

МЕЗЕНХИМНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ: КРАТКИЙ ОБЗОР КЛАССИЧЕСКИХ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ И НОВЫХ ФАКТОРОВ ОСТЕОГЕННОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ

Юрова К.А.¹, Мелащенко Е.С.¹, Хазиахматова О.Г.¹,
Малащенко В.В.¹, Мелащенко О.Б.¹, Шунькин Е.О.¹, Норкин И.К.¹,
Хлусов И.А.^{1,2,3}, Литвинова Л.С.¹

¹ ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени И. Канта», г. Калининград, Россия

² ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ,
г. Томск, Россия

³ ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», г. Томск, Россия

Резюме. Молекулярно-генетические механизмы, сигнальные пути, условия, факторы и маркеры остеогенной дифференцировки мезенхимных стволовых клеток (МСК) активно изучаются, несмотря на то, что считаются одними из наиболее исследованных направлений в области клеточных технологий. Во многом это обусловлено накопившимися противоречиями в, казалось бы, классических знаниях, а также постоянным обновлением результатов в анализируемой области. В связи с этим мы сосредоточили внимание на основных классических представлениях и некоторых новых факторах и механизмах, оказывающих заметное регуляторное влияние на дифференцировочный потенциал постнатальных МСК. В обзоре рассматривается значение источника получения МСК для реализации их дифференцировочного потенциала, роль клеточного микроокружения. Освещаются вопросы классификации, терминологии и функциональной активности МСК из различных источников. Описаны молекулярно-генетические факторы и сигнальные пути дифференцировки МСК; рассмотрены как классические участники остеогенеза с описанием их новых функциональных свойств, так и новые молекулы, способные участвовать в процессах костеобразования. Отмечено, что данные об основных генах, задействованных в процессе остеогенеза, крайне противоречивы. Проанализирован паракринный потенциал МСК в механизмах регенерации тканей; отмечено важнейшее значение воспаления в остеогенезе, в частности присутствие в очаге повреждения воспалительных цитокинов и хемокинов, продуцируемых не только клетками микроокружения, но и клетками крови, в том числе мононуклеарными лейкоцитами, мигрирующими в очаг повреждения. Важная роль в настоящем обзоре отведена рассмотрению биомеханических сигналов и особенностей влияния конформационных изменений клеточного цитоскелета (формы клетки) на дифференцировку МСК, так как морфологические особенности клеток и структура цитоскелета модулируется взаимодействием клеточной поверхности с факторами окружающей среды, включая гидростатическое давление, поток жидкости, нагрузка на сжатие/растяжение. Представлены данные о том, что эластичность экстрацеллюлярного матрикса является одним из определяющих факторов клеточной дифференцировки. Сделано заклю-

Адрес для переписки:

Литвинова Лариса Сергеевна
ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет
имени И. Канта»
236000, Россия, г. Калининград, ул. Гайдара, 6 (каб. 302).
Тел.: 8 (4012) 59-55-95 (доб. 6631).
E-mail: larisalitvinova@yandex.ru

Address for correspondence:

Litvinova Larisa S.
I. Kant Baltic Federal University
236000, Russian Federation, Kaliningrad,
Gaydar str., 6 (room 302).
Phone: 7 (4012) 59-55-95 (add. 6631).
E-mail: larisalitvinova@yandex.ru

Образец цитирования:

К.А. Юрова, Е.С. Мелащенко, О.Г. Хазиахматова,
В.В. Малащенко, О.Б. Мелащенко, Е.О. Шунькин,
И.К. Норкин, И.А. Хлусов, Л.С. Литвинова
«Мезенхимные стволовые клетки: краткий обзор
классических представлений и новых факторов
остеогенной дифференцировки» // Медицинская
иммунология, 2021. Т. 23, № 2. С. 207-222.
doi: 10.15789/1563-0625-MSC-2128

© Юрова К.А. и соавт., 2021

For citation:

K.A. Yurova, E.S. Melashchenko, O.G. Khasiakhmatova,
V.V. Malashchenko, O.B. Melashchenko, E.O. Shunkin,
I.K. Norkin, I.A. Khlusov, L.S. Litvinova "Mesenchymal stem
cells: a brief review of classic concepts and new factors
of osteogenic differentiation", Medical Immunology
(Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2021, Vol. 23, no. 2,
pp. 207-222.
doi: 10.15789/1563-0625-MSC-2128

DOI: 10.15789/1563-0625-MSC-2128

чение о необходимости перехода от точечного изучения эффектов отдельных генов к множественным измерениям генно-регуляторного профиля и биомолекул, ответственных за реализацию многочисленных, полностью не изученных остеогенных факторов эндогенного и экзогенного происхождения. Одним из краеугольных направлений в будущих (эпи)генетических исследованиях будет решение вопроса о том, реализуются ли остеомодулирующие эффекты через специфические сигнальные пути и/или имеется перекрестный сигналинг с известными генами остеогенной дифференцировки МСК.

Ключевые слова: источник клеток, гены, факторы транскрипции, маркеры дифференцировки, цитокины, хемокины, механотрансдукция

MESENCHYMAL STEM CELLS: A BRIEF REVIEW OF CLASSIC CONCEPTS AND NEW FACTORS OF OSTEOGENIC DIFFERENTIATION

Yurova K.A.^a, Melashchenko E.S.^a, Khasiakhmatova O.G.^a,
Malashchenko V.V.^a, Melashchenko O.B.^a, Shunkin E.O.^a, Norkin I.K.^a,
Khlusov I.A.^{a, b, c}, Litvinova L.S.^a

^a I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

^b Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

^c National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russian Federation

Abstract. Molecular genetic mechanisms, signaling pathways, cultural conditions, factors, and markers of osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells (MSC) are actively studied despite numerous works in this area of cellular technologies. This is largely due to the accumulating contradictions in seemingly classical knowledge, as well as permanent updating of the results in the field. In this regard, we focused on the main classical concepts and some new factors and mechanisms that have a noticeable regulatory effect on the differentiation potential of postnatal MSCs. The present review considers the significance of MSC sources for their differentiation capacity, as well as the role of the cellular microenvironment. The issues of classification, terminology, and functional activity of MSCs from various sources are discussed. The paracrine potential of MSCs in tissue regeneration has been considered; sufficient importance of inflammation in osteogenesis is noted, in particular, the presence of inflammatory cytokines and chemokines in the lesion focus, produced not only by microenvironmental cells but also by blood cells, including mononuclear leukocytes, migrating to the affected site. An important role in this review is given to biomechanical signals and to influence of conformational changes in cell cytoskeleton (cell shape) upon MSC differentiation, since the morphological features of cells and the structure of cytoskeleton are modulated by interactions of the cell surface with environmental factors, including hydrostatic pressure, fluid flow, compression/stretching loads. The data are presented concerning elasticity of extracellular matrix being a determining factor of cell differentiation. We conclude that one should switch from point studies of individual gene effects to multiple measurements of the gene-regulatory profile and biomolecules responsible for multiple, still poorly studied osteogenic factors of endogenous and exogenous origin. Among cornerstones in future (epi)genetic studies will be to decide if osteomodulatory effects are realized through specific signaling pathways and/or via cross-signaling with known genes controlling osteogenic differentiation of MSCs.

Keywords: cell source, genes, transcription factor, differentiation markers, cytokines, chemokines, mechanotransduction

Работа выполнена при финансовой поддержке Совета по грантам Президента Российской Федерации (НШ-2495.2020.7; СП-4193.2021.4).

Введение

Мезенхимные стволовые клетки (МСК) взрослого человека являются важным клеточным ресурсом для тканевой инженерии и ре-

генеративной медицины, что объясняется их способностью к самоподдержанию популяции, пластичностью к дифференцировке в различных направлениях [8, 74]. МСК классически дифференцируются в 4 ортодоксальных направлениях: остеобласты, хондробласты, адипоциты и фибробласты [98], а также в другие типы клеток [46, 98]. МСК чаще всего выделяют из костного мозга,

жировой ткани и периферической крови [124]. Кроме того, их источником могут быть мышцы, кожа, легкие, поджелудочная железа, печень и другие ткани взрослого организма [22, 26, 74, 124]. Несмотря на то, что МСК, полученные из разных тканей, обладают общими характеристиками, их биологическая активность и некоторые маркеры различаются [62].

МСК находятся на различных стадиях испытаний в различных клинических приложениях [53, 62]. Тем не менее их биологические свойства до сих пор полностью не изучены. Одним из препятствий применения МСК в регенеративной медицине и тканевой инженерии является их способность к спонтанной дифференцировке при продолжительной экспансии *in vitro* [84].

С другой стороны, при исследовании *in vitro* дифференцировки МСК человека в четырех классических направлениях (остео-, хондро-, фибро- и адипогенном), отмечается высокая (более чем двукратная в сравнении со зрелыми клетками) экспрессия 148 генов и 9 факторов транскрипции. При этом выключение (knockdown) одного из факторов спомощью специфичных siРНК лишь частично ослабляет дифференцировку МСК [64]. Изучение ключевых аспектов молекулярной биологии МСК необходимо для развития фундаментальных и клинических исследований [62].

Молекулярно-генетические механизмы, сигнальные пути, факторы и маркеры остеогенной дифференцировки МСК являются активно изучаемыми и изученными направлениями исследований в области клеточных технологий. Щелочная фосфатаза (Alkaline phosphatase, ALP) считается классическим ранним маркером остеобластов, синтезирующих минерализованный костный матрикс [143]. Тем не менее ее экспрессия не всегда транслируется в конечные этапы остеогенной дифференцировки [59].

По-видимому, для стимуляции пролиферации и/или дифференцировки МСК и регенерации стромы требуется несколько сигналов, например, известное сочетание глюкокортикоидов, аскорбиновой кислоты и бета-глицерофосфата для остеогенной дифференцировки МСК. Такими сигналами являются, кроме того, концентрация кислорода [48], компоненты экстрацеллюлярного матрикса (ЭЦМ), клеточное микроокружение и многие другие, мало изученные или неизвестные раздражители [58].

В связи с этим в настоящем обзоре мы сосредоточились на анализе основных классических представлений, а также некоторых новых факторах и механизмах, оказывающих регуляторное влияние на дифференцировочный потенциал постнатальных МСК.

