

Мезенхимальные клетки костного мозга – перспективы использования при ревматических болезнях

Л.П. Ананьева, Р.Т. Алекперов, Е.Л. Насонов

Федеральное
государственное
бюджетное
учреждение «Научно-
исследовательский
институт
ревматологии» РАМН,
Москва

Research Institute of
Rheumatology, Russian
Academy of Medical
Sciences, Moscow

Контакты: Лидия
Петровна Ананьева
ananieva@irramn.ru

Contact: Lidia Petrovna
Ananyeva
ananieva@irramn.ru

Поступила 06.09.12



Л.П. Ананьева –
заведующая лабораторией
микроциркуляции
и воспаления отдела сосу-
дистой патологии ФГБУ
«НИИР» РАМН, д.м.н.



Р.Т. Алекперов –
старший научный
сотрудник лаборатории
микроциркуляции
и воспаления отдела сосу-
дистой патологии ФГБУ
«НИИР» РАМН, д.м.н.



Е.Л. Насонов –
директор ФГБУ
«НИИР» РАМН,
академик РАМН, д.м.н.

Наряду с трансплантацией отдельных органов – почек, сердца, печени, легких и др. – в современной медицине успешно применяется пересадка различных тканей, в частности клеток костного мозга (КМ). В сложной структуре КМ наиболее изучены две основные популяции составляющих его недифференцированных стволовых клеток – гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) и мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (МСК) – общие предшественники мезенхимальных производных. В норме стволовые клетки КМ обеспечивают структурное замещение погибших дифференцированных клеток. Как известно, все дифференцированные клетки в организме человека, участвующие в выполнении органоспецифических функций, имеют ограниченный срок жизни. Поддержание клеточного и структурного гомеостаза происходит как за счет деления дифференцированных клеток с образованием идентичных по гено- и фенотипу потомков, так и путем замещения отмирающих дифференцированных клеток потомками недифференцированных ранних предшественников – стволовых клеток.

Трансплантация ГСК получила широкое распространение сначала в онкогематологии, а затем при лечении тяжелых форм раз-

личных аутоиммунных заболеваний. Так, за последние 15 лет более чем 1500 пациентам, страдающим рассеянным склерозом, системной склеродермией (ССД), системной красной волчанкой (СКВ), ревматоидным артритом (РА), ювенильным ревматоидным артритом и др., проведена трансплантация ГСК, в основном аутологичных. Активное применение метода связано с обнадеживающими первыми результатами. В целом 5-летняя выживаемость и выживаемость без прогрессирования болезни составила 85 и 43% соответственно. Ремиссии без поддерживающего лечения развивались с частотой до 30% во всех группах больных [1].

Хорошие результаты послужили основанием для продолжения испытаний этого метода лечения, однако пока окончательных выводов, в частности для системных ревматических заболеваний, еще не сделано. Применение стволовых клеток КМ продолжает активно изучаться и обсуждаться. Число клинических испытаний в этой области превысило 150, а число обзоров по этой теме приближается к тысяче. Применение МСК началось позже, чем ГСК, и опыт их использования значительно меньше. Первые МСК были применены 15 лет назад вместе с ГСК, и с этого времени интерес к ним только возрастает в связи с распознанными потенциальными

иммуномодулирующими, противовоспалительными и тканепротективными свойствами.

Стволовые клетки обладают способностью к самообновлению, т. е. поддержанию собственной популяции. При воздействии определенных сигналов стволовые клетки КМ могут подвергаться асимметричному делению, в результате которого образуются не только МСК, но и МСК-прогениторы, впоследствии подвергающиеся дифференцировке в клетки соответствующего фенотипа (рис. 1).

МСК и МСК-прогениторы контролируют пролиферацию, дифференцировку и скорость апоптоза стволовых клеток, находящихся в паренхиме органов и необходимых для защиты тканей от повреждений [2]. Эти клетки также обладают способностью к цитопротекции и иммуносупрессии, что дает им возможность активно участвовать в поддержании иммунологического гомеостаза [3].

