенхімальні взаємодії між нігтьовим епітелієм та специфічною нігтьовою мезенхімою – оніходермісом. У зв'язку з цим стає зрозумілим, що ніготь є більш складним органом і має більш важливу роль в існуванні організму, ніж вважалось раніше, і тому доцільним буде вживати терміни «нігтьовий орган/одиниця» замість звичайного «ніготь».

На даний момент тривають пошуки нових джерел стовбурових клітин для клітинної терапії, тому є актуальним розгляд нігтьової одиниці як потенційного місця локалізації малодиференційованих клітин, оскільки нігті ростуть та оновлюються протягом всього життя.

Регенерація кінцівок часто спостерігається у безхребетних та нижчих хребетних. Відновлення структури в цьому випадку відбувається за рахунок дедиференціації пулу недиференційованих клітин, які утворюють регенераційну бластему трохи нижче місця ампутації.

У вищих хребетних, зокрема ссавців, регенерація кінцівки відбувається за іншим сценарієм. Відомо, що об'єм якісного заміщення кінцівки залежить від ступеня її ушкодження, в тому числі по відношенню до нігтьового органу. Також з'ясовано визначну роль стовбурових клітин з нігтьового органу у стимулюванні проліферації та синтезу певних сполук (міжклітинного матриксу, факторів росту та інших) клітинами мезенхіми і кісткової тканини.

Одним із відкритих фундаментальних питань є біологія стовбурових клітин з нігтьової одиниці. В порівнянні з аналогічними структурами, наприклад, волоссяним фолікулом, де місцезнаходження ніші стовбурових клітин вже відомо – це зона *bulge* [3], нігтьовий орган є мало вивченим. Можливо, це пов'язано з важкодоступністю та інвазивністю в отриманні матеріалів для дослідження. Невідомим ще залишається походження цих стовбурових клітин: з нервового гребеня, з епітелію, чи з мезенхіми [4]. Отримані в майбутньому знання допоможуть розібратися в патогенезі та можливих шляхах лікування таких захворювань, як вітіліго [5], псоріаз [6], оніхомікоз [7] та інших, в патогенезі яких задіяні не тільки імунна система, а й порушення у функціонуванні меланоцитів, кератиноцитів, епітеліоцитів.

АНАТОМІЯ ТА ГІСТОЛОГІЯ НІГТЬОВОГО ОРГАНУ

Нігтьова одиниця та волоссяний фолікул – придатки шкіри, в їх будові більше спільного, ніж відмінного [8]. Ще в 1968 р. Achten G. запропонував гіпотезу, яка постулює аналогію цих двох структур: нігтьовий орган можна порівняти з поздовжнім перерізом волоссяного

фолікула, повернутого на 90° [9]. У той час як анатомічна аналогія між волосною цибулиною та нігтьовим матриксом, або між нігтьовою пластинкою та волоссяним стрижнем не викликає сумніву, то еквівалент bulge зі стовбуровими клітинами поки важко ідентифікувати в нігтьовому органі.

Основні компоненти нігтьової одиниці: проксимальна нігтьова складка (ПНС), дві латеральні і дистальна нігтьова складки, нігтьовий матрикс, нігтьове ложе і гіпоніхій – разом вони утворюють і підтримують нігтьову пластину – кератинізовану ороговілу структуру, яка постійно росте протягом усього життя [10]. Кожен компонент має специфічну гістологічну характеристику (рис. 1):

- **Проксимальна нігтьова складка** – інвагінація шкіри клиноподібної форми на дорзальній стороні пальця; має 2 поверхні, які гістологічно є різними: дорзальна поверхня є продовженням шкіри пальця з потовими залозами, але без сально-волоссяної організації; вентральна поверхня має тонкий епітелій без придатків та щільно прилягає до дорзальної поверхні нігтьової пластинки.
- **Кутикула** – є продовженням вентральної поверхні ПНС, складається з м'яких кератинів і утворює роговий шар пальця.
- **Нігтьовий матрикс** – починається одразу після закінчення ПНС, утворений тонким багат шаровим плоским епітелієм без гранулярного шару. Дорзальніше нігтьового матриксу є еозинофільний регіон – кератогенна зона, де проліферуючі кератиноцити з матриксу починають експресувати твердий кератин.
- **Нігтьова пластинка** – утворена в результаті прогресивного поширення клітин нігтьового матриксу по мірі їх дозрівання. Під час цього процесу спостерігається дезінтеграція їх ядер та високий рівень накопичення кератинів.
- **Нігтьове ложе** – простягається з дистального кінця нігтьового матриксу (луночка) до гіпоніхія. Складається з тонкого епітелія без гранулярного шару, епітеліоцити якого мають унікальне поздовжнє розташування.
- **Гіпоніхій** – прикриває дистальну нігтьову складку, утворений нормальним епітелієм з гранулярним шаром.