Влияние источника получения МСК на реализацию их дифференцировочного потенциала

Костный мозг является наиболее исследованным источником МСК. За последнее десятилетие многие исследования документально подтвердили возможность получения стволовых клеток/клеток-предшественниц с биологической характеристикой МСК из других тканей взрослого человека, таких как кожа [90], плацента [97], пуповинная кровь [4, 97], пуповинная ткань [87], жировая ткань [69], пульпа зуба и молочные зубы [2, 69, 138], тестикулы и мозг [18, 66] (рис. 1, см. 3-ю стр. обложки).

Имеются данные о том, что МСК, полученные из разных тканей, составляют гетерогенный пул клеток, в связи с чем возникла необходимость в разработке стандартов для характеристики МСК. Такие стандарты были предложены в 2006 году Международным обществом клеточной терапии в качестве минимальных критериев для определения МСК [5, 132]. В дальнейшем критерии распространили на МСК, выделенные из жировой ткани [12]. Тем не менее остаются многочисленные вопросы в классификации, терминологии и функциональной активности МСК из различных источников.

Дифференцировка МСК в одном из ортодоксальных направлений и функциональные свойства определяются во многом источником их получения [127], т.е. свойствами микроокружения. Например, МСК, полученные из кости (Bone marrow stromal cells, BMSCs), более склонны к дифференцировке в остеогенном направлении [43]; в культуре BMSCs отмечается более высокая (в сравнении с МСК из жировой ткани) активность ALP, экспрессия ранних и поздних генов остеогенной дифференцировки [6, 43, 112, 134]. МСК, полученные из синовиальной мембраны, дифференцируются предпочтительно в хондрогенном направлении [67, 131, 137].

В свою очередь, МСК жировой ткани (Adipose-Derived Stem Cells, ASCs) дифференцируются, в большей степени, в ангиогенном, чем в остеогенном направлении [13]. В то же время в ряде других исследований остеогенная дифференцировка ASCs *in vitro* превосходила таковую для BMSCs с точки зрения отложения кальция в ЭЦМ и экспрессии генов [13, 45, 70, 100]. Кроме того, остеогенная способность ASCs увеличивалась в динамических условиях культивирования и механической стимуляции [96], а также при добавлении фактора роста тромбоцитов [51, 96], витамина D3 и костного морфогенетического белка-2 (Bone Morphogenetic Protein 2, BMP-2) [118].

МСК имеют внутренний контроль дифференцировки, поэтому дифференциация МСК в разные клоны клеток строго регулируется различными

ми инструктивными сигналами. Изменение или нарушение этой регуляции приводит к патологическим последствиям, таким как остеопороз или фенотип с высокой костной массой [39, 118].

Согласно [101], независимо от источника МСК (костный мозг или жировая ткань), адипогенез требует более значительных транскрипционных изменений, чем остеогенез. Это соответствует гипотезе, что остеобласты являются специализированными фибробластами [28], поэтому для индукции остеогенеза требуются только энхансеры, тогда как генетическая программа, селективная в отношении адипоцитов, в основном определяется ремоделированием *de novo* и активацией энхансеров.

Тем не менее до сих пор не идентифицированными остаются ключевые факторы транскрипции для МСК, такие как плюрипотентные гены октамер-4 (octamer-binding transcription factor 4, *Oct4*), ДНК-связывающий фактор транскрипции гомеобокса (*Nanog*) и определяющая пол область Y-бокса 2 (sex determining region Y-box 2, *Sox2*) в эмбриональных стволовых клетках; лишение каждого из которых приводит к полной потере идентичности МСК [74].

Молекулярно-генетические факторы и сигнальные пути дифференцировки МСК

Остеобласты представляют собой костеобразующие клетки, которые синтезируют и минерализуют внеклеточный матрикс. Они дифференцируются из МСК под влиянием факторов роста, гормонов, низкомолекулярных веществ и цитокинов семейства β -трансформирующего фактора роста (Transforming growth factor β , TGF- β). Так, например, классический метод дифференциации МСК в остеобласты *in vitro* включает инкубацию конфлюэнтного монослоя МСК с аскорбиновой кислотой, β -глицерофосфатом и дексаметазоном в течение 2-3 недель. Совокупность этих факторов приводит к образованию агрегатов или узелков МСК и увеличивает экспрессию ими ALP, а также, с течением времени, накопление и отложение кальция в ЭЦМ [37].

Дифференциация остеобластов из МСК — сложный процесс, в котором задействованы различные факторы. Многочисленные факторы и сигнальные молекулы, участвующие в регуляции поведения МСК и функционировании остеобластных ниш для гемопоэтических стволовых клеток, представлены в наших предыдущих обзорах [37, 48]. Следует учитывать, что понимание процессов функционирования ниши для самих МСК, регулирующих направления их коммитирования, остаются до сих пор неизвестными [58, 74]. В текущем обзоре мы сфокусировали внимание как на классических молекулах остеогенеза,

значение которых активно дополняется и/или пересматривается, так и на некоторых новых кандидатах.

Особую роль играют медиаторы суперсемейства TGF- β [103], способствующие ранней хондрогенной и остеобластной дифференцировке, за счет увеличения экспрессии мРНК связанного с Runt фактора транскрипции 2 (Runt-related transcription factor 2, *Runx2*). Правильное созревание и функция остеобластов напрямую связана с экспрессией двух ключевых факторов транскрипции остеобластогенеза: RUNX2 и транскрипционного фактора OSTERIX (Transcription factor Sp7, OSTERIX) [82]. Подробная информация о факторе OSTERIX представлена в обзоре Krishna M. Sinha и Xin Zhou [115].

Ген *Runx2* кодирует факторы транскрипции и, как многофункциональный «мастер-ген», регулирует дифференцировку остеобластов [71]. *Runx2* экспрессируется в мезенхимных клетках-предшественницах примерно за 4 дня до появления остеобластов. Два твист-родственных белка Twist 1 и Twist 2 ингибируют ген *Runx2* через специальные домены (так называемые твист-боксы) во время развития скелета, через связывание ДНК с последовательностью RUNX2 (так называемый Runt) и, таким образом, являются антагонистами дифференцировки остеобластов. Было показано, что экспрессия типичных для остеобластов белков зависит от снижения активности гена, кодирующего основной транскрипционный фактор helix-loop-helix (*twist*) [10]. Напротив, BMP-7 и BMP-2 увеличивают экспрессию *Runx2* и способствуют дифференцировке остеобластов [10, 41].

BMPs — это гликопротеины, которые входят в семейство TGF- β , ответственны за процессы хемотаксиса, деления и дифференцировки костных клеток *in vitro* и *in vivo* [133], считаются истинными остеоиндуктивными молекулами. Вместе с тем появляются сообщения, что длительное введение рекомбинантного BMP-2 (100-300 нг/мл) в культуру стромальных клеток костного мозга человека приводит к повышенной экспрессии соответствующих генов и фактора связывания ядра $\alpha 1$ (core-binding factor $\alpha 1$, *Cbfa 1*), увеличению активности ALP, но не результируется в выраженную минерализацию ЭЦМ [48]. Авторы делают вывод, что одного BMP-2 недостаточно для реализации конечных этапов остеогенеза, связанных с формированием тканевой структуры.

RUNX2, ALP и остеокальцин (bone Gla protein, BGP) являются типичными маркерами остеобластов и играют важную роль в остеогенезе. На ранней стадии избыточная экспрессия RUNX2 способна усилить дифференцировку

МСК в направлении остеодифференцировки. Кроме того, RUNX2 является основной мишенью BMP-зависимого пути и деградирует путем убиквитинирования. В отличие от RUNX2 и ALP, остеокальцин является реальным маркером остеобластной дифференцировки на поздних стадиях остеогенеза [133]. Тем не менее экспрессия ALP на ранних этапах является недостаточным условием терминальной дифференцировки МСК в остеобласты. При этом в культуре МСК человека остеокальцин не всегда продуцируется в ответ на дексаметазон или BMP-2 [59]. Соответственно, авторы делают вывод о пока неизвестных факторах и условиях, необходимых, помимо ALP и остеокальцина, для минерализации ЭЦМ.

RUNX2 физически взаимодействует с семейством структурно подобных белков (Similar to Mothers Against Decapentaplegic, Smad), в результате чего эффект зависит как от изоформа Smad, так и от типа клеток. Белки Smad высвобождаются путем связывания рецептор-лиганд TGF- β на клеточной мембране и реализуют свою функцию в качестве факторов транскрипции за счет внутриклеточной передачи сигнала в ядро клетки непосредственно на ДНК. В мезенхимных клетках Smad3 оказывает ингибирующее действие на RUNX2, тогда как в эпителиальных клетках Smad3 активирует RUNX2 [3]. Smad4, с другой стороны, опосредует сигналы как от TGF- β , так и от BMP [61].

Другой группой белков, которые регулируют дифференцировку МСК в остеобласты, являются трансмембранные белки – нейрогенные белки-гомологи (Neurogenic locus notch homolog protein, Notch). Опосредованное лигандом высвобождение внеклеточных и внутриклеточных субъединиц этих гетеродимерных рецепторных белков играет важную роль в упорядоченной дифференцировке клеток в контексте органогенеза. Кортикостероиды, используемые в культуре клеток для дифференцировки остеобластов, увеличивают экспрессию Notch1 и Notch2 [3, 61].

Несмотря на открытие ключевого RUNX2, а также дополнительных – SOX9, активирующего транскрипционного фактора 4 (ATF4), активирующего белка (AP1), факторов транскрипции и сигнальных путей (Hedgehog, Notch, WNT, BMP, FGF), регулирующих развитие остеобластов [76], остается много вопросов в отношении регуляции дифференцировки МСК. Несмотря на то, что роли основных сигналов развития описаны [76], до сих пор недостаточно данных для полного понимания, какие сигналы выполняют специфическую для остеобластов программу дифференцировки. Например, пока нет полного понимания

сети регуляции генов (gene regulatory network, GRN), которая определяет ход дифференцировки клетки в остеобласт. Результаты исследований показывают, что фенотип зрелого остеобласта может быть связан с переменными профилями экспрессии генов, что подчеркивает сложность идентификации ядра GRN в остеобластах [73]. Тем не менее возможно, что технология высокопроизводительного секвенирования, применяемая к множеству образцов популяций остеобластов или отдельных клеток, может помочь идентифицировать основную молекулярную сигнатуру, общую для всех остеобластов. Такие исследования важно объединить с функциональным анализом для получения представления об иерархии GRN.

