МЕДИЦИНА

Попытка регенерации

Для отвергнутого ранее лекарственного вещества показана способность восстанавливать органы, поврежденные из-за болезни или травмы

Виравут Инь и Кевин Стрэндж

Illustration by Sam Falconer

ОБ АВТОРАХ

Виравут Инь (Viravuth Yin) — руководитель научной части *Novo Biosciences* и доцент Биологической лаборатории острова Маунт-Дезерт (*MDIBL*) в городе Бар-Харбор, штат Мэн.

Кевин Стрэндж (Kevin Strange) — биолог, генеральный директор *Novo Biosciences*, бывший президент *MDIBL*.

Первые мысли о восстановлении поврежденных участков тела возникли у нас после рассказа в шотландском пабе про укусы акул. В начале 2000-х гг. американский генетик Майкл Заслофф (Michael Zasloff) из Джорджтаунского университета приехал в Сент-Андрусский университет, чтобы прочесть лекцию о некоторых природных антибиотиках, найденных в коже животных. После лекции он отправился выпить с несколькими университетскими сотрудниками, и один из них, специалист по морской биологии, рассказал, что акулы часто нападают на дельфинов, оставляя раны до 45 см длиной и 12 см глубиной. Но, что удивительно, через несколько недель дельфин выздоравливает и у него не наблюдается никаких признаков инфекции.

Заслофф был поражен быстрым заживлением таких страшных ран и не мог выбросить этот разговор из головы. В течение нескольких последующих лет он читал про покусанных дельфинов и разговаривал с морскими биологами, изучавшими этих животных. В 2011 г. он опубликовал сообщение в *Journal of Investigative Dermatology* под заголовком «Наблюдения за замечательным и загадочным процессом заживления у афалин» (*Observations on the Remarkable (and Mysterious) Wound-Healing Process of the Bottlenose Dolphin*). Он отметил, что по дельфинам было непохоже, чтобы они просто заживляли порванное тело, формируя шрам из клеток другого типа; скорее, они действительно регенерировали поврежденную ткань. И вскоре после этого он позвонил одному из нас (Кевину Стрэнджу), который в то время был президентом Биологической лаборатории острова Маунт-Дезерт (*MDIBL*) и продвигал изучение природных и синтетических веществ, стимулирующих регенерацию. Заслофф предположил, что некоторые антибиотики, обнаруженные им в коже животных, могут также способствовать регенерации. Все, что помогает организму восстановить или заместить клетки, разрушенные в результате болезни или травмы, может иметь важное медицинское значение.

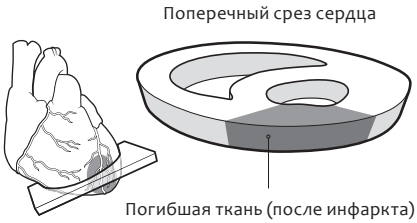
Спустя шесть лет после того телефонного звонка мы втроем (Инь, Стрэндж и Заслофф) продемонстрировали, что природный антибиотик под названием *MSI-1436*, первоначально найденный Заслоффом у небольшой акулы, хорошо стимулирует восстановление разных поврежденных органов

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ

- Лечение стволовыми клетками упоминается во многих новостях о заживлении и восстановлении поврежденных частей тела, однако успехи в этой области невелики.
- В экспериментах на животных показано, что вещество под названием *MSI-1436* может оказаться весьма перспективным. Оно растормаживает естественные способности организма к регенерации клеток.
- Эта молекула, первоначально предназначавшаяся для лечения диабета у людей, успешно прошла проверку на безопасность для человека, что очень важно для разработки лекарственного средства.

Восстановитель тела

В обычных условиях способность клеток и органов регенерировать после повреждения ограничена. Например, после инфаркта молекулы, которые называются «факторы роста» и «цитокинины», поступают в сердце, чтобы стимулировать рост новой ткани, но их сигнал блокируется специальным ферментом. Умершие клетки сердца не замещаются новыми. Однако если мышам с поврежденным сердцем ввести вещество под названием *MSI-1436*, оно ингибирует активность мешающего фермента. В результате образуются новые сердечные мышцы, способные к сокращениям.



