

ПРОБЛЕМА ДЕФИНИЦИИ СТВОЛОВОЙ КЛЕТКИ

© 2019 г. Е. А. Воротеляк¹*, А. В. Васильев¹, В. В. Терских¹

¹Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва, 119334 Россия

*E-mail: vorotelyak@yandex.ru

Поступила в редакцию 22.08.2018 г.

После доработки 22.10.2018 г.

Принята к публикации 22.10.2018 г.

Система стволовых клеток (СК) играет центральную роль в развитии и гомеостазе организма, регенерации и эволюции. За последние 150 лет концепция стволовой клетки претерпела значительные изменения, однако и в настоящее время еще нет общепринятой модели СК. В обзоре обсуждаются важнейшие свойства СК, такие как самоподдержание, регенеративный резерв, старение, пластичность и гетерогенность. Концепция СК развивается по мере разработки новых методов и технологий, используемых для изучения фундаментальных аспектов биологии клетки. Обсуждается проблема определения и перспективы дальнейшего изучения СК.

Ключевые слова: стволовые клетки, самоподдержание, микроокружение, пластичность, пролиферация, гемопоэз, эпителий, регенерация

DOI: 10.1134/S0041377119010073

Система стволовых клеток (СК) играет центральную роль в эмбриональном развитии и поддержании жизни взрослого организма, регенерации и эволюционном процессе (Weissman, 2000). С одной стороны, СК регулируются молекулярными сигналами, создаваемыми микроокружением (нишей) и организмом в целом, а с другой — они на клеточном уровне обеспечивают целостность генома и построение тканей в эмбриональном развитии, а во взрослом организме поддерживают тканевой гомеостаз. Термин “стволовая клетка” предложил в 1868 г. выдающийся германский биолог Э. Геккель (Суханов и др., 2018). Исторически изучение СК началось с гемопоэтической системы (Till, McCulloch, 1961). Тогда же было предложено определение СК крови, согласно которому они способны к длительной пролиферации и самоподдержанию, а также продукции ограниченного числа специализированных типов клеток (Siminovitch et al., 1963; Till et al., 1964). В связи с этим первоначальная модель СК предполагала ее мультипотентность, т.е. продукцию разных типов дифференцированных клеток (Robert, 2004). Унипотентные СК, типичными представителями которых могут служить сперматогонииальные СК, не сразу признали стволовыми (Slack, 2000; Melton, Cowan, 2009). Однако мультипотентность не является уникальным свойством СК. В раннем эмбриональном развитии многие клетки проходят ряд последовательных мультипотентных стадий, которые не соот-

ветствуют принятому в настоящее время определению СК.

Часто взрослые СК рассматривают как недифференцированные. Лайта (Lajtha, 1979) считал, что СК взрослого организма нельзя считать недифференцированными, но они, конечно, менее дифференцированы, чем клеточные линии, которым они дают начало. Скорее их можно считать остановившимися в определенный момент в своем движении по пути дифференциации при сохранении способности к самоподдержанию (Mikkers, Frisén, 2005). Наименее дифференцированными считаются плюрипотентные эмбриональные СК.

Парадигма стволовых клеток складывалась в первую очередь на основании изучения кроветворной системы мыши. По мере накопления экспериментальных данных оказывалось, что проблема СК гораздо сложнее, чем это первоначально предполагалось. Дальнейшее изучение показало, что система СК крови не является типичной для всех систем СК. Тем не менее имеется определенное сходство между кроветворными СК и СК других систем, что представляется важным для создания понятия СК.

Ряд авторов подвергли сложившуюся концепцию стволовой клетки критике и указали на заблуждения, возникшие в течение первых 50 лет экспериментального изучения СК, в первую очередь гемопоэтических. К таким заблуждениям они отнесли следующие: СК имеет фиксированный фенотип, СК не циклирует и не функционирует, СК регулируется иерархически и не пересекает барьер между клеточными линиями. Эти авторы считали, что классиче-

Принятые сокращения: СК — стволовая(ые) клетка(и).

ские представления о свойствах СК уже недостаточны и необходимо проводить молекулярные исследования СК (Quesenberry et al., 2005; Shostak, 2006; Lander, 2009; Eaves, 2015).

Одна из трудностей в изучении СК заключается в том, что они составляют ничтожно малую часть клеточной популяции. Ориентировочный подсчет дает величину, равную 1 СК на 2 млн CD34⁺-клеток, или 3–5 СК крови на 1 кг массы тела (Bystrykh et al., 2012). Исключительное затруднение связано с тем, что СК невозможно с достоверностью обнаружить по морфологическим признакам (Potten, 1979). Лишь в редких случаях (например, СК линии зародышевых клеток семенников новорожденных крыс) они могут быть определены морфологически (Orwig et al., 2002). Еще одна трудность связана с тем, что условия эксперимента могут влиять на поведение СК. Примером могут служить данные авторов, (Sun et al., 2014), которые изучали поведение гемопоэтических СК *in vivo*. Эти авторы показали, что гемопоэтические СК, меченные *in situ* с помощью транспозонной системы, ведут себя не так, как СК, выделенные из костного мозга и трансплантированные облученным мышам. У взрослых животных тканевой гемопоэз поддерживают долгоживущие прогениторы, а не классические гемопоэтические СК, регулярно продуцирующие транзиторные клетки.

Моррисон и Вейсман (Morrison, Weissman, 1994) показали, что у мыши существуют долгоживущие стволовые кроветворные клетки, которые самоподдерживаются на протяжении жизни организма, тогда как короткоживущие способны самоподдерживаться около 8 нед. В течение длительного времени систему стволовых клеток крови рассматривали как иерархию, на вершине которой находится долгоживущая самоподдерживающаяся стволовая (LT-HSC), которая производит самоподдерживающиеся СК с короткой продолжительностью жизни (ST-HSC). Короткоживущие стволовые дают начало клеткам транзиторного компартмента, которые в конце концов производят зрелые клетки крови (Weissman, 2000). Дальнейшие исследования показали, что гемопоэтические СК большую часть жизненного цикла находятся в состоянии покоя (в фазе G₀ клеточного цикла), и гемопоэз поддерживается за счет пролиферации большого числа долгоживущих прогениторов (Sun et al., 2014).

Постепенно стали появляться данные, которые не поддерживали классические представления о стволовых. В то же время термин “стволовая клетка” прочно укоренился в литературе, и СК стали называть самые разные клетки. Помимо взрослых СК появились такие понятия, как эмбриональные и индуцированные плюрипотентные СК, которые существуют только в условиях культивирования *in vitro*. Затем стало очевидным, что рост опухолей также поддерживается фракцией клеток, которые получили название раковых СК (Hermann et al., 2010). Клетки, участвующие в регенерации таких ор-

ганов, как печень или поджелудочная железа, получили название факультативных СК (Yanger, Stanger, 2011). Описаны очень мелкие сходные с эмбриональными (very small embryonic-like, VSEL) СК (Bhartiya et al., 2013).

В течение длительного времени неоднократно предпринимались попытки охарактеризовать понятие СК и дать ему исчерпывающее определение, которое можно отнести к разным типам взрослых и эмбриональных СК (например: Cronkite, 1979; Lajtha, 1979; Potten, Loeffler, 1990; Weissman, 2000). Были предприняты попытки механистически классифицировать СК (Rao, 2004), однако ввиду необычайного их разнообразия удовлетворительной номенклатуры СК пока не существует (Shostak, 2006). Клеточные биологи неоднократно обсуждали проблему дефиниции СК ввиду ее исключительной фундаментальной важности, однако до сих пор законченный “портрет” СК отсутствует (Zipori, 2004). В связи с этим представляет интерес детально рассмотреть разные попытки охарактеризовать отдельные аспекты биологии СК, в частности молекулярно-биологические исследования, чтобы прояснить понятие СК.

САМОПОДДЕРЖАНИЕ

Под термином самоподдержание (self-maintaining или self-renewal) подразумевают способность СК регулярно совершать большое число делений при сохранении биологической информации и целостности генома в течение длительного времени, часто сопоставимого с продолжительностью жизни организма. Термин self-maintaining (самоподдержание) подразумевает, что на популяционном уровне число СК в течение длительного периода наблюдения остается неизменным. Термин self-renewal (самообновление) подчеркивает, что свойства отдельных дочерних СК полностью воспроизводят биологические свойства материнских клеток. Эксперименты по серийной трансплантации гемопоэтических СК показали их большую продолжительность жизни (Iscoe, Nawa, 1997). Росс и соавторы не обнаружили снижения эффективности самоподдержания гемопоэтических СК после многократного подавления кроветворения с помощью инъекций оксимочевина и последующей его регенерации (Ross et al., 1982). Для характеристики взрослых СК предложено считать, что они самоподдерживаются на протяжении жизни организма (Van der Kooy, Weiss, 2000).

Вопрос о продолжительности жизни СК обсуждался неоднократно. Первоначально предполагали, что все кроветворные СК имеют очень большую продолжительность жизни, однако пул СК оказался чрезвычайно гетерогенным, если оценивать его по потенциалу самоподдержания и способности к длительной репопуляции (Gueneschea et al., 2001). Многие СК обладают значительной способностью к самоподдержанию на протяжении всей (или большей части) жизни организма, но остается неясным вопрос о том, действительно ли СК воспроизводят свою точ-

ную копию при размножении, т.е. насколько точен термин “самообновление”. На самом деле СК могут претерпевать изменения, например, могут стареть или малигнизироваться. Кроме того, в некоторых тканях СК могут сохраняться на протяжении большей части онтогенеза и при этом не пролиферировать, оставаясь в “спящем” состоянии. Например, СК сетчатки глаза млекопитающих во взрослом организме пребывают в состоянии покоя и практически не размножаются. Однако эти клетки являются пролиферативным резервом ткани и могут участвовать в процессах регенерации (Tropere et al., 2000). Женские герминативные СК млекопитающих активно размножаются во время эмбриогенеза, и уже к моменту рождения пролиферация этих клеток завершается, и яичники не содержат самоподдерживающихся герминативных СК (McLaren, 1984).