Далее соответствующие гены, транскрипционные мишени (кодирующие белок или не кодирующие белок) для большинства сигналов, неизвестны. Более того, одни и те же сигналы могут также запускать события, которые изначально не зависят от регуляции транскрипции (в частности изменение клеточного метаболизма) и могут влиять на дифференцировку остеобластов; однако эти возможности еще предстоит изучить [76].

Биоинформационные исследования последних лет показали, что остеогенез в культуре МСК сопровождается усилением экспрессии генов, задействованных в организации внеклеточного матрикса, оксификации, отрицательной регуляции пролиферации клеток, развитии сосудистой сети, положительной регуляции гибели клеток и метаболизма тирозина. В то же время регистрируется подавление экспрессии генов, относящихся к клеточному делению, веретену деления, среднему телу, метафазным пластинкам, микротрубочкам, клеточному циклу и репликации ДНК [73, 76].

С другой стороны, данные об основных генах, задействованных в процессе остеогенеза, крайне противоречивы. Так, сообщается [32], что взаимодействия между образованием кости и генами-концентраторами, обнаруженными исследователями (Kinesin Family Member 11 (*KIF11*), polo-like kinase 1 (*PLK1*), Cell division cycle associated 8 (*CDC48*), protein kinase (*TTK*), cell division cycle protein 20 (*CDC20*) и Non-SMC Condensin I Complex Subunit G (*NCAPG*)), не установлены. Изученные авторами гены участвуют в обширной пространственной, временной и динамической регуляции микротрубочек [32, 65, 146].

В литературе появляются сообщения о новых, не подтвержденных генах-кандидатах, предположительно участвующих в остеогенезе. Например, роль гена топоизомеразы ДНК 2 α (DNA Topoisomerase 2 α , *TOP2A*) в остеогенезе не опре-

делена [32]. Некоторые исследователи предполагают, что *TOP2A* экспрессируется в остеобластах и что паратиреоидный гормон может подавлять пролиферацию остеобластов, частично регулируя экспрессию *TOP2A* [33]. Таким образом, вероятно, *TOP2A* играет роль в формировании остеокластов [139]. Однако ранее Feister и соавт. (1997) сообщили, что *TOP2A* не экспрессируется в зрелых остеобластах на поверхности трабекул [34].

Выявлена неожиданная связь между остеогенезом и геном кристаллином-В (*CRYAB*), обнаруженным Kulterer В. и соавт. (2007) [65]. Его формы представляют собой небольшие белки теплового шока и состоят из двух генных продуктов: α -А и α -В. α -А преимущественно ограничивается хрусталиком глаза позвоночных, где он поддерживает прозрачность и показатель преломления хрусталика, тогда как α -В широко экспрессируется во многих тканях и органах [63]. Кроме того, в статье Furushima и соавт. (2002) [78] описано исследование роли генов-кандидатов для генетических детерминант, связанных с окостенением задней продольной связки позвоночника (OPLL), преобладающей миелопатией среди популяции японцев. Гены-кандидаты для исследования были получены с помощью кДНК-анализа микрочипов профилей экспрессии генов во время остеобластической дифференцировки МСК. Среди 24 генов, идентифицированных в анализе микрочипов кДНК, которые могут быть связаны с метаболизмом кости, *CRYAB* был единственным геном, который показал существенные признаки сцепления. Далее Lambrecht и соавт. (2009) сообщили о снижении экспрессии *CRYAB* в дедифференцированных хондроцитах, что указывает на то, что *CRYAB*, возможно, играет роль в процессе хондрогенной дифференцировки [68]. Исследования данного гена-кандидата [38] позволили также выявить связь *CRYAB* с остеогенезом. И только в 2019 году, в статье [145] авторы определили место *CRYAB* в сигнальном пути Wnt в процессе остеогенеза. Согласно данным литературы, хондрогенез и остеогенез имеют общие пути и регуляцию, в связи с чем могут возникать трудности идентификации генов кандидатов.

Новые исследования помогают найти новые мишени для регуляции дифференцировочного потенциала МСК. Так, *Id4* (*Inhibitor of DNA Binding 4*), найденный как кандидат в маркеры позднего остеогенеза, по предположению исследователей, должен подавляться для продолжения процесса остеодифференцировки [65]. Однако следующие исследования показали обратную картину, в которой недостаток *Id4* резко снижал

дифференцировку остеобластов и стимулировал дифференцировку в сторону адипоцитов [79]. С другой стороны, нокдаун *Id4* в адипоген-индуцированных клетках ST2 увеличивал экспрессию гена рецепторов активатора пролиферации пероксисом, главного регулятора дифференцировки адипоцитов (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ 2, *Ppar γ 2*). Аналогичные результаты наблюдались в клетках костного мозга бедра и голени у мышей с дефицитом *Id4* белка [65]. Механизм *Id4*, способствующий дифференцировке остеобластов, связан с *Id4*-опосредованным высвобождением фактора транскрипции *Hes1* (*hairly and enhancer of split-1*) из комплексов *Hes1-Hey2*. *Hes1* повышает стабильность и транскрипционную активность *Runx2*, ключевой молекулы дифференцировки остеобластов, что приводит к повышенной экспрессии генов, специфичных для остеобластов [79].

Таким образом, молекулярно-генетические механизмы дифференцировки МСК в остеобласты сложны и являются предметом текущих фундаментальных исследований. Несмотря на некоторые трудности в дальнейшей идентификации генов, исследования в масштабе генома с использованием секвенаторов следующего поколения позволят по-новому взглянуть на генные регуляции, сместив интерес от локальных генных регуляций к множественным измерениям генно-регуляторного ландшафта, который объединяет первичные действия регуляторов транскрипции, энхансерного ландшафта и трехмерную архитектуру хроматина. Раскрытие этого ландшафта даст новое понимание поведения МСК и развития организма в целом [47].

Роль воспалительных цитокинов и хемокинов в остеогенезе

МСК секретируют большое количество цитокинов, которые регулируют воспалительный процесс. Однако в литературе все еще недостаточно информации относительно полного секретомы МСК: довольно редко одновременно анализируется более пяти цитокинов/факторов роста. Данные, приведенные в литературе, часто противоречат друг другу [86]. Еще менее систематизированы факты потенциального остеогенного эффекта воспалительных цитокинов/хемокинов на МСК по ауто- и паракринному механизму регуляции.

Жизнеспособность и функционирование МСК, как и любых других клеток, зависят от условий микросреды: повреждение, воспаление, гипоксия, опухолевые образования, в том числе посредством изменения цитокинового профиля

биологических жидкостей и клеток микроокружения, изменяют биологию МСК [101].

Оценка паракринного потенциала МСК из разных тканевых источников очень важна, так как это является одним из определяющих условий (наряду с межклеточными контактами) для выявления их способности взаимодействовать с соседними клетками. МСК являются источником разнообразных цитокинов и трофических факторов (в частности IL-6, IL-8, MCP-1, VEGF, OPG и TIMP-2), однако тип и уровень секреции цитокинов варьируется в зависимости от тканевого источника [94]. Этот факт свидетельствует в пользу того, что специфическое тканевое микроокружение (ниша) МСК контролирует их секреторную активность.

Вариабельности секретома МСК посвящено значительное количество публикаций. На запрос «mesenchymal stem cell secretome» Национальная библиотека медицины Национального института здоровья США выдала 719 результатов. Постепенно сложилось понимание, что после травмы костей, для их эффективной репарации, необходимо воспаление, оптимальное по амплитуде и продолжительности [75]. Так, в исследовании мышей с двойным нокаутом гена TNF α (p55^{-/-}/p75^{-/-}) Gerstenfeld и соавт. [35] показали, что для правильного восстановления кости необходимы провоспалительные сигналы, так как животные не могли инициировать формирование кости и имели заметно сниженную экспрессию мРНК коллагена 1-го типа и *BGP*. Xing и соавт. [136] на мышцах CCR2^{-/-} показали, что воспаление имеет решающее значение для заживления костей; при нарушении связи хемокинового рецептора CCR2 с MCP-1 воспаление и заживление костей нарушались [36]. Постоянно дискутируется значение про- и противовоспалительных и иммуномодуляторных биомолекул для остеодифференцировки МСК и закладки ниш стволовых клеток [36, 136], для реализации разных этапов остеогенеза/остеолизиса и ремоделирования кости [36, 44, 47].

В русле относительно нового формирующегося направления «остеоиммунология» [78, 108], на основе собственного опыта, мы сформировали таблицу 1, в которой представлены 22 фактора — воспалительные цитокины и хемокины с остеомодулирующими эффектами, описанными в научной литературе.

Таким образом, цитокиновая/хемокиновая сеть, формируемая не только МСК, но и клетками тканевого микроокружения и мононуклеарными лейкоцитами и другими клетками крови (гранулоциты, тромбоциты), мигрирующими

в зону воспаления/повреждения [75], способна оказывать значительное влияние на остеогенные свойства МСК. В то же время пока непонятен, но представляет большой интерес вопрос о том, реализуется ее остеомодулирующий эффект через собственные сигнальные пути и/или имеет перекрестные молекулярно-генетические связи с известными генами остеодифференцировки МСК.

Биомеханические сигналы к дифференцировке МСК

Понимание того, как МСК, полученные из взрослых тканей, реагируют на (био)механические сигналы, является важной областью исследований и имеет значение для тканевой инженерии и регенеративной медицины. По-видимому, обширное направление «механотрансдукция» [1, 7, 40] во многом сложилось и активно развивается в тесной связи с изучением реакции клеток и тканей на разнообразные механические свойства и рельеф материалов для медицины [31].

Многочисленные исследования подтверждают, что механические силы, даже без дополнительных биохимических стимулов, достаточны для того, чтобы способствовать дифференцировке и созреванию постнатальных МСК [81]. Например, механическая нагрузка в виде циклического напряжения или колебательного потока жидкости [111], сдвигают баланс процессов коммитирования от адипогенеза к остеогенезу и способствуют формированию костных и мышечных тканей *in vivo* и *in vitro* [80, 144].

