

Krwiotwórcza komórka macierzysta w niszy szpikowej

Haematopoietic stem cell in bone marrow niche

Joanna Kopeć-Szlęzak

Pracownia Immunofenotypowania, Zakład Diagnostyki Hematologicznej,
Instytut Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

Streszczenie

W pracy omówiono aktualne dane na temat zależności między krwiotwórczymi komórkami macierzystymi (KKM) a mikrośrodowiskiem nisz szpikowych. W niszy osteoblastycznej KKM pozostają w stanie spoczynku, a w niszy naczyniowej podlegają procesom samoodnowy i różnicowania w dojrzałe komórki krwi. W niszy osteoblastycznej główną rolę regulatora komórek krwiotwórczych odgrywają osteoblasty, zarówno przez molekuly adhezyjne, jak i wydzielane cytokiny. W niszy okołonaczyniowej komórki śródbłonna i siateczki są odpowiedzialne za utrzymanie równowagi między procesami samoodnowy a powstawaniem komórek ukierunkowanych i dojrzałych komórek krwi. Podczas mobilizacji komórek krwiotwórczych czynnik wzrostu G-CSF wywołuje zaburzenia w kontaktach międzykomórkowych nisz osteoblastycznej, co powoduje wejście komórek krwiotwórczych w cykl komórkowy oraz przejście do niszy okołonaczyniowej. Działanie G-CSF stymuluje również uwalnianie proteaz neutrofilowych, co ułatwia migrację komórek krwiotwórczych do krwiobiegu. W procesie przeszczepiania komórki krwiotwórcze migrują z krwi obwodowej i zasiedlają szpik (tzw. homing), a następnie przenikają do nisz szpikowych (tzw. lodgement). Poznanie mechanizmów zasiedlania KKM na poziomie molekularnym „przybliży” optymalizację procesu transplantacji.

Słowa kluczowe: komórki krwiotwórcze, nisza szpikowa, mobilizacja, przeszczepianie

J. Transf. Med. 2011; 3: 129–135

Summary

During postnatal life haematopoietic stem cells (HSCs) are localized in bone marrow niches. Interaction of HSCs with their niche is critical to sustaining the balance between quiescence and proliferating pool (osteoblastic niche) and between self renovation and differentiation processes (perivascular niche). In HSCs mobilization there is observed a disruption of the mechanisms that retain HSCs in their niche. G-CSF administration leads to destruction of the structure and function of osteoblasts and HSCs migrate to perivascular areas. Simultaneously G-CSF stimulates neutrophil protease release and complement activation; in effect HSCs migrate to blood stream. During transplantation HSCs migrate from blood stream to the bone marrow (“homing”) and next 3 to their niche (“lodgement”). The understanding of cellular and molecular mechanisms is beneficial in HSCs transplantation.

Key words: hematopoietic stem/progenitor cells, bone marrow niche, mobilization, transplantation

J. Transf. Med. 2011; 3: 129–135

Adres do korespondencji: prof. dr hab. n. med. Joanna Kopeć-Szlęzak, Pracownia Immunofenotypowania, Zakład Diagnostyki Hematologicznej, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, ul. I. Gandhi 14, 02–776 Warszawa, tel.: (22) 349 61 66, faks: (22) 349 64 55; e-mail: jszlezak@ihit.waw.pl; jszlez@poczta.onet.pl

Pojęcie niszy szpikowych i ich rodzaje

Nisza szpikowa to miejsce w szpiku, w którym krwiotwórcza komórka macierzysta (KKM) pozostaje w stanie spoczynku bądź podlega procesom samoodnowy i różnicowania. Nisza szpikowa zbudowana jest z komórek położonych w bezpośrednim sąsiedztwie komórki krwiotwórczej, które regulują jej stan funkcjonalny przez przekazywanie i indukowanie sygnałów, współdziałając z autonomicznymi mechanizmami regulacyjnymi komórki krwiotwórczej.

Najważniejszą rolą niszy szpikowej jest utrzymanie równowagi między stanem spoczynku a proliferacją komórek krwiotwórczych oraz między procesem samoodnowy komórek krwiotwórczych a ich różnicowaniem. Kontakt między niszą szpikową i komórką krwiotwórczą jest dynamiczny [1–3]. Obecnie wyróżnia się w szpiku dwa rodzaje niszy szpikowych KKM:

- endostealną lub osteoblastyczną, która znajduje się przy okostnej wewnętrznej jamy szpikowej; znajduje tu się około 16% komórek krwiotwórczych; są to komórki głównie w stanie spoczynku [4];
- naczyńową, położoną przy śródbłonku naczyń włosowatych w szpiku; tu znajduje się około 80% komórek krwiotwórczych, które ulegają proliferacji w procesie samoodnowy lub proliferacji prowadzącej do liniowego różnicowania komórek krwi [5].