Пролиферативная активность СК контролируется определенными генами, от экспрессии которых зависит поддержание баланса между самоподдержанием и дифференциацией СК. Например, в самоподдержании гемопоэтических СК мыши ключевую роль играет протоонкоген *bmi-1*, участвующий в регулировании экспрессии генов *p16^{Ink4a}* и *p19^{Arf}*, которые ингибируют продвижение клеток по клеточному циклу. Повышение экспрессии гена *bmi-1* у взрослых мышей стимулирует пролиферацию и самоподдержание СК, тогда как отсутствие экспрессии *bmi-1* вызывает существенное нарушение пролиферации, снижение числа СК и увеличение вероятности их коммитирования в направлении дифференциации (Jacobs et al., 1999; Lessard, Sauvageau, 2003; Park et al., 2003).

Способность к самоподдержанию является характерным, но не исключительным свойством СК. Унипотентные, бипотентные и мультипотентные прогениторные клетки часто могут самоподдерживаться достаточно долго (Back et al., 2004). Программа, обеспечивающая самоподдержание, может функционировать в разных клетках с разной интенсивностью и может быть восстановлена в специализированных клетках. Она выключается при терминальной дифференциации постмитотических клеток.

РЕГЕНЕРАТИВНЫЙ РЕЗЕРВ

Своеобразие биологии взрослых СК заключается в том, что они значительную часть жизненного цикла проводят в состоянии покоя (фаза G_0 клеточного цикла) и формируют “спящий” регенеративный резерв ткани. Покоящиеся СК регулируются молекулярными механизмами и находятся в состоянии активной готовности ответить на изменения в их микроокружении. Этот ответ может выражаться в переходе к дифференциации или к пролиферации (Venezia et al., 2004). Брэдфорд и коллеги (Bradford et al., 1997) изучили кинетику пролиферации примитивных гемопоэтических СК и прогениторных клеток мыши по включению бромдезоксифуридина (BrdU) и показа-

ли, что в течение 1 нед. около 30% СК вступали в период синтеза ДНК, через 4 и 12 нед. около 60 и 89% клеток соответственно, по крайней мере, один раз вступали в фазу синтеза ДНК. По данным лаборатории Вейссмана (Cheshier et al., 1999), приблизительно 75% долгоживущих гемопоэтических СК (LT-HSC) в любой момент времени находятся в фазе G_0 . Согласно данным этих авторов 99% гемопоэтических клеток включали BrdU в течение 6 мес, делясь в среднем каждые 57 сут.

СК мыши медленно пролиферируют за счет длительного пребывания в фазе G_0 и делятся в среднем каждые 145 сут или 5 раз за время жизни мыши (Wilson et al., 2008). Эти спящие СК эффективно активируются и пролиферируют в ответ на повреждение костного мозга или стимуляцию G-CSF (гранулоцитарный колониестимулирующий фактор). После восстановления тканевого гомеостаза активированные СК возвращаются в состояние покоя.

СК человека проводят в состоянии покоя гораздо больше времени, чем СК мыши. Средняя продолжительность их клеточного цикла составляет 45 нед. (Shepherd et al., 2004). Таким образом, СК, переходящие в состояние покоя, продолжают очень медленно продвигаться по клеточному циклу. При этом они всегда готовы отреагировать на пролиферативные стимулы. В состоянии покоя СК для сохранения жизнеспособности нуждаются в сигналах со стороны ниши (Keller et al., 1995).

Окрашивая гемопоэтические СК витальным красителем Hoechst 33342 и применяя проточную цитометрию, авторы (Goodell et al., 1996, 1997) обнаружили минорную фракцию клеток с фенотипическими маркерами мультипотентных СК, обозначенную ими как “побочная популяция” (side population, SP). Клетки SP не накапливали краситель Hoechst 33342 благодаря активности мембранных белков, выводящих этот краситель (эти же белки обеспечивают множественную лекарственную устойчивость раковых клеток). Клетки SP были CD34-негативными и производили клетки лимфоидной и миелоидной линий. В низкой дозе они защищали летально облученных мышей. Оценка количества ДНК показала, что от 1 до 3% клеток SP находились в фазах клеточного цикла S/ G_2 /M. Эта фракция клеток была образована примитивными CD34-негативными гемопоэтическими СК и обладала такой же способностью восстанавливать кроветворную систему, как и покоящиеся СК в фазе G_0 .

Пребывание СК в состоянии покоя регулируется механизмами клеточного цикла. Например, изучение роли ингибитора циклинзависимой киназы $p21^{cip1/waf1}$, которая регулирует переход покоящихся гемопоэтических СК к пролиферации (G_1 /S-чекпойнт) показало, что у мышей с генотипом $p21^{-/-}$ наблюдаются усиление пролиферации примитивных СК и увеличение числа СК в условиях нормального гомеостаза (Cheng et al., 2000). При серийной трансплантации костного мозга у этих мышей усиливает-

ся пролиферация СК, приводящая к их истощению. Опухолевый супрессор ген *p53* выполняет широкий спектр функций в развитии организма, в том числе регулирует состояние покоя и поддерживает стабильность генома (Vousden, Lane, 2007; Liu et al., 2009).

Интересные данные были получены при изучении СК волосяного фолликула молодых мышей. На этой модели было показано, что временная экспрессия гена транскрипционного фактора *Foxc1* способствует переходу самоподдерживающихся СК в состояние покоя. Удаление фактора *Foxc1* в активированных, но не покоящихся СК, приводит к неспособности этих клеток перейти в состояние покоя (Wang et al., 2016).

Во время взрослой жизни мыши фракция редко делящихся СК, в которую входят все долговременные гемопоэтические СК (LT-HSC), совершает четыре симметричных деления для увеличения размера популяции (Bernitz et al., 2016). Промежутки между этими делениями последовательно увеличиваются, а после пятого деления СК переходят в состояние покоя.

В состоянии покоя взрослые СК оказываются устойчивыми ко многим факторам, токсичным для специализированных клеток. Например, внутривенная инъекция 5-фторурацила вызывает гибель зрелых гемопоэтических клеток, однако покоящиеся СК сохраняют жизнеспособность. Спустя некоторое время они активируются и восстанавливают кроветворную систему (Van Zant, 1984). В экспериментах на мышах было показано, что кроветворная система после многократного истощения с помощью оксимочевина успешно восстанавливалась за счет активации покоящихся СК (Ross et al., 1982).

Одним из важных механизмов сохранения гомеостаза *in vivo* может служить апоптоз. Показано, что у трансгенных мышей H2K-BCL-2 с повышенной экспрессией антиапоптотического белка BCL-2 в гемопоэтических СК наблюдаются увеличение числа СК, рост эффективности клонирования *in vitro* и повышение способности восстанавливать кроветворение у облученных мышей (Domen, 2001).

СТАРЕНИЕ

Многочисленные наблюдения свидетельствуют о том, что взрослые СК подвержены старению. Стареют СК крови и вся кроветворная система, стареют сперматогонияльные СК (Zhang et al., 2006; Carlson, Conboy, 2007; Engels et al., 2007; Dykstra et al., 2011; Snoeck, 2013). Изучение мезенхимных СК и прогениторных клеток крови человека показало, что с возрастом пациентов метаболизм клеток меняется. В стареющих мезенхимных СК усиливается экспрессия 67 генов и подавляется экспрессия 60 генов. В гемопоэтических прогениторных клетках при старении экспрессия 432 генов индуцировалась, а экспрессия 495 генов подавлялась (Wagner et al., 2009).

Считается, что старение нарушает репликативные способности клеток и, таким образом, ограничивает самоподдержание клеток и регенерацию

травмированных органов. Одна из главных причин старения — метаболизм клеток, в результате которого образуются химически агрессивные активные формы кислорода. Эти продукты повреждают белки и ДНК и вызывают перекисное окисление липидов, ведущее к глубокому повреждению клеточных мембран (Balaban et al., 2005). В СК старых мышей, пребывающих в фазе G_0 клеточного цикла, накапливаются хромосомные нарушения в результате снижения способности репарировать повреждения ДНК, что может быть одной из причин старения СК (Rossi et al., 2007).

Стареющие сателлитные клетки старых мышей можно физиологически омолодить (восстановить сигнализацию Notch и повысить пролиферативную активность) в результате гетерохронного парабиоза — создания общего кровообращения между молодыми и старыми мышами (Conboy et al., 2005). Возрастные эпигенетические изменения в клетках, связанные с процессами метаболизма, могут “омолаживаться” (Ashapkin et al., 2017).