Достижения в понимании генетических и молекулярных механизмов регуляции физиологии остеобластов и остеокластов [92] показали, что одним из факторов, определяющих клеточную дифференцировку, является эластичность ЭЦМ [30].

Клетки существуют в тканях, имеющих ЭЦМ разной степени жесткости, от мягкой мозговой ткани до твердой кортикальной кости. *In vitro* было показано, что жесткость матрикса или субстрата играет важную роль в регуляции дифференцировки МСК [54, 126]. При культивировании клеток на 2D-субстратах, которые имитировали жесткость физиологической нейророгенной, миогенной и остеогенной среды, МСК принимали фенотип, соответствующий жесткости ткани, что продемонстрировано клеточной морфологией, маркерами транскрипции и продукцией белка [30]. В аналогичном эксперименте МСК, высеянные на мягкие субстраты, обладали большим адипогенным и хондрогенным потенциалом [95]. В таких 2D-культуральных системах жесткость субстрата обычно влияет на морфологию клеток, тогда как в некоторых 3D-гидрогелях МСК сохраняют сферическую морфологию не-

ТАБЛИЦА 1. ЦИТОКИНЫ, ФАКТОРЫ РОСТА И ХЕМОКИНЫ С ОСТЕОМОДУЛИРУЮЩИМ ПОТЕНЦИАЛОМ

TABLE 1. CYTOKINES, GROWTH FACTORS AND CHEMOKINES WITH OSTEOMODULATORY POTENTIAL

Биомолекулы** Biomolecules**	Влияние на сеть МСК, остеобластов и остеокластов; костное ремоделирование Influence on the network of MSCs, osteoblasts and osteoclasts; bone remodeling	Ссылка Reference
IL-1	+/-*	[7, 86]
IL-1ra	+	[105]
IL-2	+	[141]
IL-4	+	[144]
IL-5	?*	[80]
IL-6	+/-	[75]
IL-9	?	[15]
IL-10	+	[75]
IL-12	+	[141]
IL-13	+	[25, 86]
IL-17	+/-	[75]
TNF α	+/-	[7, 86]
IFN γ	-	[126]
G-CSF	+	[54]
GM-CSF	+	[106]
bFGF	+	[129]
VEGF	+	[129]
PDGF-BB	+	[24]
Eotaxin (CCL11)	+	[117]

Примечание. * – (+/-) эффект противоречивый; (?) эффект не установлен согласно цитируемой ссылке.
** – антагонист рецептора интерлейкина 1 (IL-1ra); фактор некроза опухоли альфа (TNF α), интерферон-гамма (IFN γ), колониестимулирующий фактор гранулоцитов (G-CSF) и гранулоцитов/моноцитов (GM-CSF), фактор роста фибробластов (FGF), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF), фактор роста из тромбоцитов (PDGF-BB).

Note. *, (+/-) contradictory effect; (?) the effect is not set according to the cited reference. **, interleukin 1 receptor antagonist (IL-1ra); tumor necrosis factor alpha (TNF α), interferon-gamma (IFN γ), colony-stimulating factor of granulocytes (G-CSF) and granulocyte/monocytes (GM-CSF), fibroblast growth factor (FGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), platelet-derived growth factor (PDGF-BB).

зависимо от жесткости гидрогеля [106, 129]. Несмотря на это, судьба инкапсулированных МСК обычно зависит от жесткости гидрогеля, причем более жесткие гели поддерживают остеогенез, а более мягкие – адипогенез [24, 106].

Несмотря на значительный прогресс в понимании того, что механические сигналы воспринимаются и преобразуются в МСК, оказывая влияние на их поведение (в том числе на процессы пролиферации и дифференцировки), многие механизмы остаются до конца не выясненными [122].

Еще в 1964 году Curtis и Varde предположили [21], а в конце XX века доказали значение подобных сигналов в контроле клеточного поведения [20]. Морфология МСК и их форма модулируется взаимодействием поверхности клетки с окружающей средой. Недифференцированные прилипшие МСК обычно имеют фибробластоподобную форму и хорошо распределяются на адгезивной подложке, в то время как любые дифференцировочные перестройки взаимосвязаны с глубокими преобразованиями клеточной формы [82, 91]. Прикрепление клеток и их пролиферация зависят от топографии поверхности, при этом цитоскелет проявляет более высокое напряжение на более грубых [23] или, наоборот, наноструктурированных поверхностях [116].

Mitchison и соавт. было показано, что распознавание механических раздражителей происходит через уникальный механизм, называемый механотрансдукцией [107]. Компоненты цитоскелета являются основными механосенсорами и механотрансмиттерами (актин/миозиновый комплекс, микротрубочки) этой системы [81, 111].

Spiegelman и Farmer (1982) первыми показали, что дифференцировка МСК связана с перестройкой их цитоскелета [120]. Тогда как McBeath и соавт. (2004) убедительно доказали, что форма клетки является ключевым регулятором дифференцировки МСК и определяется как внутренней конфигурацией цитоскелета, так и внешними взаимодействиями с внеклеточным матриксом и соседними клетками [115]. На небольших островках искусственной поверхности, где МСК принимали округлую морфологию, преобладал адипогенез, в то время как на более крупных участках, где МСК распластывались, отмечалась дифференцировка в остеогенном направлении [71]. Более подробно подобные исследования, относящиеся к поиску количественных параметров ниш для МСК, представлены в обзоре [17].

Исследование McBeath и соавт. (2004) также продемонстрировало, что форма клетки регулирует активность трансформирующего проте-

ина RhoA (Ras homolog family member A, RhoA) и Rho-ассоциированной протеинкиназы (Rho-associated protein kinase, ROCK). RhoA является ключевым регулятором сократимости, а ROCK — эффектором Rho, участвующим в сокращении миозина. Ингибирование ROCK способствует переключению клонов клеток с остеогенного на адипогенный фенотип, в то время как активация RhoA в клетках, подвергшихся воздействию адипогенной среды, способствует формированию остеогенного фенотипа, указывая на то, что клеточная сократимость контролирует дифференцировку клонов МСК по остеогенному или адипогенному направлению [103, 122].

Prowse P.D. (2013) подтвердили, что топография искусственного матрикса способна регулировать остеогенную дифференцировку МСК, посредством изменения цитоскелета [99]. Было высказано предположение, что распределение актинового цитоскелета, в частности нитевидного актина (F-актина), изменяется на шероховатых поверхностях [77]. Актиновый цитоскелет играет важную роль в остеогенной дифференцировке МСК [81], модифицируясь и изменяясь по мере того, как МСК дифференцируются в остеобласты: вместо большого количества тонких параллельных микрофиламентных пучков, распространяющихся по всей цитоплазме в недифференцированных МСК, появляется несколько толстых пучков актиновых нитей, расположенных на периферии дифференцированных клеток [81]. По данным McCafferty M.M. и соавт. (2014), жесткость, топография и химия поверхности могут вызывать ремоделирование цитоскелета и формирование фокальной адгезии, которые происходят до этапа дифференцировки МСК, через опосредованные интегрином сигнальные пути [83].

Изменение цитоскелета может влиять на организацию и распределение органелл и ДНК, что регулирует функционирование и жизнедеятельность клеток [128]. Shafrir Y. и соавт. (2002) установили, что микрофиламенты пересекают ядерные поры и соединяются с ядерной мембраной, тем самым обеспечивая путь для прямого прохождения сигналов от механических стимулов к хромосомному аппарату [113]. Изменение структуры цитоскелета приводит к передаче сигналов в ядро и ассоциируется с активацией ядерных транскрипционных факторов Yes-связанных белков (Yes-associated protein, YAP)/PDZ-связывающими мотивами (PDZ-binding motif, TAZ), регулируемых актиновым цитоскелетом, что объясняет участие механических стимулов в остеогенной дифференцировке МСК [29, 49]. Транскрипционные факторы YAP/TAZ участвуют

в дифференцировке МСК посредством индукции ко-активатора RUNX2 — остеобласт-специфического транскрипционного фактора, влияющего на экспрессию генов остеодифференцировки [19, 123]. Yang W. и соавт. (2016) убедительно продемонстрировали, что различная топография поверхности по-разному влияет на активацию транскрипционных факторов YAP/TAZ, что приводит к изменению уровня относительной экспрессии генов остеодифференцировки [140].

Важно отметить, что МСК реагируют не только на (био)механические свойства окружающего ЭЦМ, но и на внешние механические сигналы, такие как поток жидкости, гидростатическое давление, нагрузка на сжатие, растяжение и скручивание [57]. Было показано, что тип, частота, величина и продолжительность таких сигналов влияют на дифференцировку МСК [122]. Более того, продемонстрировано, что воздействие 10% циклической растягивающей деформации не только увеличивает остеогенный потенциал МСК, но также увеличивает экспрессию ангиогенных факторов [16, 17, 125], что предполагает влияние механической нагрузки как на ангиогенез, так и на остеогенез.

Ангиогенез является важным этапом процессов костеобразования в связи с тем, что эндотелиальные клетки (ЭК) играют ключевую роль в развитии костей, создавая оптимальное напряжение кислорода и концентрацию биомолекул, необходимые для остеогенеза во время эндохондральной оссификации. Совместное культивирование человеческих ЭК и МСК увеличивает активность щелочной фосфатазы (ранний остеогенный маркер) и минерализацию, когда два типа клеток находятся в прямом контакте [121].

Таким образом, механизмы дифференцировки МСК в остеобласты сложны и являются предметом текущих и будущих фундаментальных и клинических исследований. Несмотря на трудности в идентификации и интерпретации результатов изучения генов и сигнальных путей реализации (эпи)генетических эффектов, технологическое развитие позволит, по-видимому, сместить акцент от точечного изучения эффектов локальных генов к множественным измерениям генно-регуляторного профиля и биомолекул, ответственных за реализацию многочисленных, полностью не изученных остеогенных факторов эндогенного и экзогенного происхождения. Представляет интерес вопрос о том, реализуются ли многочисленные остеомодулирующие эффекты через специфические сигнальные пути и/или имеются перекрестные связи с известными генами остеогенной дифференцировки МСК.

