

УДК 612.017.1:612.64:591.81:616-092.9.259

**ИММУНОСУПРЕССИВНЫЕ И АНТИГЕННЫЕ СВОЙСТВА
МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК**

ЛИСЯНИЙ Н.И.

ГУ «Институт нейрохирургии им. акад. А.П.Ромоданова НАМН Украины», г. Киев

Начало 21 века разработкой и внедрением новых методов лечения целого ряда сложных заболеваний, таких как инфаркт миокарда, паркинсонизм, детский церебральный паралич, диабет, тиреотоксикоз, ревматизм и т.д. Среди этих новых методов лечения особое место занимает клеточная терапия. способная восстанавливать или регенерировать ткани, подвергшиеся изменениям вследствие возраста или болезней. В частности, большое внимание уделяется мезенхимальным стволовым клеткам костного мозга (МСК), которые усиленно изучаются и уже апробированы при некоторых видах заболеваний [1-3]. Физиологическая роль МСК связывается с их локализацией в синусоидальных кровяных сосудах взрослого костного мозга и осуществлении контроля между периферией и костным мозгом – это своеобразный «хранитель ворот» костного мозга, поддерживающий гомеостаз в костном мозге [4]. При искусственной трансплантации эти МСК в организм реципиента, они оказывают другие функции в зависимости от микроокружения и экспрессии своих антигенов и поверхностных молекул. Однако, отсутствие оптимальных клинических протоколов как получения и стандартизации этих клеток, так и их методов применения являются существенным тормозом к широкому клиническому их применению. Остаются также до конца не изучено значение многих вопросов, таких как происхождение и пролиферативная активность МСК, их регенеративно-дифференцировочный потенциал, иммуносупрессивная способность, антигенность МСК, состояние органа или ткани, на который направлена клеточная терапия МСК, и т.д. [4].

Большое внимание в последнее время уделяется МСК, полученных из жировой ткани, так называемым жировым мезенхимальным стволовым клеткам (ЖМСК), которые более доступны для получения чем костномозговые МСК [5]. Как известно, МСК, в том числе ЖМСК, способны к самоподдерживанию, а также к дифференциации в различные типы тканей мезенхимального и другого происхождения, включая остеобласты, хондрициты, гепатоциты, адипоциты, нейроны, мышечные, эпителиальные клетки [6-8] в зависимости от микроокружения или факторов дифференцировки. В большом числе исследований также продемонстрировано, что

МСК обладает значительным противовоспалительным и иммуномодулирующим действием [9-12]. Если же дифференцированный потенциал МСК зависит от микроокружения *in vivo* и проявляется не сразу, то иммуносупрессивная способность появляется немедленно после применения, что является основанием для применения МСК при многих аутоиммунных и воспалительных заболеваниях. Более того, эту иммуносупрессивную активность МСК относят к конституционным свойствам, а дифференцировочную способность к индукторным свойствам, которая сопровождается синтезом и секрецией различных факторов модуляции местного (локального) микроокружения и активацией эндогенных прогениторных клеток и их дифференцировкой [13, 14]. Так, МСК широко начали применять для лечения РТПХ, системной красной волчанки (СКВ), ревматоидного артрита (РА), рассеянного склероза (МЗ), диабета, гипертензии [15-20].

Сегодня определен тот минимум требований к МСК как костномозгового так жирового происхождения, который рекомендуется Международным обществом клеточной терапии. Это:

- 1) способность прилипать к пластику;
- 2) отсутствие гемопоэтических маркеров (CD-45, 3, 14, 11b, 79a, 19 и HLA-DR);
- 3) тройной потенциал мезодермальной дифференцировки в остеобласты, хондриобласты, адипоциты;
- 4) иммуномодулирующая способность [21].

Помимо мезодермальной направленности дифференцировки МСК свойственно эктодермальная дифференцировка в нейроны и эндодермальная – в миоциты и гепатоциты [5, 6, 7].

Многими исследованиями показано разностороннее иммуномодулирующее влияние МСК на иммунный ответ:

1. МСК являются иммунопривилегированными и слабо иммуногенными по причине низкой экспрессии молекул основного комплекса гистосовместимости МНС-1 и МСК не экспрессируют МНС-II и костимулирующих молекул, таких как В7-1 (CD-80), В7-2 (CD-86), CD-40 [21];
2. МСК секретирует растворимые факторы, такие как интерлейкин-6 (IL-6) макрофагоположительный фактор [22], которые угнетает акти-

визацию и пролиферацию В и Т клеток, а также подавляет дифференциацию созревания и функцию дендритных клеток [6,7].