МИКРООКРУЖЕНИЕ

Взрослые СК функционируют в стабильном специализированном микроокружении (нише) зрелых тканей, которое обеспечивает их жизнеспособность на протяжении жизни организма. Концепцию ниши СК предложил Скофилд (Schofield, 1978). По сложившимся представлениям, ниши создают анатомическое пространство для поддержания жизнеспособности СК и регулирования их численности. Они контролируют поведение СК, создают сигналы для самоподдержания, когда СК остаются в нише, или же комитируют дочерние клетки к дифференциации, влияют на миграционную способность СК. В состав ниши входят: 1) внеклеточный матрикс, который содержит большое число биологически активных молекул; кроме того, для СК важны его механические свойства и микроструктура поверхности; 2) окружающие соматические клетки разных типов, в первую очередь клетки, вступающие в непосредственный контакт с СК, их адгезивные и механические свойства, соседние СК, а также их дифференцирующие потомки; 3) цитокины, факторы роста, гормоны и другие биоактивные факторы, продуцируемые в результате аутокринной, паракринной или эндокринной секреции.

Специфические компоненты ниш в разных тканях и при разных физиологических условиях могут существенно варьировать. Но главный момент заключается в том, что в нишах сигналы от клеток и неклеточных факторов интегрируются и определяют поведение СК. Благодаря этому СК находятся под постоянным контролем со стороны микроокружения и организма в целом. В зависимости от микроокружения СК могут принимать решение пролиферировать или находиться в покое, самоподдерживаться или дифференцироваться, мигрировать или оставаться в нише, сохранять жизнеспособность или

погибать. Важный момент заключается в том, что СК многоклеточных организмов не могут выживать длительное время сами по себе, вне микроокружения, тогда как ниши часто могут оставаться вакантными в ожидании СК (Shimoto et al., 2017). Гемопозитические СК обладают уникальным свойством покидать ниши и мигрировать между специфическими нишами (Whetton, Graham, 1999; Kaplan et al., 2007). Некоторые СК обладают исключительно эффективным хомингом (Matsuzaki et al., 2004), тогда как отдельные фракции гемопозитических клеток необходимо вводить внутрь кости, чтобы они могли находиться ниши и пролиферировать (Wang et al., 2003).

Ниши СК, так же как и сами СК, возникают на определенных стадиях онтогенеза и обеспечивают протекание морфогенетических процессов в организме, поэтому онтогенез можно описать в терминах формирования СК и соответствующих ниш. СК вместе с нишами образуют тканевые структурные единицы, функция которых направлена на поддержание гомеостаза ткани, регенерацию и на спецификацию клеток (Slack, 2000; Терских и др., 2003).

В ткани происходит взаимодействие между многочисленными гетерогенными структурами, образованными СК и нишами. Это взаимодействие выражается в координировании количества и распределении ниш на пространстве ткани (или органа). На уровне ткани осуществляется координированная продукция новых клеток как в случае поддержания гомеостаза, так и при регенерации ткани (O'Brien, Bilder, 2013). С этим согласуются данные, согласно которым у млекопитающих число гемопозитических СК в пересчете на одно животное остается постоянным (Abkowitz et al., 2002).

КЛОНИРОВАНИЕ

Одна из характеристик СК заключается в том, что они образуют клоны, состоящие из дочерних клеток и специализированных потомков. Мультипотентные гемопозитические СК образуют самоподдерживающиеся клоны, которые дают начало нескольким дифференцированным типам клеток. В процессе изучения гемопоза у мыши были выдвинуты две основные модели функционирования клонов СК. Модель последовательной смены клонов (clonal succession model) заключается в том, что СК по внутренним причинам (лимит Хейфлика) имеют ограниченную способность к репопуляции и гемопозз осуществляется путем последовательной смены отдельных клонов. Со временем отдельные клоны истощаются и заменяются новыми клонами (Kay, 1965; Lemischka et al., 1986; Brown et al., 1989).

Модель гемопоза, рассматривающая постоянство клонов (clonal stability model), предполагает одновременную пролиферацию большого числа клонов на протяжении длительного времени. В этом случае присутствует поликлональный пул СК (Harrison et al., 1988). Дальнейшие исследования давали

доказательства в пользу то одной, то другой концепции. Облучение реципиента и трансплантация донорских клеток существенно влияют на гемопозз. После внутривенного введения клеток костного мозга происходит быстрое, в течение 4 ч, неспецифическое распределение клеток между костным мозгом, печенью, селезенкой, мышцами и другими тканями. Приблизительно 17% трансплантированных клеток костного мозга локализуется в ненарушенном костном мозге реципиента, тогда как после облучения в костном мозге появляются только 1–2% донорских клеток (Cui et al., 1999). У мелких животных с короткой продолжительностью жизни часто характер поведения клонов определить затруднительно. Поэтому была прослежена (Kim et al., 2014) динамика гемопоза у двух макаков (*Macaca mulatta*) в течение 12 лет после аутологичной трансплантации примитивных СК и прогениторов, трансдуцированных ретровирусными маркирующими векторами после тотального облучения. Большая часть репопулирующих клонов у изученных животных имела конечную продолжительность жизни. Приблизительно половина изученных клонов обеспечивала длительную репопуляцию (более 3–10 лет) благодаря самоподдерживающимся гемопозитическим СК. Со временем от 4 до 10% клонов доминировало и обеспечивало репопуляцию костного мозга (Kim et al., 2014). У человека, так же как и у приматов, после трансплантации гемопозитических СК образуются сотни клонов. В течение первого года наблюдается первоначальная фаза смены клонов, а затем наступает фаза стабильного функционирования клонов.

Сан и коллеги (Sun et al., 2014) отказались от традиционного метода трансплантации гемопозитических СК облученным животным и метили СК в костном мозге *in situ*, используя транспозонную систему, клонированную в мышцы. Эти авторы показали, что кроветворение взрослого организма поддерживается не классическими стволовыми кроветворными клетками, а большим числом долгоживущих прогениторов. Эти данные говорят о том, что восстановление кроветворения у летально облученных животных происходит, по-видимому, не так, как в нормальном организме.

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ПОПУЛЯЦИИ СК

Гетерогенность популяции гемопозитических СК проявляется по-разному. Показательный пример неодинакового поведения СК связан с их способностью находить специфические ниши. Гемопозитические клетки с одинаковым набором маркеров не всегда находят соответствующие ниши в костном мозге, и поэтому сравнительно небольшая доля СК участвует в восстановлении кроветворной системы у облученных мышей (Samargo et al., 2006). Значительная гетерогенность проявляется в экспрессии маркеров клеточной поверхности. CD34, универсальный маркер гемопозитических СК, экспрессируется на 1–5% мононуклеаров костного мозга в субпопуляции

СК и комитированных прогениторов (Krause et al., 1996). Многие исследователи длительное время рассматривали CD34⁺ как характерный маркер наиболее примитивных гемопоэтических СК у мышей, обезьян и человека. Однако его отсутствие (CD34⁻) также является маркером СК (Engelhardt et al., 2002). Большая часть СК костного мозга взрослых мышей имеет фенотип CD34⁻ (Osawa et al., 1996). Дальнейшее исследование показало, что *in vivo* и *in vitro* активация СК связана с экспрессией антигена CD34, а активированные СК CD34⁺ ревертируют в состояние CD34⁻, когда костный мозг переходит в стационарную фазу роста (Sato et al., 1999).

В процессе развития мышцы экспрессия CD34 меняется в большинстве гемопоэтических СК от позитивной до негативной между 7-й и 10-й нед. после рождения. В популяции взрослых животных около 20% СК остаются CD34⁺ (Ito et al., 2000). Способность СК защищать летально облученных мышей также связана с их положением в клеточном цикле. Покоящиеся СК обладают более высокой способностью восстанавливать кроветворение, чем активно пролиферирующие клетки (Fleming et al., 1993). Использование для трансплантации одиночных клеток показало, что гемопоэтические СК проявляют значительное разнообразие по продолжительности жизни, потенциалу самоподдержания и способности к дифференциации, даже если они выделяются в виде фенотипически гомогенной популяции. Восстанавливать кроветворение могут клетки с разным пролиферативным потенциалом (долгоживущие и короткоживущие СК), а также комитированные мультипотентные прогениторные клетки и покоящиеся клетки после активации. Короткоживущие прогениторы способны восстанавливать кроветворение быстро, но на короткое время, тогда как долгоживущие примитивные СК восстанавливают кроветворение значительно позже, но на длительный срок (Jones et al., 1996; Hough et al., 2009; Copley et al., 2012; Muller-Sieburg et al., 2012).

Некоторые субпопуляции СК хронической миелоидной лейкемии погружаются в исключительно глубокое, но обратимое состояние покоя и с большим трудом поддаются искоренению (Holyoake et al., 1999). Погружение в состояние покоя способствует приобретению устойчивости раковых СК к химиотерапии. Интересно, что при этом у СК значительно меняется структура клеточной поверхности, в результате чего они оказываются недоступными для иммунного надзора (Agudo et al., 2018).

Путем введения СК человека в бедренную кость иммунодефицитных мышей была обнаружена субпопуляция с фенотипом Lin⁻CD34⁺CD38^{lo}CD36⁻. Эти клетки производили большое количество миелоидных и эритроидных клеток человека, мигрировали в кровь и заселяли кости иммунодефицитных мышей (NOD-SCID) в течение 2 нед. после трансплантации (Mazurier et al., 2003). Из пуповинной крови человека также выделена фракция CD34⁻

клеток, которые для активной репопуляции необходимо вводить внутрь кости (Wang et al., 2003). У мышей лучше других организмов разработано фенотипирование СК. Однако даже при использовании высокоочищенных популяций гемопоэтических СК с фенотипом lin⁻sca1⁺ckit⁺CD34⁻CD150^{high} или lin⁻SCD150⁺ckit⁺CD48⁻CD150⁺ максимальная эффективность восстановления кроветворения составляла 40–50%. Только в очень редких случаях удается очистить популяцию СК, которые заселяют костный мозг с эффективностью до 96% и обладают способностью долговременно восстанавливать кроветворение (Matsuzaki et al., 2004).