Список литературы / References

1. Юрова К.А., Хазиахматова О.Г., Малащенко В.В., Норкин И.К., Иванов П.А., Хлусов И.А., Шунькин Е.О., Тодосенко Н.М., Мелащенко Е.С., Литвинова Л.С. Клеточно-молекулярные аспекты воспаления, ангиогенеза и остеогенеза. Краткий обзор // Цитология, 2020. № 62. С. 305-315. [Yurova K.A., Khaziakhmatova O.G., Malashchenko V.V., Norkin I.K., Ivanov P.A., Khlusov I.A., Shunkin E.O., Todosenko N.M., Melashchenko E.S., Litvinova L.S. Cellular and molecular aspects of inflammation, angiogenesis and osteogenesis. A brief overview. *Tsitologiya = Cytology*, 2020, Vol. 62, pp. 305-315. (In Russ.)]
2. Alge D.L., Zhou D., Adams L.L., Wyss B.K., Shadday M.D., Woods E.J. Donor-matched comparison of dental pulp stem cells and bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a rat model. *J. Tissue Eng. Regen. Med.*, 2010, Vol. 4, no. 1, pp. 73-81.
3. Alliston T., Choy L., Ducey P., Karsenty G., Derynck R. TGF-beta-induced repression of CBFA1 by Smad3 decreases cbfa1 and osteocalcin expression and inhibits osteoblast differentiation. *EMBO J.*, 2001, Vol. 20, no. 9, pp. 2254-2272.
4. Amati E., Sella S., Perbellini O., Alghisi A., Bernardi M., Chieragato K. Generation of mesenchymal stromal cells from cord blood: evaluation of *in vitro* quality parameters prior to clinical use. *Stem Cell Res. Ther.*, 2017, Vol. 8, 14. doi: 10.1186/s13287-016-0465-2.
5. Appaix F., Nissou M.-F., van der Sanden B., Dreyfus M., Berger F., Issartel J.-P. Brain mesenchymal stem cells: the other stem cells of the brain? *World J. Stem Cells.*, 2014, Vol. 6, no. 2, pp. 134-143.
6. Ardeshiryajimi A., Mossahebi-Mohammadi M., Vakilian S., Langroudi L., Seyedjafari E., Atashi A. Comparison of osteogenic differentiation potential of human adult stem cells loaded on bioceramic-coated electrospun poly (L-lactide) nanofibres. *Cell Prolif.*, 2015, Vol. 48, no. 1, pp. 47-58.
7. Arron J.R., Choi Y. Bone versus immune system. *Nature*, 2000, Vol. 408, no. 6812, pp. 535-536.
8. Baker N., Sohn J., Tuan R.S. Promotion of human mesenchymal stem cell osteogenesis by PI3-kinase/Akt signaling, and the influence of caveolin-1/cholesterol homeostasis. *Stem Cell Res. Ther.*, 2015, Vol. 6, 238. doi: 10.1186/s13287-015-0225-8.
9. Bershadsky A.D., Balaban N.Q., Geiger B. Adhesion-dependent cell mechanosensitivity. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 2003, Vol. 19, pp. 677-695.
10. Bialek P., Kern B., Yang X., Schrock M., Susic D., Hong N. A twist code determines the onset of osteoblast differentiation. *Dev. Cell*, 2004, Vol. 6, no. 3, pp. 423-435.
11. Bieback K., Netsch P. Isolation, Culture, and characterization of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stromal cells. *Methods Mol. Biol. Clifton N.J.*, 2016, Vol. 1416, pp. 245-258.
12. Bourin P., Bunnell B.A., Casteilla L., Dominici M., Katz A.J., March K.L. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytotherapy*, 2013, Vol. 15, no. 6, pp. 641-648.
13. Brennan M.A., Renaud A., Guilloton F., Mebarki M., Trichet V., Sensebé L. Inferior *In vivo* osteogenesis and superior angiogenesis of human adipose-derived stem cells compared with bone marrow-derived stem cells cultured in xeno-free conditions. *Stem Cells Transl. Med.*, 2017, Vol. 6, no. 12, pp. 2160-2172.
14. Brouhard G.J., Rice L.M. Microtubule dynamics: an interplay of biochemistry and mechanics. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2018, Vol. 19, no. 7, pp. 451-463.
15. Bryington M., Mendonça G., Nares S., Cooper L.F. Osteoblastic and cytokine gene expression of implant-adherent cells in humans. *Clin. Oral Implants Res.*, 2014, Vol. 25, no. 1, pp. 52-58.
16. Charoanpanich A., Wall M.E., Tucker C.J., Andrews D.M.K., Lalush D.S., Dirschl D.R. Cyclic tensile strain enhances osteogenesis and angiogenesis in mesenchymal stem cells from osteoporotic donors. *Tissue Eng. Part A*, 2014, Vol. 20, no. 1-2, pp. 67-78.
17. Charoanpanich A., Wall M.E., Tucker C.J., Andrews D.M.K., Lalush D.S., Lobo E.G. Microarray analysis of human adipose-derived stem cells in three-dimensional collagen culture: osteogenesis inhibits bone morphogenic protein and Wnt signaling pathways, and cyclic tensile strain causes upregulation of proinflammatory cytokine regulators and angiogenic factors. *Tissue Eng. Part A*, 2011, Vol. 17, no. 21-22, pp. 2615-2627.
18. Choi W.Y., Jeon H.G., Chung Y., Lim J.J., Shin D.H., Kim J.M. Isolation and characterization of novel, highly proliferative human CD34/CD73-double-positive testis-derived stem cells for cell therapy. *Stem Cells Dev.*, 2013, Vol. 22, no. 15, pp. 2158-2173.
19. Cui C.B., Cooper L.F., Yang X., Karsenty G., Aukhil I. Transcriptional coactivation of bone-specific transcription factor Cbfa1 by TAZ. *Mol. Cell. Biol.*, 2003, Vol. 23, no. 3, pp. 1004-1013.
20. Curtis A., Wilkinson C. Topographical control of cells. *Biomaterials*, 1997, Vol. 18, no. 24, pp. 1573-1583.
21. Curtis A.S., Varde M. Control of cell behavior: topological factors. *J. Natl. Cancer Inst.*, 1964, Vol. 33, pp. 15-26.
22. da Silva Meirelles L., Chagastelles P.C., Nardi N.B. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *J. Cell Sci.*, 2006, Vol. 119, no. 11, pp. 2204-2213.

23. Dalby M.J., Riehle M.O., Sutherland D.S., Agheli H., Curtis A.S.G. Morphological and microarray analysis of human fibroblasts cultured on nanocolumns produced by colloidal lithography. *Eur. Cell Mater.*, 2005, Vol. 9, pp. 1-8.
24. de la Riva B., Sánchez E., Hernández A., Reyes R., Tamimi F., López-Cabarcos E. Local controlled release of VEGF and PDGF from a combined brushite-chitosan system enhances bone regeneration. *J. Control. Release*, 2010, Vol. 143, no. 1, pp. 45-52.
25. Ding J., Ghali O., Lencel P., Broux O., Chauveau C., Devedjian J.C. TNF-alpha and IL-1beta inhibit RUNX2 and collagen expression but increase alkaline phosphatase activity and mineralization in human mesenchymal stem cells. *Life Sci.*, 2009, Vol. 84, no. 15-16, pp. 499-504.
26. Dodson M.V., Hausman G.J., Guan L., Du M., Rasmussen T.P., Poulos S.P. Skeletal muscle stem cells from animals I. Basic cell biology. *Int. J. Biol. Sci.*, 2010, Vol. 6, no. 1, pp. 465-744.
27. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 2006, Vol. 8, no. 4, pp. 315-317.
28. Ducey P., Schinke T., Karsenty G. The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. *Science*, 2000, Vol. 289, no. 5484, pp. 1501-1504.
29. Dupont S., Morsut L., Aragona M., Enzo E., Giulitti S., Cordenonsi M. Role of YAP/TAZ in mechanotransduction. *Nature*, 2011, Vol. 474, no. 7350, pp. 179-183.
30. Engler A.J., Sen S., Sweeney H.L., Discher D.E. Matrix elasticity directs stem cell lineage specification. *Cell*, 2006, Vol. 126, no. 4, pp. 677-689.
31. Ermis M., Antmen E., Hasirci V. Micro and nanofabrication methods to control cell-substrate interactions and cell behavior: a review from the tissue engineering perspective. *Bioact. Mater.*, 2018, Vol. 3, no. 3, pp. 355-369.
32. Fan T., Qu R., Yu Q., Sun B., Jiang X., Yang Y. Bioinformatics analysis of the biological changes involved in the osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *J. Cell. Mol. Med.*, 2020, Vol. 24, no. 14, pp. 7968-7978.
33. Feister H.A., Onyia J.E., Miles R.R., Yang X., Galvin R., Hock J.M. The expression of the nuclear matrix proteins NuMA, topoisomerase II-alpha, and -beta in bone and osseous cell culture: regulation by parathyroid hormone. *Bone*, 2000, Vol. 26, pp. 227-234.
34. Feister H.A., Swartz D., Odgren P.R., Holden J., Hock J.M., Onyia J. Topoisomerase II expression in osseous tissue. *J. Cell. Biochem.*, 1997, Vol. 67, no. 4, pp. 451-465.
35. Gerstenfeld L.C., Cho T.J., Kon T., Aizawa T., Cruceta J., Graves B.D. Impaired intramembranous bone formation during bone repair in the absence of tumor necrosis factor-alpha signaling. *Cells Tissues Organs*, 2001, Vol. 169, no. 3, pp. 285-294.
36. Gibon E., Lu L., Goodman S.B. Aging, inflammation, stem cells, and bone healing. *Stem Cell Res. Ther.*, 2016, Vol. 7, 44. doi: 10.1186/s13287-016-0300-9.
37. Gneocchi M. Mesenchymal Stem Cells: Methods and Protocols. 2nd edition. Humana Press, 2016.
38. Granéli C., Thorfve A., Ruetschi U., Brisby H., Thomsen P., Lindahl A. Novel markers of osteogenic and adipogenic differentiation of human bone marrow stromal cells identified using a quantitative proteomics approach. *Stem Cell Res.*, 2014, Vol. 12, no. 1, pp. 153-165.
39. Grassel S., Ahmed N. Influence of cellular microenvironment and paracrine signals on chondrogenic differentiation. *Front. Biosci.*, 2007, Vol. 12, pp. 4946-4956.
40. Greenblatt M.B., Shim J.-H. Osteoimmunology: a brief introduction. *Immune Netw.*, 2013, Vol. 13, no. 4, pp. 111-115.
41. Gu K., Zhang L., Jin T., Rutherford R.B. Identification of potential modifiers of Runx2/Cbfa1 activity in C2C12 cells in response to bone morphogenetic protein-7. *Cells Tissues Organs*, 2004, Vol. 176, no. 1-3, pp. 28-40.
42. Gurkan U.A., Akkus O. The mechanical environment of bone marrow: a review. *Ann. Biomed. Eng.*, 2008, Vol. 36, no. 12, pp. 1978-1991.
43. Hart D.A. Why mesenchymal stem/progenitor cell heterogeneity in specific environments? Implications for tissue engineering applications following injury or degeneration of connective tissues. *J. Biomed. Sci. Eng.*, 2014, Vol. 7, 526. doi: 10.4236/jbise.2014.78054.
44. He N., Zhang L., Cui J., Li Z. Bone marrow vascular niche: home for hematopoietic stem cells. *Bone Marrow Res.*, 2014, 128436. doi: 10.1155/2014/128436.
45. Heo J.S., Choi Y., Kim H.-S., Kim H.O. Comparison of molecular profiles of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow, umbilical cord blood, placenta and adipose tissue. *Int. J. Mol. Med.*, 2016, Vol. 37, no. 1, pp. 115-125.
46. Herzog E.L., Chai L., Krause D.S. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood*, 2003, Vol. 102, no. 10, pp. 3483-3493.
47. Hojo H., Chung U.-I., Ohba S. Identification of the gene-regulatory landscape in skeletal development and potential links to skeletal regeneration. *Regen. Ther.*, 2017, Vol. 6, pp. 100-107.