ЕМБРИОГЕНЕЗ НІГТЬОВОГО ОРГАНУ ЛЮДИНИ

На 10-му тижні розвитку з'являється первинне нігтьове поле, що обмежене проксимальною, латеральними і дистальною борозенками. В проксимальній частині первинного нігтьового поля знаходиться первинний примордіальний матрикс, який росте вентрально та, врешті-решт, інвагінує, утворюючи ПНС – кінець 13-го тижня. Впродовж 14-го тижня відбувається швидка диференціація примордіального матриксу в нігтьовий ділянці ПНС, де і починається формування нігтьової пластинки. По мірі росту нігтьового матриксу росте і нігтьова пластинка. До кінця 17-го тижня вона вже вкриває все нігтьове ложе [14].

РІЗНИЦЯ БУДОВИ НІГТЬОВОГО ОРГАНУ МИШЕЙ ТА ЛЮДИНИ

Доступність людського матеріалу для дослідження обмежена, оскільки процедура біопсії нігтьової одиниці є високоінвазивною і всього у людини є 20 нігтів. Тому гостро постає питання про схожість

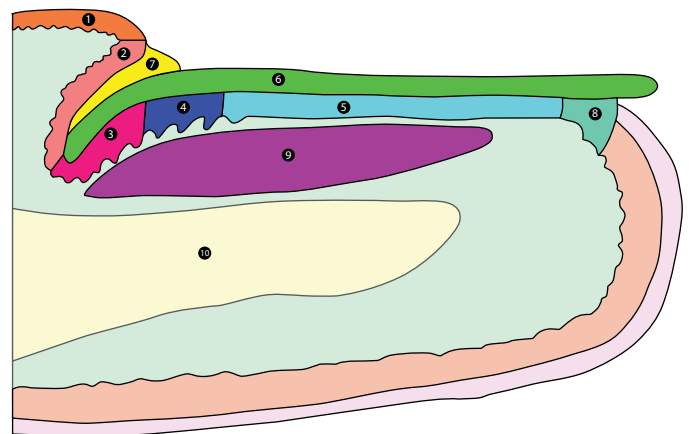


Рис. 1. Будова нігтьового органу людини:
 1 – дорзальна частина проксимальної нігтьової складки (ПНС);
 2 – вентральна частина ПНС;
 3 – дорзальна частина нігтьового матриксу;
 4 – вентральна частина нігтьового матриксу;
 5 – нігтьове ложе;
 6 – нігтьова пластинка;
 7 – кутикула;
 8 – гіпоніхій;
 9 – оніходерміс;
 10 – дистальна фаланга.

мишачих і людських нігтів. Джерелами людських нігтів може бути абортивний матеріал або післяопераційний (наприклад, після ампутації зайвих пальців при полідактилії).

Зазначимо, що нігтьовий орган мишей, зазвичай, називають кігтями, а людини – нігтями. На такій різниці в назві наполягав С. LeGros ще в 1936 році, прагнучи підкреслити їх відмінність [11]. На користь своєї пропозиції він навів декілька тез (табл. 1).

Зрозуміло, що приведені нижче відмінності демонструють тільки анатомічну різницю, а функціональні компоненти нігтьового органу представлені однаково у двох видів (рис. 2). Тому розмежування понять «кігті» і «нігті» є досить умовним.

Ряд дослідників для визначення подібності між нігтьовим органом мишей і людини проаналізували за допомогою імуногістохімічного дослідження рівень експресії м'яких і твердих кератинів [12, 13]. В нігтьовій одиниці миші виявлено локальні місця експресії кератинів (наприклад, в базальному шарі вентральної частини ПНС – кератини 5, 14; в супрабазальному шарі вентральної частини ПНС – 6, 10, 14; в базальному шарі дорзальної частини матриксу – 5, 6, 14, 17; та ін.), і більшість, але не всі з них, аналогічні тим, які знайдені в нігтьовому апараті людини (наприклад, тільки у людини присутня експресія кератину 1 в базальних та супрабазальному шарах вентральної частини ПНС та дорзальної частини матриксу) [11]. Різниця спостерігається в нігтьовому ложі через, як припускають, різну ступінь взаємодії

ОЗНАКА	ЛЮДИНА	МИША
Форма нігтьової пластинки	Заокруглена	Загострена
Розміщення дистального кінця нігтьової пластинки	Занурена в вентральну борозну	Закінчується плоским гіпоніхієм
Форма кістки термінальної фаланги	Опукла	Загострена
Спосіб з'єднання термінальної фаланги	Рухомо	Нерухомо

Таблиця 1. Порівняльна характеристика будови нігтьових органів людини та миші.

епітелію з дермальними елементами. У людини відбувається більш глибока взаємодія, оскільки дермальні сосочки заходять вглиб епітелію; у мишей ця взаємодія є менш вираженою – дерма має вигляд купола, що підстеляє епітелій в зоні нігтьового ложа.

Макроскопічні, мікроскопічні та імуногістохімічні дослідження показали, що нігтьовий орган мишей відповідає основним характеристикам нігтів людини. Тому все вищезазначене робить нігтьовий апарат мишей придатним для використання в якості модельного піддослідного об'єкту, гомологічного нігтьовому органу людини.