Различающийся уровень экспрессии генов отмечен даже в клетках, выращенных в одинаковых условиях. Например, от гетерогенной экспрессии гена *Nanog* зависит склонность отдельных плюрипотентных СК к самоподдержанию или к дифференциации (Torres-Padilla, Chambers, 2014).

Даже в хорошо охарактеризованной популяции трудно установить однозначное соотношение между набором маркеров и поведением СК. Становится очевидным, что наиболее очищенные популяции СК оказываются все равно гетерогенными. Они существуют в виде большого числа фенотипически и эпигенетически отдельных взаимопревращающихся состояний (Graf, Stadtfeld, 2008). Вследствие гетерогенности популяции при высокой степени ее очистки часть СК может остаться неучтенной.

Эти неполные данные показывают, насколько сложно устроена популяция СК. В многочисленных работах показано, что нет полного соответствия между экспрессией маркеров и функциональным статусом СК (Clevers, Watt, 2018).

ПЛАСТИЧНОСТЬ

В течение нескольких десятилетий предполагалось, что взрослые СК участвуют в поддержании тканей, в которых они находятся. Однако в 1998 г. появилась статья (Ferrari et al., 1998), в которой было показано, что генетически меченные клетки костного мозга, трансплантированные иммунодефицитным мышам, способны мигрировать в область дегенерации мышц и после миогенной дифференциации участвовать в регенерации поврежденных волокон. Вслед за этим сообщением начали появляться многочисленные публикации, доказывающие пластичность СК. В этих работах доказывалось, что взрослые кроветворные СК могут дифференцироваться в эпителиальные клетки печени, легких, желудочно-кишечного тракта и кожи (Bjornson et al., 1999; Petersen et al., 1999; Brazelton et al., 2000; Mezey et al., 2000). Мезенхимные СК мышцы могут приобретать специфические черты таких клеточных типов, как гепатоциты, эпителий легких, миофибробласты, клетки почечных канальцев, при минимальных повреждениях реципиентов *in vivo* (Anjos-Afonso et al., 2004).

Однако исследования, описывающие такую пластичность взрослых соматических СК, остаются противоречивыми, и в целом существующие данные свидетельствуют о том, что в естественных условиях такие неожиданные превращения чрезвычайно редки, а в некоторых случаях им можно дать альтернативное объяснение, например столь же неожиданное слияние клеток (Wagers et al., 2002; Wagers, Weissman, 2004), или генетические, или эпигенетические изменения (Castro et al., 2002; McKinney-Freeman et al., 2002; Morshead et al., 2002). Более того, спонтанно слившиеся клетки костного мозга могут в дальнейшем принимать фенотип клетки-реципиента, что без детального генетического анализа может быть интерпретировано как дедифференциация или трансдифференциация (Terada et al., 2002).

Впечатляющие примеры пластичности СК повлияли на размывание концепции “стволовая клетка”. В связи с этим Блау и коллеги (Blau et al., 2001) предлагали отказаться от идеи СК как отдельной клетки (cellular entity) и рассматривать СК как биологическую функцию (стволовость), которая может быть индуцирована в клетках многих типов, даже дифференцированных. Некоторые авторы считали пластичность наиболее важным свойством СК (Zipori, 2005), тогда как есть мнение, что строгое определение СК не исключает возможность межтканевой пластичности (Seaberg, van der Kooy, 2003).

На основании представлений о пластичности гемопоэтических СК представлен рисунок (Blau et al., 2001), на котором кровяное русло изображено в виде магистрали, по которой циркулируют мультипотентные гемопоэтические СК. В процессе миграции эти клетки попадают в разные органы и способны в силу своей пластичности приобретать под влиянием соответствующих тканевых сигналов свойства СК этих органов.

Пластичность, как и другие характеристики, не являются исключительно признаками СК, ее могут проявлять и не СК, например, клетки поджелудочной железы превращаются в гепатоциты при обработке дексаметазоном панкреатической линии клеток *in vitro* (Shen et al., 2000). У взрослых позвоночных после удаления хрусталика меланинпродуцирующие клетки радужной оболочки глаза превращаются в клетки хрусталика, продуцирующие кристаллин (Eguchi, 1988).

Максимально выраженная пластичность проявляется при эпителиомезенхимном и мезенхимоепителиальном переходах клеток в онтогенезе млекопитающих (Prindull, Zipori, 2004; Mani et al., 2008).

В целом случаи пластичности среди СК встречаются не очень часто. Как правило, это происходит, когда клетки оказываются в новом для них микроокружении. Некоторые описанные случаи пластичности не удалось повторить, другие случаи были неправильно интерпретированы. Но описаны и такие данные, когда под влиянием внешних сигналов дифференцированные клетки или их предшественники меняли свои характеристики (Raff, 2003).

СТВОЛОВОСТЬ

С появлением техники глобального анализа экспрессии генов появилась возможность охарактеризовать разные популяции СК в поисках общего молекулярного профиля. Обнаружение сходных черт у СК, происходящих из разных тканей, стало основанием для постановки вопроса: что делает клетку стволовой? Первоначально предположили, что все СК экспрессируют некоторую общую группу генов, которые определяют сходный фенотип разных популяций СК. Предполагалось, что СК разных тканей хотя и проявляют свои индивидуальные признаки, представляют собой особый клеточный тип, характеризующийся уникальным свойством – стволовостью (stemness) или молекулярной сигнатурой. В первых работах с помощью техники микрочипов были сопоставлены профили экспрессии генов эмбриональных, нейтральных и гемопоэтических СК (трех наиболее изученных в то время видов СК), с тем чтобы определить набор генов, характеризующих стволовость или молекулярную сигнатуру СК. В ранних работах было найдено лишь незначительное число общих генов в изученных СК (Ivanova et al., 2002; Romalho-Santos et al., 2002).

Сторонники этого направления исследований считали стволовость свойством определенных клеток популяции (entity theory of stemness). Другой подход рассматривал стволовость как особое физиологическое состояние, которое могут приобретать разные клетки (state theory of stemness). Важным свойством стволовости является способность СК дифференцироваться во многих направлениях (Zipori, 2004). Обе теории критически обсуждаются (Leychik et al., 2009).

Обширный микрочиповый анализ шести линий эмбриональных СК человека показал общее сходство между ними и экспрессию молекулярной сигнатуры из 92 генов (Bhattacharya et al., 2004). Сравнительное исследование трех линий эмбриональных СК показало, что большая часть изученных генов экспрессировалась во всех трех линиях. В то же время каждая линия имела уникальную сигнатуру экспрессии генов. Наблюдаемые различия в экспрессии генов, видимо, отражают внутренние свойства каждой линии, определяемые начальными условиями культивирования или генетикой эмбрионов, от которых линии были получены (Abeyta et al., 2004).

Сравнение результатов транскриптомных анализов показало, что нет единой общей генетической программы, контролирующей свойства разных СК. Общий феномен заключался в том, что большая часть генов, активных в СК, не была характерной только для этих клеток. Это позволило заключить, что не несколько отдельных генов, а скорее комбинация большого числа генов обеспечивает фундаментальные свойства СК (Li, Akashi, 2003). Было предположено, что компартмент СК состоит из большого числа взаимопревращающихся состояний (Sieburg et al., 2006; Copley et al., 2012). Этот факт создает дополнительную гетерогенность популяции СК.

ДЕФИНИЦИЯ СК

Самое общее определение, которым часто пользуются клеточные биологи, сводится к тому, что СК наделена способностью длительно самоподдерживаться и дифференцироваться с образованием специализированных клеток. Это определение возникло на основании изучения гемопоэтических СК и в первую очередь относится к быстро обновляющимся тканям взрослого организма. Однако несмотря на усилия многих исследователей, создать завершённый образ СК не удастся. Строгое определение термина “стволовая клетка” ускользает ввиду того, что построение разных моделей СК зависит от использованных экспериментальных подходов и выбранных характеристик СК. В связи с этим некоторые авторы предлагали заменить строгую дефиницию СК менее четкими описаниями. Например, одни исследователи считали, что термин СК может включать в себя все самоподдерживающиеся прогениторные клетки, которые имеют широкий потенциал развития, возможный в данной ткани в данный момент (Morrison et al., 1997). В то же время раздаются голоса, призывающие не торопиться с отказом от строгого определения термина (Seaberg, van der Kooy, 2003).

Как показано выше, многие свойства СК, такие как самоподдержание, гетерогенность, пластичность, старение и др., могут быть признаками не только стволовых, но и специализированных не СК. Например, гетерогенность свойственна вообще всем популяциям клеток. Самоподдерживаться в течение некоторого времени могут разные типы не СК. Способность к длительному самоподдержанию — широко распространённое свойство разных типов прогениторных клеток нервного гребня. Взрослые панкреатические β -клетки способны размножаться делением, а не путем дифференциации СК. Дифференцированные Т- и В-лимфоциты могут длительное время самоподдерживаться в ответ на действие антигенов (Baroffio et al., 1988; Fearon et al., 2001; Back et al., 2004; Dor et al., 2004; Trentin et al., 2004).