48. Holzwarth C., Vaegler M., Gieseke F., Pfister S.M., Handgretinger R., Kerst G. Low physiologic oxygen tensions reduce proliferation and differentiation of human multipotent mesenchymal stromal cells. *BMC Cell Biol.*, 2010, Vol. 11, 11. DOI: 10.1186/1471-2121-11-11.
49. Hong J.-H., Hwang E.S., McManus M.T., Amsterdam A., Tian Y., Kalmukova R. TAZ, a transcriptional modulator of mesenchymal stem cell differentiation. *Science*, 2005, Vol. 309, no. 5737, pp. 1074-1078.
50. Huebsch N., Arany P.R., Mao A.S., Shvartsman D., Ali O.A., Bencherif S.A. Harnessing traction-mediated manipulation of the cell/matrix interface to control stem-cell fate. *Nat. Mater.*, 2010, Vol. 9, no. 6, pp. 518-526.
51. Hung B.P., Hutton D.L., Kozielski K.L., Bishop C.J., Naved B., Green J.J. Platelet-derived growth factor bb enhances osteogenesis of adipose-derived but not bone marrow-derived mesenchymal stromal/stem cells. *Stem Cells Dayt Ohio*, 2015, Vol. 33, no. 9, pp. 2773-2784.
52. Hutton D.L., Moore E.M., Gimble J.M., Grayson W.L. Platelet-derived growth factor and spatiotemporal cues induce development of vascularized bone tissue by adipose-derived stem cells. *Tissue Eng. Part A*, 2013, Vol. 19, no. 17-18, pp. 2076-2086.
53. Introna M., Lucchini G., Dander E., Galimberti S., Rovelli A., Balduzzi A. Treatment of graft versus host disease with mesenchymal stromal cells: a phase I study on 40 adult and pediatric patients. *Biol. Blood Marrow Transplant.*, 2014, Vol. 20, no. 3, pp. 375-381.
54. Ishida K., Matsumoto T., Sasaki K., Mifune Y., Tei K., Kubo S. Bone regeneration properties of granulocyte colony-stimulating factor via neovascularization and osteogenesis. *Tissue Eng. Part A*, 2010, Vol. 16, no. 10, pp. 3271-3284.
55. Jäger M., Sager M., Knipper A., Degistirici O., Fischer J., Kögler G. *In vivo* and *in vitro* bone regeneration from cord blood derived mesenchymal stem cells. *Orthopade*, 2004, Vol. 33, no. 12, pp. 1361-1372.
56. Jiang Y., Jahagirdar B.N., Reinhardt R.L., Schwartz R.E., Keene C.D., Ortiz-Gonzalez X.R. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature*, 2002, Vol. 418, no. 6893, pp. 41-49.
57. Kelly D.J., Jacobs C.R. The role of mechanical signals in regulating chondrogenesis and osteogenesis of mesenchymal stem cells. *Birth Defects Res. Part C Embryo Today Rev.*, 2010, Vol. 90, no. 1, pp. 75-85.
58. Khlusov I.A., Litvinova L.S., Khlusova M.Y., Yurova K.A. Concept of hematopoietic and stromal niches for cell-based diagnostics and regenerative medicine (a review). *Curr. Pharm. Des.*, 2018, Vol. 24, no. 26, pp. 3034-3054.
59. Kim I.S., Song Y.M., Cho T.H., Park Y.D., Lee K.B., Noh I. *In vitro* response of primary human bone marrow stromal cells to recombinant human bone morphogenetic protein-2 in the early and late stages of osteoblast differentiation. *Dev. Growth Differ.*, 2008, Vol. 50, no. 7, pp. 553-564.
60. Ko K.S., McCulloch C.A. Intercellular mechanotransduction: cellular circuits that coordinate tissue responses to mechanical loading. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2001, Vol. 285, no. 5, pp. 1077-1083.
61. Kowanzetz M., Valcourt U., Bergström R., Heldin C.-H., Moustakas A. Id2 and Id3 define the potency of cell proliferation and differentiation responses to transforming growth factor beta and bone morphogenetic protein. *Mol. Cell. Biol.*, 2004, Vol. 24, no. 10, pp. 4241-4254.
62. Kozłowska U., Krawczyński A., Futoma K., Jurek T., Rorat M., Patrzalek D. Similarities and differences between mesenchymal stem/progenitor cells derived from various human tissues. *World J. Stem Cells*, 2019, Vol. 11, no. 6, pp. 347-374.
63. Kramps J.A., de Man B.M., de Jong W.W. The primary structure of the B2 chain of human alpha-crystallin. *FEBS Lett.*, 1977, Vol. 74, no. 1, pp. 82-84.
64. Kubo H., Shimizu M., Taya Y., Kawamoto T., Michida M., Kaneko E. Identification of mesenchymal stem cell (MSC)-transcription factors by microarray and knockdown analyses, and signature molecule-marked MSC in bone marrow by immunohistochemistry. *Genes Cells*, 2009, Vol. 14, no. 3, pp. 407-424.
65. Kulterer B., Friedl G., Jandrositz A., Sanchez-Cabo F., Prokesch A., Paar C. Gene expression profiling of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow during expansion and osteoblast differentiation. *BMC Genomics*, 2007, Vol. 8, 70. doi: 10.1186/1471-2164-8-70.
66. Kunitatsu R., Nakajima K., Awada T., Tsuka Y., Abe T., Ando K. Comparative characterization of stem cells from human exfoliated deciduous teeth, dental pulp, and bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2018, Vol. 501, no. 1, pp. 193-198.
67. Kwon A., Kim Y., Kim M., Kim J., Choi H., Jekarl D.W. Tissue-specific differentiation potency of mesenchymal stromal cells from perinatal tissues. *Sci. Rep.*, 2016, Vol. 6, 23544. doi: 10.1038/srep23544.
68. Lambrecht S., Verbruggen G., Elewaut D., Deforce D. Differential expression of alphaB-crystallin and evidence of its role as a mediator of matrix gene expression in osteoarthritis. *Arthritis Rheum.*, 2009, Vol. 60, no. 1, pp. 179-188.
69. Li C., Wu X., Tong J., Yang X., Zhao J., Zheng Q. Comparative analysis of human mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue under xeno-free conditions for cell therapy. *Stem Cell Res. Ther.*, 2015, Vol. 6, 55. doi: 10.1186/s13287-015-0066-5.