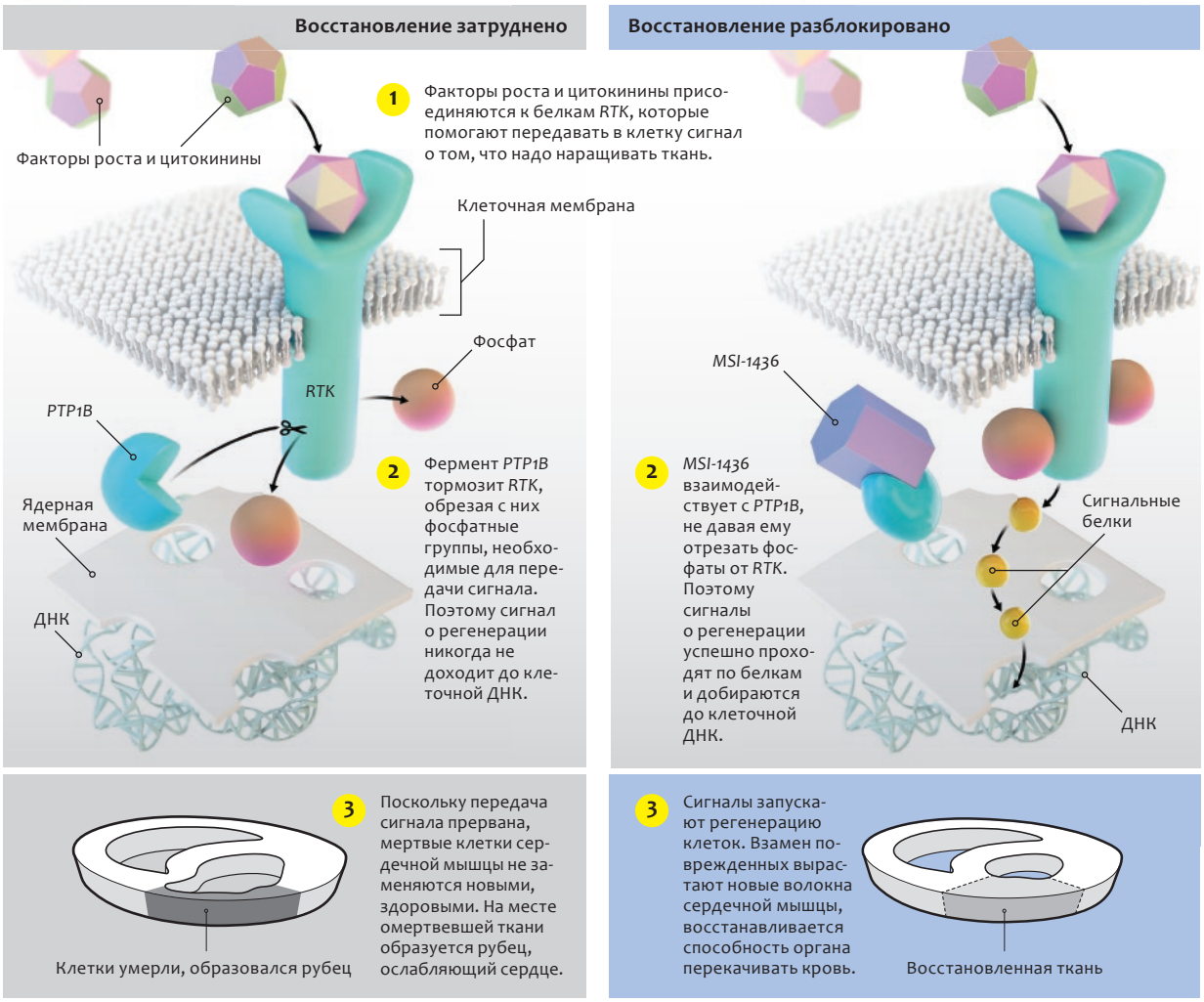


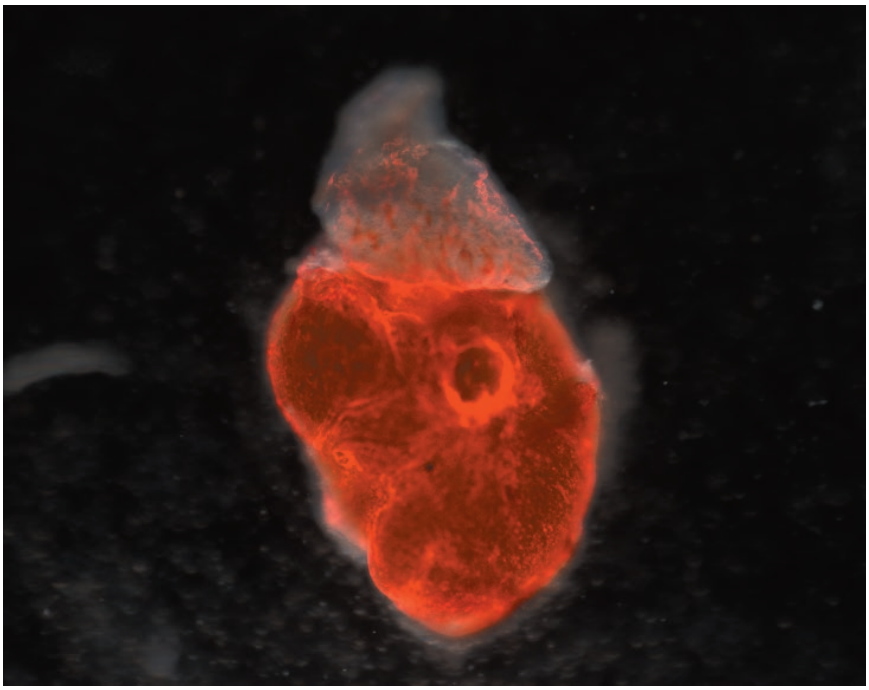
Illustration by Campbell Medical Illustration

у рыб данио-рерио и способствует регенерации сердечной мышцы у мышей. По-видимому, это вещество снимает некоторые молекулярные «тормоза», сдерживающие природную способность тканей к регенерации после повреждения. У мышей, на которых моделируют человеческую мышечную дистрофию, оно, по-видимому, замедляет дегенерацию мышц. Мы пока экспериментируем с животными и не продемонстрировали эти эффекты на людях, но *MSI-1436* имеет важное преимущество по сравнению с множеством других лекарственных средств, которые кажутся многообещающими в пробирке, но оказываются непригодными в клинике: *MSI-1436* безопасно для людей.

В 2007 г. это вещество тестировали в качестве возможного средства для лечения ожирения и диабета II типа, поскольку оно повышает чувствительность клеток к инсулину. Исследования, регулируемые Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (*FDA*), показали, что *MSI-1436* хорошо переносится в высоких дозах и не вредит пациентам. Но поскольку препарат представлен жидким раствором для

ежедневных инъекций, он вряд ли оказался бы популярен у пациентов, потому что у них уже есть альтернативные более удобные варианты в виде таблеток. Фармакологические компании не заинтересовались *MSI-1436*.

Однако медицинских возможностей для регенерации поврежденных клеток на сегодня не так много. Часто пишут о стволовых клетках — неспециализированных клетках, которые при получении определенных сигналов могут дать начало множеству типов высокодифференцированных клеток, образующих человеческое тело. Теоретически они могут восстанавливать поврежденные части. К сожалению, несмотря на многолетние клинические испытания и другие тесты, трансплантация стволовых клеток по-прежнему малоэффективна и связана с другими серьезными проблемами. Единственное, что сегодня широко применяется, — это пересадка костного мозга для лечения заболеваний крови. Но *MSI-1436*, безопасность которого доказана, может оказаться полезным для регенеративной медицины, восстанавливая повреждения после инфарктов и, возможно, и после других разрушительных заболеваний.