Основателем учения о МСК является советский ученый А.Я. Фриденштейн, который открыл эти клетки как фибробластоподобные клетки стромы КМ и впервые детально охарактеризовал их свойства [4]. Постнатальный КМ содержит $1-5 \cdot 10^6$ мультипотентных МСК, что составляет около 10% от общего количества его клеток. По своему составу стромальная популяция МСК представляет собой гетерогенную группу клеток-предшественников (или прогениторных клеток), обладающих рядом общих фенотипических маркеров и функциональных свойств, позволяющих классифицировать их как МСК. На рис. 2 показано формирование популяции МСК [5].

МСК присущ ряд интересных свойств, отражающих их уникальность и предполагающих заманчивые перспективы использования для лечения широкого круга заболеваний.

Важнейшее свойство МСК — мультипотентность, которая заключается в способности дифференцироваться в клетки, имеющие мезенхимальное происхождение, т. е. три основные линии клеток: остеоциты, адипоциты и хондроциты [6, 7]. Поэтому МСК иногда называют «скелетными» стволовыми клетками.

В соответствующих условиях *in vitro* МСК дифференцируются и в другие негемопоэтические клетки эктодермального и эндодермального фенотипа: миоциты, тендиноциты, лигаментоциты, кардиомиоциты, нейрональ-

ные клетки и др. [8]. Дифференцировочный потенциал МСК в значительной степени зависит от микроокружения. В КМ МСК функционируют в динамичной системе, включающей дифференцированные фибробласты, ретикулярные клетки эндотелия, компоненты экстрацеллюлярного матрикса и регуляторные цитокины. Составляющие систему клетки взаимодействуют между собой и с другими клетками через специфические рецепторы и молекулы адгезии.

Специфического маркера у МСК нет, но фенотип характеризуется носительством определенных поверхностных клеточных маркеров — CD73+, CD90+, CD105+, CD166+, а также отсутствием маркеров гемопоэтических клеток (CD45-, CD14-, CD11-b, CD116-, CD34, CD11-a, CD19-, CD79-) [7, 9]. МСК не распознаются иммунной системой и тормозят иммунный ответ [10]. Мезенхимальные клетки не экспрессируют HLA-DR-маркеры и избегают контролирующего влияния иммунной системы, т. е. обладают свойством иммунологической привилегированности. Считают, что при пересадке МСК иммунотолерантность со стороны иммунной системы реципиента не обусловлена отсутствием (или низкой степенью экспрессии) молекул большого комплекса гистосовместимости (МНС) на поверхности МСК. Были обнаружены высокая степень экспрессии антигенов МНС I класса и отсутствие антигенов МНС II класса, которые обнаруживались внутриклеточно, а после добавления в культуру интерферона γ (ИФ γ) МНС II класса экспрессировались и на клеточной поверхности МСК [11]. Но при этом МСК человека не экспрессируют костимулирующие молекулы B7-1, B7-2 и CD40 [12]. Известно, что в отсутствие костимулирующих молекул контакт Т-клеточного рецептора и МНС приводит к состоянию анергии Т-лимфоцитов [13]. Поэтому МСК не распознаются цитотоксическими Т-лимфоцитами и естественными киллерными (NK) клетками и способны выживать в аллогенном окружении. Поскольку МСК неиммуногенны, их введение не сопровождается реакцией отторжения, поэтому аллогенные МСК могут быть трансплантированы при HLA-несовместимости донора и реципиента без необходимости иммуносупрессии. Эти уникальные иммунные свойства МСК делают их идеальными для использования в клеточной терапии.

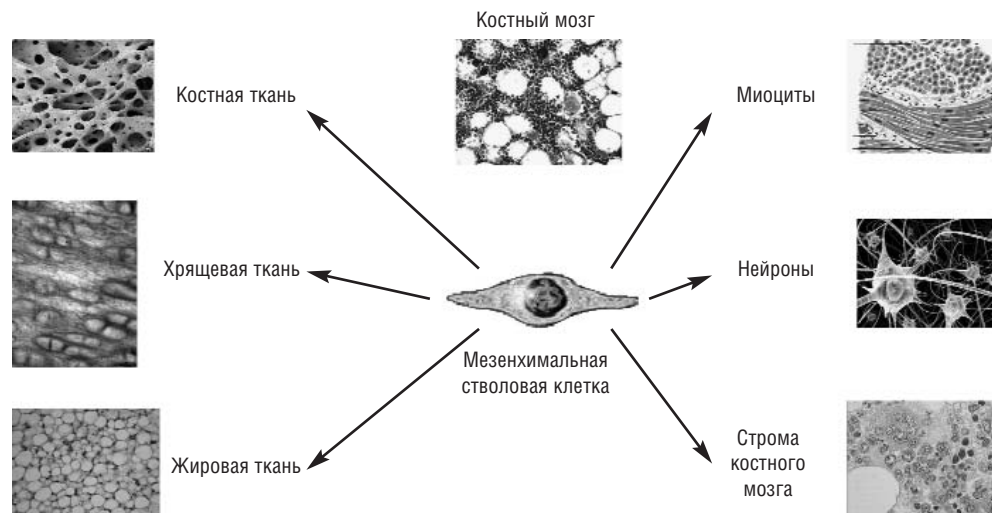


Рис. 1. Потенциал дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток стромы костного мозга

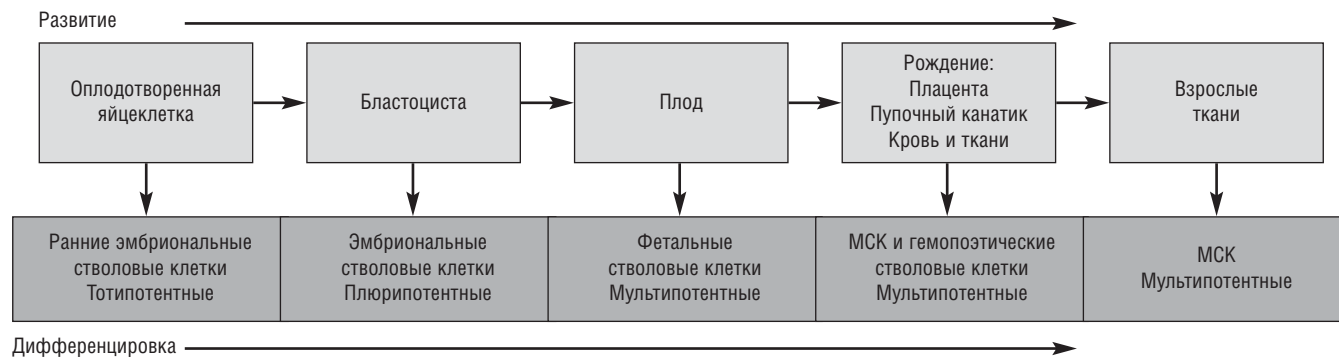


Рис. 2. Различный потенциал к дифференцировке стволовых клеток, полученных на разных стадиях развития (в модификации, по [5])

МСК модулируют функции большой клеточной популяции иммунных клеток, включающей цитотоксические Т-лимфоциты, NK, В-лимфоциты, дендритные клетки и др. [14, 15]. Иммуномодулирующие свойства МСК реализуют посредством различных механизмов, в первую очередь секретируя соответствующие различные растворимые факторы, и через клеточно-контактное взаимодействие с клетками-мишенями [16–19]. Среди важнейших растворимых факторов МСК, оказывающих иммуномодулирующее действие на клетки иммунной системы, — трансформирующий фактор роста (ТФР), фактор роста гепатоцитов, простагландин Е₂, интерлейкин (ИЛ) 10, индоламин-2,3-диоксигеназа, оксид азота и др. [16, 20–24].

МСК подавляют Т-клеточную пролиферацию в смешанной культуре лимфоцитов, индуцированную митогенами, аллогенами или CD3 и CD28 антителами, а в комбинации с провоспалительными цитокинами: ИФγ, фактором некроза опухоли α (ФНОα), ИЛ1 и др. — оказывают супрессивное действие как на врожденный, так и на приобретенный иммунитет. Как уже отмечалось, МСК не экспрессируют HLA-DR-маркеры и не распознаются аутореактивными Т-клетками *in vitro* [25]. По-видимому, эти качества МСК способствуют пролонгации выживаемости аллотрансплантатов и могут уменьшать выраженность реакции трансплантат против хозяина (РТПХ), когда трансплантируются вместе с гемопоэтическими клетками КМ.

Антипролиферативные и иммуномодулирующие свойства представляют большой интерес для клинического применения. Будучи активированными сигналами воспалительного микроокружения, МСК способны комплексно влиять на клетки иммунной системы посредством контактных и гуморальных механизмов, приводя к блокированию клеточного цикла и снижению клеточной реактивности, а также стимулируя ауторегуляторную функцию лейкоцитов. Обнаружена способность МСК инициировать различные паракринные события, приводящие к защите тканей от повреждения [20]. Некоторые из этих эффектов осуществляются через растворимые факторы, такие как ТФРβ и др. Показана также способность МСК к репрограммированию целевых клеток через межклеточные контакты. При системном введении МСК активно перемещаются в воспаленные и/или поврежденные ткани («хоуминг») посредством специфических рецепторов хоуминга. Возможна миграция МСК в опухолевую строму и потенциальное подавляющее влияние на рост опухоли.

Ведущим механизмом действия стволовых клеток, вероятно, является паракринная (гуморальная) активация

покоящихся локальных тканевых стволовых клеток, и лишь в малой степени имеет место прямая дифференцировка в клеточные элементы поврежденных тканей. Масса поврежденных в результате основного заболевания клеток зачастую так велика, что вводимых стволовых клеток недостаточно для замены даже части пострадавших тканей. Например, при инфаркте миокарда число погибших кардиомиоцитов может достигать миллиарда, поэтому вводимое количество стволовых клеток не может быть достаточным для прямой их дифференцировки в кардиомиоциты. Поэтому восстановление популяции дифференцированных клеток реализуется при участии регионарных стволовых и прогениторных клеток и мигрирующих клеток иммунной системы при обязательном условии сохранения межклеточных взаимодействий, определяемых цитокинами, хемокинами, ростовыми факторами, белковыми молекулами межклеточного матрикса и др. Любые стволовые клетки, и МСК в частности, способны синтезировать целый «коктейль» цитокинов, включая противовоспалительные, и факторов роста, обладающих трофическими свойствами. Например, клетки пуповинной крови синтезируют целый набор нейротрофических факторов: нейротрофический фактор мозга, глиальный нейротрофический фактор, фактор роста нервов, несколько нейротрофинов. При введении стволовых клеток наблюдается выброс множества биологически активных веществ, способных проникать в поврежденные ткани и оказывать эффекты, направленные на восстановление их структуры и функции.

Точные механизмы участия МСК в гомеостазе и репарации нормальных тканей полностью не расшифрованы. Полагают, что МСК принимают участие в воспалительном процессе, возможно, в фазе рассасывания повреждения. Происхождение МСК, обнаруживаемых в тканях, окончательно не установлено. Один из потенциальных источников тканевых МСК — это перитциты, высвобождающиеся из кровеносных сосудов в процессе повреждения последних. Часть МСК может оказаться в тканях в результате эпидермально-мезенхимальной трансформации (особенно в почках и легких), и часть МСК мигрирует в ткани непосредственно из КМ. Показана важная роль МСК в процессе заживления кожных повреждений. МСК присутствуют в коже на всех стадиях репарации, после эпителизации раны их количество постепенно увеличивается, достигая максимума в процессе тканевого ремоделирования. На культуре МСК доказано образование этими клетками ростостимулирующих факторов и цитокинов (ИЛ10, ТФРβ, гранулоцитарного колониестимулирующего фактора и др.).

ющего фактора — ГКСФ — и др.), в то же время существуют указания на возможность пролиферации и трансдифференцировки этих клеток в зоне кожного повреждения в сосудистые эндотелиальные клетки, фибробласты, секретирующие коллаген I и III типа, эпителий. Это сопровождается образованием хорошо васкуляризованной грануляционной ткани, богатой коллагеном I типа, привлечением в рану воспалительных клеток под влиянием синтезируемых ИЛ6, ИЛ8 и ГКСФ с инициацией процесса восстановления кожи. Эти данные открыли перспективы применения МСК при различных заболеваниях с целью тканевой регенерации.

МСК могут быть получены из различных тканей взрослых и плода, в том числе из крови пупочного канатика (вартониев студень), амниотической жидкости, ткани фетальных легких, плаценты, жировой ткани, пульпы зуба и др. [26, 27]. Типичная черта МСК — способность прилипать к пластиковой поверхности лабораторной посуды, поэтому их достаточно легко выделить из любого источника. Поскольку МСК не имеют специфического поверхностного маркера, их выявляют по главной характеристике — способности к трилинейной дифференцировке. Основные источники МСК для исследовательских целей — КМ, жировая ткань и сосуды пуповины [28, 29]. Следует подчеркнуть, что выделенные из любого источника МСК представляют собой гетерогенную популяцию, клетки которой обладают различным дифференцировочным и пролиферативным потенциалом. Популяция МСК неоднородна по своему составу даже в пределах одной ткани, имеются также некоторые особенности МСК, полученных из разных источников, например профили синтезируемых биологически активных субстанций (цитокинов и др.).

МСК из КМ остаются перспективным источником клеточного материала, так как было показано, что в определенных ситуациях они быстрее развиваются в культуре, образуя колонии, и легче дифференцируются, чем МСК пуповинной и периферической крови [30]. МСК из КМ обладают разным потенциалом к дифференцировке: 30% дифференцируются в три линии клеток, упомянутых выше, а 70% — только в две (остеоциты и хондроциты) или даже одну (остеоциты). **Стромальные клетки, полученные из жировой ткани**, отличаются выраженным ангиогенным потенциалом благодаря трансдифференцировке в клетки эндотелиального фенотипа, а также высокой активностью близкодифференцирующихся (паракринных) молекулярных взаимодействий. В ситуации ишемии эти клетки могут уменьшать размер рубцовой ткани благодаря антифиброзному эффекту и проявляют клеточно-протективный эффект против таких повреждений, как окислительный стресс и апоптоз. **МСК, полученные из плаценты и крови пупочного канатика**, имеют различия на уровне генома, но их основные свойства сходны. Так, они оказывают стимулирующее воздействие на синтез в клетках основных белков, в частности эластина и коллагена, которые являются строительным материалом и основой внутриклеточного матрикса и стимулируют образование и рост сосудов микроциркуляторного русла.

Клетки пуповинной крови уже более 20 лет применяются в онкогематологии как альтернатива клеткам КМ. Пуповинная кровь содержит смесь различных мультипотентных стволовых клеток, способных дифференцироваться в клетки эндодермального, мезодермального и эк-

тодермального зародышевых листков. Клетки пуповинной крови отличаются очень высокой способностью к пролиферации и дифференцировке. Система их успешного применения хорошо отработана. Технология получения концентрата клеток из пуповинной крови проста, и хранится концентрат в жидком азоте неограниченно долго. Отработаны методы оценки клеточного состава образцов, накоплен опыт их сбора и хранения, работает система сертифицированных криобанков. Концентрат клеток пуповинной крови применяют без дополнительного культивирования, что гарантирует отсутствие инфицирования образца и возможности возникновения мутаций в процессе культивирования.

На МСК возлагаются большие надежды в лечении болезней костей и суставов, кардиологических заболеваний, с целью репарации при ишемии (в том числе мозговых инсультах, инфаркте миокарда), травмах, ожогах, радиационных повреждениях и т. д. Эти клетки могут быть достаточно легко изолированы и быстро воспроизводятся в больших количествах. Методики их получения хорошо разработаны и позволяют применять их в экспериментах на животных и в клинических испытаниях [3].

Позитивные обещающие результаты применения МСК были получены на моделях воспаления и аутоиммунных процессов. Так, на модели СКВ у мышей применение МСК приводило к понижению концентраций циркулирующих аутоантител, нормализации уровня креатинина и белка в плазме крови и моче, что указывало на восстановление функции почек. При гистологическом исследовании отмечено снижение уровня инфильтрации тканей [31]. На модели интерстициального поражения легких (блеомициновый фиброз у мышей) было показано снижение выраженности индуцированного поражения легких при введении МСК в остром периоде заболевания. В этом эксперименте продемонстрирована способность МСК к «хоумингу» в ткани легких, одновременно снижались миграция макрофагов (но не нейтрофилов) в легочную ткань и апоптоз клеток альвеолярного эпителия, индуцированного ИЛ1 α . В бронхоальвеолярной жидкости снижался уровень профиброзных цитокинов (ФНО α , ИЛ1 α). В итоге выраженность индуцированного повреждения легких при введении МСК была значительно ниже [32]. На модели вентиляционного повреждения легких у крыс было показано, что введенные внутривенно животным МСК человека диссеминовали в ткани легких, что сопровождалось снижением ее отека, улучшалось системную оксигенацию, уменьшалось признаки легочного повреждения и воспаления (по данным гистологического исследования). Уровень ФНО α в легочной ткани снижался, а ИЛ10 — повышался, при этом эффективность репаративных процессов в легких уменьшалась при снижении уровня фактора роста кератиноцитов [33]. Таким образом, при моделировании заболеваний легких МСК проявили потенциал к усилению тканевой регенерации и нормализации тканевого гомеостаза при повреждении. На основании изучения фенотипических и функциональных свойств МСК из легких человека, которое подтвердило их репаративный потенциал *in situ*, можно с большой долей вероятности ожидать эффекта от терапии МСК при легочных заболеваниях у человека [34].

К настоящему времени в экспериментальных работах показано, что местное применение МСК из КМ спо-

способствует ускоренной регенерации тканей при ранах, ожогах и язвах на фоне сосудистой ишемии. При трансплантации МСК на ожоговые раны наблюдалась их длительная персистенция на поверхности и в глубине регенерирующих ран [35]. Трансплантация аутологических и аллогенных МСК на раневую поверхность приводила к значительному ускорению регенерации: быстрому уменьшению зоны повреждения на фоне минимальной воспалительно-клеточной инфильтрации дермы, ускоренного формирования новых сосудов (неоангиогенеза) и грануляционной ткани. При локальном применении МСК происходило уменьшение сроков заживления раны до 3–4 дней. При этом наблюдалось высокое качество регенерации — без развития грубой рубцовой ткани, с образованием полноценного эпидермиса на всей поверхности раны, с хорошей грануляционной тканью, содержащей большое число капилляров и фибробластов, но меньшее количество воспалительных клеток по сравнению с группой контроля. На основании экспериментально-клинических исследований, выполненных и за рубежом, и в нашей стране, разработаны методики практического применения трансплантации МСК КМ для лечения термических ожогов кожи. Доказана клиническая эффективность и безопасность методов для ускоренного заживления обширных ожоговых ран, как поверхностных, так и глубоких. Локальное использование этих клеток позволяет быстро восстановить кровоснабжение в поврежденных тканях и значительно ускорить заживление раны [36].

За последние 15 лет МСК использовали для лечения более 1000 человек [37]. На начало 2012 г зарегистрировано более 90 клинических испытаний (<http://www.clinicaltrials.gov>), однако контролируемых испытаний III фазы (включая плацебоконтролируемые) пока еще мало. Включенные в испытания больные имели сложную комплексную патологию и массивное поликомпонентное лечение. Следует отметить, что в большинстве испытаний при негематологических заболеваниях основная цель использования стволовых клеток состояла не в лечении заболевания, а в выявлении возможных дополнительных эффектов клеточной терапии на фоне проводимого стандартного лечения.

В настоящее время активно изучается возможность применения МСК при аутоиммунных состояниях, в частности при ревматических болезнях. Известно, что при патологических состояниях после системного введения в кровоток МСК мигрируют преимущественно в лимфоидные органы, поврежденные и воспаленные ткани, где контактируют с активированными иммунными клетками и модулируют их функции. Полагают, что МСК играют роль в поддержании периферической толерантности, и поэтому рассматривается возможность их применения в клеточной терапии для подавления реакций отторжения трансплантата, для защиты органных трансплантатов от отторжения и для коррекции аутоиммунных нарушений. Опыт лечения с помощью МСК ревматических заболеваний пока скромный и касается описания отдельных случаев или небольших исследований I–II фазы, включающих по 10–15 больных. На настоящем этапе МСК при системных ревматических заболеваниях были применены преимущественно у тяжелых, рефрактерных к традиционной терапии больных с плохим прогнозом, т. е. нередко — как «терапия отчаяния».

Наибольший опыт использования МСК накоплен при СКВ. Показано, что при лечении рефрактерных к традиционной терапии больных происходят снижение активности, улучшение серологических маркеров и стабилизация почечной функции без серьезных побочных эффектов. Имеются описания успешного лечения люпус-нефрита с помощью однократной инфузии МСК из аллогенных клеток КМ. Недавно однократная инфузия аллогенных МСК пупочного канатика ($1 \cdot 10^6$ на 1 кг массы тела) применена с хорошим эффектом у 16 больных рефрактерной СКВ [38]. Серьезных побочных действий от лечения не отмечено. Средняя продолжительность наблюдения составила 8 мес. Отчетливое улучшение у всех больных было отмечено уже к 3-му месяцу, и в течение последующих 6 мес оно продолжало нарастать. За период наблюдения снизилась активность болезни (по SLEDAI), улучшилась функция почек, уменьшились значения антинуклеарного фактора и антител к ДНК в крови, увеличился уровень комплемента. Клиническая ремиссия ассоциировалась с увеличением уровня регуляторных Т-клеток (T_{reg}) и восстановлением нормального баланса между концентрациями про- и противовоспалительных цитокинов. Рецидивов болезни за период наблюдения не было.

Представляет интерес описание успешного применения МСК у недавно заболевшей девушки 19 лет с острым течением СКВ и диффузным альвеолярным геморрагическим синдромом, рефрактерным к проводимой терапии метилпреднизолоном (3 г) и иммуноглобулином (100 г) внутривенно. После однократной инфузии пуповинных МСК ($2 \cdot 10^6$ на 1 кг) и назначения 40 мг преднизолона внутрь наступило быстрое, в течение недели, «драматическое» улучшение с полной регрессией рентгенологических проявлений синдрома [39]. В последующие 3 мес больная получала 20 мг преднизолона, 150 мг циклоспорина в день и циклофосфан (800 мг в месяц). Несмотря на лечение развился рецидив болезни с кровохарканьем и появлением диффузных инфильтратов в легких по данным компьютерной томографии высокого разрешения. Повторно введены пуповинные МСК. Основное лечение не менялось. В последующие полгода наступила клиническая ремиссия, позволившая снизить дозу преднизолона до 10 мг/сут и циклоспорина до 75 мг/сут.