Кроме того, МСК освобождают апоптотические и противовоспалительные молекулы и тем самым защищают ткань от повреждения [22,24]. Исходя из этого, свойства МСК могут трансплантироваться с целью подавления РТПХ и других тяжелых аутоиммунных заболеваний [16-20]. Систематическое введение ЖМСК контролируют летальную РТПХ у мышей при введении совместно с несингенным гемопоэтическими клетками [15], хотя в клинике этот феномен не подтверждается, и такой защиты не было получено. При ЭАЭ у мышей защита была на этапе, когда вводили МСК раньше или в начале болезни [16]. При коллагеновом артрите МСК тормозит тяжелые последствия артрита, что связывается с подавлением уровня сывороточных противовоспалительных цитокинов [17]. Человеческие ЖМСК подавляли развитие аутоиммунного тиреоидита и подавляли синтез Th-1 цитокинов [20]. МСК угнетали отторжение аллотрансплантата и улучшали выживаемость пересаженной кожи [26]. МСК активность подавляли Т и В лимфоцитов, функцию дендритных клеток и киллерных клетки [27-29]. Супрессорный механизм действия МСК заключался в прямом взаимодействии с клетками иммунной системы [26] и синтезе цитокинов [30].

В то же время аутологичные МСК, полученные от пациентов с аутоиммунной патологией и трансплантирование этим же больным, не всегда давали положительный результат и нет единого мнения об их эффективности у этих больных [32]. Так, Paraduki et al. [33] показали, что МСК костного мозга от больных ревматоидным артритом были ослаблены и плохо восстанавливали гемопоез, а МСК от больных с рассеянным склерозом имели также сниженные иммуносупрессивные свойства [33,34].

Иммунорегуляторные цитокины МСК. Представление о механизмах иммуносупрессии МСК противоречивы, они выделяют многие гуморальные факторы, такие как ИЛ-10, трансформирующий фактор роста- β (ТВТ- β) простагландины E-2, оксид азота NO [37], индоламид 2,3-диоксигеназа (IDO), гепатотропный фактор роста (HGF) [35-40] и наконец стимулируют Т регуляторные клетки [35]. Эти многообразие факторов и данных является результатом разнонаправленных исследований с использованием в них не стандартных приемов и методов изучения свойств и культивирования СКМ. Каждый важный факт может быть по-разному трактован в зависимости от метода исследования и изучаемой патологии. Уточнение конкретных механизмов иммуносупрессии СКМ человека и определение факторов иммуносупрессии чрез-

вычайно важно для практического применения МСК для подавления иммунной системы при различных клинических ситуациях [35,41].

Спорным вопросом является механизм иммуносупрессии, его длительность и роль цитокинов в этом процессе. Недавно было однозначно установлено, что мышинные СКМ отличаются от человеческих и их иммуносупрессивная активность связана с провоспалительным цитокинам и продукция NO [35,42]. На разных моделях было показано, что воспалительные цитокины индуцируют значительную продукцию NO, которая в свою очередь супрессируют пролиферацию и цитокиновую продукцию лимфоцитов. NO является лабильной, биоактивной, быстро диффундирующей газообразной молекулой [43]. Показано, что NO и его производный окислительный азотистый радикал (NO⁻) может нарушать работу многих ферментов, ионных каналов и рецепторов [44]. В этой связи важно то, что NO является крайне нестабильным радикалом, который действует только на очень короткое расстояние от клетки, что обуславливает необходимость тесного контакта МСК с лимфоцитами для проявления своего иммуносупрессивного действия [35,42]. Как, показывают последние исследования, хемотаксис МСК является чрезвычайно важным и критическим моментом в проявлении NO индуцированной супрессии [35]. Если для мышинных МСК являются доказанным механизм иммуносупрессии с помощью NO, то в отношении МСК человека такой ясности нет, так как ингибция активности NOS приводила к потере иммуносупрессорных свойств МСК мышей и не влияла на активность МСК человека. В то же время, как блокада синтеза индол 2,3-диоксигеназы (IDO), наоборот, блокировала иммуносупрессию МСК человека и не влияла на МСК мышей [47]. С IDO как иммуносупрессорным фактором связываются различные иммунные состояния, в частности, толерантность тканей плода, иммунная изолированность хрусталика, местная иммуносупрессия в опухоли [45,46]. IDO синтезируется путем превращения триптофана, незаменимой аминокислоты, благодаря кипурениновому пути метаболизма. Считается, что уменьшение концентрации триптофана и продукция супрессорных триптофановых метаболитов способствует проявлению иммуносупрессорных свойств МСК человека. Сопоставительные исследования иммуносупрессивных свойств мышинных и человеческих МСК показали, что для проявления этих свойств необходима их активация провоспалительными цитокинами, в частности, интерфероном γ и фактором некроза опухоли- α , которые активируют эти клетки, а также стимулируют выделение ими не только NO и IDO, но и синтез хемокинов, необходимых для миграции иммунных

клеток и создания локального микроокружения, необходимого для проявления иммуносупрессивного стимула [35,42]. Без дополнительной стимуляции цитокинами МСК имеет слабую иммуносупрессорную активность *in vitro*. Эти результаты позволили высказать предположение, что синтез цитокинов и супрессивных агентов МСК костного мозга не является конституционным свойством этих клеток, а большей степени относится к индуцированным, которые зависят от стимуляции цитокинами [42].