Prawidłowa struktura niszy szpikowej i funkcjonowanie jej składników jest bardzo istotne dla prawidłowego rozwoju KKM.

Nisza osteoblastyczna

Struktura niszy szpikowej osteoblastycznej warunkuje pozostawanie KKM w stanie spoczynku. „Grubość” niszy wynosi około 10–20 μm . Jej podstawowe składniki to:

- komórki: osteoblasty fibroblasty, adipocyty (czyli komórki pochodzenia mezenchymalne), makrofagi i osteoblasty — komórki pochodzące z linii hematopoetycznej;
- substancja pozakomórkowa, na przykład osteopontyna, włókna kolagenu oraz cytokiny [6].

Kontakty międzykomórkowe osteoblastów i KKM opierają się na interakcjach molekuł adhezyjnych, do których należą integryny i kadheryna; ich ekspresja bezpośrednio odpowiada za „utrzymanie” KKM w niszy. Znaczącą rolę odgrywa także substancja pozakomórkowa niszy osteoblastycznej — na przykład osteopontyna ogranicza ilość KKM w niszy osteoblastycznej, zaś kolagen I indukuje proliferację KKM [7]. Interakcje komórki krwio-

twórczej z osteoblastem przez molekuły adhezyjne i szlaki sygnalizacyjne utrzymują równowagę między jej proliferacją a stanem spoczynku, którego utrzymanie jest podstawowym mechanizmem ochrony komórki krwiotwórczej przed sytuacjami stresowymi i warunkiem podtrzymania hematopozy przez długi czas [8, 9].

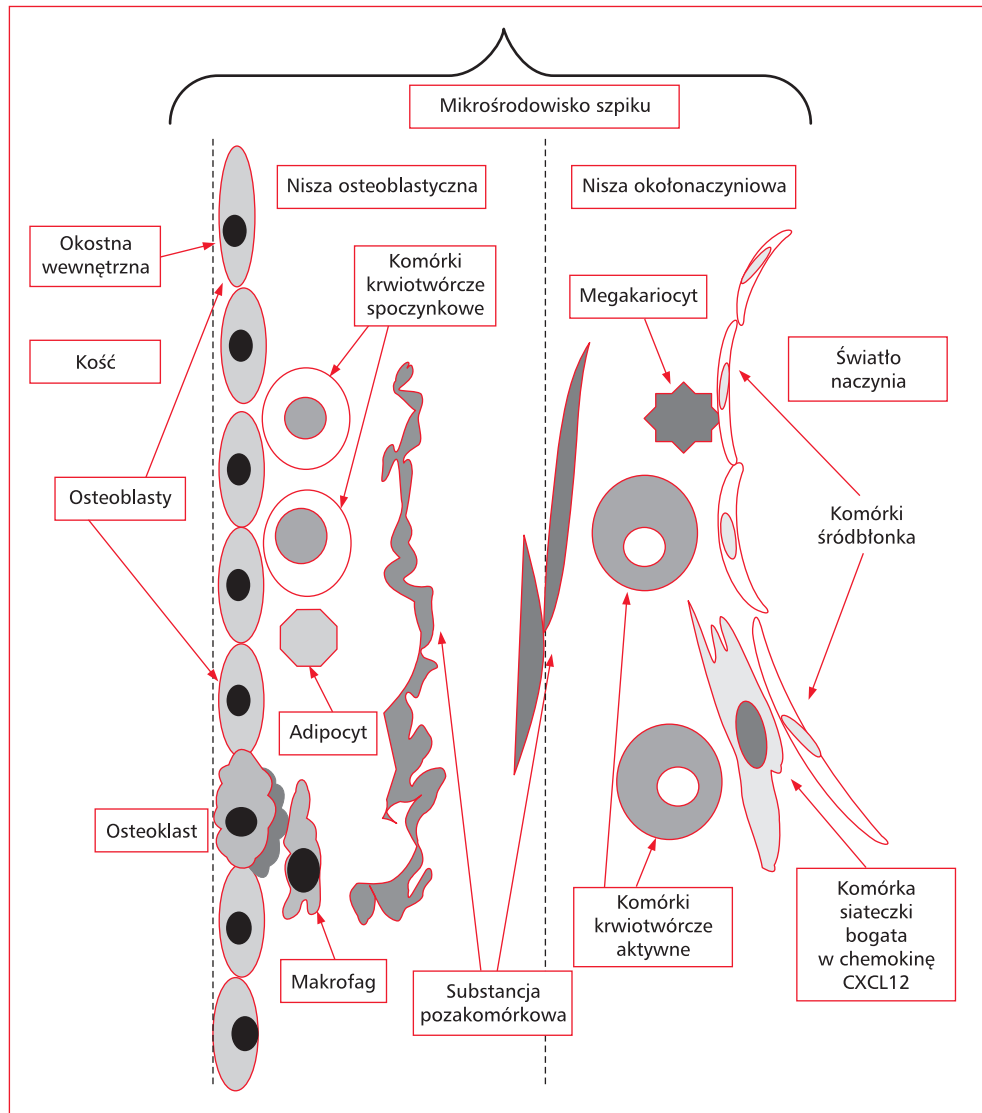
Makrofagi mają znaczący wpływ na osteoblasty — ich redukcja wywołuje zmniejszenie ilości osteoblastów i stężenia cytokin w niszy, co zmienia stan czynnościowy komórek krwiotwórczych [10]. Osteoblasty powodują rozkład składników substancji pozakomórkowej niszy i w ten sposób zmieniają stan „zakotwiczenia” KKM w niszy. Adipocyty są uważane za negatywny regulator niszy szpikowej i komórek krwiotwórczych wskutek wydzielania adiponektyny i czynnika martwicy nowotworu α (TNF- α , *tumor necrosis factor α*) [11, 12].