70. Li X., Bai J., Ji X., Li R., Xuan Y., Wang Y. Comprehensive characterization of four different populations of human mesenchymal stem cells as regards their immune properties, proliferation and differentiation. *Int. J. Mol. Med.*, 2014, Vol. 34, no. 3, pp. 695-704.
71. Lian J.B., Javed A., Zaidi S.K., Lengner C., Montecino M., van Wijnen A.J. Regulatory controls for osteoblast growth and differentiation: role of Runx/Cbfa/AML factors. *Crit. Rev. Eukaryot Gene Expr.*, 2004, Vol. 14, no. 1-2, pp. 1-41.
72. Litvinova L.S., Shupletsova V.V., Yurova K.A., Khaziakhmatova O.G., Todosenko N.M., Malashchenko V.V. Secretion of hematopoietic niche signal molecules under conditions of osteogenic differentiation of multipotent mesenchymal stromal cells induced by relief calcium phosphate coating. *Biochem. Mosc. Suppl. Ser. B Biomed. Chem.*, 2019, Vol. 13, pp. 341-348.
73. Liu F., Malaval L., Aubin J.E. The mature osteoblast phenotype is characterized by extensive plasticity. *Exp. Cell Res.*, 1997, Vol. 232, no. 1, pp. 97-105.
74. Liu T.M. Stemness of mesenchymal stem cells. *J Stem Cell Ther. Transplant.*, 2017, Vol. 1, pp. 71-73.
75. Loi F., Córdova L.A., Pajarinen J., Lin T., Yao Z., Goodman S.B. Inflammation, fracture and bone repair. *Bone*, 2016, Vol. 86, pp. 119-130.
76. Long F. Building strong bones: molecular regulation of the osteoblast lineage. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2011, Vol. 13, no. 1, pp. 27-38.
77. Lüthen F., Lange R., Becker P., Rychly J., Beck U., Nebe J.G.B. The influence of surface roughness of titanium on beta1- and beta3-integrin adhesion and the organization of fibronectin in human osteoblastic cells. *Biomaterials*, 2005, Vol. 26, no. 15, pp. 2423-2440.
78. Maeda S., Nobukuni T., Shimo-Onoda K., Hayashi K., Yone K., Komiya S. Sortilin is upregulated during osteoblastic differentiation of mesenchymal stem cells and promotes extracellular matrix mineralization. *J. Cell. Physiol.*, 2002, Vol. 193, no. 1, pp. 73-79.
79. Maeda Y., Tsuji K., Nifuji A., Noda M. Inhibitory helix-loop-helix transcription factors Id1/Id3 promote bone formation *in vivo*. *J. Cell. Biochem.*, 2004, Vol. 93, no. 2, pp. 337-344.
80. Magnusson L.U., Hagberg Thulin M., Plas P., Olsson A., Damber J.-E., Welén K. Tasquinimod inhibits prostate cancer growth in bone through alterations in the bone microenvironment. *Prostate*, 2016, Vol. 76, no. 4, pp. 383-393.
81. Mathieu P.S., Lobo E.G. Cytoskeletal and focal adhesion influences on mesenchymal stem cell shape, mechanical properties, and differentiation down osteogenic, adipogenic, and chondrogenic pathways. *Tissue Eng. Part B Rev.*, 2012, Vol. 18, no. 6, pp. 436-444.
82. McBeath R., Pirone D.M., Nelson C.M., Bhadriraju K., Chen C.S. Cell shape, cytoskeletal tension, and RhoA regulate stem cell lineage commitment. *Dev. Cell*, 2004, Vol. 6, no. 4, pp. 483-495.
83. McCafferty M.M., Burke G.A., Meenan B.J. Mesenchymal stem cell response to conformal sputter deposited calcium phosphate thin films on nanostructured titanium surfaces. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2014, Vol. 102, no. 10, pp. 3585-3597.
84. Medhat D., Rodríguez C.I., Infante A. Immunomodulatory effects of MSCs in bone healing. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, Vol. 20, no. 21, 5467. doi: 10.3390/ijms20215467.
85. Menuki K., Mori T., Sakai A., Sakuma M., Okimoto N., Shimizu Y. Climbing exercise enhances osteoblast differentiation and inhibits adipogenic differentiation with high expression of PTH/PTHrP receptor in bone marrow cells. *Bone*, 2008, Vol. 43, no. 3, pp. 613-620.
86. Mussano F., Genova T., Petrillo S., Roato I., Ferracini R., Munaron L. Osteogenic differentiation modulates the cytokine, chemokine, and growth factor profile of ASCs and SHED. *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, Vol. 19, no. 5, 1454. doi: 10.3390/ijms19051454.
87. Nagamura-Inoue T., He H. Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells: their advantages and potential clinical utility. *World J. Stem Cells*, 2014, Vol. 6, no. 2, pp. 195-202.
88. Niemeyer P., Kornacker M., Mehlhorn A., Seckinger A., Vohrer J., Schmal H. Comparison of immunological properties of bone marrow stromal cells and adipose tissue-derived stem cells before and after osteogenic differentiation *in vitro*. *Tissue Eng.*, 2007, Vol. 13, no. 1, pp. 111-121.
89. Ohashi K., Fujiwara S., Mizuno K. Roles of the cytoskeleton, cell adhesion and rho signalling in mechanosensing and mechanotransduction. *J. Biochem. (Tokyo)*, 2017, Vol. 161, no. 3, pp. 245-254.
90. Orciani M., Di Primio R. Skin-derived mesenchymal stem cells: isolation, culture, and characterization. *Methods Mol. Biol. Clifton N.J.*, 2013, Vol. 989, pp. 275-283.
91. Orr A.W., Helmke B.P., Blackman B.R., Schwartz M.A. Mechanisms of mechanotransduction. *Dev. Cell*, 2006, Vol. 10, no. 1, pp. 11-20.
92. Ozdemir T., Bowers D.T., Zhan X., Ghosh D., Brown J.L. Identification of key signaling pathways orchestrating substrate topography directed osteogenic differentiation through high-throughput siRNA Screening. *Sci. Rep.*, 2019, Vol. 9, 1001. doi: 10.1038/s41598-018-37554-y.

93. Parekh S.H., Chatterjee K., Lin-Gibson S., Moore N.M., Cicerone M.T., Young M.F. Modulus-driven differentiation of marrow stromal cells in 3D scaffolds that is independent of myosin-based cytoskeletal tension. *Biomaterials*, 2011, Vol. 32, pp. 2256-2264.
94. Park C.W., Kim K.-S., Bae S., Son H.K., Myung P.-K., Hong H.J. Cytokine secretion profiling of human mesenchymal stem cells by antibody array. *Int. J. Stem Cells*, 2009, Vol. 2, no. 1, pp. 59-68.
95. Park J.S., Chu J.S., Tsou A.D., Diop R., Tang Z., Wang A. The effect of matrix stiffness on the differentiation of mesenchymal stem cells in response to TGF- β . *Biomaterials*, 2011, Vol. 32, no. 16, pp. 3921-3930.
96. Park S.-H., Sim W.Y., Min B.-H., Yang S.S., Khademhosseini A., Kaplan D.L. Chip-based comparison of the osteogenesis of human bone marrow- and adipose tissue-derived mesenchymal stem cells under mechanical stimulation. *PLoS ONE*, 2012, Vol. 7, e46689. DOI: 10.1371/journal.pone.0046689.
97. Pelekanos R.A., Sardesai V.S., Futrega K., Lott W.B., Kuhn M., Doran M.R. Isolation and expansion of mesenchymal stem/stromal cells derived from human placenta tissue. *J. Vis. Exp.*, 2016, Vol. 112, 54204. doi: 10.3791/54204.
98. Prockop D.J. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. *Science*, 1997, Vol. 276, no. 5309, pp. 71-74.
99. Prowse P.D.H., Elliott C.G., Hutter J., Hamilton D.W. Inhibition of Rac and ROCK signalling influence osteoblast adhesion, differentiation and mineralization on titanium topographies. *PLoS ONE*, 2013, Vol. 8, e58898. doi: 10.1371/journal.pone.0058898.
100. Rath S.N., Noeaid P., Arkudas A., Beier J.P., Strobel L.A., Brandl A. Adipose- and bone marrow-derived mesenchymal stem cells display different osteogenic differentiation patterns in 3D bioactive glass-based scaffolds. *J. Tissue Eng. Regen. Med.*, 2016, Vol. 10, no. 10, pp. E497-E509.
101. Rauch A., Haakonsson A.K., Madsen J.G.S., Larsen M., Forss I., Madsen M.R. Osteogenesis depends on commissioning of a network of stem cell transcription factors that act as repressors of adipogenesis. *Nat. Genet.*, 2019, Vol. 51, no. 4, pp. 716-727.
102. Rawadi G., Vayssière B., Dunn F., Baron R., Roman-Roman S. BMP-2 controls alkaline phosphatase expression and osteoblast mineralization by a Wnt autocrine loop. *J. Bone Miner. Res.*, 2003, Vol. 18, no. 10, pp. 1842-1853.
103. Roelen B.A.J., ten Dijke P. Controlling mesenchymal stem cell differentiation by TGF β family members. *J. Orthop. Sci.*, 2003, Vol. 8, no. 5, pp. 740-748.
104. Roostalu J., Surrey T. Microtubule nucleation: beyond the template. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2017, Vol. 18, no. 11, pp. 702-710.
105. Rowland C.R., Glass K.A., Etyreddy A.R., Gloss C.C., Matthews J.R.L., Huynh N.P.T. Regulation of decellularized tissue remodeling via scaffold-mediated lentiviral delivery in anatomically-shaped osteochondral constructs. *Biomaterials*, 2018, Vol. 177, pp. 161-175.
106. Ruef N., Dolder S., Aeberli D., Seitz M., Balani D., Hofstetter W. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-dependent CD11c-positive cells differentiate into active osteoclasts. *Bone*, 2017, Vol. 97, pp. 267-277.
107. Saidova A.A., Vorobjev I.A. Lineage commitment, signaling pathways, and the cytoskeleton systems in mesenchymal stem cells. *Tissue Eng. Part B Rev.*, 2020, Vol. 26, no. 1, pp. 13-25.
108. Schmidt-Bleek K., Kwee B.J., Mooney D.J., Duda G.N. Boon and bane of inflammation in bone tissue regeneration and its link with angiogenesis. *Tissue Eng. Part B Rev.*, 2015, Vol. 21, no. 4, pp. 354-364.
109. Schwarz U.S., Erdmann T., Bischofs I.B. Focal adhesions as mechanosensors: the two-spring model. *Biosystems*, 2006, Vol. 83, no. 2-3, pp. 225-232.
110. Sciaudone M., Gazzero E., Priest L., Delany A.M., Canalis E. Notch 1 impairs osteoblastic cell differentiation. *Endocrinology*, 2003, Vol. 144, no. 12, pp. 5631-5639.
111. Sen B., Xie Z., Case N., Thompson W.R., Uzer G., Styner M. mTORC2 regulates mechanically induced cytoskeletal reorganization and lineage selection in marrow-derived mesenchymal stem cells. *J. Bone Miner. Res.*, 2014, Vol. 29, no. 1, pp. 78-89.
112. Shafiee A., Seyedjafari E., Soleimani M., Ahmadbeigi N., Dinarvand P., Ghaemi N. A comparison between osteogenic differentiation of human unrestricted somatic stem cells and mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue. *Biotechnol. Lett.*, 2011, Vol. 33, no. 6, pp. 1257-1264.
113. Shafir Y., Forgacs G. Mechanotransduction through the cytoskeleton. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2002, Vol. 282, no. 3, pp. 479-486.
114. Shi M., Liu Z., Wang Y., Xu R., Sun Y., Zhang M. A pilot study of mesenchymal stem cell therapy for acute liver allograft rejection. *Stem Cells Transl. Med.*, 2017, Vol. 6, no. 12, pp. 2053-2061.
115. Sinha K. M., Zhou X. Genetic and molecular control of osterix in skeletal formation. *J. Cell. Biochem.*, 2013, Vol. 114, no. 5, pp. 975-984.
116. Sniadecki N.J., Desai R.A., Ruiz S.A., Chen C.S. Nanotechnology for cell-substrate interactions. *Ann. Biomed. Eng.*, 2006, Vol. 34, no. 1, pp. 59-74.
117. Sohn D.H., Jeong H., Roh J.S., Lee H.-N., Kim E., Koh J.H. Serum CCL11 level is associated with radiographic spinal damage in patients with ankylosing spondylitis. *Rheumatol. Int.*, 2018, Vol. 38, no. 8, pp. 1455-1464.