ДИФЕРЕНЦІАЦІЯ ТА ГОМЕОСТАЗ НІГТЬОВОЇ ОДИНИЦІ

Розвиток нігтьового органу тісно пов'язаний складними взаємодіями сигнальних шляхів ектодерми і мезодерми, оскільки диференціація нігтьового органу (як і волосяного фолікула) потребує зв'язку між епідермісом і мезенхімальними структурами під ним. Проте, якщо розвиток тут є однаковий, то механізми гомеостазу – різні, бо волосяний фолікул має циклічний характер росту: включає анаген (ріст), катаген (інволюція), телоген (відпочинок). Нігті ростуть постійно і мають механізм контролю регуляції між періодом росту і відпочинку. У координації взаємодій між епідермісом і мезенхімою під час індукції та диференціації нігтьової одиниці задіяно багато сигнальних молекул та шляхів, серед яких три відіграють визначальну роль: Wnt, BMP, Notch.

Wnt-шлях регулює як ембріогенез, так і тканинний гомеостаз в дорослому віці. Канонічний шлях складається з Wnt-лігандів (R-spondin – RSP0), комплексу рецепторів Frizzled (FZD) та транскрипційного коактиватора β -катеніну [15]. Мутації в генах RSP0 призводять до спадкової аноніхії та дефектів розвитку фаланги і нігтів [16, 17, 18]; в генах FZD – дистрофії нігтя [19, 20]; в генах β -катеніну – порушення формування нігтя [21]. Імуногістохімічні дослідження показали присутність рецепторів FZD на мембранах клітин базального шару нігтьового матриксу, в той час як ліганд RSP0 секретується дермальними фібробластими [22]. Також Wnt/ β -катеніновий шлях відіграє істотну роль на ранніх стадіях регенерації кінцівок, проте на пізніх стадіях його активація не є критичною [23].

BMP-шлях контролює кількість синтезу твердого кератину клітинами нігтьового ложа через транскрипційні фактори Msx2 і Foxp1. Мутації в цих генах призводять до гіперплазії нігтьового ложа, утворення крихких (Foxp1) та ламких (Msx2) нігтів [24]. Відповідно, BMP-шлях має додаткові функції по регуляції циклічної роботи клітин базального шару для підтримки гомеостазу дистального нігтьового матриксу та нігтьового ложа.

Notch-шлях відноситься до контакт-залежного сигналіну з обмеженим протеолізом, забезпечує просторове латеральне гальмування. Активація цього каскаду матриксними металопротеїназами (ММП), які секретуються клітинами мезенхіми, в кератогенній зоні нігтя веде до подовження нігтьової пластинки [25]. Окрім цього, ММП можуть регулювати проникність у міжклітинному матриксі факторів росту та сигнальних молекул до своїх ефекторів. Таким чином, відбувається контроль мезенхімою диференціації ектодермальних придатків.

ОНИХОДЕРМІС

Нігтьовий орган має спеціалізовану мезенхіму – оніходерміс, що складається з оніхофіброblastів, які є позитивними по CD10 (мембранозв'язана матриксна металопротеїназа), не експресують CD34 (трансмембранний білок, ліганд для селектину, рецептор хоумінгу) та Nestin, мають низьку спорідненість до еозину. Оніходерміс розташований безпосередньо під нігтьовим матриксом та нігтьовим ложем і є імуногістохімічно відмінним від оточуючої їх дерми нігтьової одиниці. При забарвленні альціановим синім клітини є позитивними на кислі полісахариди (мукополісахариди, глікозаміноглікани) [26]. Оніходерміс вже можна розрізнити в кінці другого триместру ембріонального розвитку людини. На початку розвитку вся дерма пальця має схожий фенотип (CD10⁺, CD34⁺); проте в кінці 13-го тижня ці маркери перестають експресуватися мезенхімою, окрім місця

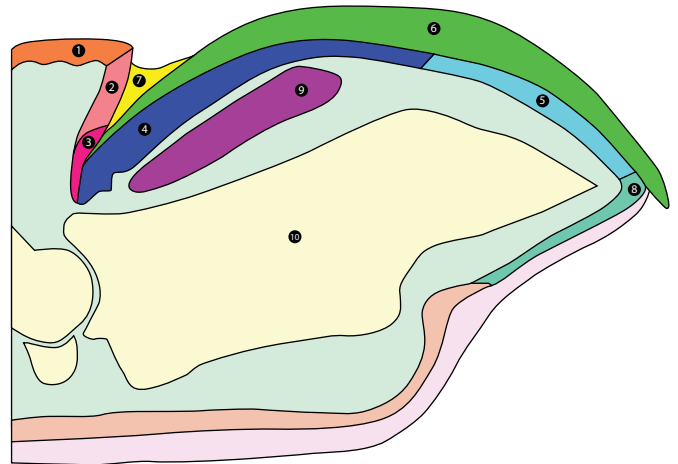


Рис. 2. Будова нігтьового органу миші:

- 1 – дорзальна частина проксимальної нігтьової складки (ПНС);
- 2 – вентральна частина ПНС;
- 3 – дорзальна частина нігтьового матриксу;
- 4 – вентральна частина нігтьового матриксу;
- 5 – нігтьове ложе;
- 6 – нігтьова пластинка;
- 7 – кутикула;
- 8 – гіпоніхій;
- 9 – оніходерміс;
- 10 – дистальна фаланга.