Cytokiny pełnią zróżnicowaną funkcję w niszy osteoblastycznej. Angiopoetyna stymuluje stan spoczynku KKM przez związanie receptora Tie-2 na KKM [9], czynnik komórek macierzystych (SCF, *stem cell factor*) reguluje procesy samoodnowy KKM, czynnik wzrostu fibroblastów (FGF, *fibroblast growth factor*) „rekrutuje” KKM z niszy osteoblastycznej do niszy okołonaczyńowej [9, 13], a chemokina CXCL12 (inaczej SDF-1, *stromal derived factor 1*) odpowiada za utrzymanie KKM w niszy i/lub ich migrację zależnie od gradientu stężenia chemokiny [14].

Nisza okołonaczyńowa

Niszę okołonaczyńową tworzy sieć cienkościennych naczyń zatokowych, których śródbłonek stanowi barierę między szpikiem a krążeniem obwodowym. Znamienne jest, że komórki śródbłonka naczyń zatokowych szpiku wykazują stałą ekspresję molekuł adhezyjnych, co umożliwia przyleganie komórek krwiotwórczych, na przykład VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule*; CD106), selektyny CD62E i CD62P. Istotnym elementem strukturalnym tej niszy są komórki siateczki CD146+ (*adventitial reticular cells*) przylegające do śródbłonka, którym przypisuje się rolę „organizatora” niszy okołonaczyńowej [15].

Komórki krwiotwórcze w niszy okołonaczyńowej są w stanie aktywacji, zdecydowana ich większość (> 70%) wykazuje obecność molekuły CD34. Komórki krwiotwórcze przechodzą procesy proliferacji typu samoodnowy oraz podziały prowadzące do procesów różnicowania KKM w komórki ukierunkowane i ostatecznie w dojrzałe komórki krwi, w przeciwieństwie do stanu spoczynkowego KKM, dominującego w niszy osteoblastycznej.



Rycina 1. Uproszczony schemat struktury nisz szpikowych KKM [1, 4, 5, 10]

Figure 1. Haematopoietic stem cell bone marrow niche: significantly simplified scheme [1, 4, 5, 10]

Komórki śródbłonna odgrywają szczególną rolę w różnicowaniu megakariocytów. Obecność megakariocytów w bezpośrednim sąsiedztwie śródbłonna nawet przy braku trombopoetyny może być wystarczająca do całkowitego zróżnicowania i uwolnienia płytek krwi. Proces ten jednak jest zależny również od chemokiny CXCL12 [16]. Komórki śródbłonna uczestniczą także w migracji komórek linowo zróżnicowanych do światła naczynia.

Kompleksowe interakcje między komórkami niszy szpikowej a komórkami krwiotwórczymi zachodzące w niszach szpikowych, głównie zjawiska adhezji między komórkami niszy i KKM oraz oddziaływanie cytokin warunkują ich prawidłowe

funkcjonowanie. Schemat struktury nisz szpikowych przedstawiono na rycinie 1.