В сердце данио-рерио *после повреждения вводилось вещество MSI-1436. Мышцы быстро возобновились, и восстановилась способность органа перекачивать кровь.*

План по восстановлению

Многие животные обладают поразительными регенеративными способностями. Саламандры после потери конечности способны вырастить новую. Похожая на угря минога может восстанавливать поврежденный спинной мозг. Данио-рерио, популярный вид аквариумных рыб, который широко используют в биомедицинских исследованиях, может регенерировать поврежденные почки, сердце, поджелудочную железу и плавники. Возьмите почти любую ткань или орган — и, вероятно, найдется животное, способное легко это восстанавливать.

Даже люди немного участвуют в этой игре регенерации. Кажется, что наши способности очень ограничены, однако клетки наших кожи, крови и кишечника постоянно обновляются. После небольших повреждений в мышцах могут образовываться новые клетки. И, подобно Прометею из греческой легенды, у которого постоянно регенерировала печень, мы тоже можем восстанавливать данный орган после умеренных повреждений. Итак, наши клетки обладают этой способностью, но она ослабляется и выключается, особенно с возрастом. Тем не менее, поскольку такие способности первоначально существуют, мы предположили, что их можно включить обратно с помощью соответствующих молекулярных сигналов. Конечно, сначала надо найти такие сигналы. Логично было поискать их у быстро регенерирующих животных.

В процессе поиска антибиотиков у животных Заслофф наткнулся на класс веществ, которые называются «аминостеролы», *MSI-1436* — это одно из них. Эти вещества могут стимулировать регенерацию, поскольку регулируют клеточную активность, например рост. Мы решили проверить возможности данных веществ с помощью данио-рерио. Поскольку рыба — позвоночное, у нее основные органы те же, что у людей, и примерно 70% ее генов эквивалентны человеческим. На стадии эмбриона рыбки прозрачны, что облегчает изучение их анатомии. Мы хотели посмотреть, сможет ли какой-нибудь из аминостеролов ускорить и улучшить способность ткани рыб к регенерации.

Мы начали с простого теста на ампутацию: отрезали часть хвоста и добавляли различные аминостеролы в воду в аквариуме. Ничего не произошло. Однако все изменилось благодаря помощи недавней выпускницы Хелен Робертс (Helen Roberts), работавшей стажером в лаборатории у Иня. Робертс разработала методики введения вещества непосредственно в рыбу, вместо того чтобы добавлять его в воду. Когда она проделала это с *MSI-1436*, вещество ускорило регенерацию хвостового плавника более чем в три раза. Вместо обычных 10–12 дней на восстановление плавника

CHRISTINA A. DYKEMAN AND YIN LABORATORY MDI Biological Laboratory

потребовалось всего лишь три-четыре дня, и не наблюдалось никаких признаков аномального роста. Мы попросили Робертс и лаборанта независимо повторить эксперименты с разными веществами так, чтобы они не знали, что они вводят в рыбу. *MSI-1436* всегда срабатывало в отличие от других веществ. Это было потрясающе, и в офисе Стрэнджа раздались восторженные восклицания, которые было бы неуместно процитировать в этой статье.

Каким образом *MSI-1436* могло так сильно стимулировать регенерацию? После того как мы провели дальнейшие эксперименты, некоторые ученые исследовали его действие на клетки. Оказалось, что все довольно просто: *MSI-1436* связывается с белком протеиновой тирозинфосфатазой *1B* (*PTP1B*), которая выполняет несколько функций в организме, в том числе регулирует рост новых клеток. Это важная задача, поскольку обширный неконтролируемый рост может привести к нарушению работы органа или оказаться раковым заболеванием. По сути, *PTP1B* тормозит регенерацию клеток. Наше вещество убирало торможение, но только в поврежденных местах, локально и контролируемо.

Когда *PTP1B* тормозит регенерацию, он взаимодействует с важным классом клеточных белков — тирозинкиназными рецепторами (*RTK*). *RTK* встроены в клеточные мембраны и представляют собой части сигнальных путей, начинающихся снаружи клетки и ведущих внутрь, по этим путям в клетку поступает сигнал расти и делиться. Чтобы стать активными и передавать подобные сигналы, *RTK* должны присоединить фосфатные группы. *PTP1B* мешает процессу, отрезая фосфатные группы. Нет фосфата — нет передачи сигнала с помощью *RTK* — нет клеточной регенерации. Но наше вещество, *MSI-1436*, лишает *PTP1B* возможности отрезать фосфаты. И когда это торможение выключено, *RTK* и клеточная регенерация благополучно работают.

Пороки сердца и инфаркты

Помимо отрастания хвостового плавника у данио-рерио, мы обнаружили, что наш блокатор *PTP1B* стимулирует регенерацию сердечной мышцы у рыбы. Это весьма важно, поскольку хвостового плавника у человека нет, а сердце есть, и этому органу нередко требуется помощь. Сердечно-сосудистые заболевания — основная причина смерти в мире, они убивают 18 млн человек ежегодно, и 85% смертей вызваны инфарктом и инсультом. Клетки сердечной мышцы, гибнущие при инфаркте, не регенерируют, на их месте образуется рубец, который увеличивает вероятность повторного инфаркта. На протяжении 45 лет предпринимались поиски лечения, рассматривалась возможность пересадки стволовых клеток, но все было безуспешно.

Поэтому когда мы увидели, что *MSI-1436* помогает рыбам, мы начали тестировать его на мышах, поскольку эти модельные животные широко используются при исследовании болезней сердца. Мы вызывали инфаркт у грызунов, а затем вводили им *MSI-1436* раз в три дня в течение четырех недель. Способность сердца перекачивать кровь улучшалась более чем в два раза, количество рубцовой ткани сократилось на 50%, а клетки сердечной мышцы в месте повреждения разрастались примерно в шесть раз сильнее. *MSI-436* — единственная известная небольшая молекула с таким эффектом.

Недавно мы начали тестировать это вещество на мышах с моделью совершенно иного заболевания: мышечной дистрофии Дюшенна. Это медленное дегенеративное заболевание с атрофией мышц, совсем не похожее на внезапное повреждение при инфаркте. По нашим предварительным данным, *MSI-1436* вызывает клеточную регенерацию, достаточную для того, чтобы не допустить истощения скелетных и сердечных мышц. Оно не останавливает болезнь, но может смягчить симптомы.

От животных к людям

Поскольку вещество стимулирует регенерацию ткани и у рыб, и у взрослых мышей, есть надежда, что оно поможет людям. Предки мышей и данио-рерио разошлись друг от друга 450 млн лет назад. Поскольку *MSI-1436* действует на столь разные организмы, скорее всего вещество работает с теми клеточными путями, которые в процессе эволюции сохранялись неизменными или начали использоваться заново. Таким образом, достаточно высока вероятность того, что эти пути работают и у людей и что на них можно воздействовать подобным способом.

Тестирование возможных лекарств на разнообразной человеческой популяции сильно отличается от строго контролируемых лабораторных исследований на животных. Вероятность неудачи в клинических испытаниях весьма высока. И хотя в отношении *MSI-1436* есть веские причины для оптимизма, на самом деле, не опробовав его на людях, мы не знаем, эффективно ли вещество для лечения инфаркта у человека. В качестве первого шага мы начали финансируемое Национальными институтами здравоохранения тестирование этого вещества при инфарктах у свиней. Свиное сердце удивительно похоже на человеческое, а размер животного позволяет нам имитировать на свинье человеческий инфаркт и ранние стадии лечения гораздо лучше, чем это можно сделать на мышах. Если испытания на свиньях окажутся успешными, мы сможем просить *FDA* разрешить проведение клинических испытаний.

В наших исследованиях мы будем следить за признаками появления рака. В регенеративной медицине всегда есть опасение, что средство для стимулирования роста и восстановления ткани может запустить неконтролируемое деление, характерное для раковых клеток. Мы считаем, что для *MSI-1436* это маловероятно. Чтобы выявить, не вызывает ли это вещество рак, ранее с ним уже были выполнены обширные проверки на токсичность, когда его рассматривали в качестве возможного лекарства от диабета и ожирения. Проблем не обнаружили, и *FDA* сочло, что *MSI-1436* безопасно использовать в исследованиях на людях. Ограничение количества *PTP1B* тоже кажется достаточно безопасным. Ген, отвечающий за синтез этого вещества, был впервые выключен у мышей в 1999 г. Мышей тщательно изучали. У них не обнаружилось никаких признаков повышенного роста опухолей, а это означает, что даже долговременное ингибирование *PTP1B* не вызывает рака. Кроме того, использование *MSI-1436* для стимуляции регенерации тканей при лечении, вероятно, продлится всего несколько недель или месяцев.

Возможно, животные хорошо реагируют на *MSI-1436* потому, что оно возникло у животных. Его не выделяли из генетически модифицированной лабораторной мыши или при проверке десятков тысяч синтетических веществ в фармакологической компании

Наконец, наши собственные эксперименты показывают, что *MSI-1436* действует только в месте повреждения и не запускает у клеток в нормальной ткани ракового поведения. При лечении повреждений с помощью этого вещества у данио-рерио и мышей мы не наблюдали разрастания тканей или нарушений формы органов (то есть признаков злокачественного роста). Мы проверили эту возможность и для очень чувствительного периода в развитии рыб — начиная с одноклеточной стадии эмбриона данио-рерио. Эмбрионы, которым вводили вещество 14 дней подряд, выросли нормальными животными. Переход от одной клетки к полноценному животному — сложный процесс с очень интенсивным делением и дифференцировкой клеток. На ранних этапах развития многие лекарства и факторы среды легко выбивают его из колеи. Хорошо, что *MSI-1436* этого не делает.

Преимущество естественности

Возможно, животные хорошо реагируют на это вещество в первую очередь потому, что оно возникло у животных. Его не выделяли из генетически модифицированной лабораторной мыши или из клеток, растущих в чашке Петри в медицинском центре, или при проверке десятков тысяч синтетических веществ в фармакологической компании. Наши выводы были сделаны на основе знаний, полученных от дельфинов, акул и данио-рерио. Биологическая лаборатория острова Маунт-Дезерт, где мы воспользовались этими знаниями, была основана на побережье штата Мэн в 1898 г. как морская исследовательская станция, где биологи могли немедленно встретиться с естественной средой, которую они пытались изучать.

К сожалению, у крупных биомедицинских исследовательских предприятий и у фармакологической промышленности такой связи с природой нет. Разумеется, молекулы, сконструированные компьютером, важны. Однако специалист по регенеративной медицине, не участвовавший в нашем исследовании, Алехандро Санчес Альварадо (Alejandro Sánchez Alvarado) из Института медицинских исследований Стоуэрса сказал нам, что *MSI-1436* — это «отличный пример того, что бывает, когда ученые решают оставить привычное и поискать решение волнующих медицинских проблем в природе». ■

Перевод: М.С. Багоцкая

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ ИСТОЧНИКИ

- Джабр Ф. Новое сердце // ВМН, № 7–8, 2013.
- Observations on the Remarkable (and Mysterious) Wound-Healing Process of the Bottlenose Dolphin. Michael Zasloff in Journal of Investigative Dermatology, Vol. 131, No. 12, pages 2503–2505; December 2011.
- Rethinking Differentiation: Stem Cells, Regeneration, and Plasticity. Alejandro Sánchez Alvarado and Shinya Yamanaka in Cell, Vol. 157, No. 1, pages 110–119; March 27, 2014.
- The Protein Tyrosine Phosphatase 1B Inhibitor MSI-1436 Stimulates Regeneration of Heart and Multiple Other Tissues. Ashley M. Smith et al. in npj Regenerative Medicine, Vol. 2, Article No. 4; March 3, 2017.