Определить с полной уверенностью СК только по морфологическому критерию или по набору маркеров не представляется возможным (Clevers, Watt, 2018). Обычно СК определяют ретроспективно путем функционального анализа. Например, для гемопоэтических СК достаточно надежным критерием является их способность репарировать повреждённую кроветворную систему после трансплантации летально облученным мышам (Siminovitch et al., 1963; Till et al., 1964). Однако с этой целью СК приходится выделять из естественного микроокружения и пересаживать реципиенту, что неизбежно влияет на свойства клеток. В таком эксперименте о способности СК к самоподдержанию можно судить только ретроспективно. Когда экспериментатор наблюдает репопуляцию костного мозга потомками стволовой клетки, он уже ничего не может сказать об исходной материнской клетке, поскольку она более не существует. В самых изощренных экс-

периментах невозможно одновременно наблюдать и материнскую СК, и ее потомков. В то же время, детально изучая свойства СК, невозможно с абсолютной точностью предсказать, какие у нее будут потомки (произойдет ли самоподдержание или дифференциация дочерних клеток).

Описанная ситуация с определением свойств СК похожа на принцип неопределенности Гейзенберга в квантовой механике (Potten, Loeffler, 1990; Askenasy, 2006; Fagan, 2013a). В связи с этим Фаган (Fagan, 2013b) пишет о “принципе неопределенности стволовых клеток” (“stem cell uncertainty principle”). Она считает, что на вопрос о том, что есть СК, невозможно дать однозначный удовлетворительный ответ, поскольку основная концепция СК строится с помощью абстрактной модели, отражающей результаты большого числа экспериментов. В связи с принципом неопределенности СК можно отметить, что неопределенность свойственна и нише (микроокружению), в которой пребывают СК. И неопределенность ниш в свою очередь может влиять на возникновение неопределенности СК (Kiel, Morrison, 2008).

В классических исследованиях предполагалось по умолчанию, что СК являются гомогенными относительно способности к самоподдержанию и дифференциации. В реальном эксперименте приходится иметь дело не с одной СК, а с популяцией гетерогенных СК (Potten, Loeffler, 1990). Одним из подходов, которые позволяют точнее охарактеризовать СК, может служить изучение свойств одиночных СК (Abe et al., 2010).

Появление новых методов изучения взрослых гемопоэтических СК показало, что они обладают значительной пластичностью, т.е. подвержены фенотипическим изменениям, зависящим от микроокружения. На этом основании сформировано представление, согласно которому СК представляет собой не биологическую “сущность” (entity), а регулируемую функцию, которую при определенных условиях могут выполнять разные клетки, в том числе и дифференцированные (Blau et al., 2001; Zipori, 2004). Феномен стволовости стали рассматривать как присущее клетке особое состояние, которое невозможно наблюдать, но можно дедуцировать на основании косвенных свидетельств, полученных в определенных условиях эксперимента.

Выше было отмечено, что СК в состоянии покоя находятся в состоянии постоянной готовности ответить на соответствующие стимулы. В связи с этим характерная черта СК заключается в том, что в них на низком уровне экспрессируется большое число генов и обнаруживается экспрессия маркеров многих клеточных линий. Эта ситуация была названа мультилинейным праймингом (multilineage priming) (Hu et al., 1997). Однако гетерогенность компартамента СК не является результатом случайного варьирования единого типа гемопоэтической СК. Гетерогенные популяции СК существуют в виде некоторого

конечного числа фенотипических и эпигенетических взаимопревращающихся состояний (Sieburg et al., 2006; Kerr, Cheng, 2010). Одним из механизмов формирования гетерогенности СК является значительная модификация молекулярных сетей в результате альтернативного сплайсинга продуктов большого числа генов, кодирующих регуляторные белки (Pritsker et al., 2005).

Под влиянием внешних факторов разной природы СК способны переходить из одного метастабильного состояния в другие состояния клетки, что сопровождается флуктуациями экспрессии транскрипционных факторов. Специфические транскрипционные факторы экспрессируются на низком уровне и, таким образом, подготавливают СК для быстрого ответа на пролиферативные стимулы или сигналы для дифференциации в различных направлениях. Это позволяет предполагать, что в СК открыты все возможные пути для перехода к быстрой дифференциации при действии специфических стимулов (Martinez, Brickman, 2011).

Иная точка зрения (Casanova, 2012) заключается в том, что “стволовость” представляет собой состояние дефолта, когда в клетке заблокированы все пути дифференциации. При этом СК сохраняет способность к пролиферации, т.е. сохраняется ее фундаментальное свойство – самоподдержание. В пользу такой трактовки говорят данные, согласно которым для получения, размножения и поддержания плюрипотентности эмбриональных СК не нужны внешние стимулы. Их самоподдержание происходит при удалении из культуральной среды (с помощью ингибиторов) дифференцировочных сигналов MAPK (митоген-активируемой протеинкиназы) и GSK-3 (гликоген-синтаза-киназы-3) (Ying et al., 2008).

Эти данные показывают, что в эмбриональных СК, находящихся в базальном состоянии роста (ground state), функционирует программа самоподдержания, которая не требует внешних сигналов. В базальном состоянии, которое может быть описано как плюрипотентное, эмбриональные СК не нуждаются во внешних стимулах для неограниченной пролиферации и самоподдержания (Graf, Stadtfeld, 2008; Ying et al., 2008).

В эмбриональных СК коровые транскрипционные факторы (NANOG/OCT4/SOX2) взаимно регулируют свои промоторы, образуя взаимосвязанные широкие саморегулируемые генные сети, которые активируют транскрипцию большого числа генов, участвующих в поддержании плюрипотентного состояния. Саморегулируемые сети транскрипционных факторов играют центральную роль в быстрой пролиферации эмбриональных СК, предохраняя их от старения и дифференциации (Boyer et al., 2005; Niwa, 2007; Kim et al., 2008; Hindley, Philpott, 2013).

Компьютерный анализ показал, что помимо коровой части транскрипционной сети, образованной генами NANOG, OCT4 и SOX2 существуют и другие, дополнительные транскрипционные сети, которые

потенциально важны для регуляции эмбриональных СК. Несколько семейств генов, кодирующих транскрипционные факторы, играют ключевую роль в транскрипционной сети эмбриональных СК. Транскрипционный фактор MYC действует независимо от корового модуля в регуляции эмбриональных СК. Опухолевый белок TP53 является центром важной регуляторной сети, соединяющей корово-центрический и MYC-центрический модули транскрипционной сети эмбриональных СК. Есть данные, показывающие, что сигнальный путь p53 поддерживает баланс между самоподдержанием и дифференциацией эмбриональных СК (Wang, Guda, 2014). Генные регуляторные сети поддерживаются эпигенетической сигнатурой СК. Динамичная структура хроматина создает индивидуальные эпигенетические модификации в отдельных СК, играющие важную роль в регуляции их пролиферации и дифференциации (Park et al., 2003; Molofsky et al., 2005; Spivakov, Fisher, 2007; Sharma, Gurudutta, 2016).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

За последние 150 лет концепция СК претерпела значительные изменения, однако и в настоящее время еще нет общепринятой модели СК. Важными свойствами СК являются самоподдержание и сохранение биологической информации, которое необходимо для построения всех тканей и органов во время эмбрионального развития и поддержания функционирования взрослых тканей. Эта задача решается за счет большого пролиферативного потенциала СК, направленного на то, чтобы восполнять пул СК, расходуемых на дифференциацию и апоптоз. Клеточный цикл взрослых СК характеризуется выраженным состоянием покоя, в котором клетки находятся большую часть своей жизни. Длительное пребывание в состоянии покоя позволяет снизить число делений СК, что также направлено на сохранение генетической информации. Покоящиеся СК постоянно находятся в состоянии готовности ответить на пролиферативные сигналы. Это позволяет СК формировать пролиферативный резерв ткани.

СК представляют собой гетерогенную популяцию. Они образуют некоторое число метастабильных взаимопревращающихся состояний, которые регулируются обширными транскрипционными сетями и поддерживаются эпигенетическими модификациями хроматина. СК имеют характерную структуру хроматина, которая позволяет регулировать характер экспрессии отдельных генов, что в конечном счете определяет баланс между самоподдержанием и дифференциацией СК.

Концепция СК развивается по мере разработки новых методов и технологий, используемых для изучения фундаментальных аспектов биологии клетки. Одним из перспективных подходов может служить проведение исследований на одиночных СК. В последние годы на первый план выходят исследования, направленные на понимание регуляторных ме-

ханизмов, вовлеченных в поддержание жизнеспособности и пролиферативного статуса СК. Большой вклад в изучение СК могут внести новые подходы, включающие в себя крупномасштабные исследования геномики, изучение взаимодействия ДНК–белок и архитектуры клеточного ядра, компьютерный анализ регуляторных сетей, биоинформатику и системную биологию.

Работа выполнена в рамках ПНИЭР “Разработка технологии производства, хранения и применения биомедицинских клеточных продуктов для лечения ран” в соответствии с Соглашением о предоставлении субсидии с Минобрнауки России №14.610.21.0012. Уникальный идентификатор работ RFMEFI61017X0012.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Суханов Ю.В., Воротеляк Е.А., Васильев А.В., Терских В.В. 2018. 150 лет концепции “стволовая клетка”. Росс. физиол. журн. 104(1) : 18–30. (Sukhanov Yu.V., Vorotelyak E.A., Vasiliev A.V., Terskikh V.V. 2018. 150 years of stem cell concept. *Neurosci. Behav. Physiol.* – *Sechenov Physiol. J.* 104(1) : 18–30).
- Терских В.В., Васильев А.В., Воротеляк Е.А. 2003. Структурно-функциональные единицы эпидермиса. Изв. РАН. Сер. биол. 6 : 645–649. (Terskikh V.V., Vasiliev A.V., Vorotelyak E.A. 2003. Structural-functional units of epidermis. *Biology Bulletin.* 30(6) : 535–539.)
- Abe T., Masuya M., Ogawa M. 2010. An efficient method for single hematopoietic stem cell (HSC) engraftment in mice based on cell cycle dormancy of HSCs. *Exp. Hematol.* 38 : 603–608.
- Abeyta M.J., Clark A.T., Rodriguez R.T., Bodnar M.S., Pera R.A., Firpo M.T. 2004. Unique gene expression signatures of independently-derived human embryonic stem cell lines. *Hum. Mol. Genet.* 13 : 601–608.
- Abkowitz J.L., Catlin S.N., McCallie M.T., Guttorp P. 2002. Evidence that the number of hematopoietic stem cells per animal is conserved in mammals. *Blood.* 100 : 2666–2668.
- Agudo J., Park E.S., Rose S.A., Alibo E., Sweeney R., Dhainaut M., Kobayashi K.S., Sachidanandam R., Baccarini A., Merad M., Brown B.D. 2018. Quiescent tissue stem cells evade immune surveillance. *Immunity.* 48 : 271–285.e5.
- Anjos-Afonso F., Siapati E.K., Bonnet D. 2004. *In vivo* contribution of murine mesenchymal stem cells into multiple cell-types under minimal damage conditions. *J. Cell Sci.* 117 : 5655–5664.
- Ashapkin V.V., Kutueva L.I., Vanyushin B.F. 2017. Aging as an epigenetic phenomenon. *Current Genomics.* 18 : 385–407.
- Askenasy N. 2006. From the atom to the cell: is the cat alive? Quantum mechanics and stem cell plasticity as déjà vu. *Stem Cells Develop.* 15 : 488–491.
- Back J., Dierich A., Bronn C., Kastner P., Chan S. 2004. PU.1 determines the self-renewal capacity of erythroid progenitor cells. *Blood.* 103 : 3615–3623.
- Balaban R.S., Nemoto S., Finkel T. 2005. Mitochondria, oxidants, and aging. *Cell.* 120 : 483–495.
- Baroffio A., Dupin E., Le Dourin N.M. 1988. Clone-forming ability and differentiation potential of migratory neural crest cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 85 : 5325–5329.
- Bernitz J., Kim H.S., McArthur B., Sieburg H., Moore K. 2016. Hematopoietic stem cells count and remember self-renewal divisions. *Cell.* 167 : 1296–1309.
- Bhartiya D., Unni S., Parte S., Anand S. 2013. Very small embryonic-like stem cells: implications in reproductive biology. *Biomed. Res. Int.* 2013 : 682326.
- Bhattacharya B., Miura T., Brandenberger R., Mejido J., Luo Y., Yang A.X., Joshi B.H., Ginis I., Thies R.S., Amit M., Lyons I., Condie B.G., Itskovitz-Eldor J., Rao M.S., Puri R.K. 2004. Gene expression in human embryonic stem cell lines: unique molecular signature. *Blood.* 103 : 2956–2964.
- Bjornson C.R., Rietze R.L., Reynolds B.A., Magli M.C., Vescovi A.L. 1999. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells *in vivo*. *Science.* 283 : 534–537.
- Blau H.M., Brazelton T.R., Weimann J.M. 2001. The evolving concept of a stem cell: entity or function? *Cell.* 105 : 829–841.
- Boyer L.A., Lee T.I., Cole M.F., Johnstone S.E., Levine S.S., Zucker J.P., Guenther M.G., Kumar R.M., Murray H.L., Jenner R.G., Gifford D.K., Melton D.A., Jaenisch R., Young R.A. 2005. Core transcriptional regulatory circuitry in human embryonic stem cells. *Cell.* 122 : 947–956.
- Bradford G.B., Williams B., Rossi R., Bertoncello I. 1997. Quiescence, cycling, and turnover in the primitive hematopoietic stem cell compartment. *Exp. Hematol.* 25 : 445–453.
- Brazelton T.R., Rossi F.M.V., Keshet G.I., Blau H.M. 2000. From marrow to brain: expression of neuronal phenotypes in adult mice. *Science.* 290 : 1775–1779.
- Brown G., Bunce C.M., Lord J.M., McConnell F.M. 1989. The development of cell lineages: a sequential model. *Differentiation.* 39 : 83–89.
- Bystrykh L.V., Verovskaya E., Zwart E., Broekhuis M., de Haan G. 2012. Counting stem cells: methodological constraints. *Nat. Methods.* 9 : 567–574.
- Camargo D., Chambers S.M., Drew E., McNagny K.M., Goodell M.A. 2006. Hematopoietic stem cells do not engraft with absolute efficiencies. *Blood.* 107 : 501–507.
- Carlson M.E., Conboy I.M. 2007. Loss of stem cell regenerative capacity within aged niches. *Aging Cell.* 6 : 371–382.
- Casanova J. 2012. Stemness as a cell default state. *EMBO Reports.* 13 : 396–397.
- Castro R.F., Jackson K.A., Goodell M.A., Robertson C.S., Liu H., Shine H.D. 2002. Failure of bone marrow cells to transdifferentiate into neural cells *in vivo*. *Science.* 297 : 1299.
- Cheng T., Rodrigues N., Shen H., Yang Y., Dombkowski D., Sykes M., Scadden D.T. 2000. Hematopoietic stem cell quiescence maintained by p21^{cip1/waf1}. *Science.* 287 : 1804–1808.
- Cheshier S.H., Morrison S.J., Liao X., Weissman I.L. 1999. *In vivo* proliferation and cell cycle kinetics of long-term self-renewing hematopoietic stem cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 96 : 3120–3125.
- Clevers H., Watt F.M. 2018. Defining adult stem cells by function, not by phenotype. *Annu. Rev. Biochem.* 87 : 13.1–13.13.
- Conboy I.M., Conboy M.J., Wagers A.J., Girma E.R., Weissman I.L., Rando T.A. 2005. Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic environment. *Nature.* 433 : 760–764.
- Copley M.R., Beer P.A., Eaves C.J. 2012. Hematopoietic stem cell heterogeneity takes center stage. *Cell Stem Cell.* 10 : 690–697.
- Cronkite E.P. 1979. Haemopoietic stem cells: concepts and definitions. *Blood Cells.* 5 : 457–459.

- Cui J., Wahl R.L., Shen T. 1999. Bone marrow cell trafficking following intravenous administration. *Br. J. Haematol.* 107 : 895–902.
- Domen J. 2001. The role of apoptosis in regulating hematopoietic stem cell numbers. *Apoptosis.* 6 : 239–252.
- Dor Y., Brown J., Martinez O.I., Melton D.A. 2004. Adult pancreatic beta-cells are formed by self-duplication rather than stem-cell differentiation. *Nature.* 429 : 41–46.
- Dykstra B., Olthof S., Schreuder J., Ritsema M., de Haan G. 2011. Clonal analysis reveals multiple functional defects of aged murine hematopoietic stem cells. *J. Exp. Med.* 208 : 2691–2703.
- Eaves C.J. 2015. Hematopoietic stem cells: concepts, definitions, and the new reality. *Blood.* 125 : 2605–2613.
- Eguchi G. 1988. Cellular and molecular background of Wolfian lens regeneration. In: *Regulatory mechanisms in development processes.* N.Y.: Elsevier. 147–158.
- Engelhardt M., Lübbert M., Guo Y. 2002. CD34⁺ or CD34[−]: which is the more primitive? *Leukemia.* 16 : 1603–1608.
- Engels W.R., Johnson-Schlitz D., Flores C., White L., Preston C.R. 2007. A third link connecting aging with double strand break repair. *Cell Cycle.* 6 : 131–135.
- Fagan M.B. 2013a. Philosophy of stem cell biology: An introduction. *Philosophy Compass.* 8 : 1147–1158.
- Fagan M.B. 2013b. The stem cell uncertainty principle. *Philosophy Sci.* 80 : 945–957.
- Fearon D.T., Manders P., Wagner S.D. 2001. Arrested differentiation, the self-renewing memory lymphocyte, and vaccination. *Science.* 293 : 248–250.
- Ferrari G., Cusella-De Angelis G., Coletta M., Paolucci E., Stornaiuolo A., Cossu G., Mavilio F. 1998. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science.* 279 : 1528–1530.
- Fleming W.H., Alpen E.J., Uchida N., Ikuta K., Spangrude G.J., Weissman I.L. 1993. Functional heterogeneity is associated with the cell cycle status of murine hematopoietic stem cells. *J. Cell Biol.* 122 : 892–902.
- Goodell M.A., Brose K., Paradis G., Conner A.S., Mulligan R.C. 1996. Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating *in vivo*. *J. Exp. Med.* 183 : 1797–1806.
- Goodell M.A., Rosenzweig M., Kim H., Marks D.F., DeMaria M., Paradis G., Grupp S.A., Sieff C.A., Mulligan R.C., Johnson R.P. 1997. Dye efflux studies suggest that hematopoietic stem cells expressing low or undetectable levels of CD34 antigen exist in multiple species. *Nat. Med.* 3 : 1337–1345.
- Graf T., Stadtfeld M. 2008. Heterogeneity of embryonic and adult stem cells. *Cell Stem Cell.* 3 : 480–483.
- Guenechea G., Gan O.I., Dorrell C., Dick J.E. 2001. Distinct classes of human stem cells that differ in proliferative and self-renewal potential. *Nature Immunol.* 2 : 75–82.
- Harrison D.E., Astle C.M., Lerner C. 1988. Number and continuous proliferative pattern of transplanted primitive immunohematopoietic stem cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 85 : 822–826.
- Hermann P.C., Bhaskar S., Cioffi M., Heeschen C. 2010. Cancer stem cells in solid tumors. *Semin. Cancer Biol.* 20 : 77–84.
- Hindley C., Philpott A. 2013. The cell cycle and pluripotency. *Biochem. J.* 451 : 135–143.
- Holyoake T., Jiang X., Eaves C., Eaves A. 1999. Isolation of a highly quiescent subpopulation of primitive leukemic cells. *Blood.* 94 : 2056–2064.
- Hough S.R., Laslett A.L., Grimmond S.B., Kolle G., Pera M.F. 2009. A continuum of cell states spans pluripotency and lineage commitment in human embryonic stem cells. *PLoS ONE.* 4 : e7708.
- Hu M., Krause D., Greaves M., Sharkis S., Dexter M., Heyworth C., Enver T. 1997. Multilineage gene expression precedes commitment in the hemopoietic system. *Genes Devlop.* 11 : 774–785.
- Iscoe N.N., Nawa K. 1997. Hematopoietic stem cells expand during serial transplantation *in vivo* without apparent exhaustion. *Curr. Biol.* 7 : 805–808.
- Ito T., Tajima F., Ogawa M. 2000. Developmental changes of CD34 expression by murine hematopoietic stem cells. *Exp. Hematol.* 28 : 1269–1273.
- Ivanova N.B., Dimos J.T., Schaniel C., Hackney J.A., Moore K.A., Lemischka I.R. 2002. A stem cell molecular signature. *Science.* 298 : 601–604.
- Jacobs J.J., Kieboom K., Marino S., DePinho R.A., van Lohuizen M. 1999. The oncogene and Polycomb-group gene bmi-1 regulates cell proliferation and senescence through the ink4a locus. *Nature.* 397 : 164–168.
- Jones R.J., Collector M.I., Barber J.P., Vala M.S., Fackler M.J., May W.S., Griffin C.A., Hawkins A.L., Zehnbauser B.A., Hilton J., Colvin O.M., Sharkis S.J. 1996. Characterization of mouse lymphohematopoietic stem cells lacking spleen colony-forming activity. *Blood.* 88 : 487–491.
- Kaplan R.N., Psaila B., Lyden D. 2007. Niche-to-niche migration of bone marrow-derived cells. *Trends Mol. Med.* 13 : 72–81.
- Kay H.E. 1965. How many cell-generations? *Lancet.* 2 : 418–419.
- Keller J.R., Ortiz M., Ruscetti F.W. 1995. Steel factor (c-kit ligand) promotes the survival of hematopoietic stem/progenitor cells in the absence of cell division. *Blood.* 86 : 1757–1764.
- Kerr C.L., Cheng L. 2010. Multiple, interconvertible states of human pluripotent stem cell. *Cell Stem Cell.* 6 : 497–499.
- Kiel M.J., Morrison S.J. 2008. Uncertainty in the niches that maintain haematopoietic stem cells. *Nature Rev. Immunol.* 8 : 290–301.
- Kim J., Chu J., Shen X., Wang J., Orkin S.H. 2008. An extended transcriptional network for pluripotency of embryonic stem cells. *Cell.* 132 : 1049–1061.
- Kim S., Kim N., Presson A.P., Metzger M.E., Bonifacino A.C., Sehl M., Chow S.A., Crooks G.M., Dunbar C.E., An D.S., Donahue R.E., Chen I.S. 2014. Dynamics of HSPC repopulation in nonhuman primates revealed by a decade-long clonal-tracking study. *Cell Stem Cell.* 14 : 473–85.
- Krause D.S., Fackler M.J., Civin C.I., May W.S. 1996. CD34: structure, biology, and clinical utility. *Blood.* 87 : 1–13.
- Lajtha L.G. 1979. Haemopoietic stem cells: concepts and definitions. *Blood Cells.* 5 : 447–455.
- Lander A.D. 2009. The 'stem cell' concept: is it holding us back? *J. Biol.* 8 : 70.
- Lemischka I.R., Raulet D.H., Mulligan R.C. 1986. Developmental potential and dynamic behavior of hematopoietic stem cells. *Cell.* 45 : 917–927.
- Lessard J., Sauvageau G. 2003. Bmi-1 determines the proliferative capacity of normal and leukaemic stem cells. *Nature.* 423 : 255–260.
- Leychik Y., Munzer S.R., Richardson J.L. 2009. What is stemness? *Stud. Hist. Philos. Biol. Biomed. Sci.* 40 : 312–320.

- Li L., Akashi K. 2003. Unraveling the molecular components and genetic blueprints of stem cells. *BioTechniques*. 35 : 1233–1239.
- Liu Y., Elf S.E., Miyata Y., Sashida G., Liu Y., Huang G., Di Giandomenico S., Lee J.M., Deblasio A., Menendez S., Antipin J., Reva B., Koff A., Nimer S.D. 2009. p53 regulates hematopoietic stem cell quiescence. *Cell Stem Cell*. 4 : 37–48.
- Mani S.A., Guo W., Liao M.J., Eaton E.N., Ayyanan A., Zhou A.Y., Brooks M., Reinhard F., Zhang C.C., Shipitsin M., Campbell L.L., Polyak K., Briskin C., Yang J., Weinberg R.A. 2008. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells. *Cell*. 133 : 704–715.
- Martinez A.A., Brickman J.M. 2011. Gene expression heterogeneities in embryonic stem cell populations: origin and function. *Curr. Opin. Cell Biol.* 23 : 650–656.
- Matsuzaki Y., Kinjo K., Mulligan R.C., Okano H. 2004. Unexpectedly efficient homing capacity of purified murine hematopoietic stem cells. *Immunity*. 20 : 87–93.
- Mazurier F., Doedens M., Gan O.I., Dick J.E. 2003. Rapid myeloid repopulation after intrafemoral transplantation of NOD-SCID mice reveals a new class of human stem cells. *Nature Med.* 9 : 959–963.
- McKinney-Freeman S.L., Jackson K.A., Camargo F.D., Ferrari G., Mavilio F., Goodell M.A. 2002. Muscle-derived hematopoietic stem cells are hematopoietic in origin. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 99 : 1341–1346.
- McLaren A. 1984. Meiosis and differentiation of mouse germ cells. *Symp. Soc. Exp. Biol.* 38 : 7–23.
- Melton D., Cowan C. 2009. Stemness: definitions, criteria, and standards. In: *Essentials of stem biology*. San Diego: Acad. Press. pp. xxii–xxix.
- Mezey E., Chandross K.J., Harta G., Maki R.A., McKercher S.R. 2000. Turning blood into brain: cells bearing neuronal antigens generated *in vivo* from bone marrow. *Science*. 290 : 1779–1782.
- Mikkers H., Frisén J. 2005. Deconstructing stemness. *EMBO J.* 24 : 2715–2719.
- Molofsky A.V., He S., Bydon M., Morrison S.J., Pardoll R. 2005. BMI-1 promotes neural stem cell self-renewal and neural development but not mouse growth and survival by repressing the p16Ink4a and p19Arf senescence pathways. *Genes Develop.* 19 : 1432–1437.
- Morrison S.J., Shah N.M., Anderson D.J. 1997. Regulatory mechanisms in stem cell biology. *Cell*. 88 : 287–298.
- Morrison S.J., Weissman I.L. 1994. The long-term repopulating subset of hematopoietic stem cells is deterministic and isolatable by phenotype. *Immunity*. 1 : 661–673.
- Morshead C.M., Benveniste P., Iscove N.N., van Der Kooy D. 2002. Hematopoietic competence is a rare property of neural stem cells that may depend on genetic and epigenetic alterations. *Nature Med.* 8 : 268–273.
- Muller-Sieburg C.E., Sieburg H.B., Bernitz J.M., Cattarossi G. 2012. Stem cell heterogeneity: implications for aging and regenerative medicine. *Blood*. 119 : 3900–3907.
- Niwa H. 2007. How is pluripotency determined and maintained? *Development*. 134 : 635–646.
- O'Brien L.E., Bilder D. 2013. Beyond the niche: tissue-level coordination of stem cell dynamics. *Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.* 29 : 107–136.
- Orwig K.E., Ryu B.-Y., Avarbock M.R., Brinster R.L. 2002. Male germ-line stem cell potential is predicted by morphology of cells in neonatal rat testes. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 99 : 11 706–11 711.
- Osawa M., Hanada K., Hamada H., Nakauchi H. 1996. Long-term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD34-low/negative hematopoietic stem cell. *Science*. 273 : 242–245.
- Park I. K., Qian D., Kiel M., Becker M.W., Pihalja M., Weissman I.L., Morrison S.J., Clarke M.F. 2003. BMI-1 is required for maintenance of adult self-renewing hematopoietic stem cells. *Nature*. 423 : 302–305.
- Petersen B.E., Bowen W.C., Patrene K.D., Mars W.M., Sullivan A.K., Murase N., Boggs S.S., Greenberger J.S., Goff J.P. 1999. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science*. 284 : 1168–1170.
- Potten C.S. 1979. A comparison of cell replacement in bone marrow, testis and three regions of surface epithelium. *Biochim. biophys. acta*. 560 : 281–299.
- Potten C.S., Loeffler M. 1990. Stem cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons for and from the crypt. *Development*. 110 : 1001–1020.
- Prindull G., Zipori D. 2004. Environmental guidance of normal and tumor cell plasticity: epithelial mesenchymal transitions as a paradigm. *Blood*. 103 : 2892–2899.
- Pritsker M., Doniger T.T., Kramer L.C., Westcot S.E., Lemischka I.R. 2005. Diversification of stem cell molecular repertoire by alternative splicing. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 102 : 14 290–14 295.
- Quesenberry P.J., Colvin G.A., Abedi M., Dooner G., Dooner M., Aliotta J., Keaney P., Luo L., Demers D., Peterson A., Foster B., Greer D. 2005. The stem cell continuum. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1044 : 228–235.
- Raff M. 2003. Adult stem cell plasticity: fact or artifact? *Annu. Rev. Cell Develop. Biol.* 19 : 1–22.
- Rao M.S. 2004. Stem sense: a proposal for the classification of stem cells. *Stem Cell Dev.* 13 : 452–455.
- Robert J.S. 2004. Model systems in stem cell biology. *BioEssays*. 26 : 1005–1012.
- Romallo-Santos M., Yoon S., Matsuzaki Y., Mulligan R.C., Melton D.A. 2002. “Stemness”: transcriptional profiling of embryonic and adult stem cells. *Science*. 298 : 597–600.
- Ross E.A.M., Anderson N., Micklem H.S. 1982. Serial depletion and regeneration of the murine hematopoietic system. *J. Exp. Med.* 155 : 432–444.
- Rossi D.J., Seita J., Czechowicz A., Bhattacharya D., Bryder D., Weissman I.L. 2007. Hematopoietic stem cell quiescence attenuates DNA damage response and permits DNA damage accumulation during aging. *Cell Cycle*. 6 : 2371–2376.
- Sato T., Laver J.H., Ogawa M. 1999. Reversible expression of CD34 by murine hematopoietic stem cells. *Blood*. 94 : 2548–2554.
- Schofield R. 1978. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haematopoietic stem cell. *Blood Cells*. 4 : 7–25.
- Seaberg R.M., van der Kooy D. 2003. Stem and progenitor cells: the premature desertion of rigorous definitions. *Trends in Neurosci.* 26 : 125–131.
- Sharma S., Gurudutta G. 2016. Epigenetic regulation of hematopoietic stem cells. *Internat. J. Stem Cells*. 9 : 36–43.
- Shen C.N., Slack J.M., Tosh D. 2000. Molecular basis of transdifferentiation of pancreas to liver. *Nat. Cell Biol.* 2 : 879–887.
- Shepherd B.E., Gutter P., Landsdorp P.M., Abkowitz J.L. 2004. Estimating human hematopoietic stem cell kinetics using granulocyte telomere lengths. *Exp. Hematol.* 32 : 1040–1050.

- Shimoto M., Sugiyama T., Nagasawa T.* 2017. Numerous niches for hematopoietic stem cells remain empty during homeostasis. *Blood*. 129 : 2124–2131.
- Shostak S.* 2006. (Re)defining stem cells. *BioEssays*. 28 : 301–308.
- Sieburg H.B., Cho R.H., Dykstra B., Uchida N., Eaves C.J., Muller-Sieburg C.E.* 2006. The hematopoietic stem compartment consists of a limited number of discrete stem cell subsets. *Blood*. 107 : 2311–2316.
- Siminovitch L., McCulloch E.A., Till J.E.* 1963. The distribution of colony-forming cells among spleen colonies. *J. Cell. Comp. Physiol.* 62 : 327–336.
- Slack J.M.W.* 2000. Stem cells in epithelial tissues. *Science*. 287 : 1431–1433.
- Snoeck H.W.* 2013. Aging of the hematopoietic system. *Curr. Opin. Hematol.* 20 : 355–361.
- Spivakov M., Fisher A.G.* 2007. Epigenetic signatures of stem-cell identity. *Nat. Rev. Genet.* 8 : 263–271.
- Sun J., Ramos A., Chapman B., Johnnidis J.B., Le L., Ho Y.-J., Klein A., Hofmann O., Camargo F.D.* 2014. Clonal dynamics of native haematopoiesis. *Nature*. 514 : 322–327.
- Terada N., Hamazaki T., Oka M., Hoki M., Mastalerz D.M., Nakano Y., Meyer E.M., Morel L., Petersen B.E., Scott E.W.* 2002. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature*. 416 : 542–545.
- Till J.E., McCulloch E.A.* 1961. A direct measurement of the radiation sensitivity of normal mouse bone marrow cells. *Radiat. Res.* 14 : 213–222.
- Till J.E., McCulloch E.A., Siminovitch L.* 1964. A stochastic model of stem cell proliferation, based on the growth of spleen colony-forming cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 51 : 29–31.
- Torres-Padilla M.E., Chambers I.* 2014. Transcription factor heterogeneity in pluripotent stem cells: a stochastic advantage. *Development*. 141 : 2173–2181.
- Trentin A., Glavieux-Pardanaud C., Le Douarin N.M., Dupin E.* 2004. Self-renewal capacity is a widespread property of various types of neural crest precursor cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 101 : 4495–4500.
- Tropepe V., Coles B.L.K., Chiasson B.J., Horsford D.J., Elia A.J., McInnes R.R., van der Kooy D.* 2000. Retinal stem cells in the adult mammalian eye. *Science*. 287 : 2032–2036.
- Van der Kooy D., Weiss S.* 2000. Why stem cells? *Science*. 287 : 1439–1441.
- Van Zant G.* 1984. Studies of hematopoietic stem cells spared by 5-fluorouracil. *J. Exp. Med.* 159 : 679–690.
- Venezia T.A., Merchant A.A., Ramos C.A., Whitehouse N.L., Young A.S., Shaw C.A., Goodell M.A.* 2004. Molecular signatures of proliferation and quiescence in hematopoietic stem cells. *PLoS Biol.* 2 : e301.
- Vousden K.H., Lane D.P.* 2007. p53 in health and disease. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8 : 275–283.
- Wagers A.J., Sherwood R.I., Christensen J.L., Weissman I.L.* 2002. Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells. *Science*. 297 : 2256–2259.
- Wagers A.J., Weissman I.L.* 2004. Plasticity of adult stem cells. *Cell*. 116 : 639–648.
- Wagner W., Bork S., Horn P., Krunić D., Walenda T., Diehlmann A., Benes V., Blake J., Huber F.X., Eckstein V., Boukamp P., Ho A.D.* 2009. Aging and replicative senescence have related effects on human stem and progenitor cells. *PLoS One*. 4 : e5846.
- Wang J., Kimura T., Asada R., Harada S., Yokota S., Kawamoto Y., Fujimura Y., Tsuji T., Ikehara S., Sonoda Y.* 2003. SCID-repopulating cell activity of human cord blood-derived CD34-cells assured by intra-bone marrow injection. *Blood*. 101 : 2924–2931.
- Wang L., Siegenthaler J.A., Dowell R.D., Yi R.* 2016. Foxc1 reinforces quiescence in self-renewing hair follicle stem cells. *Science*. 351 : 613–617.
- Wang X., Guda C.* 2014. Computational analysis of transcriptional circuitries in human embryonic stem cells reveals multiple and independent networks. *Biomed. Res. Int.* 2014 : 725780.
- Weissman I.L.* 2000. Stem cells: units of development, units of regeneration, and units in evolution. *Cell*. 100 : 157–168.
- Whetton A.D., Graham G.J.* 1999. Homing and mobilization in the stem cell niche. *Trends Cell Biol.* 9 : 233–238.
- Wilson A., Laurenti E., Oser G., van der Wath R.C., Blanco-Bose W., Jaworski M., Offner S., Dunant C.F., Eshkind L., Bockamp E., Lió P., MacDonald H.R., Trumpp A.* 2008. Hematopoietic stem cells reversibly switch from dormancy to self-renewal during homeostasis and repair. *Cell*. 135 : 1118–1129.
- Yanger K., Stanger B.Z.* 2011. Facultative stem cells in liver and pancreas: fact and fancy. *Develop. Dyn.* 240 : 521–529.
- Ying Q.L., Wray J., Nichols J., Battle-Morera L., Doble B., Woodgett J., Cohen P., Smith A.* 2008. The ground state of embryonic stem cell self-renewal. *Nature*. 453 : 519–523.
- Zhang X., Ebata K.T., Robaire B., Nagano M.C.* 2006. Aging of male germ line stem cells in mice. *Biol. Reprod.* 74 : 119–124.
- Zipori D.* 2004. The nature of stem cells: state rather than entity. *Nat. Rev. Genet.* 5 : 873–878.
- Zipori D.* 2005. The stem state: plasticity is essential, whereas self-renewal and hierarchy are optional. *Stem Cells*. 23 : 719–726.

THE PROBLEM OF STEM CELL DEFINITION

E. A. Vorotelyak^{a, *}, A. V. Vasiliev^a, V. V. Terskikh^a

^aKoltzov Institute of Developmental Biology, RAS, Moscow, 119334 Russia

*e-mail: vorotelyak@yandex.ru

Stem cells play a key role in development and homeostasis, regeneration and evolution. Over the past 150 years, the stem cell concept has undergone significant changes, but the exact definition of stem cells is lacking. The review discusses significant properties of stem cells such as self-maintenance, regenerative reserve, aging, plasticity and heterogeneity. The stem cell concept develops as new methods and techniques are developed to study the fundamental aspects of cell biology. The problem of definition and prospects for further research are discussed.

Keywords: stem cells, self-maintenance, microenvironment, plasticity, proliferation, hemopoiesis, epithelium, regeneration