розташування оніходермісу, який зберігає ембріональні риси диференціації протягом всього життя, на відміну від звичайної сполучної тканини пальця. Подібної структури не було знайдено в ембріональному або дорослому волосяному фолікулі [27]. Цікавим є також свідчення про знаходження оніходермісу в місці розвитку ектопічних нігтів [28], що ще більше підкреслює важливість епітеліо-мезенхімальних взаємодій в біології нігтьової одиниці. Згідно попередніх досліджень з використанням модельної органотипової культури, оніхофіброblastи, які знаходились навколо клітин нігтьового матриксу, індуквали експресію твердих кератинів кератиноцитами не з нігтьового матриксу через епітеліо-мезенхімальні взаємодії і включення BMP-сигнального каскаду [29].

СТОВБУРОВІ КЛІТИНИ З НІГТЬОВОГО ОРГАНУ

На відміну від волосяного фолікула, де зона розташування стовбурових клітин добре описана [30, 31], в нігтьовому органі пошук ніші стовбурових клітин триває. Припускають знаходження цих клітин у вентральній поверхні ПНС, нігтьовому ложі, нігтьовому матриксі.

Стовбурові клітини мають певну особливість: ці клітини мають дуже повільний клітинний цикл і тому можуть зберігати екзогенно введена мітку в ядрі протягом декількох тижнів. На цьому базується дослідження по включенню бромдезоксидуридину (BrdU) в ядро клітин нігтьового органу з наступною імуногістохімічною детекцією клітин, які довго її зберігають. Виявилось, що такі клітини знаходяться в частині базального шару нігтьового матриксу, який прилягає до нігтьового ложа (дистальної частини матриксу), тобто в середній зоні нігтьової одиниці [22].

Іншим підходом було порівняння розмірів колонієутворюючих одиниць (КУО) клітин базального шару нігтьового матриксу і нігтьового ложа. Найбільшим розміром КУО відрізнялися клітини з проксимальної частини нігтьового матриксу, яка прилягає до кінця вентральної поверхні ПНС [21].

Оскільки волосяний фолікул і нігтьовий орган є похідними епітелію, то були спроби по аналогії імуногістохімічно пофарбувати на білки, які є маркерами клітин із зони bulge (цитокератини 15, 19,

PHLDAI – pleckstrin-homology-like domain, family A, member1 молекула задіяна в регуляції апоптозу). В результаті високу експресію по всіх маркерах мала зона вентральної поверхні ПНС. Це може свідчити про те, що вентральна поверхня ПНС еквівалентна зоні bulge і цілком може бути місцем для розташування стовбурових клітин з нігтьової одиниці [32]. Крім цього, фарбування на Ki-67 (маркер клітин, які активно проліферують) показало високу його експресію у клітинах нігтьового матриксу та низьку в зоні вентральної поверхні ПНС. Для порівняння, клітини із bulge є негативними на Ki-67, бо стовбурові клітини рідко діляться [33].

Відповідно, в подальшому була застосована методика по виявленню клітин, що зберігають мітку, для ідентифікації стовбурових клітин в базальному шарі ПНС. Було продемонстровано розташування цих клітин у вигляді 3D кільцеподібної об'ємної структури, організованої навколо основи нігтя. Ця популяція клітин експресує маркери стовбурових клітин волоссяного фолікула, є позитивною на кератин 15, та робить свій внесок у підтримання структури як нігтьового органу, так і епідермісу, що знаходиться навколо. За нормальних умов ці клітини є біфункціональними: дають початок кератиноцитам і епітеліоцитам. Але під час травми вони здатні перенаправляти потік стовбурових клітин у відповідь на uszkodження, діючи через сигнальні шляхи Wnt, BMP і на оніходерміс. Доведена диференціація цих клітин через проміжний стан (клітин з помірним темпом клітинного циклу) у клітини нігтьового матриксу (з високою швидкістю клітинного поділу) [34].

КУЛЬТИВУВАННЯ КЛІТИН З НИГТЬОВОГО ОРГАНУ

Актуальним на сьогодні є пошук методів виділення культур та маркерів клітин з нігтьового органу, зокрема малодиференційованих стовбурових клітин. Перші спроби були зроблені в 1992 році двома групами вчених – Picardo M. та ін., Kitahara T. та ін. – які досліджували експресію твердих (hair-type keratins) і м'яких (skin-type keratins) кератинів клітинами нігтьового органу. Вони отримали культуру клітин з нігтьового матриксу людини, а саме з вентральної її частини [35, 36]. В результаті було проаналізовано морфологію цих клітин на ультраструктурному рівні. Виявилось, що в порівнянні з епідермальними кератиноцитами, клітини з нігтьового матриксу є більшими за розміром, мають високе співвідношення еухроматину до гетерохроматину, низьке ядерно-цитоплазматичне співвідношення і високу швидкість росту [37]. Також було показано експресію твердих кератинів (AE13 антитіло проти високосульфатованих білків) саме клітинами з вентральної частини нігтьового матриксу і, відповідно, її похідними, завдяки чому з'явилась можливість чітко відокремити клітини нігтьового матриксу від звичайних епітеліальних кератиноцитів. У зв'язку з цим, тверді кератини по відношенню до клітин з нігтьового матриксу називають «кератинами, спорідненими з диференціацією». Доведено, що в культурі ці клітини починають експресувати тверді кератини при концентрації кальцію 0,15 мМ, тобто перебувають на стадії диференціації; тоді як при концентрації кальцію нижче 0,1 мМ – експресія не спостерігається. З цього слідує, що диференціацію клітин з нігтьового матриксу можна регулювати за допомогою зміни концентрації кальцію ззовні.