IDO является нормальным физиологическим эндогенным фактором, принимающим участие в периферической толерантности и иммуносупрессии плода, опухоли и т.д. [45,46]. Применение 1-метил L-триптофана, приводило к отмене супрессивного действия IDO *in vivo* [47], усиливало аутоиммунную патологию [48]. Использование 1-метил L-триптофана с химиотерапией позволило повысить эффект лечения опухолей и, наоборот, гиперэкспрессия IDO гена приводила к супрессии иммунной системы при трансплантации опухоли [49,50].

Прямое межклеточное взаимодействие МСК и иммунных клеток. Известно, что МСК экспрессирует CD-90, CD-73 и не экспрессирует антигены HLA-I и HLA-II класса или молекулы костимуляции CD-80,86,40 или CD-40 протеин и по этой причине они не способны активировать аллогенные Т клетки [13]. Но с другой стороны МСК экспрессируют не классические молекулы I класса – HLA-G, обладающие широким ингибиторным действием на клетки иммунной системы [51-53]. Так, HLA-G молекула подавляет различные иммунные функции, в том числе такие как NK и Т-клеточную цитотоксичность (20,21), аллоантиген вызванную пролиферацию, созревание дендритных клеток [53]. Молекулы HLA-G класса экспрессируются на различных тканях здорового организма [54]. HLA-G молекулы были выявлены вначале на клетках цитотрофобластов, где они играют роль в поддержании толерантности к плоду [54-56]. Кроме того, HLA-G антигены экспрессируются и при патологии, в частности, в опухолях и на длительно живущих органных трансплантатах [51,57]. HLA-G протеин может экспрессироваться в различных изоформах, на сегодня известно их несколько: мембрансвязанные HLA-G молекулы от HLAG-1 до HLAG-4; растворимые формы от HLAG-5 до HLA-7 [55]. Для этих антигенов выявлены 3 вида рецепторов на разных типах клеток: киллерной иммуноглобулиноподобный рецептор (KIR-2DL-4/CD158a); лейкоцитарный иммуноглобулиноподобный рецептор (LILRB1/ILT-2/CD-85J) и LILRB2/ILT-4/CD-85d) [57-58]. Показано, что KIR2DL-4 рецептор экспрессирован на NK клетках, тогда как ILT-4 на миелоидных клетках, а ILT-2 на моноцитах и дендритных клетках, Т и В

лимфоцитах и т.д. [29,30]. HLA-G молекулы выявлены были вначале на фетальных МСК [31], а позже и на МСК взрослых. Так, МСК экспрессируют как мембранные формы, так и секретируют HLA-G белки в питательную среду при культивировании, а нейтрализация этих молекул с помощью антител отменяет их иммуносупрессорное действие [51]. Секреция HLA-G молекул МСК резко возрастает после антигенного стимула, тогда как содержание внутриклеточного протеина снижается. Одним из ключевых факторов, определяющих секреторную и внутриклеточную локализацию HLA-G молекулу является ИЛ-10 и обработка ИЛ-10 моноцитов резко усиливала выделение растворимой формы – HLA-G-5 [51]. В то же время общепринято считать, что ИЛ-10 является Th-1 ингибиторным цитокином и вырабатывается Th-2 лимфоцитами, это предполагает наличие определенной связи между МСК и Th-2 лимфоцитами [51,59]. Показано, что HLA-G-5 и ИЛ-10 работают синергично и дополняют друг друга в реализации иммуносупрессивного действия [51]. Кроме иммуносупрессивного воздействия на Т клеточный ответ HLA-G-5 способен генерировать накопление с Т регуляторных CD-4⁺, CD-25⁺, FoxP3⁺ клеток и как утверждает Sheleni et al. [51] он абсолютно необходим для формирования Т регуляторных клеток. Показано, что МСК экспрессируют, в основном, растворимую изоформу HLA-G-5 молекулы, которая экспрессирована на фетальных эритроидных прогениторах в костном мозге и предполагается, что в костном мозге эта молекула как раз и запускает формирование Т регуляторных клеток для сдерживания иммунной атаки организма на прогениторные клетки костного мозга [51]. Такое накопление Т регуляторных клеток возможно благодаря прямому контакту МСК и Т лимфоцитов и секреции HLA-G-5 молекул [55-57]. Только после прямого взаимодействия МСК и Т клеток возрастала секреция в культуральную среду HLA-G-5. Вероятно и другие цитокины секретируются МСК после прямого взаимодействия к лимфоцитам [51].

Можно утверждать, что имеется прямое взаимодействие МСК и различных фенотипов Т клеток, которое сопровождается усилением синтеза и выделения HLA-G-5 молекулы, которая обеспечивает как минимум 4 разных механизма: а) подавляет цитолитическую активность и секрецию интерферона-γ Т лимфоцитами и NK клетками; б) прямо угнетает аллогенный Т клеточный ответ; в) увеличивает содержание ИЛ-10 в микроокружении МСК и д) вызывает накопления Т регуляторных CD-4⁺, CD-25⁺, Foxp3⁺ клеток [51]. Все это возможно благодаря прямому клетко-клетка взаимодействию между Т лимфоцитами и МСК, которое является первым шагом на пути иммуносупрессии. МСК могут

не только быть иммуносупрессивными клетками, но они могут быть антиген презентующими клетками и запускать иммунный ответ, как и супрессировать его за счет формирования Т регуляторных клеток [51]. Такая двойная роль МСК сегодня связана с разнонаправленными изменениями HLA-II антигенов и экспрессией супрессорной костимулирующей молекулы B7-H1/DR-L1 рецептора. Роль такого регулятора выполняет ИФН- γ .