Zasady regulacji hematopoezy w niszach szpikowych

Krwiotwórcze komórki macierzyste są zdolne do wielokrotnych podziałów oraz różnicowania się w różne typy komórek. Mają także właściwość samoodnawiania, która pozwala na utrzymanie puli KKM niezbędnej do prawidłowego funkcjonowania procesu hematopoezy przez całe życie organizmu. Procesy te podlegają regulacji przez elementy niszy szpikowej, która jest regulatorem stanu funk-

cjonalnego komórek krwiotwórczych. Wyróżnia się cztery podstawowe regulatory hematopoezy [1]:

- reakcje międzykomórkowe zachodzące przy udziale molekuł adhezyjnych;
- działanie cytokin (w tym chemokin) na komórkę krwiotwórczą przez receptory komórkowe;
- działanie czynników transkrypcyjnych na szlakach sygnalizacyjnych w komórce krwiotwórczej;
- oddziaływanie czynników metabolicznych (np. tlen, wapń uwalniany z kości przez osteoklasty).

Ilość KKM w niszy osteoblastycznej jest regulowana przez osteopontynę — glikoproteinę syntetyzowaną przez osteoblasty, znajdującą się w podścielisku. Podobnie jak jony wapnia Ca^{2+} jest ona negatywnym regulatorem liczebności komórek krwiotwórczych [10]. Ilość KKM w niszy szpikowej zależy też od parathormonu, którego receptory znajdują się na osteoblastach [17].

Osteoblasty wykazują ekspresję molekuły adhezyjnej kadheryny N, która wiąże N-kadherynę na komórkach krwiotwórczych, co prowadzi do utrzymania ich w niszy osteoblastycznej [1, 15]. Inne interakcje molekuł adhezyjnych zachodzące między osteoblastami a KKM dotyczą związania angiopoty-1 i osteoblastów przez receptor Tie-2 na KKM, który występuje w fazie G0 tych komórek [9]. To połączenie chroni KKM przed proliferacją i jednocześnie przed działaniem stresów, które mogłyby obniżyć potencjał proliferacyjny KKM [1]. Regulacja na poziomie cytokin obejmuje działanie czynnika wzrostu komórek macierzystych i trombopoetyny (TPO, *thrombopoietin*), które podtrzymują przeżywalność tych komórek i hamują apoptozę KKM, a ponadto są uważane za dwa najważniejsze regulatory stymulujące KKM [18]. Natomiast wewnątrzkomórkowa molekula Lnk jest inhibitorem sygnalizacji wywoływanej przez TPO i razem spełniają przeciwstawną funkcję w regulacji proliferacji KKM [19].

Regulacja procesu samoodnawiania i proliferacji prowadzącej do różnicowania w dojrzałe komórki krwi na poziomie molekularnym odbywa się przy udziale czynników transkrypcyjnych Wnt i Notch. Czynniki te prawdopodobnie działają synergistycznie między innymi w celu utrzymania odpowiednich proporcji pul KKM, czyli samoodnawiających się i różnicujących [1, 15]. Szlak Wnt/ β katenina, który rozpoczyna się prawdopodobnie od błonowej N-kadheryny, indukuje samoodnawianie KKM i hamuje ich podziały prowadzące do różnicowania w komórki dojrzałe krwi. Jednocześnie sygnalizacja przez Wnt warunkuje prawidłową odpowiedź KKM na cytokiny [15].

Drugim istotnym regulatorem jest szlak sygnalizacyjny Notch, który także zatrzymuje różnicowanie i indukuje samoodnawianie KKM. Zahamowanie sygnalizacji Notch prowadzi do szybkiego różnicowania KKM [4]. Innym szlakiem sygnalizacyjnym jest szlak prowadzący od czynnika transformującego wzrostu (TGF- β , *transforming growth factor β*) przez jego receptor na powierzchni KKM i dalej do wnętrza komórki z udziałem białka Smad, a następnie do jądra komórkowego, gdzie zachodzi odpowiedni proces transkrypcyjny. Białko Smad4 jest istotnym elementem w procesie samoodnowy KKM [8, 20].

Regulacja czynnikiem metabolicznym opiera się na zmianach zawartości tlenu O_2 , którego niskie stężenie jest konieczne do utrzymania KKM w stanie spoczynku. Tlen modyfikuje też efekty działania cytokin [21]. Z najnowszych badań wynika, że podstawą mechanizmu utrzymującego KKM w stanie spoczynku jest oś funkcjonalna: niskie stężenie tlenu-białko Fbxw7x, które jest składnikiem ligazy ubikwitynowej. Wysoka ekspresja tego białka, stymulowana przez niskie stężenie tlenu, hamuje cykl komórkowy KKM, ale nie obniża ich potencjału proliferacyjnego [22]. Zachowanie równowagi między utrzymaniem odpowiedniej puli KKM a pozostawianiem ich w stanie spoczynku jest podstawowym procesem regulacyjnym w niszy osteoblastycznej.

W niszy naczyniowej istotną rolę w procesie proliferacji KKM odgrywają komórki śródbłonna zapewniające równowagę między procesami samoodnowienia KKM (określanymi także jako ekspansja KKM) a proliferacją prowadzącą do różnicowania komórek potomnych w komórki „ukierunkowane” dla odpowiednich linii hematopoetycznych [16]. W utrzymaniu tej równowagi kluczową rolę odgrywają tak zwane czynniki angiokrynne, które chronią przed wyczerpaniem puli samoodnawiających się KKM [16, 23]. Zalicza się do nich insulinopodobny czynnik wzrostu (IGFBP-2, *insuline like growth factor binding protein*), czynnik wzrostu fibroblastów o aktywności angiogennej i mitogennej czy morfogenetyczne białko z rodziny białek FGF (BMP4, *bone morphogenetic protein 4*) [4].

Na poziomie molekularnym aktywacja kinazy serynowo-treoninowej Akt i szlaku sygnalizacyjnego Akt/mTOR powoduje wzrost wydzielania czynników angiokrynnych i przesunięcie równowagi w kierunku ekspansji KKM. Natomiast jednoczesna kostymulacja kinazy białkowej aktywowanej mitogenem (MAPK, *mitogen-activated protein kinase*) indukuje liniowe różnicowanie KKM. Aktywację MAPK wywołuje na przykład interleukina 6 (IL-6) [23]. Komórki śródbłonna mają zatem istotne zna-

czenie regulacyjne zarówno dla procesu samoodnowy, jak i liniowego różnicowania KKM.

Proces mobilizacji krwiotwórczych komórek macierzystych

W przebiegu mobilizacji krwiotwórczych komórek macierzystych wykorzystany jest proces proliferacji i migracji KKM, zachodzący w warunkach stanu zapalnego, krwawienia lub innego rodzaju stresu. Stwierdzono również, że pod wpływem granulocytarnego czynnika wzrostu (G-CSF, *granulocyte colony-stimulating factor*) zachodzą podobne zmiany w niszy szpikowej i KKM tracą swoje prawidłowe powiązania z elementami niszy [24, 25].

Nie bez znaczenia jest udział układu nerwowego w procesie mobilizacji KKM. Receptory dla katecholaminy obecne na osteoblastach, komórkach śródbłonna i KKM pozwalają odpowiadać na sygnały pochodzące z neuronów i stanowią jeden z elementów homeostazy niszy szpikowej. Pod wpływem stresu następuje zwiększenie uwalniania katecholamin i zwiększenie ekspresji receptorów β -3 adrenergicznych na KKM. Temu procesowi towarzyszy zmniejszenie zawartości SDF-1 w szpiku, a dodatkowo stres aktywuje osteoklasty i uwalnia liczne enzymy proteolityczne, co umożliwia szybką mobilizację i przejście KKM do krwiobiegu [10, 26].

Po zadziałaniu czynnika mobilizacyjnego G-CSF w niszy szpikowej zachodzi wiele szczegółowych zmian między KKM a elementami niszy szpikowej. Jedne z nich obejmują zmiany osteoblastów i niszy osteoblastycznej oraz ich konsekwencje, a inne to zmiany związane z działaniem G-CSF na granulocyty obojętnochłonne.

Najbardziej istotne zmiany pod wpływem G-CSF dotyczą komórek niszy szpikowej: osteoblastów, osteoklastów i makrofagów [11, 25]. Osteoblasty tracą bowiem ścisły kontakt z KKM, oparty na interakcji molekuł adhezyjnych obu rodzajów komórek oraz interakcji receptora Tie-2 na KKM i angiotensyny osteoblastów, co prowadzi do zmian regulacji procesów w niszy, między innymi z przejścia od stanu „spoczynku” KKM do wejścia w cykl komórkowy i proliferację [10]. Jednocześnie wydzielane z osteoklastów katepsyny inaktywują chemokinę SDF-1, co skutkuje utratą kolejnego elementu utrzymującego KKM w niszy osteoblastycznej. Inną zmianą w niszy po działaniu G-CSF jest zmniejszenie ilości tak zwanych osteomakrofagów, „wspierających” osteoblasty. Suma tych zmian prowadzi do przejścia tych komórek z niszy osteoblastycznej do niszy okołonaczyniowej [11, 26].