Пізніше були введені в культуру клітини з нігтьового матриксу копії біка та кігтів мишей [38, 39]. Показано, що за експресію кератинів в нігтьовому матриксі виділяють 3 типи клітин: ті, які синтезують м'які кератини 10/11 (дорзальна частина нігтьового матриксу), тверді (вентральна частина нігтьового матриксу) та клітини, які синтезують 2 види кератинів одночасно (апикальна частина нігтьового матриксу) [40]. Клітини апикальної частини є проміжною ланкою диференціації між клітинами вентральної і дорзальної частин. Під час культивування клітин з вентральної частини нігтьового матриксу, які *in vivo* синтезують тверді кератини, було помічено, що частина клітин експресує м'які кератини. Це свідчить про те, що деякі клітини змінюють свій напрямок диференціації, замінюючи ті частини нігтьового матриксу, яких не вистачає *in vitro*.

Дослідження останніх років направлені на пошук маркерів стовбурових клітин з нігтьового органу та розробку протоколів виділення цих клітин [21, 41].

НИГТЬОВИЙ ОРГАН ТА ПЕРСПЕКТИВИ ДЛЯ РЕГЕНЕРАТИВНОЇ МЕДИЦИНИ

Як показали дослідження останніх років, здатністю відновлювати частину пошкодженої кінцівки володіють не лише амфібії та плазуни, а й за певних умов і ссавці. Цей процес регенерації потребує присутності нігтьового органу. Ступінь і повнота цього відновлення залежить від рівня ампутації по відношенню до нігтьового органу: при ампутації дистальної фаланги кінцівки спостерігається майже повне відтворення цілісності та вихідної форми нормальної неушкодженої кінцівки. Межа, при якій зберігається досконала регенерація, проходить по середній лінії між проксимальним кінцем дистальної фаланги і середньою частиною нігтьового матрикса пальця [42]. Також була показана кореляція між збереженням нігтьової одиниці і регенерацією ампутованої кістки. В експериментах Zhao W. та ін. кінці фаланг у мишей були ампутовані на різних рівнях (дистальному – вилучалась невелика частина термінальної фаланги і проксимальному – термінальна фаланга повністю) так, що ніготь був видалений повністю або частково зберігався. При відсутності нігтя кістка не відростала навіть при uszkodженні на дистальному рівні. І навпаки, коли нігті зберігали, кістки відновлювались при uszkodженні на проксимальному рівні [43].

Регенерація кінцівок у нижчих хребетних відбувається за рахунок утворення бластем – пулу гомологічних малодиференційованих клітин, які утворюються шляхом дедиференціації (клітина частково залишається комітованою, проте відновлює здатність до мітозів) поблизу місця uszkodження, проліферують в специфічній зоні розмноження (зверху наростають вже диференційовані клітини, а бластема залишається на постійному місці) з подальшою редиференціацією (повторна диференціація в клітини того ж виду, наприклад, у хвостатих амфібій), трансдиференціацією (в інші клітини того ж зародкового листка, наприклад, у тритона, аксолотля), метоплазією (в клітини іншого зародкового листка, наприклад, у немуртини, асцидій).

У вищих хребетних регенерація кінцівки також відбувається за рахунок пулу малодиференційованих клітин, які експресують ембріональні гени, проте ця популяція клітин є гетерогенною (оніофібробласти, ендотеліальні прогенітори, остеобласти, стовбурові клітини з ПНС, нігтьового матриксу). Ці клітини є тканинними резидентами, вони є чітко комітованими відповідно до своєї приналежності зародковим шарам і відновлюють тільки ті uszkodжені частини, які є їх похідними [44]. Організує їх роботу за допомогою сигнальних молекул епітелій нігтьового органу [1], оскільки після трансплантації частини нігтьового органу ампутована проксимальна фаланга відростає [45]. Успіх регенерації фаланги пальця залежить від рівня ампутації і потребує наявності оніодермісу [46]. Більшість клітин бластем експресує маркер стовбурових клітин Sca-1, та ендотеліальний маркер CD31 [47]. Також було показано, що при виключенні β-катеніну у клітинах нігтьового органу порушується Wnt-сигнальний шлях і зупиняється регенерація кістки [21]. Після ампутації у нігтьових прогеніторних клітинах активується Wnt-шлях, в той же час мезенхімальні клітини проліферують і експресують Runx2 – ключовий транскрипційний фактор, який асоційований з диференціацією остеобластів.

Крім Wnt-шляху в регенерації грає роль і BMP-сигнальний каскад. Після ампутації спостерігається зниження експресії двох інгібіторів BMP каскаду Vambl і Dcofin у всіх клітинах нігтьового органу, що призводить до підвищення синтезу BMP (зокрема BMP-4), і, як наслідок, Msx-1 і Msx-2, тим самим забезпечуючи підвищення проліферації як клітин нігтьового органу, так і оніодермісу [34, 48, 49]. Msx-1-позитивний оніодерміс під час регенерації відіграє роль сигнального центру, який продукує необхідні паракринні фактори [46]. Доведено, що таргетна терапія, яка активує BMP-2 і BMP-7, стимулює відновлення кінцівки при uszkodженні фаланги на проксимальному рівні [50].

У хвостатих амфібій (саламандри) успішна регенерація залежить від мітогенних сигналів, які продукують нервові клітини. На противагу цьому, відновлення фаланги пальця миші проходить навіть за відсутності нервових волокон, що свідчить про інші джерела сигнальних молекул (ПНС, нігтьовий матрикс, оніходерміс). Проте інколи можуть спостерігатися дефекти в кістках фаланги (дезорганізована структура кісткової тканини замість трабекулярної) та ніг-

тьовому матриксі (гіпертрофія), наприклад, у пацієнтів з травмами спинного мозку [51].

Для індукції формування кісток фаланги потрібна наявність як Wnt-активованих клітин нігтьового матриксу, так і Msx-1-позитивного оніходермісу [52]. Така епітеліо-мезенхімальна взаємодія впливає на активацію Wnt, BMP та Notch-сигнальних шляхів у майбутніх остео-бластих через активацію гена Runx2 [53].

ВИСНОВКИ

Нігтьовий орган має два джерела малодиференційованих клітин різного походження: проксимальна нігтьова складка, дорзальна частина нігтьового матриксу і оніходерміс. Залишається досі не визначеним уніфікований набір маркерів для ідентифікації стовбурових клітин з нігтьового органу. Триває дослідження механізмів їх взаємодії між собою та впливів, які вони чинять на оточуючі тканини під час відновлення uszkodженої кінцівки. Подальше вивчення стовбурових клітин з нігтьової одиниці є перспективним для розвитку регенеративної медицини.

ЛІТЕРАТУРА

1. Saito M., Ohyama M., Amagai M. Exploring the biology of the nail: An intriguing but less-investigated skin appendage. // J Dermatol Sci. – 2015. – Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdermsci.2015.04.011>
2. De Berker D. Proliferative compartments in the normal nail unit [Text] / D. de Berker, B. Angus // Br J Dermatol. – 1996. – Vol. 135. – P. 555-559.
3. Myung P. Dissecting the bulge in hair regeneration [Text] / P. Myung, M. Ito // J Clin Invest. – 2012. – Vol. 122. – P. 448-454.
4. Naveau A. Tooth, hair and claw: comparing epithelial stem cell niches of ectodermal appendages [Text] / A. Naveau, K. Seidel, O. D. Klein // Exp Cell Res. – 2014. – Vol. 325, № 2. – P. 96-103.
5. Iannella G., Greco A., Didona D., et al. Vitiligo: Pathogenesis, clinical variants and treatment approaches // Autoimmun Rev. – 2015. – Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2015.12.006>
6. Wcisło-Dziadecka D., Zbiciak-Nylec M., Brzezińska-Wcisło L., et al. TNF- α in a molecularly targeted therap of psoriasis and psoriatic arthritis // Postgrad Med J. – 2015. – Available: [doi:10.1136/postgradmedj-2015-133419](https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2015-133419)
7. Tucker Jr. J. Nail Deformities and Injuries // Prim Care Clin Office Pract. – 2015. – Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pop.2015.08.005>
8. Baran R. Hair and nail relationship [Text] / R. Baran, R. P. Dawber, E. Haneke // Skinmed. – 2005. – Vol. 4. – P. 18-23.
9. Achten G. Normale Histologie und Histochemie des Nagels [Text] / G. Achten // In: Handbuch der Haut- und Geschlechtskrankheiten, Band/1 (Jadassohn, J., Hrsg.), Berlin-Heidelberg-New-York: Springer, 1968. – P. 339-376.
10. De Berker D. A., R. Baran & Dawber's diseases of the nails and their management [Text] / D. A. R. de Berker, R. Baran // 4th ed., Oxford, England: Wiley-Blackwell, 2012. – 832 p.
11. LeGros C. W. E. The problem of the claw in primates [Text] / C. W. E. LeGros // Proc Zool Soc. – 1936. – Vol. 1. – P. 1-24.
12. Comparative Anatomy of Mouse and Human Nail Units [Text] / P. Fleckman, J. Karin, K. A. Silva, et al. // Anat Rec (Hoboken). – 2013. – Vol. 296, № 3. – P. 521-532.
13. Perrin C. Expression of hair keratins in the adult nail unit: an immunohistochemical analysis of the onychogenesis in the proximal nail fold, matrix and nail bed [Text] / C. Perrin, L. Langbein, J. Schweizer // British Journal of Dermatology. – 2004. – Vol. 151. – P. 362-371.
14. Zaias N. Embryology of the human nail [Text] / N. Zaias // Arch Dermatol. – 1963. – Vol. 87. – P. 37-53.
15. Classical and desmosomal cadherins at a glance [Text] / M. Saito, D. K. Tucker, D. Kohlhorst, et al. // J Cell Sci. – 2012. – Vol. 125. – P. 2547-52.
16. The gene encoding R-spondin 4 (RSPO4), a secreted protein implicated in Wnt signaling, is mutated in inherited onychia [Text] / D. C. Blaydon, Y. Ishii, E. A. O'Toole, et al. // Nat Genet. – 2006. – Vol. 38. – P. 1245-1247.
17. Mutations in the gene encoding the Wnt-signaling component R-spondin 4 (RSPO4) cause autosomal recessive onychia [Text] / C. Bergmann, J. Senderek, D. Anhof, et al. // Am J Hum Genet. – 2006. – Vol. 79. – P. 1105-1109.
18. R-spondin2 expression in the apical ectodermal ridge is essential for outgrowth and patterning in mouse limb development [Text] / M. Aoki, H. Kiyonari, H. Nakamura, et al. // Dev Growth Differ. – 2008. – Vol. 50. – P. 85-95.
19. Recessive mutations in the gene encoding frizzled 6 cause twenty nail dystrophy — expanding the differential diagnosis for pachyonychia congenita [Text] / N. J. Wilson, C. D. Hansen, D. Azkur, et al. // J Dermatol Sci. – 2013. – Vol. 70. – P. 58-60.
20. FZD6 encoding the Wnt receptor frizzled 6 is mutated in autosomal-recessive nail dysplasia [Text] / G. Naz, S. M. Pasternack, C. Perrin, et al. // Br J Dermatol. – 2012. – Vol. 166. – P. 1088-1094.
21. Wnt activation in nail epithelium couples nail growth to digit regeneration [Text] / M. Takeo, W. C. Chou, Q. Sun, et al. // Nature. – 2013. – Vol. 499. – P. 228-232.
22. Nakamura M. The localization of label-retaining cells in mouse nails [Text] / M. Nakamura, O. Ishikawa // J Invest Dermatol. – 2008. – Vol. 128. – P. 728-730.
23. Wnt/ β -catenin signaling has an essential role in the initiation of limb regeneration [Text] / H. Yokoyama, H. Ogino, C. L. Stoick-Cooper, et al. // Dev Biol. – 2007. – Vol. 306, № 1. – P. 170-178.
24. Cai J. Msx2 and Foxn1 regulate nail homeostasis [Text] / J. Cai, L. Ma // Genesis. – 2011. – Vol. 49. – P. 449-459.
25. Lin M. H. Long-range, nonautonomous effects of activated Notch1 on tissue homeostasis in the nail [Text] / M. H. Lin, R. Kopan // Dev Biol. – 2003. – Vol. 263. – P. 343-359.

26. Lee D. Y., Park J. H., Shin H. T., et al. The presence and localization of onychodermis (specialized nail mesenchyme) containing onychofibroblasts in the nail unit: a morphological and immunohistochemical study // *Histopathology*. – 2012. – Available: DOI: 10.1111/j.1365-2559.2012.04210.x.
27. Sellheyer K. The concept of the onychodermis (specialized nail mesenchyme): an embryological assessment and a comparative analysis with the hair follicle [Text] / K. Sellheyer, P. Nelson // *J Cutan Pathol*. – 2013. – **Vol. 40**. – P. 463-471.
28. Onychodermis (specialized nail mesenchyme) is present in ectopic nails [Text] / J. H. Park, J. H. Kim, J. H. Lee, et al. // *J Cutan Pathol*. – 2013. – **Vol. 40**. – P. 600-602.
29. Induction of hard keratin expression in non-nail-matrical keratinocytes by nail-matrical fibroblasts through epithelial-mesenchymal interactions [Text] / M. Okazaki, K. Yoshimura, H. Fujiwara, et al. // *Plast Reconstr Surg*. – 2003. – **Vol. 111**. – P. 286-290.
30. Characterization and isolation of stem cell-enriched human hair follicle bulge cells [Text] / M. Ohyama, A. Terunuma, C. L. Tock, et al. // *J Clin Invest*. – 2006. – **Vol. 116**. – P. 249-260.
31. Ohyama M. Hair follicle bulge: a fascinating reservoir of epithelial stem cells [Text] / M. Ohyama // *J Dermatol Sci*. – 2007. – **Vol. 46**. – P. 81-89.
32. Sellheyer K. Nail stem cells [Text] / K. Sellheyer // *JDDG*. – 2013. – **Vol. 1103**. – P. 235-239.
33. Sellheyer K. The ventral proximal nail fold: stem cell niche of the nail and equivalent to the follicular bulge—a study on developing human skin [Text] / K. Sellheyer, P. Nelson // *J Cutan Pathol*. – 2012. – **Vol. 39**. – P. 835-843.
34. Bifunctional ectodermal stem cells around the nail display dual fate homeostasis and adaptive wounding response toward nail regeneration [Text] / Y. Leung, E. Kandyba, Y. B. Chen, et al. // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 2014. – **Vol. 111**. – P. 15114-19.
35. Kitahara T. Cultured nail keratinocytes express hard keratins characteristic of nail and hair in vivo [Text] / T. Kitahara, H. Ogawa // *Arch.Dermatol. Res*. – 1992. – **Vol. 284**. – P. 253-256.
36. Characterization of human nail matrix cells *in vitro* [Text] / M. Picardo, C. Marchese, C. Zompetta, et al. // *J Invest Dermatol*. – 1992. – **Vol. 98**. – P. 523A.
37. Characterization of cultured nail matrix cells [Text] / M. Picardo, A. Tosti, C. Marchese, et al. // *Journal of the American Academy of Dermatology*. – 1994. – **Vol. 30, № 3**. – P. 434-440.
38. Kitahara T. Coexpression of keratins characteristic of skin and hair differentiation in nail cells [Text] / T. Kitahara, H. Ogawa // *J. Invest. Dermatol*. – 1993. – **Vol. 100**. – P. 171-175.
39. Kitahara T. Variation of differentiation in nail and bovine hoof cells [Text] / T. Kitahara, H. Ogawa // *J. Invest. Dermatol*. – 1994. – **Vol. 102**. – P. 725-729.
40. Kitahara T. Cellular Features of Differentiation in the Nail [Text] / T. Kitahara, H. Ogawa // *Microscopy research and technique*. – 1997. – **Vol. 38**. – P. 436-442.
41. Lehoczyk J. A. Lgr6 marks nail stem cells and is required for digit tip regeneration [Text] / J. A. Lehoczyk, C. J. Tabin // *PNAS*. – 2015. – **Vol. 112, № 43**. – P. 13249-13254.
42. Borgens R. B. Mice Regrow the Tips of Their Foretoes [Text] / R. B. Borgens // *Science*. – 1982. – **Vol. 217**. – P. 747-750.
43. Zhao W. Bone regrowth in young mice stimulated by nail organ [Text] / W. Zhao, D. A. Neufeld // *J Exp Zool*. – 1995. – **Vol. 271**. – P. 155-159.
44. Germ and lineage restricted stem/progenitors regenerate the mouse digit tip [Text] / Y. Rinkevich, P. Lindau, H. Ueno, et al. // *Nature*. – 2013. – **Vol. 476, № 7361**. – P. 409-413.
45. Mohammad K. S. Bone growth is induced by nail transplantation in amputated proximal phalanges [Text] / K. S. Mohammad, F. A. Day, D. A. Neufeld // *Calcif Tissue Int*. – 1999. – **Vol. 65**. – P. 408-410.
46. Lehoczyk J. A. Mouse digit tip regeneration is mediated by fate-restricted progenitor cells [Text] / J. A. Lehoczyk, B. Robert, C. J. Tabin // *PNAS*. – 2011. – **Vol. 108, № 51**. – P. 20609-20614.
47. Wound healing and blastema formation in regenerating digit tips of adult mice [Text] / W. A. Fernando, E. Leininger, J. Simkin, et al. // *Dev Biol*. – 2011. – **Vol. 350, № 2**. – P. 301-310.
48. Development and regeneration of the neonatal digit tip in mice [Text] / M. Han, X. Yang, J. Lee, et al. // *Dev Biol*. – 2008. – **Vol. 315**. – P. 125-135.
49. Tamura K. Limb blastema cell: A stem cell for morphological Regeneration [Text] / K. Tamura, S. Ohgo, H. A. Yokoyama // *Develop. Growth Differ*. – 2010. – **Vol. 52**. – P. 89-99.
50. BMP signaling induces digit regeneration in neonatal mice [Text] / L. Yu, M. Han, M. Yan, et al. // *Development*. – 2010. – **Vol. 137**. – P. 551-559.
51. Clonal analysis reveals nerve-dependent and independent roles on mammalian hind limb tissue maintenance and regeneration [Text] / Y. Rinkevicha, D. T. Montorob, E. Muhonenb, et al. // *PNAS*. – 2014. – **Vol. 111, № 27**. – P. 9846-9851.
52. Rinkevich Y., Maan Z. N., Walmsley G. G., et al. Injuries to appendage extremities and digit tips: a clinical and cellular update // *Developmental Dynamics*. – 2015. – Available: DOI 10.1002/dvdy.24265
53. Lin G. L. Integration of BMP, Wnt, and Notch signaling pathways in osteoblast differentiation [Text] / G. L. Lin, K. D. Hankenson // *J Cell Biochem*. – 2011. – **Vol. 112, № 12**. – P. 3491-3501.



СТАТТЯ НА САЙТІ
TRANSPLANTOLOGY.ORG

Автор підтверджує відсутність можливих конфліктів інтересів.

Надійшла до редакції 14.03.2016 р.

Прийнята до друку 11.05.2016 р.