Таким образом, МСК, с одной стороны, свойственна, так называемая иммунная привелигированность (защищенность) от иммунных реакций организма, а с другой стороны, эти клетки обладают прямой и непрямой через гуморальные факторы иммуноингибирующей способностью, направленную на практически все звенья врожденного и приобретенного иммунитета. Хотя эти два главных свойства МСК не являются абсолютными и возможны различные ситуации, когда они не проявляются в полной мере, а сами аллогенные МСК становятся объектом иммунных реакций организма.

Так, аллоантигенные СКМ костного мозга находят широкое применение в медицине и особенно в кардиологии при лечении инфаркта миокарда. Многими работами показано улучшение функции сердца после трансплантации СКМ, но в то же время исследователи столкнулись с проблемой СКМ у пожилых людей, которые имеют более низкую регенеративную способность, чем у молодых особей и по этой причине аутологичные гистосовместимые клетки менее пригодны, чужеродные, чем СКМ молодых людей [60-62]. Судьба аллогенных СКМ, введенных в миокард окончательно не изучена и имеются различные, спорные противоречивые заключения как о приживлении, так и отторжении их [63-65]. Ряд авторов аргументировали свое заключение о приживлении МСК тем, что СКМ являются иммуносупрессорными агентами и рекомендуется к применению при различных аутоиммунных заболеваниях. В то время, как другие указывают, что при дифференцировке СКМ возможна потеря супрессорных свойств этих клеток, что может приводить к отторжению как СКМ, так и их дифференцированных прогениторов [60,63,64]. Проведенные специальные широкие исследования показали, что оба эти заключения верны в какой-то своей части и при введении СКМ имеет место как иммуносупрессия, так и их активация иммунных реакций реципиента.

Сравнивая дифференцированные *in vitro* и не дифференцированные СКМ крыс, было установлено, что в первых СКМ увеличивается экспрессия иммунных антигенов главного комплекса гистосовместимости МНС-1а и МНС-II и CD-86 и в то же время снижается уровень иммуносу-

прессорного МНС-1в протеина, который очень сильно представлен только на не дифференцированных клетках. Эту разницу в экспрессии удалось выразить количественно, установлено, что количество клеток, экспрессирующих МНС-1а антител увеличивалось на 30%, а количество клеток экспрессирующих супрессивную молекулу МНС 1в уменьшилось на 33% (60). Эта разница указывает, что в процессе дифференцировки СКМ может происходить потеря ими иммуносупрессивных агентов и увеличение антигенов МНС, которые индуцируют реакции отторжения. Подобная картина изменения экспрессии антигенов гистосовместимости наблюдалась и при трансплантации *in vivo*. Так при введении МСК крысам в зону инфаркта миокарда отмечено, что в течение первых 7 дней не происходит увеличение экспрессии МНС-1а антигена, но уже к 14 дню выявляется его высокий уровень, а также количество клеток, содержащих МНС-1а антиген, при этом параллельно увеличивалось количество маркеров миогенной дифференцировки [60-62]. Способность дифференцированных СКМ экспрессировать иммуногенные антигены показала в тесте смешанной культуры лейкоцитов, где не дифференцированные или аутологичные СКМ не вызывали при культивировании в течение 3 суток появления цитотоксических лимфоцитов и лишь дифференцированные МСК вызывали пролиферацию эффекторных клеток и резкое возрастание их киллерной активности. В зоне инфаркта появлялось увеличение количества СД-3, СД-4, СД-8 лимфоцитов, что указывает на развитие реакции отторжения, а в сыворотке крови определялись аутоантитела к аллогенным лимфоцитам уже на 2-4 неделе после трансплантации дифференцированных клеток. Сердечная функция миокарда была улучшена в течение 4 месяцев, но уже с 5 месяца эффект после введения аллогенных МСК клеток исчезал, тогда как от введения сингенных МСК положительный эффект сохранялся [61].

Таким образом, предполагается бифазное иммунное состояние СКМ, вначале они являются иммунопривелигированными и они подавляют локальную иммунную реакцию на себе. При дифференцировке изменяется экспрессия генов гистосовместимости и исчезают супрессорные и появляется стимулирующий иммунный ответ антигены, что приводит к развитию иммунного ответа к этим антигенам и формированию реакции отторжения этих уже дифференцированных клеток. Дифференцирование МСК в миоциты или васкулярные клетки миокарда отторгаются за счет специфического цитолиза, а иммуносупрессивный МНС-1в антиген исчезает с поверхности клеток.

На основании приведенных выше данных литературы можно выделить три разных функ-

циональных состояния МСК, три стадии их развития: МСК – незрелые, «наивные»; МСК активированные; МСК вступившие в дифференцировку.

Если на фазе не активированной «наивной» МСК преобладают больше контактные взаимодействия между МСК и клетками иммунной системы, что приводит к первичной иммуносупрессии реципиента, то уже после активации МСК (2 стадия развития) провоспалительными цитокинами (ФНО, ИЛ-1,6 и интерфероном- γ), запускается реакция многоуровневой иммуносупрессии, направленной практически на все субпопуляции лимфоцитов и синтез ими цитокинов, начиная от дендритных клеток и заканчивая клеточной цитотоксичностью.

И, наконец, на этапе запуска процессов дифференцировки МСК (третья стадия) меняют спектр цитокинов и антигенные свойства, что приводит к экспрессии антигена HLA-II класса и молекул костимуляции, что является основой для иммунного их распознавания и запуска реакций отторжения в случае их гистонесовместимости.

Таким образом, сингенные и аллогенные МСК взрослого организма способны изменять свои и антигенные и иммуносупрессивные свойства в зависимости от стадии развития и микроокружения. Иммунная «привилегированность», иммуносупрессивная активность МСК является предшествующим физиологическим свойством, отражает первые стадии развития МСК. В МСК ставшей на путь дифференцировки происходит перестройка, «перезагрузка» генетической программы, что проявляется, с одной стороны, приобретение новых свойств (миоцита, нейрона, гепатоцита), а с другой – экспрессией антигенов и способностью запускать иммунные реакции, приводящие к отторжению этих клеток.

Такие различия в свойствах МСК имеют важное значение и определяют условия применения в клинике аутологичных или аллогенных МСК. Так если необходима кратковременная супрессия на какой-то определенный период, то пригодны сингенные и аллогенные МСК, если же предусматривается длительное их существование с трансформацией в определенный тип ткани (моноциты, нейроны, гепатоциты), тогда предпочтение аутологичным МСК. Как показывают приведенные выше данные, иммуномодулирующие свойства МСК, их вариации в зависимости от культивирования, доз и способов применения изучены еще недостаточно и будущие исследования позволят ответить на многие вопросы теоретического и практического плана.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Si Y.L.* MSC: Biological characteristics, clinical applications and their outstanding concerns / Y.L.Si, Y.L.Zhao, H.J.Hao [et al.] // *Ageing Res Rev.* – 2011. – Vol.10. – P.93-103.
2. *Parekkadan B.* Mesenchymal stem cells as therapeutics / B.Parekkadan, J.M. Milwid // *Annu Rev Biomed Eng.* – 2010. – Vol.12. – P.87-117.
3. *García-Gómez I.* Mesenchymal stem cells: biological properties and clinical applications / L.García-Gómez, G.Elvira, A.G.Zapata [et al.] // *Expert Opin Biol Ther.* – 2010. – Vol.10. – P.1453-1468.
4. *Ra J.* Stem cell treatment for patients with autoimmune disease by systemic infusion of culture-expanded autologous adipose tissue derived mesenchymal stem cells / J.Ra, S.Kang, S.Shin [et al.] // *J. Transl Med.* – 2011. – Vol.9. – P.181, Published online 2011 October 21.
5. *Ra J.C.* Safety of intravenous infusion of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in animals and humans / J.C. Ra, I.S. Shin, S.H.Kim [et al.] // *Stem Cells Dev.* – 2011. – Vol.20. – №8. – P.1295-1296.
6. *Pittenger M.F.* Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells / M.F.Pittenger, A.M.Mackay, S.C.Beck [et al.] // *Science.* – 1999. – Vol.284. – P.143-147.
7. *Jiang Y.* Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow / Y. Jiang, B.N.Jahagirdar, R.L.Reinhardt [et al.] // *Nature.* – 2002. – Vol.418. – P.41-49.
8. *Lee O.K.* Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood / O.K.Lee, T.K.Kuo, W.M.Chen [et al.] // *Blood.* – 2004. – Vol.103. – P.1669-1675.
9. *Nauta A.J.* Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells / A.J.Nauta, W.E.Fibbe // *Blood.* – 2007. – Vol.110. – P. 3499-3506.
10. *Oh J.Y.* The anti-inflammatory and antiangiogenic role of mesenchymal stem cells in corneal wound healing following chemical injury / J.Y. Oh, M.K.Kim, M.S.Shin [et al.] // *Stem Cells.* – 2008. – Vol.26. – P.:1047-1055.
11. *Ankrum J.* Mesenchymal stem cell therapy: two steps forward, one step back / J.Ankrum, J.M.Karp // *Trends Mol Med.* – 2010. – Vol.16. – P.203-209.
12. *Choi Y.H.* Mesenchymal stem cells for cardiac cell therapy / Y.H.Choi, A.Kurtz, C.Stamm // *Hum Gene Ther.* – 2011. – Vol.22. – P.3-17.
13. *Zhang M.* SDF-1 expression by mesenchymal stem cells results in trophic support of cardiac myocytes after myocardial infarction /

- M.Zhang, N.Mal, M.Kiedrowski [et al.] // FASEB J. – 2007. – Vol.21. – P.3197-3207.
14. *Togel F.* Vasculotropic, paracrine actions of infused mesenchymal stem cells are important to the recovery from acute kidney injury / F.Togel, K.Weiss, Y.Yang [et al.] // Am J. Physiol Renal Physiol. – 2007. – Vol.292. – P.1626-1635.
 15. *Yañez R.* Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have *in vivo* immunosuppressive properties applicable for the control of the graft-versus-host disease / R.Yañez, M.L.Lamana, J.García-Castro [et al.] // Stem Cells. – 2006. – Vol.24. – P.2582-2591.
 16. *Zappia E.* Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy / E.Zappia, S.Casazza, E.Pedemonte [et al.] // Blood. – 2005. – Vol.106. – P.1755-1761.
 17. *Djouad F.* Mesenchymal stem cells: innovative therapeutic tools for rheumatic diseases / F.Djouad, C.Bouffi, S.Ghannam [et al.] // Nat Rev Rheumatol. – 2009. – Vol.5. – P.392-399.
 18. *Augello A.* Cell therapy using allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells prevents tissue damage in collagen-induced arthritis / A.Augello, R.Tasso, S.M.Negrini [et al.] // Arthritis Rheum. – 2007. – Vol.56. – P.1175-1186.
 19. *Cai L.* IFATS collection: Human adipose tissue-derived stem cells induce angiogenesis and nerve sprouting following myocardial infarction, in conjunction with potent preservation of cardiac function / L.Cai, B.H.Johnstone, T.G.Cook [et al.] // Stem Cells. – 2009. – Vol.27. – P.230-237.
 20. *Choi E.W.* Transplantation of CTLA4Ig gene-transduced adipose tissue-derived mesenchymal stem cells reduces inflammatory immune response and improves Th1/Th2 balance in experimental autoimmune thyroiditis / E.W.Choi, I.S.Shin, H.W.Lee [et al.] // J. Gene Med. – 2011. – Vol.13. – P.3-16.
 21. *Dominici M.* Minimal criteria for multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement / M.Dominici, K.Le Blanc, I.Mueller [et al.] // Cytotherapy. – 2006. – Vol.8. – P.315-317.
 22. *Le Blanc K.* Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience / K.Le Blanc, O.Ringden // J. Intern Med. – 2007. – Vol.262. – P.509-525.
 23. *Djouad F.* Mesenchymal stem cells inhibit the differentiation of dendritic cells through an interleukin-6-dependent mechanism / F.Djouad, L.M.Charbonnier, C.Bouffi [et al.] // Stem Cells. – 2007. – Vol.25. – P.2025-2032.
 24. *Meirelles L.S.* Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells / L.S.Meirelles, A.M.Fontes, D.T.Covas [et al.] // Cytokine Growth Factor Rev. – 2009. – Vol.20. – P.419-427.
 25. *Rasmusson I.* Mesenchymal stem cells inhibit lymphocyte proliferation by mitogens and alloantigens by different mechanisms / I.Rasmusson, O.Ringdén, B.Sundberg, K.Le Blanc // Exp Cell Res. – 2005. – Vol.305. – P.33-41.
 26. *Corcione A.* Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions / A.Corcione, F.Benvenuto, E.Ferretti [et al.] // Blood. – 2006. – Vol.107. – P.367-372.
 27. *Spaggiari GM.* Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2, 3-dioxygenase and prostaglandin E2 / G.M.Spaggiari, A.Capobianco, H.Abdelrazik [et al.] // Blood. 2008. – Vol.111. – P.1327-1333.
 28. *Jiang X.X.* Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells / X.X.Jiang, Y.Zhang, B.Liu [et al.] // Blood. – 2005. – Vol.105. – P.4120-4126.
 29. *Ren G.* Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide / G.Ren, L.Zhang, X.Zhao [et al.] // Cell Stem Cell. – 2008. – Vol.2. – P.141-150.
 30. *Krampera M., Glennie S, Dyson J, Scott D, Laylor R, Simpson E, Dazzi F.* Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide / M.Krampera M, S.Glennie, J.Dyson [et al.] // Blood. – 2003. – Vol.101. – P.3722-3729.
 31. *Al-Refu K.* Hair follicle stem cells in the pathogenesis of the scarring process in cutaneous lupus erythematosus / K.Al-Refu, M.Goodfield // Autoimmun Rev. – 2009. – Vol.8. – P.474-477.
 32. *Papadaki H.A.* Bone marrow progenitor cell reserve and function and stromal cell function are defective in rheumatoid arthritis: evidence for a tumor necrosis factor alpha-mediated effect / H.A.Papadaki, H.D.Kritikos, C.Gemetzi [et al.] // Blood. – 2002. – Vol.99. – P.1610-1619.
 33. *Papadaki H.A.* Normal bone marrow hematopoietic stem cell reserves and normal stromal cell function support the use of autologous stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis / H.A.Papadaki, M. Tsagournisakis, V.Mastorodemos [et al.] // Bone Marrow Transplant. – 2005. – Vol.36. – P.1053-1063.
 34. *Ren G.* Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of

- chemokines and nitric oxide / G.Ren, L.Zhang, X.Zhao [et al.] // Cell Stem Cell. –2008. – Vol. 2.– P.141-150
35. *Nasef A.* Identification of IL-10 and TGF-beta transcripts involved in the inhibition of T-lymphocyte proliferation during cell contact with human mesenchymal stem cells / A.Nasef, A.Chapel, C.Mazurier [et al.] // Gene Expr. – 2007.– Vol.13. – P.217-226.
 36. *Di Nicola M.* Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli / M.Di Nicola, C.Carlo-Stella, M.Magni [et al.] Blood. – 2002. – Vol.99. –P.3838-3843.
 37. *Aggarwal S.* Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses / S.Aggarwal, M.F.Pittenger // Blood. – 2005. – Vol.105. P. 1815-1822.
 38. *Sato K.* Nitric oxide plays a critical role in suppression of T-cell proliferation by mesenchymal stem cells / K. Sato, K.Ozaki, I.Oh [et al.] Blood. – 2007.– Vol. 109. – P.228-234.
 39. *Meisel R.* Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation / R.Meisel, A.Zibert, M.Laryea [et al.] // Blood. – 2004. – Vol.103. – P. 4619-4621.
 40. *Djouad F.* Immunosuppressive effect of mesenchymal stem cells favors tumor growth in allogeneic animals / F.Djouad, P.Plence, C.Bony [et al.] //Blood. – 2003. – Vol.102. – P.3837-3844.
 41. *Ren G.* Species Variation in the Mechanisms of Mesenchymal Stem Cell-Mediated Immunosuppression /G.Ren, F.Su, L.Zhang [et al.] // STEM CELLS. – 2009. – Vol. 27, №8. – P.1954-1962.
 42. *Stamler J.S.* Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms / J.S.Stamler, D.J.Singel, J.Loscalzo // Science. –1992. – Vol.258. – P.1898-1902.
 43. *Edwards T.M.* New perspectives on the mechanisms through which nitric oxide may affect learning and memory processes / T.M.Edwards, N.S.Rickard // Neurosci Biobehav Rev. – 2007. – Vol.31. – P.413-425.
 44. *Munn D.H.* IDO and tolerance to tumors / D.H.Munn, A.L.Mellor // Trends Mol Med. – 2004. – Vol.10. – P.15-18.
 45. *Muller A.J.* Indoleamine 2,3-dioxygenase in immune suppression and cancer / A.J.Muller, G.C.Prendergast //Curr Cancer Drug Targets. – 2007. – Vol.7. – P. 31-40.
 46. *Mellor A.L.* IDO expression by dendritic cells: Tolerance and tryptophan catabolism / A.L.Mellor, D.H.Munn // Nat Rev Immunol. – 2004. – Vol.4. – P. 762-774.
 47. *Hulkower K.* Expression of CSF-1, c-fms, and MCP-1 in the central nervous system of rats with experimental allergic encephalomyelitis / K.Hulkower, C.F.Brosnan, D.A.Aquino [et al.] // J. Immunol. – 1993. – Vol.150. – P.2525-2533.
 48. *Uyttenhove C.* Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase / C.Uyttenhove, L.Pilotte, I.Theate [et al.] // Nat Med. – 2003. – Vol.9. – P.1269-1274.
 49. *Liu H.* Sleeping Beauty-based gene therapy with indoleamine 2,3-dioxygenase inhibits lung allograft fibrosis / L.Liu, B.S.Fletcher [et al.] // FASEB J.– 2006. – Vol.20. – P.2384-2386.
 50. *Selmani Z, Naji A, Zidi I, Favier B, Gaiffe E, Obert L, Borg C, Saas P, Tiberghien P, Rouas-Freiss N, Carosella ED, Deschaseaux F.* Stem Cells. – 2008, Jan;26(1):212-222. Epub 2007 Oct 52.
 51. *Majumdar M.K.* Characterization and functionality of cell surface molecules on human mesenchymal stemcells / M.K.Majumdar, M.Keane-Moore, D.Buyaner [et al.] // J. Biomed Sci. – 2003.– Vol.10 – P.228-241.
 52. *Rouas-Freiss N.* The alpha1 domainof HLA-G1 and HLA-G2 inhibits cytotoxicity induced by natural killercells: Is HLA-G the public ligand for natural killer cell inhibitoryreceptors? /N.Rouas-Freiss, R.E.Marchal, M.Kirszenbaum [et al.] // Proc Natl Acad Sci. – U S A. – 1997.– Vol.94.– P.5249-5254.
 53. *Lila N.* Soluble HLA-G protein secretedby allo-specific CD4-T cells suppresses the allo-proliferative response:A CD4-T cell regulatory mechanism / N.Lila, N.Rouas-Freiss, J.Dausset [et al.] // Proc Natl Acad Sci.– U S A. –2001.– Vol.98. –P.12150-12155.
 54. *Ristich V.* Tolerization of dendritic cells byHLA-G /V.Ristich, S.Liang, W.Zhang [et al.] // Eur J. Immunol. – 2005. – Vol.35 – P.1133-1142.
 55. *Carosella E.D.* HLA-G molecules: From-maternal-fetal tolerance to tissue acceptance /E.D.Carosella, P.Moreau, J.Le Maoult [et al.] //Adv Immunol. – 2003. – Vol.81. – P.199-252.
 56. *Mc Master M.T.* Human placental HLA-Gexpression is restricted to differentiated cytotrophoblasts / M.T.McMaster, C.L.Librach, Y.Zhou [et al.] //J. Immunol. – 1995. – Vol.154 – P.3771–3778.
 57. *Colonna M.* A common inhibitory receptor for major histocompatibility complex class I molecules on human lymphoidand myelomonocytic cells / M.Colonna, F. Navarro, T.Bellon [et al.] // J. Exp Med. – 1997. – Vol.186–P.1809 –1818.
 58. *Le Maoult J.* HLA-G up-regulates ILT2,ILT3, ILT4, and KIR2DL4 in antigen presenting cells, NK cells, and Tcells / K. Zafaranloo, C.Le

- Danff [et al.] // FASEB J. – 2005. – Vol.19. – P.662-664.
59. *Xi-Ping Huang*. Differentiation of Allogeneic Mesenchymal Stem Cells Induces Immunogenicity and Limits / Huang Xi-Ping, M.D. Sun Zhuo, Miyagi Yasuo [et al.] // Long-Term Benefits for Myocardial Repair Circulation. – 2010. – Vol.122. – P.2419-2429.
60. *Heiss C.* 3. Impaired progenitor cell activity in age-related endothelial dysfunction / C.S.Heiss, S.Keymel, U.Niesler [et al.] // J. Am Coll Cardiol. – 2005. – Vol.45. – P.1441-1448.
61. *Atoui R. Shum-Tim D, Chiu RC*. Myocardial regenerative therapy: immunologic basis for the potential «universal donor cells» / R.Atoui, D.Shum-Tim, R.C.Chiu // Ann Thorac Surg. – 2008. – Vol.86. – P.327-334.
62. *Hare J.M.* A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction / J.M.Hare, J.H.Traverse, T.D.Henry [et al.] // J. Am Coll Cardiol. – 2009. – Vol.54. – P.2277-2286.
63. *Pittenger M.F.* Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics / M.F.Pittenger, B.J.Martin // Circ Res. – 2004. – Vol.95. – P.9-20.

РЕЗЮМЕ

ІМУНОСУПРЕСИВНІ ТА АНТИГЕНІ ВЛАСТИВОСТІ МЕЗЕНХІМЛЬНИХ СТОВБУРОВИХ КЛІТИН

Лісяний М.І.

ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України. Відділ нейроімунології

Мезенхимальні стовбурові клітини (МСК) виявляються в різних тканинах, в тому числі кістковому мозочку, жировій тканині, шкірі і вони можуть розмножуватися в умовах *in vitro*. МСК мають великий регенеративний потенціал і здатні трансформуватись у різні типи тканин. Крім того МСК мають імунномодуляторні властивості і здатні подавляти функцію імунних клітин, а саме Т-клітини та дендритні клітини. Ці властивості МСК використовуються уже в клініці для

гальмування аутоімунних реакції, та РТПХ. В багатьох роботах показано, що іммуносупресія досягається завдяки синтезу МСК гуморальних чинників, таких як інтерлейкіни, індоламіно-2,3 діоксигеназа, оксид азоту та ін. При використанні МСК при інфаркті міокарду у щурів МСК трансформуються в міозити, змінюють свій антигенний профіль, а так же здатність гальмувати імунні реакції, що приводить до виникнення реакцій імунного відторження. Значення цих фактів важливо для використання МСК в клінічних умовах як з метою іммуносупресії так в клітинній терапії.

Ключевые слова: Мезенхимально ствольные клетки, иммуносупрессия, цитокины, HLA антигены.

SUMMARY

THE IMMUNOSUPPRESSIVE AND IMMUNOGENIC PROPERTIES MESENCHYMAL STEM CELLS

Lisiany M. I.

Institute of Neurosurgery named after acad. A.P.Romodanov of National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kiev.

Mesenchymal stem cells (MSC) are found in a variety of tissues, including bone marrow, skin and adipose tissue and can be expanded easily *in vitro*. MSC are thought to have tissue regenerative properties, in the first place via their multi-lineage differentiation capacity. In addition, MSC have potent immunomodulatory capacity. They inhibit the proliferation of T cells and inhibit dendritic cell maturation. These properties make MSC promising for a diversity of clinical applications; for example, for the prevention and treatment of autoimmune diseases and bone marrow rejection. Different studies have attributed the immunosuppressive effect of MSC to different immunosuppressive factors. These include indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO), [nitric oxide], [interleukines]. The long-term ability of allogeneic MSCs to preserve function in the infarcted heart is limited by a biphasic immune response whereby they transition from an immunoprivileged to an immunogenic state after differentiation, which is associated with an alteration in major histocompatibility complex-immune antigen profile.

These findings provide critical information about the immunosuppression of MSCs and for better application of MSCs in treating immune disorders.

Keywords: Mesenchymal stem cells; Immunosuppression; Cytokine; HLA-antigens