Pod wpływem G-CSF uwalniane są proteazy neutrofilowe, na przykład elastaza, katepsyna G1,

metaloпротеinaza 9 (MMP-9, *matrix metalloproteinase 9*); G-CSF powoduje też utratę ekspresji VCAM-1 przez komórki śródbłonna [27]. Dodatkową rolę odgrywa tu komplement — receptor dla C5 na neutrofilach, który powoduje chemotaksję granulocytów na etapie tak zwanej promobilizacji. Proces degranulacji neutrofilii zwiększa odpowiedź KKM na chemokinę SDF-1 w surowicy i, jako efekt procesu mobilizacji, ułatwia ich migrację do krwi [10, 28].

Zasiedlanie szpiku po przeszczepieniu macierzystych komórek krwiotwórczych

W procesie przeszczepiania interakcje między KKM a niszą szpikową biorcy są podstawą klinicznego powodzenia transplantacji. Dla efektywnego przeszczepienia i odtworzenia hematopoety u biorcy komórki KKM muszą migrować z krążenia obwodowego do szpiku i „zasiedlić się” (tzw. *homing*), a następnie „zakotwiczyć się” w niszy szpikowej (tzw. *lodgement*) [25, 29].

Zasiedlenie jest procesem wieloetapowym i rozpoczyna się adhezją KKM do komórek śródbłonna naczyń w szpiku biorcy, po czym następuje migracja przez śródbłonek i dalej poprzez substancję pozakomórkową osiągnięcie niszy szpikowej. Zasiedlanie jest procesem stosunkowo szybkim, ponieważ KKM z krążenia wchodzi do szpiku w ciągu kilku godzin po podaniu komórek do krwiobiegu.

Na tych etapach zasiedlenia istotną rolę odgrywają molekuly adhezyjne KKM i śródbłonna oraz chemokiny. Na tak zwany potencjał transplantacyjny KKM składa się poziom ekspresji integrzyn (z grupy β 1 CD49d i CD49f) oraz selektyn, a także stopień „wyciszenia mitotycznego”, czyli brak cech mitozy w KKM. Brak CD49d/CD29 na KKM powoduje ich akumulację w krwi obwodowej biorcy, bez przechodzenia ich do szpiku. Na poziomie molekularnym istotną funkcję w zasiedlaniu pełni kinaza proteinowa PKB/Akt, która moduluje właściwości adhezyjne i migracyjne KKM podczas zasiedlania [30]. Na przebieg zasiedlania ma także wpływ określona składowa komplementu Cq1, która wykazuje ekspresję na KKM z krwi po procesie mobilizacji, ale nie występuje na KKM krwi pępowinowej. Dopelniacz C1q zwiększa odpowiedź chemotaktyczną KKM na chemokinę SDF-1, co jest bardzo istotne w procesie zasiedlania szpiku [31].

Proces zakotwiczenia KKM w niszach szpikowych decyduje o powodzeniu przeszczepu. Stwierdzono, że KKM bezpośrednio po przeszczepieniu lokalizowały się w szpiku, ale proces ten przebiega w sposób zróżnicowany. Macierzyste komórki krwiotwórcze na wcześniejszym stopniu różnicowania przemieszczały się do regionu nisz osteoblast-

stycznych, podczas gdy KKM bardziej zróżnicowane (progenitorowe) rozmieszczały się w centralnej części szpiku. W procesie zakotwiczenia istotna jest ekspresja molekuly adhezyjnej integryny CD49e/CD29, która wiąże fibronektynę. Innym istotnym elementem zakotwiczenia KKM w niszy szpikowej biorcy jest obecność receptora dla jonów wapnia Ca^{2+} . Brak tego receptora uniemożliwia zakotwiczenie KKM na powierzchni okostnej wewnętrznej w niszy osteoblastycznej [32], natomiast brak ekspresji powierzchniowej receptora dla hialuronianu (CD44) na KKM powoduje liczne zaburzenia w rozmieszczeniu przeszczepionych komórek w niszy osteoblastycznej [33].