118. Song I., Kim B.-S., Kim C.-S., Im G.-I. Effects of BMP-2 and vitamin D3 on the osteogenic differentiation of adipose stem cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 2011, Vol. 408, no. 1, pp. 126-131.
119. Sonowal H., Kumar A., Bhattacharyya J., Gogoi P.K., Jaganathan B.G. Inhibition of actin polymerization decreases osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells through p38 MAPK pathway. *J. Biomed. Sci.*, 2013, Vol. 20, 71. doi: 10.1186/1423-0127-20-71.
120. Spiegelman B.M., Farmer S.R. Decreases in tubulin and actin gene expression prior to morphological differentiation of 3T3 adipocytes. *Cell*, 1982, Vol. 29, no. 1, pp. 53-60.
121. Steward A.J., Cole J.H., Ligler F.S., Lobo E.G. Mechanical and vascular cues synergistically enhance osteogenesis in human mesenchymal stem cells. *Tissue Eng. Part A*, 2016, Vol. 22, no. 15-16, pp. 997-1005.
122. Steward A.J., Kelly D.J. Mechanical regulation of mesenchymal stem cell differentiation. *J. Anat.*, 2015, Vol. 227, no. 6, pp. 717-731.
123. Stiehler M., Büniger C., Baatrup A., Lind M., Kassem M., Mygind T. Effect of dynamic 3-D culture on proliferation, distribution, and osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *J. Biomed. Mater. Res. A*, 2009, Vol. 89, no. 1, pp. 96-107.
124. Stocchero I.N., Stocchero G.F. Isolation of stem cells from human adipose tissue: technique, problems, and pearls. *Adipose Stem Cells and Regenerative Medicine*, 2011, pp. 13-18.
125. Sumanasinghe R.D., Bernacki S.H., Lobo E.G. Osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells in collagen matrices: effect of uniaxial cyclic tensile strain on bone morphogenetic protein (BMP-2) mRNA expression. *Tissue Eng.*, 2006, Vol. 12, no. 12, pp. 3459-3465.
126. Takayanagi H., Ogasawara K., Hida S., Chiba T., Murata S., Sato K. T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signalling cross-talk between RANKL and IFN-gamma. *Nature*, 2000, Vol. 408, no. 6812, pp. 600-605.
127. Thiagarajan L., Abu-Awwad H.A.-D.M., Dixon J.E. Osteogenic Programming of Human Mesenchymal Stem Cells with Highly Efficient Intracellular Delivery of RUNX2. *Stem Cells Transl. Med.*, 2017, Vol. 6, no. 12, pp. 2146-2159.
128. Thomas C.H., Collier J.H., Sfeir C.S., Healy K.E. Engineering gene expression and protein synthesis by modulation of nuclear shape. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, Vol. 99, no. 4, pp. 1972-1977.
129. Tong X., Chen X., Zhang S., Huang M., Shen X., Xu J. The effect of exercise on the prevention of osteoporosis and bone angiogenesis. *BioMed. Res. Int.*, 2019, Vol. 2019, 8171897. doi: 10.1155/2019/8171897.
130. Urist M.R., Strates B.S. Bone morphogenetic protein. *J. Dent. Res.*, 1971, Vol. 50, no. 6, pp. 1392-1406.
131. Wechsler M.E., Hermann B.P., Bizios R. Adult human mesenchymal stem cell differentiation at the cell population and single-cell levels under alternating electric current. *Tissue Eng. Part C Methods*, 2016, Vol. 22, no. 2, pp. 155-164.
132. Woo D.-H., Hwang H.S., Shim J.H. Comparison of adult stem cells derived from multiple stem cell niches. *Biotechnol. Lett.*, 2016, Vol. 38, no. 5, pp. 751-759.
133. Wu S., Xiao Z., Song J., Li M., Li W. Evaluation of BMP-2 enhances the osteoblast differentiation of human amnion mesenchymal stem cells seeded on nano-hydroxyapatite/collagen/poly(L-Lactide). *Int. J. Mol. Sci.*, 2018, Vol. 19, no. 8, 2171. doi: 10.3390/ijms19082171.
134. Wu W., Le A.V., Mendez J.J., Chang J., Niklason L.E., Steinbacher D.M. Osteogenic performance of donor-matched human adipose and bone marrow mesenchymal cells under dynamic culture. *Tissue Eng. Part A*, 2015, Vol. 21, no. 9-10, pp. 1621-1632.
135. Wu X., Wang W., Meng C., Yang S., Duan D., Xu W. Regulation of differentiation in trabecular bone-derived mesenchymal stem cells by T cell activation and inflammation. *Oncol. Rep.*, 2013, Vol. 30, no. 5, pp. 2211-2219.
136. Xing Z., Lu C., Hu D., Yu Y., Wang X., Colnot C. Multiple roles for CCR2 during fracture healing. *Dis. Model Mech.*, 2010, Vol. 3, no. 7-8, pp. 451-458.
137. Xu L., Liu Y., Sun Y., Wang B., Xiong Y., Lin W. Tissue source determines the differentiation potentials of mesenchymal stem cells: a comparative study of human mesenchymal stem cells from bone marrow and adipose tissue. *Stem Cell Res. Ther.*, 2017, Vol. 8, no. 1, 275. doi: 10.1186/s13287-017-0716-x.
138. Yamada Y., Nakamura S., Ito K., Sugito T., Yoshimi R., Nagasaka T. A feasibility of useful cell-based therapy by bone regeneration with deciduous tooth stem cells, dental pulp stem cells, or bone-marrow-derived mesenchymal stem cells for clinical study using tissue engineering technology. *Tissue Eng. Part A*, 2010, Vol. 16, no. 6, pp. 1891-900.
139. Yamagishi T., Otsuka E., Hagiwara H. Reciprocal control of expression of mRNAs for osteoclast differentiation factor and OPG in osteogenic stromal cells by genistein: evidence for the involvement of topoisomerase II in osteoclastogenesis. *Endocrinology*, 2001, Vol. 142, no. 8, pp. 3632-3637.
140. Yang W., Han W., He W., Li J., Wang J., Feng H. Surface topography of hydroxyapatite promotes osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.*, 2016, Vol. 60, pp. 45-53.
141. Yuan Y., Chen X., Zhang L., Wu J., Guo J., Zou D. The roles of exercise in bone remodeling and in prevention and treatment of osteoporosis. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 2016, Vol. 122, no. 2, pp. 122-130.

142. Yurova K.A., Khaziakhmatova O.G., Melashchenko E.S., Malashchenko V.V., Shunkin E.O., Shupletsova V.V. Cellular and Molecular Basis of Osteoblastic and Vascular Niches in the Processes of Hematopoiesis and Bone Remodeling (A Short Review of Modern Views). *Curr. Pharm. Des.*, 2019, Vol. 25, no. 6, pp. 663-669.

143. Zernik J., Twarog K., Upholt W.B. Regulation of alkaline phosphatase and alpha 2(I) procollagen synthesis during early intramembranous bone formation in the rat mandible. *Differ. Res. Biol. Divers.*, 1990, Vol. 44, no. 3, pp. 207-215.

144. Zheng Z.-W., Chen Y.-H., Wu D.-Y., Wang J.-B., Lv M.-M., Wang X.-S. Development of an accurate and proactive immunomodulatory strategy to improve bone substitute material-mediated osteogenesis and angiogenesis. *Theranostics*, 2018, Vol. 8, no. 19, pp. 5482-5500.

145. Zhu B., Xue F., Li G., Zhang C. CRYAB promotes osteogenic differentiation of human bone marrow stem cells via stabilizing β -catenin and promoting the Wnt signalling. *Cell Prolif.*, 2020, Vol. 53, e12709. doi: 10.1111/cpr.12709.

146. Zwetsloot A.J., Tut G., Straube A. Measuring microtubule dynamics. *Essays Biochem.*, 2018, Vol. 62, no. 6, pp. 725-735.

Авторы:

Юрова К.А. — к.м.н., научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени И. Канта», г. Калининград, Россия

Мелашченко Е.С. — младший научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени И. Канта», г. Калининград, Россия

Хазиахматова О.Г. — к.б.н., научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени И. Канта», г. Калининград, Россия

Мелашченко В.В. — научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени И. Канта», г. Калининград, Россия

Мелашченко О.Б. — научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени И. Канта», г. Калининград, Россия

Шункин Е.О. — младший научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени И. Канта», г. Калининград, Россия

Норкин И.К. — аспирант медицинского института ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени И. Канта», г. Калининград, Россия

Хлусов И.А. — д.м.н., главный научный сотрудник Центра иммунологии и клеточных биотехнологий ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени И. Канта», г. Калининград; профессор кафедры морфологии и общей патологии ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ; профессор Исследовательской школы химических и биомедицинских технологий ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет», г. Томск, Россия

Литвинова Л.С. — д.м.н., директор Центра иммунологии и клеточных биотехнологий Балтийского федерального университета ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени И. Канта», г. Калининград, Россия

Authors:

Yurova K.A., PhD (Medicine), Research Associate, Center of Immunology and Cellular Biotechnologies, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Melashchenko E.S., Junior Research Associate, Center of Immunology and Cellular Biotechnologies, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Khaziakhmatova O.G., PhD (Biology), Research Associate, Center of Immunology and Cellular Biotechnologies, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Malashchenko V.V., Research Associate, Center of Immunology and Cellular Biotechnologies, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Melashchenko O.B., Research Associate, Center of Immunology and Cellular Biotechnologies, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Shunkin E.O., Junior Research Associate, Center of Immunology and Cellular Biotechnologies, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Norkin I.K., Postgraduate Student, Medical Institute, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Khlyusov I.A., PhD, MD (Medicine), Chief Research Associate, Center of Immunology and Cellular Biotechnologies, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad; Professor, Department of Morphology and General Pathology, Siberian State Medical University; Professor, Research School of Chemical and Biomedical Technologies, National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russian Federation

Litvinova L.S., PhD, MD (Medicine), Director, Center of Immunology and Cellular Biotechnologies, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation