

Krwiotwórcze i kościotwórcze komórki macierzyste szpiku

Haematopoietic and Osteogenic Bone Marrow Stem Cells

Krzysztof H. Włodarski^(B,D,E,F)

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Centrum Biostruktury Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego
Department and Division of Histology and Embryology, Center for Biostructure Research, Medical University, Warszawa, Poland

STRESZCZENIE

Praca omawia koncepcję istnienia wspólnej komórki macierzystej dla elementów podścieliska szpiku i dla komórek krwiotwórczych.

Według dotychczasowej wiedzy, szpik zawiera dwa rodzaje komórek macierzystych – jedno dla podścieliska (zrębu) szpiku, drugie – dla hematopoezy. Macierzysta komórka hemopoetyczna jest komórką prekursorową dla wszystkich komórek krwi, natomiast macierzysta komórka dla zrębu szpiku, zwana też macierzysta komórką mezenchymatyczną lub macierzystą komórką zrębową, różnicuje się we wszystkie postaci komórek tworzących zręby szpiku, a także w fibroblasty, osteoblasty, chondrocyty, adipocyty i mięśnie gładkie. Obie te linie rozwojowe były zatem uważane do niedawna za całkowicie odmiennie zdeterminowane rozwojowo, choć wzajemnie na siebie oddziałujące.

Nowe doniesienia wskazują na możliwość powstawania komórek tłuszczowych z macierzystej komórki krwiotwórczej.

W wyniku tej obserwacji postuluje się istnienie wspólnej komórki macierzystej dla przedziału krwiotwórczego i przedziału zrębowego szpiku i wprowadza pojęcie „jednostki kostno-szpikowej” (w populacji komórek zrębowych szpiku znajdują się komórki kościotwórcze).

Zidentyfikowanie fenotypu komórki macierzystej dla hematopoezy i osteogenezy, oraz poznanie czynników determinujących kierunek rozwoju tej komórki otworzy drogę do rozwoju nowych metod leczniczych. Terapia z użyciem tych komórek może dać obiecujące wyniki w leczeniu schorzeń tkanki kostnej, np. osteoporozy.

Słowa kluczowe: jednostka kostno-szpikowa, przeprogramowanie komórek macierzystych szpiku; adipocyty; osteoblasty

SUMMARY

This article discusses the concept of a common stem cell for bone marrow stromal cells and haematopoietic cells.

Until recently it was generally accepted that bone marrow contains two types of stem cells. One is the haemopoietic stem cell; the second one, the mesenchymal stem cell or stromal stem cell, gives rise to the stromal compartment of the marrow. The mesenchymal stem cells can differentiate into osteoblasts, chondroblasts, adipocytes, fibroblasts, and smooth muscle cells. Although the interplay between haemopoietic and stromal cells is well established, no transition of cells from the haemopoietic compartment into cells of the stromal compartment has been demonstrated.

Recent data, based on grafting of genetically-marked haemopoietic cells points to the possibility of the generation of adipocytes from haemopoietic stem cells. These findings support the hypothesis postulating a common precursor cell for both bone and bone marrow.

There is evidence that osteoblasts can differentiate into adipocytes, and that mesenchymal cells derived from subcutaneous adipose tissue can differentiate into osteogenic cells. The possibility of transdifferentiation of adipocytes into osteoblasts has also been demonstrated.

Key words: Bone/bone marrow unit; transdifferentiation of bone marrow stem cells; adipocytes; osteoblasts

HEMATOPOETYCZNE KOMÓRKI MACIERZyste SZPIKU JAKO PREKURSORY KOMÓREK PODŚCIELISKA SZPIKU

Koncepcja jednostki kostno-szpikowej

Powstawaniu kości towarzyszy histogeneza szpiku, co wskazuje na wspólne pochodzenie komórek kościotwórczych z komórkami hematopoetycznymi i sugeruje, że elementy te tworzą jednostkę funkcjonalną, posiadającą wspólną komórkę progenitorową, rozwijającą się w linię osteoblastyczną i hemopoetyczną. Dmięśniowe lub donerkowe podanie komórek zrębowych szpiku prowadzi do powstania ogniska kości i tkanki hemopoetycznej, ale do ich powstania wymagana jest odpowiednia liczba wszczepianych komórek. Niskiej wydajności osteogenezie nie towarzyszy mielopoza [1,2].

Koncepcję wspólnej komórki progenitorowej dla osteogenezy i hemopoetyzy wspierają wyniki doświadczeń z repopulowaniem szpiku myszy hemopoetycznymi komórkami dawcy. U biorców przeszczepów analiza markerów chromosomalnych komórek kościotwórczych oraz hemopoetycznych wykazała ich pochodzenie od dawców, co przemawia za tym, że w hemopoetycznej frakcji komórek szpiku znajdują się komórki, zdolne do generowania komórek linii osteoblastycznej i hemopoetycznej [3].