W procesie zakotwiczenia KKM, podobnie jak w procesie zasiedlania, ważną rolę odgrywa prawidłowe działanie osi funkcjonalnej, obejmujące receptor CXCR4 (CD184) i chemokinę SDF-1, która prowadzi migrujące komórki KKM do nisz szpikowych. W badaniach nad immunofenotypem komórek CD34+ w grupie chorych z przewlekłymi rozrostami limfoproliferacyjnymi B leczonych przeszczepieniem KKM stwierdzono niejednorodność ekspresji CD184 [34].

Od opisanie macierzystej komórki krwiotwórczej przez Till i McCulloch minęło 50 lat, a od wprowadzenia pojęcia niszy szpikowej przez Schoefielda — 33 lata, co bliżej omawiają niektóre współczesne prace [35]. Aktualne badania biologii molekularnej mechanizmów zasiedlania KKM po przeszczepieniu wskazują, że potencjał transplantacyjny KKM związany jest z 484 genami, odpowiedzialnymi między innymi za ekspresję molekul adhezyjnych [36].

Ostatnio Lapidot i Kollet [37] przedstawili koncepcję, według której proces transplantacji KKM w szpiku zależy od prawidłowego działania triady: układ nerwowy, kość, krew.

Piśmiennictwo

1. Can A. Haematopoietic stem cells niches: interrelations between structure and function. *Transf. Apher. Sci.* 2008; 38: 261–268.
2. Forsberg E.C., Smith-Berdan S. Parsing the niche code: the molecular mechanisms governing hematopoietic stem cell adhesion and differentiation. *Haematologica* 2009; 94: 1477–1481.
3. Woodward J. Regulation of haematopoietic progenitor cell proliferation and survival. The involvement of the osteoblast. *Cell Adh. Migr.* 2010; 4: 4–6.
4. Renstrom J., Kroger M., Peschel C., Oostendorp R.A.J. How the niche regulates hematopoietic. *Chem. Biol. Interact.* 2010; 184: 7–15.
5. Kopp H.G., Avecilla S.T., Hooper A.T., Rafii S. The bone marrow vascular niche: home of HSC differentiation and mobilization. *Physiology* 2005; 20: 349–356.
6. Frisch B.J., Porter R.L., Calvi L.M. Hematopoietic niche and bone meet. *Curr. Opin. Support Palliative Care* 2008; 2: 211–217.
7. Blank U., Karlsson G., Karlsson S. Signaling pathways governing stem-cell fate. *Blood* 2008; 111: 492–503.
8. Arai F., Hirao A., Suda T. Regulation of hematopoietic stem cells by the niche. *Trends Cardiovasc. Med.* 2005; 15: 75–79.
9. Levesque J.P., Helwani F.M., Winkler I.G. The endosteal osteoblastic niche and its role in hematopoietic stem cell homing and mobilization. *Leukemia* 2010; 24: 1979–1992.
10. Winkler I.G., Sims N.A., Pettit A.R. i wsp. Bone marrow macrophages maintain hematopoietic stem cell (HSC) niches and their depletion mobilizes HSCs. *Blood* 2010; 116: 4815–4828.
11. Lymperi S., Ersek A., Ferraro F., Dazzi F., Horwood N.J. Inhibition of osteoclast function reduces hematopoietic stem cell number in vivo. *Blood* 2011; 117: 1540–1549.
12. Yokota A., Kimura S., Tanaka R. i wsp. Osteoclasts are involved in the maintenance of dormant leukemic cells. *Leuk. Res.* 2010; 34: 793–799.
13. Rajimakers M.H. Regulating traffic in the hematopoietic stem cell niche. *Haematologica* 2010; 95: 1439–1446.
14. Porter R.L., Calvi L.M. Communications between bone cells and hematopoietic stem cells. *Arch. Biochem. Biophys.* 2008; 473: 193–200.
15. Bianco P., Sacchetti P., Riminucci M. Osteoprogenitors and the hematopoietic microenvironment. *Best Pract. Clin. Hematol.* 2011; 24: 37–47.
16. Butler J.M., Vertes N.D.J., Varnum-Finney B. i wsp. Endothelial cells are essential for the self-renewal and repopulation of Notch-dependent hematopoietic stem cells. *Cell Stem. Cell* 2010; 6: 251–264.
17. Ballen K. Targeting the stem cell niche: squeezing blood from bones. *Bone Marrow Transplant.* 2007; 39: 55–660.
18. Kent D.G., Dykstra B.J., Cheyne J., Ma E., Eaves C.J. Steel factor coordinately regulates the molecular signature and biologic function of hematopoietic stem cells. *Blood* 2008; 112: 560–567.
19. Seita J., Ema H., Ooehara J. i wsp. Lnk negatively regulates self-renewal of hematopoietic stem cells by modifying thrombopoietin-mediated signal transduction. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2007; 13: 2349–2354.
20. Eliasson P., Jonsson J. The hematopoietic stem cell niche: low oxygen but a nice place to be. *J. Cell Physiol.* 2010; 222: 17–22.
21. Guitart A.V., Hammoud M., Sbarba P.D., Ivanovic Z., Praloran V. Slow-cycling/quiescence balance of hematopoietic stem cells is related to physiological gradient of oxygen. *Exp. Hematol.* 2010; 38: 847–851.
22. Iriushima H., Takubo K., Matsuoka S. i wsp. Ex vivo maintenance of hematopoietic stem cells by quiescence induction through Fbx7? overexpression. *Blood* 2011; 117: 2373–2377.
23. Kobayashi H., Butler J.M., O'Donnell R. i wsp. Angiocrine factors from Akt-activated endothelial cells balance self-renewal and differentiation of haematopoietic stem cells. *Nat. Cell Biol.* 2010; 12: 1046–1056.
24. Staudt N., Aicher W.K., Kalbacher W. i wsp. Catepsin X is secreted by human osteoblasts, digests CXCL12 and impairs adhesion of hematopoietic stem and progenitor cells to osteoblasts. *Haematologica* 2010; 95: 1452–1260.
25. Mayack S.R., Wagers A.J. Osteolineage niche cells initiate hematopoietic stem cell mobilization. *Blood* 2008; 112: 519–531.
26. Christopher M.J., Hilton M.J., Long F., Link D.C. Suppression of CXCL12 production by bone marrow osteoblasts is a common

- and critical pathway for cytokine-induced mobilization. *Blood* 2009; 114: 1331–1339.
27. Vagima Y., Avigdor A., Goichberg P. i wsp. MT-1 MMP and RECK are involved in human CD34+ progenitor cell retention, egress and mobilization. *J. Clin. Invest.* 2009; 119: 492–503.
 28. Lee H.M., Wysoczynski M., Liu R., Zuba-Surma E.K., Kucia M. Impaired mobilization of hematopoietic stem/progenitor cells in C-5 deficient mice supports the pivotal involvement of innate immunity in this process and reveals novel promobilization effects of granulocytes. *Leukemia* 2009; 23: 2052–2062.
 29. Lam R.S., Adams G.B. Hematopoietic stem cell lodgment in the adult bone marrow stem cell niche. *Int. Jnl. Lab. Hem.* 2010; 32: 551–558.
 30. Buitenhuis M., van den Linden E., Ulfman L.H. Protein kinase B (PKBc-akt) regulates homing of hematopoietic progenitors through modulation of their adhesive and migratory properties. *Blood* 2010; 116: 2372–2384.
 31. Jallili A., Marquez-Curtis L., Shivvaiker N., Wysoczynski M., Ratajczak M., Janowska-Wieczorek A. Complement C1q enhances homing-related responses of hematopoietic stem/progenitor cells. *Transfusion* 2010; 50: 2002–2010.
 32. Lam B.S., Cunningham C., Adams G.B. Pharmacologic modulation of the calcium-sensing receptor enhances hematopoietic stem cell lodgment in the adult bone marrow. *Blood* 2011; 117: 1167–1175.
 33. Hokusawa K., Arai F., Yoshihara H. i wsp. Knockdown of N-cadherin suppresses the long-term engraftment hematopoietic stem cells. *Blood* 2010; 116: 554–563.
 34. Kopeć-Szlęzak J., Mariańska B., Woźniak J. i wsp. Expression of cytokine receptors on CD34+ cells after chemotherapy and G-CSF mobilization in patients with B-cell lymphoproliferative disorders. *Polish J. Environ. Stud.* 2006; 5a: 57–60.
 35. Papayanopoulou T., Scadden D.T. Stem-cell ecology and stem cells in motion. *Blood* 2008; 111: 3923–3930.
 36. Chitetti B.R., Liu Y., Srour E.F. Genomic and proteomic analysis of the impact of mitotic quiescence on the engraftment of human CD34+ cells. *Pub. Lib. Sci.* 2011; 6: e17498–e17508.
 37. Lapidot T., Kollet O. The brain-bone-blood triad: traffic lights for stem-cell homing and mobilization. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2010; 1–6.