Hipotezę wspólnej komórki prekursorowej dla kości, dla komórek tworzących mikrośrodowisko dla hematopoetyzy, oraz dla komórek hemopoetycznych szpiku przedstawili Itoh i Aubin [4]. Uzyskali oni czystą frakcję komórek prekursorowych osteoblastów o wysokiej ekspresji markerów różnicowania osteoblastów oraz markerów komórek tworzących mikrośrodowisko dla hematopoetyzy. Komórki te, po przeszczepieniu *in vivo* różnicowały się nie tylko w osteoblasty i komórki zrębu szpiku.

Związek osteogenezy z krwiotworzeniem zachodzi nie tylko w normalnej organogenezie kości, ale również w warunkach tzw. osteogenezy ektopowej, pozaszkieletowej, zwanej też osteogenezą indukowaną. Ogniska indukowanej ektopowo tkanki kostnej u osobników dorosłych zostają kolonizowane szpikiem hemopoetycznym już po ok. 2 tygodniach. Mielogramy tego nowopowstałego szpiku różnią się od mielogramów szpiku ortotopowego jedynie parametrami ilościowymi (procentowym udziałem poszczególnych linii krwiotwórczych), a nie jakościowymi. W szpiku indukowanej heterotopowo kości występują te same postaci komórek hemopoetycznych krwi i megakariocyty oraz komórki podścieliska, jakie występują w szpiku ortotopowym [5,6]. Pełna funk-

HAEMATOPOIETIC STEM CELLS AS PRECURSORS FOR ADIPOGENIC AND OSTEOGENIC CELLS

Osteo-myeloid unit concept

Myelopoiesis is anatomically associated with osteogenesis, suggesting a possible interdependence between the two processes. Such an association also suggests the existence of a functional osteo-myeloid unit, derived from the progenitor cell with the potential for differentiation into both, osteogenic and haematopoietic cells.

Implantation of stromal bone marrow cells or of whole marrow cell suspension into muscles or into kidney parenchyma results in the formation of foci of plaques composed of bone and myeloid tissue, but such an effect requires the right threshold number of cells for extensive bone formation and haematopoiesis. No haematopoiesis occurs when bone formation is poor, suggesting a crucial role for osteogenesis in inducing myelogenesis under these experimental conditions [1,2].

The concept of a common progenitor cell for osteogenesis and haematopoiesis is supported by results of repopulation of mice with genetically marked haematopoietic cells. The chromosomal analysis of the recipient's osteogenic and haematopoietic cells indicates their donor origin, pointing to the presence in the non-adhesive bone marrow fraction of primitive cells, capable of differentiating into osteogenic and haematopoietic cells [3].

Itoh and Aubin have postulated a common progenitor cell for bone, the haematopoietic niche, and for haemopoiesis [4]. Using highly purified osteoprogenitor cells, expressing a high level of osteoblast differentiation markers, as well as the markers for haemopoiesis niche cells, they have demonstrated that following transplantation they differentiated not only into osteoblasts, osteocytes and parasinusoidal cells, but also into haemopoietic cells. Thus such a stem cell has reconstructed bone and haemopoietic bone marrow.

Osteogenesis and myelopoiesis are combined phenomena in normal, orthotopic osteogenesis, but also co-evolve in ectopic osteogenesis, induced by variety of means. The foci of induced, ectopic bone are colonized by haemopoietic bone marrow within 2 weeks. Myelograms of such "induced" bone marrow do not differ quantitatively from the myelograms of orthotopic bone marrow, the only difference being the proportion of various cell lines. In the bone marrow associated with ectopic bone formation, haemopoietic cells, macrophages and stromal elements are pre-

cjonalność tego szpiku potwierdza też to, że cechuje go zdolność pełnego odtwarzania hematopoezy u zwierząt z popromiennym uszkodzeniem szpiku [7,8]. Ponadto komórki zrębowe szpiku „indukowanego” mogą różnicować się w hodowli *in vitro* w fibroblasty i w komórki tłuszczowe, podobnie jak komórki zrębu szpiku ortotopowego.

Przez wiele lat uważano, że komórki podścieliska szpiku, do których zaliczane są także osteoblasty oraz komórki tłuszczowe (adipocyty), stanowią odrębne przedziały frakcji niehemopoetycznej szpiku, warunkujące wzrost i różnicowanie się komórek krwiotwórczych. Komórki krwiotwórcze stanowią drugi, odrębny przedział szpiku, zwany przedziałem hemopoetycznym, obejmujący swym zasięgiem wszystkie linie rozwojowe komórek krwi. Mikrośrodowisko niezbędne dla hemopoetycznych komórek macierzystych oraz ich prekursorów stanowią komórki podścieliska szpiku – adipocyty, osteoblasty i komórki śródbłonna naczyń krwionośnych [9,10].

Oba te przedziały – podścielisko i komórki krwiotwórcze posiadają swoje komórki macierzyste. Przedział zrębowy mezenchymatyczną komórkę macierzystą zrębu, która może różnicować się w kierunku fibroblastów, adipocytów, osteoblastów, chondroblastów, mięśni gładkich czy śródbłonna naczyniowego. Przedział hemopoetyczny posiada macierzystą komórkę hematopoetyczną, którą rozwijają się w prekursorzy wszystkich komórek krwi i w megakariocyty. W zasadzie nie przyjmowało się koncepcji zmian kierunku różnicowywania się (transdyferencjacji) komórek jednego przedziału w komórki z przedziału drugiego.

Powstawanie komórek tłuszczowych z komórek przedziału krwinkotwórczego szpiku

Powszechnie przyjmuje się, że adipocyty wywodzą się z komórek fibroblastycznych, te zaś z mezenchymatycznych [11]. W świetle najnowszych doniesień okazuje się, że fibroblasty nie są jedynym źródłem komórek prekursorowych adipocytów. Innym źródłem mogą być komórki macierzyste hematopoezy, a ściślej – progenitorowe komórki linii monocytarno/makrofagalnej [12]. Dobrze ilustruje to eksperyment, w którym podano dożylnie myszom ok. 20 komórek macierzystych, wyprowadzonych z pojedynczej hematopoetycznej komórki macierzystej, do której wprowadzono marker genetyczny (białko GFP). Po upływie ok. 7-10 miesięcy u takich biorców przeszczepu stwierdzano w licznych tkankach obecność adipocytów, o silnej ekspresji białka GFP, a więc pochodzących z przeszczepionych komórek macierzystych mielopoezy.

sent [5,6]. The injection of “induced” bone marrow re-establishes haemopoiesis in irradiated animals, and the stromal cells of such marrow differentiate *in vitro* into fibroblasts and adipocytes, as do stromal cells of orthotopic marrow [7,8].

Until recently it was believed that stromal bone marrow cells, endothelial cells, osteoblasts, and adipocytes belong to a separate compartment, the stromal cell compartment, needed as a niche for growth and differentiation of all types of haemopoietic cells, which belong to the other separate haemopoietic compartment [9,10]. Each was believed to have its own stem cells. Stromal compartment stem cells are termed mesenchymal or skeletal stem cell, which give rise to fibroblasts, adipocytes, osteoblasts, chondroblasts, and smooth muscle. Haemopoietic compartment stem cells differentiate into erythropoietic, granulopoietic, lymphopoietic, monocytopenoietic and megakaryopoietic lineages. The concept of transdifferentiation of cells belonging to one compartment into the second compartment was not accepted.

Adipogenesis from cells of haemopoietic compartment

The dominant opinion was that adipocytes derived from fibroblasts, and fibroblasts, from the mesenchymal stem cells [11]. Recently published data, however, suggests a novel source of adipocyte precursors in the progenitor cell of the monocyte/macrophage lineage [12]. On infusion of ca 20 cells forming a clone derived from a single primitive haemopoietic stem cell, transfected with GFP gene, on analysis of recipient 7-10 month later, numerous adipocytes expressing GFP were found in various tissues. These donor-derived adipocytes exhibited adipocyte markers, and their population increased when animals were treated with activator of the adipocyte transcription factor PPAR gamma. Moreover, bone marrow cells of animals so repopulated, when cultured in a medium promoting adipocytogenesis, gained adipocyte phenotype.

Hematopoetyczne pochodzenie adipocytów zostało również wykazane przez inną grupę badaczy [13]. Adipocyty pochodzące z macierzystych komórek hematopoezy zasiedlały nie tylko szpik, ale również inne narządy, a wraz z wiekiem ich liczba w tkankach wzrastała.

Osteogeneza z komórek wywodzących się z przedziału krwiotwórczego szpiku

Obserwacje morfologiczne wskazują na zaangażowanie komórek hemopoetycznych w procesy osteogenezy heterotopowej, ale nie zostało dotychczas jednoznacznie rozstrzygnięte, czy stanowią one źródło dla komórek osteogennych, czy jedynie usprawniają proces indukcji kościotworzenia.

Hematopoetyczne komórki przeszczepione myszom, u których wywołano osteogenezę ektopową, odnajdowano we wczesnych stadiach reakcji zapalnej oraz w późnej fazie indukcji osteogenezy. Nie wykazano jednak tych komórek w pośrednich stadiach indukcji osteogenezy. To pokazuje, że komórki pochodzenia hematopoetycznego partycypują w zjawisku indukcji osteogenezy, lecz same z siebie nie są w stanie procesu tego zainicjować [14]. Również przeszczepianie szpiku pacjentom z postępującą fibrodysplazją kostną (fibrodysplasia ossificans) nie korygowało schorzenia, aczkolwiek farmakologiczna immunosupresja łagodziła objawy choroby.

Inne badania wskazują jednak na obecność u pacjentów z postępującą fibrodysplazją kostną krążących we krwi prekursorów komórek kościotwórczych [15]. Liczba tych występujących we krwi komórek wzrastała w okresie zaostrzenia choroby i przypuszcza się, że te wywodzące się z linii hemopoetycznej komórki zasiedlają miejsca objęte procesem zapalnym i stanowią źródło komórek kostnych w tej patologii. Obecność we krwi obwodowej człowieka komórek tworzących w hodowli *in vitro* kolonie komórek zrębowych opisano wcześniej, jednak nie zbadano ich potencjału osteogennego [16].

Prawdopodobnie potencjał różnicowania się pierwotnej hemopoetycznej komórki macierzystej szpiku wykracza poza tkanki szkieletowe. Znane są doniesienia, że mogą one różnicować się np. w mikroglej oraz komórki okołonaczyniowe mózgu [17]. Takie wyniki można jednak interpretować dwojako – albo jako dowód tzw. plastyczności komórek, albo jako dowód zlania przeszczepionych komórek z komórkami z miejsca ich zasiedlenia.

The haemopoietic origin of adipocytes has been confirmed by others [13]. The cytologic analysis revealed that bone marrow progenitor-derived adipocytes and adipocyte progenitors in adipose tissue arise from haematopoietic cells via the myeloid lineage.

Osteogenesis from cells of the haemopoietic compartment

Haemopoietic bone marrow cells are involved in the process of heterotopic osteogenesis. However, it is not established if they are a source of osteogenic cells or if they only facilitate bone induction.

Haemopoietic cells injected into animals during the evolution of Bone Morphogenetic Protein-induced heterotopic ossicles were found at the site in the early inflammatory phase, were not detected in the intermediate phase of fibroblast production, chondrogenesis and osteogenesis, but were again identified in the late stage of repopulation of ossicles by myeloid elements. This indicates the participation of haemopoietic cells in the process of ectopic bone/ bone marrow formation, but also their inability to trigger osteogenesis [14]. Their appearance at the earliest stage of induction surely suggests a role in the initiation of osteogenesis. Also bone marrow transplanted into patients with progressive fibrodysplasia ossificans does not cure the disease. The amelioration of symptoms by immunosuppression points to the involvement of blood cells in the process of heterotopic osteogenesis. There is evidence of the presence of circulating osteoprogenitor cells in cases of progressive fibrodysplasia ossificans. These cells were identified as a non-adhesive fraction of bone marrow cells [15]. These circulating cells increase in number during active episodes of heterotopic ossification, and it was postulated that these haemopoietic-derived cells with osteogenic potential seed inflammatory sites and form bone.

The existence in human peripheral blood of cells forming *in vitro* fibroblast colonies has been reported earlier; however, their osteogenic potency has not been examined [16].

The differential potency of primary haemopoietic stem cells possibly extends beyond the skeletal tissues. There are some reports of differentiation of such cells into microglia and into perivascular cells in the central nervous system [17]. The identification of the origin of these cells was based on the expression of green fluorescent protein (GFP) following administration of stem cells transfected with the gene for this marker. However such results should be interpreted with caution, in two ways: as cell plasticity or as a fusion of grafted, marked cells with resident cells at the site of "homing".

PRZEPROGRAMOWANIE RÓŻNICOWANIA ADIPOCYTÓW I OSTEOLASTÓW

Związek adipocytów z osteoblastami

Przyrost masy kości gąbczastej jest odwrotnie proporcjonalny do stopnia stłuszczenia szpiku i w osteoporozie stwierdza się wzrost liczby adipocytów, a komórki zrębowe szpiku pacjentów osteoporotycznych cechuje zwiększony potencjał adipogeny [18,19].

Zarówno adipocyty, jak i osteoblasty stanowią komponentę zrębową szpiku i niszę dla rozwoju komórek hemopoetycznych [9]. Ale adipocyty regulują również aktywność komórek osteoblastycznych, hamując w nich ekspresję czynnika transkrypcyjnego Runx 2. Ten sam efekt daje wprowadzenie do komórek osteoblastycznych genu dla receptora PPAR gamma, czynnika transkrypcyjnego adipocytów [20].

Hormon adipocytów – leptyna – obok działania tłumiącego apetyt poprzez interakcje z komórkami podwzgórza, wywiera także działanie obwodowe na kość, regulując jej masę [21]. Komórki zrębowe szpiku, w tym komórki osteoprogenitorowe, posiadają receptory dla leptyny. Unieczynnienie tych receptorów w komórkach zrębowych szpiku powoduje *in vitro* wzrost adipogenezy oraz zahamowanie procesu mineralizacji. Na tej podstawie postuluje się, że leptyna promuje mineralizację bardziej zróżnicowanych osteoblastów oraz utrzymuje komórki zrębowe w stanie niezróżnicowanym [22].

Osteoblastogeneza i adipogeneza mezenchymatycznych komórek zrębowych szpiku regulowana jest także za pomocą receptora dla estrogenu. Komórki z wyłączonym receptorem dla estrogenu gorzej proliferują, ich różnicowanie się w osteoblasty jest upośledzone i nie produkują sialoproteiny kostnej (BSP), w przeciwieństwie do komórek posiadających ten receptor. Ponadto adipogeneza komórek zrębu, pozbawionych receptora estrogenu, jest upośledzona [23].

Na różnicowanie mezenchymatycznych komórek macierzystych w kierunku adipocytarnym lub osteoblastycznym mogą również wpływać białka homologiczne do parathormonu. Różne jego fragmenty hamują lub aktywują ekspresję markerów osteogenezy lub adipogenezy [24].

Surowica kobiet po menopauzie zawiera bliżej niesprecyzowane czynniki, ukierunkowujące różnicowanie się komórek osteoprogenitorowych szpiku w adipocyty [25]. Te czynniki mogą mieć udział w obserwowanym u nich wzroście zawartości komórek tłuszczowych szpiku.

Bisfosfoniaty, leki o działaniu proosteogennym, zmniejszają równocześnie liczbę komórek tłuszczo-

TRANSDIFFERENTIATION OF ADIPOCYTES AND OSTEOLASTS

The association of adipocytes with osteoblasts

It is well established that an inverse relationship exists between osteogenesis and adipogenesis in the skeleton. In osteoporosis an increase of adipocytes is noted, and bone marrow stromal cells of osteoporotic patients become markedly adipogenic [18,19].

Both adipocytes and osteoblasts form the stromal compartment of bone marrow and provide a niche for haemopoiesis [9]. Adipocytes regulate osteoblastic cell activity by reducing their expression of transcription factor Runx2. Transfection of osteoblastic cells with the adipocyte transcription factor PPAR gamma (peroxisome proliferator-activated receptor) reduces Runx2 expression and knocking-out of PPAR gamma or of adiponectin-receptor 1 in osteoblastic cells prevented the down-regulation of mRNA expression of Runx2 [20].

Leptin, a hormone secreted by adipocytes, is involved not only in the control of energy balance, but also regulates bone mass and bone metabolism [21].

Bone marrow stromal cells, including osteoprogenitor cells, express leptin receptors. Their inactivation in marrow stromal cells results in an increase of adipogenesis in cell cultures and inhibition of their mineralization. Mice with deletion of leptin receptors on mesenchymal cells or on osteoblasts expressed different phenotypes. In the first one obesity, increment in bone mass, and enhanced mineralisation of bones were observed, which are all signs characteristic for the Ob/Ob mutation. Animals with deletion of leptin receptors on osteoblasts presented a normal phenotype. Based on these results the authors postulate that leptin promotes mineralization of the more differentiated osteoblasts and maintains stromal cells in an undifferentiated state [22].

Osteoblastogenesis and adipocytogenesis by mesenchymal stem cells is also regulated by oestrogen receptors. Cells with knocked-down oestrogen receptors proliferate at a slower rate and their differentiation into osteoblasts, the synthesis of bone sialoprotein and mineralization are all reduced. Moreover stromal cells with deletion of oestrogen receptors cultured in a medium promoting adipocytogenesis did not differentiate into adipocytes [23].

Parathyroid-like proteins also influence the differentiation of marrow stromal cells into adipogenic and osteogenic lineage. Its various fragments increase or decrease the expression of osteoblasts or adipocyte markers [24].

wych w szpiku kobiet po menopauzie oraz zmniejszają ekspresję adipocytarnego czynnika transkrypcyjnego PPAR γ 2 w komórkach zrębowych szpiku. Kontrola ilości tkanki tłuszczowej w obrębie szpiku może więc mieć związek z korzystnym działaniem bisfosfonianów na tkankę kostną [26].

Przeprogramowanie kierunku różnicowania w obrębie komórek linii adipocytarnej i osteogennej

Transdyferencjacja jest procesem, w którym komórki jednej linii rozwojowej ulegają przekształceniu w komórki innej linii rozwojowej, przeprogramując swój genetyczny drogowskaz [27].

Komórki macierzyste izolowane z podskórnej tkanki tłuszczowej człowieka, hodowane w pożywce sprzyjającej różnicowaniu osteoblastycznemu nabywają fenotyp komórek osteoblastycznych i syntetyzują składniki macierzy kostnej [28,29], natomiast hodowane w pożywce sprzyjającej adipogenezie różnicują się w adipocyty [28]. Komórki macierzyste pozyskane z tkanek pochodzenia ektodermalnego w podobnych warunkach hodowli *in vitro* nie różnicowały się ani w osteoblasty, ani w adipocyty, co świadczy o tym, że komórki tkanek o różnym pochodzeniu zarodkowym nie mogą ulegać wzajemnej transdyferencjacji [28].

Jednak zmiana programu różnicowania komórek macierzystych, wywodzących się z tego samego listka zarodkowego jest możliwa. Schilling i wsp. oraz Clabaut i wsp. postulują możliwość transdyferencjacji osteoblastów w adipocyty [30,31]. Osteoblasty szpiku, hodowane w obecności adipocytów, ale bez bezpośredniego z nimi kontaktu, nabywały cech adipocytów, takich jak ekspresja leptyny i lipazy lipoproteinowej kosztem ekspresji markerów osteogenezy. Transdyferencjacja osteoblastów w adipocyty może tłumaczyć zwiększoną ilość komórek tłuszczowych kosztem komórek osteogennych w szpiku i za taki stan odpowiedzialnymi byłyby komórki tłuszczowe, oddziałujące parakrynowo na komórki osteogenne.

Mezenchymatyczne komórki macierzyste mogą więc różnicować się w kierunku osteoblastycznym i adipocytarnym, ale w ich obrębie dochodzić może do transdyferencjacji: komórek adipocytarnych w osteoblastyczne oraz osteoblastycznych w adipocytarne [30]. Taka plastyczność komórkowa może mieć swój udział w postępującym z wiekiem wzrostem ilości tkanki tłuszczowej u ludzi.

Postmenopausal serum contains as yet unidentified factors directing differentiation of human bone marrow osteoprogenitor cells toward an adipocyte phenotype [25]. Such factors could contribute to an increase of adipocyte content, as observed in postmenopausal women.

Bisphosphonates, apart from their pro-osteogenic activity, reduce the number of adipocytes in the bone marrow of postmenopausal women and reduce the expression of adipocyte transcription factor PPAR γ in stromal cells. Thus, by reducing the number of fat cells within bone marrow, bisphosphonates contribute to their beneficial effect on bone mass [26].

Transdifferencjacja między osteoblastami a adipocytami

Transdifferencjacja jest procesem, w którym komórka jednego typu rozwojowego ulega przeobrażeniu w inny typ komórek poprzez przełączenie się na inny szlak rozwojowy [27].

Stem cells isolated from subcutaneous adipose tissue, cultured in a bone-promoting medium acquire an osteoblastic phenotype and synthesize elements of bone matrix, and when cultured in an adipocyte-promoting medium, differentiate into adipocytes [28, 29]. Stem cells isolated from tissues of ectodermal origin, cultured in similar conditions failed to differentiate into osteoblasts and adipocytes. The failure of ectodermal stem cells to respond to osteoblast and adipocyte-inducing culture conditions indicates an “embryonic layer” limitation on “translayer” transdifferencjacja [28]. However, the transdifferencjacja of stem cells derived from the same germ cell types is possible. Schilling et al. and Clabaut et al. postulate the transdifferencjacja of osteoblasts into adipocytes [30,31]. Bone marrow osteoblasts co-cultured in the presence of adipocytes but without contact with them expressed the adipogenic markers leptin and lipoprotein lipase while showing reduced expression of osteogenic markers. The authors explain the elevated number of adipocytes in bone marrow as being the result of osteoblast transdifferencjacja into adipocytes, and postulate that such transdifferencjacja is triggered by the paracrine secretion of adipocytes.

In cell cultures, mesenchymal stem cells allow not only for osteogenic and adipogenic differentiation but also for transdifferencjacja between both cell lineages.

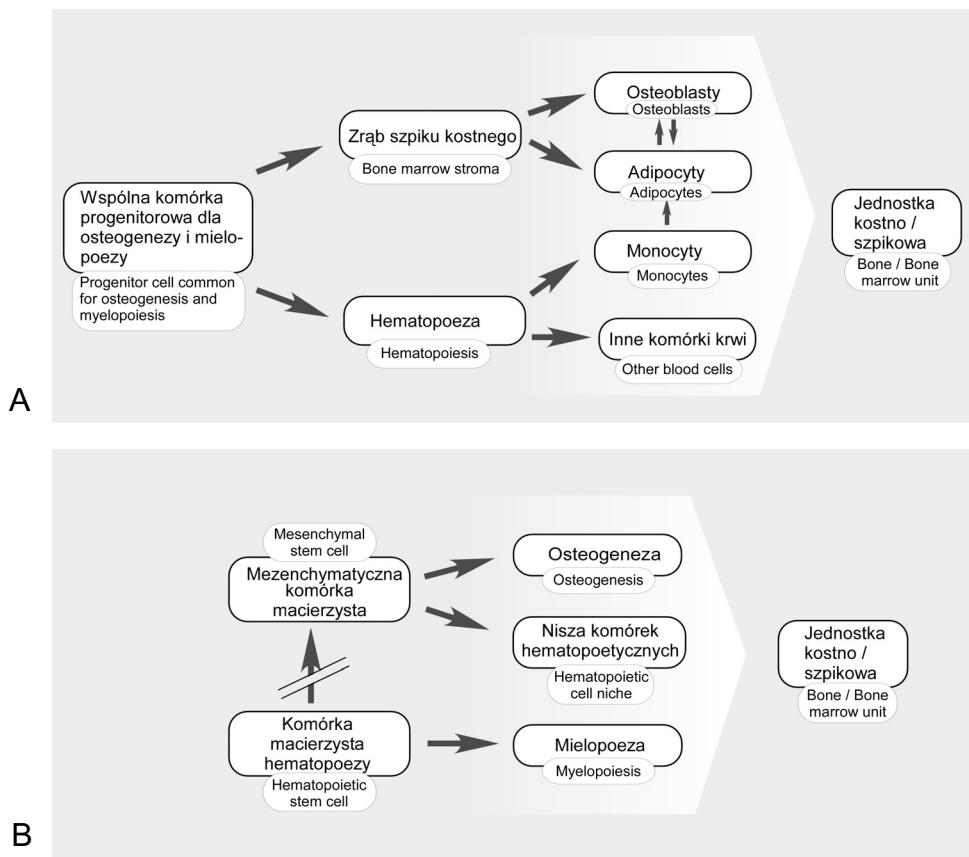
Adipocytes transdifferencjacja into osteoblasts lost the expression of adipogenic markers and showing osteogenic markers, while committed osteoblasts transdifferencjacja into adipocytes displayed adipogenic markers and lost osteogenic markers [30].

Adipocyty mogą zmienić kierunek różnicowania na osteoblastyczny pod wpływem kwasu retinowego, prekursora witaminy A. Kwas ten indukuje ekspresję markerów osteoblastów (Cbfa1/Runx2, osteokalcyny, osteopontyny, fosfatazy zasadowej, receptorów parathormonu), natomiast wycisza ekspresję markerów komórek tłuszczowych [32].

Możliwość regulowania różnicowania komórek mezenchymatycznych szpiku w osteoblasty lub komórki tłuszczowe otwiera perspektywę korygowania procesów osteoporozy lub osteopetrozy.

Nowy paradygmat komórki macierzystej, dającej początek komórkom progenitorowym, tworzącym jednostkę kostno-szpikową, diskutowanym w tym przeglądzie, oraz przeprogramowanie kierunku różnicowania się komórek, zachodzące w obrębie komórek, tworzących taką jednostkę, oraz wcześniejszy pogląd na temat pochodzenia komórek zrębowych i hemopoetycznych przedstawiono na Ryc. 1.

Transdifferentiation of preadipocytes into osteoblasts on exposure to retinoic acid was reported by Oki et al. [32]. Retinoic acid induced mRNA expression of osteoblastic markers (Cbfa1/Runx2, alkaline phosphatase, osteopontin, osteocalcin, receptor for parathormone) but did not induce the expression of adipocyte-specific mRNA.



Ryc. 1A. Nowa teoria istnienia komórki macierzystej, tworzącej jednostkę kostno/szpikową. B. Dotychczasowa teoria różnicowania się komórek macierzystych przedziału hemopoetycznego i zrębowego szpiku

Fig. 1A. The new theory of stem cell common for bone/bone marrow unit. Haemopoietic cells can differentiate into stromal cells. B. The old theory of differentiation of bone marrow compartment-specific stem cells

PISMIENICTWO/REFERENCES

1. Heymann D, Touchais S, Bohic S, Rohanizadeh R, Coquard C, Passuti N, Daculsi G. Heterotopic implantation of mouse bone-marrow cells: an in vivo model allowing analysis of mineral phases during mineralization processes. *Connect Tissue Res* 1998; 37 (3-4): 219-31.
2. Mankani M H, Kuznetsov S A, Robey P G. Formation of haematopoietic territories and bone by transplanted human bone marrow stromal cells requires a critical cell density. *Exp Hematol* 2007; 35 (6): 995-1004.
3. Dominici M, Pritchard C, Garlits J E, Hofman T J, Personswitz E M. Hemopoietic cells and osteoblasts are derived from a common marrow progenitor after bone marrow transplantation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004; 101 (32): 11761-66.
4. Itoh S, Aubin J E. A novel purification method for multipotential skeletal stem cells. *J Cell Biochem* 2009; 198 (2): 368-77.
5. Włodarski K, Jakóbiński M. Heterotopically induced bone marrow. I. Cellular composition of bone marrow derived from the heterotopic ossicles induced by xenogeneic epithelia of human amnion and dog transitional epithelium *Arch Immun Therap Exp* 1978; 26: 1027-31.
6. Gurevich O, Fabian I. Ability of the hemopoietic microenvironment in the induced bone to maintain the proliferative potential of early hemopoietic precursors. *Stem Cells* 1993; 11 (1): 56-61.
7. Włodarski K, Jakóbiński M. Heterotopically induced bone marrow. II. The concentration of hemopoietic stem cells in the induced bone marrow and its ability to repopulate lethally irradiated recipients. *Arch Immun Therap Exp* 1978; 26: 1033-36.
8. Włodarski K, Jakóbiński M., Janowska-Wieczorek A. Heterotopically induced bone marrow formation – morphology and transplantation. *Exp Hematol (Dallas)* 1980; 8: 1016-23.
9. Askmyr M, Quach J, Purton L E. Effects of the bone marrow microenvironment on haematopoietic malignancy. *Bone* 2011; 48 (1): 115-20.
10. Omatsu Y, Sugiyama T, Kohara H., Kondoh G, Fujii N, Kohono K, Nagasawa T. The essential functions of adipo-osteogenic progenitors as the hematopoietic stem and progenitor cell niche. *Immunity* 2010; 33 (3): 387-99.
11. Laharrague P, Casteilla L. The emergence of adipocytes. *Endocrin Dev* 2010; 19: 21-30.
12. Sera Y, LaRue A C, Moussa O, Mehrotra M, Duncan J D, Williams C R, Nishimoto E, Schulte B A, Watson P M, Watson D K, Ogawa M. Hematopoietic stem cell origin of adipocytes. *Exp Hematol*. 2009; 37 (9): 1108-20.
13. Majka S M, Fox K E, Psilas J C, Heim K M, Childs C R, Acosta A S, Janssen R C, Friedman J E, Woessner B T, Shade T R, Varela-Garcia M, Klemm D J. De novo generation of white adipocytes from the myeloid lineage via mesenchymal intermediates is age, adipose depot, and gender specific. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010; 107 (33): 1478-6.
14. Kaplan F S, Glaser D L, Shore E M, Pignolo R J, Zhang Y, Senitzer D, Forman S J, Emerson S G. Hematopoietic stem-cell contribution to ectopic skeletogenesis. *J Bone Joint Surg Am* 2007; 89 (2): 347-57.
15. Suda R K, Billings P C, Egan KP, Kim J H, McCarrick-Walmsley R, Glaser D L, Porter D L, Shore E M, Pignolo R J. Circulating osteogenic precursor cells in heterotopic bone formation. *Stem Cells* 2009; 27 (9): 2209-19.
16. Włodarski K, Janowska – Wieczorek A. Precursor cells of fibroblast colony forming units in the normal and pathologic human bone marrow and in the peripheral blood. *Folia Haematol. (Leipzig)* 1984; 111: 686-91.
17. Hess D C, Abe T, Hill W D, Studdard A M, Carothers J, Masuya M, Flening P A, Drake C J, Ogawa M. Hematopoietic origin of microglial and perivascular cells in brain. *Exp Neurol* 2004; 186 (2): 134-44.
18. Di Iorgi N, Mo A O, Grimma K, Wren T A, Dorey F, Gilsamz V. Bone acquisition in healthy young females is reciprocally related to marrow adiposity. *J Clin Endocrin Metab* 2010; 95 (6): 2977-82.
19. Rodriguez J P, Astudillo P, Rios G, Seitz G, Pino A M. Adipogenesis and osteoporosis. *Rev Med Chile* 2009; 137 (6): 827-36.
20. Liu L F, Shen W J, Zhang Z H., Wang L J, Kraemer FB. Adipocytes decrease Runx2 expression in osteoblastic cells: roles of PPAR gamma and adiponectin. *J Cell Physiol* 2010; 225 (3): 837-45.
21. Włodarski K, Włodarski P. Leptin as a modulator of osteogenesis (Rev). *Ortop Traumatol Rehabil* 2009; 1 (6): 11: 1-6.
22. Scheller EL, Song J, Dishowitz M I., Soki F N, Hankenson KD, Krebsbach PH. Leptin functions peripherally to regulate differentiation of mesenchymal progenitor cells. *Stem Cells* 2010; 28 (6): 1071-80.
23. Rajalin A M, Pollock H, Aarmisalo P. ERRalpha regulates osteoblastic and adipogenic differentiation of mouse bone marrow mesenchymal stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 396 (2): 477-82.
24. Casado-Diaz A, Santiago-Mora R, Quesada JM. The N- and C-terminal domains of parathyroid hormone-related protein affect differently the osteogenic and adipogenic potential of human mesenchymal stem cells. *Exp Mol Med* 2010; 42 (2): 87-98.
25. Stringer B, Weddington R, Houghton A, Stone M, Russel G, Foster G. Serum from postmenopausal women directs differentiation of human clonal osteoprogenitor cells from an osteoblastic toward an adipocytic phenotype. *Calcif Tissue Int* 2007; 80 (4): 233-43.
26. Duque G, Li W, Adams M, Xu S, Phipps R. Effect of residronate on bone marrow adipocytes in postmenopausal women. *Osteoporosis Int* July 17, 2010 (abs.) PMID 20661545
27. Song L, Tuan R S. Transdifferentiation potential of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow. *FASEB J*. 2004; 18 (9): 980-82.
28. Oishi K, Noguchi H., Yukawa H, Hayashi S. Differential ability of somatic stem cells. *Cell Transplant* 2009; 18 (5): 581-89.
29. Gastaldi G, Asti A, Scaffino M F, Visai L, Saino E, Cometa A M, Benazzo F. Human adipose-derived stem cells (hASCs) proliferate and differentiate into osteoblast-like cells on trabecular titanium scaffolds. *J Biomed Mater Res A*. 2010; 94 (3): 790-99.
30. Schilling T, Noth U, Klein-Hitpass L, Jakob F, Schutze N. Plasticity in adipogenesis and osteogenesis of human mesenchymal stem cells. *Mol Cell Endocrinol*. 2007; 271 (1-2): 1-17.

31. Clabaut A, Deplace S, Chauveau C, Hardouin P, Broux O. Human osteoblasts derived from mesenchymal stem cells express adipogenic markers upon coculture with bone marrow adipocytes. *Differentiation* 2010; 80 (1): 40-5.
32. Oki Y, Watanabe S, Endo T, Kano K. Mature adipocyte-derived dedifferentiated fat cells can trans-differentiate in osteoblast in vitro and in vivo only by all-trans retinoic acid. *Cell Struct Funct.* 2008; 33 (2): 211-22.

Źródło finansowania: Praca finansowana przez Warszawski Uniwersytet Medyczny

Financial support: Warsaw Medical University

Podziękowania. Dziękuję Dr Wynn Parry za językową korektę tekstu angielskiego i Docentowi Pawłowi Włodarskiemu za uwagi do tekstu polskojęzycznego

Liczba słów/Word count: 4730

Tabele/Tables: 0

Ryciny/Figures: 1

Piśmiennictwo/References: 32

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Prof. dr hab. med. Krzysztof H. Włodarski, e-mail kwlodar@ib.amwaw.edu.pl

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii Centrum Biostruktury Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, ul. Chałubińskiego 5, 02-004 Warszawa, Polska, tel./fax: 628-10-41-5 wew. 1415

Otrzymano / Received 25.06.2011 r.
Zaakceptowano / Accepted 27.09.2011 r.