Группу из 15 больных СКВ, рефрактерных к обычной терапии, пролечили аллогенными МСК и наблюдали в среднем в течение 17 мес [40]. Больные получили однократную инфузию МСК в количестве $1 \cdot 10^6$ клеток на 1 кг массы тела. Побочных реакций после введения не было. Клиническая эффективность отмечена у всех больных, что было подтверждено достоверным снижением индекса SLEDAI и суточной протеинурии. Уже через 1 мес уровень антител к ДНК достоверно снизился и оставался низким через 3 и 6 мес. Одновременно выявлено быстрое достоверное нарастание числа T_{reg} в периферической крови, сохранявшееся через 3 и 6 мес наблюдения. У большинства больных были уменьшены дозы преднизолона и иммуносупрессантов. У всех больных состояние прогрессивно улучшалось. Достигнутая ремиссия сохраняется у 4 больных, наблюдающихся более 2 лет, и у 4 больных, прослеженных более года. В то же время F. Carrion и соавт. не добились явного эффекта при лечении двух больных СКВ, которым трансплантация МСК была назначена в связи с ограничением в обычной терапии из-за побочных действий и плохой переносимости [41]. Активность СКВ по

SLEDAI составила 5 и 10 баллов. После введения аутологичных МСК, выделенных из КМ, не было эффекта, хотя отчетливо повышались уровни T_{reg} . Авторы предполагают, что негативный результат может быть связан с исходно низкой активностью болезни и отсутствием после трансплантации поддерживающей терапии иммуносупрессантами. Следует отметить, что, в отличие от цитируемых выше исследований, в данной работе пациенты получили аутологичные МСК. На основании экспериментальных данных предполагается, что собственные МСК у больных СКВ могут быть дефектными на фоне фундаментальных повреждений иммунной системы при этом заболевании, поэтому использование МСК от здоровых доноров может быть предпочтительнее.

Остается неясным, какой механизм лежит в основе клинического и биологического эффекта МСК при СКВ и люпус-нефрите. Возможно, что нормализация уровня T_{reg} может приводить к восстановлению аутоотолерантности и последующему подавлению аутоиммунных реакций, а переключение цитокинового баланса в сторону Th1-фенотипа активизирует противовоспалительный ответ. Одна из последних гипотез основана на предположении о реконструкции структуры нефрона вследствие дифференциации донорских МСК в эндотелиальные клетки нефрона, повреждение которых, как предполагают, инициирует развитие люпус-нефрита [40].

Недавно предприняты первые попытки применения МСК при ССД. Известно, что МСК из КМ от больных ССД не отличаются от МСК здоровых доноров по фенотипу и способности дифференцироваться в жировую и скелетные ткани, а также проявляют сходные иммуносупрессивные свойства, что представляется обнадеживающим в плане аутологичной трансплантации [42]. Однако они оказываются дефектными при дифференциации в эндотелиальные клетки, что может иметь ключевое значение в патогенезе сосудистых нарушений при этом заболевании [43, 44]. В одном из первых описаний применения аллогенных (донорских) МСК у пациента, страдающего диффузной ССД в течение 4 лет (без выраженного поражения внутренних органов) и рефрактерного к обычной терапии, было отмечено значимое уменьшение кожного счета с 26 до 11 баллов в течение 6 мес после трансплантации, отражающее антифиброзный эффект [45]. В работе G. Keyszer и соавт. приведены результаты внутривенного введения аллогенных МСК от здоровых доноров 5 больным ССД с быстро прогрессирующим течением и тяжелым поражением внутренних органов, с давностью болезни от 2 до 9 лет [46]. Все больные перенесли трансплантацию хорошо, но в последующем у 4 из 5 развились легкие респираторные инфекции. У 4 из 5 больных отмечена регрессия кожного синдрома, и у всех 3 больных с кожными изъязвлениями произошло их заживление. Средние показатели функции легких оставались стабильными. Уровень аутоантител и субпопуляции лимфоцитов не изменились. Показатель качества жизни (HAQ) остался на исходном уровне. У двух больных клинический эффект был утрачен через 2 и 3 мес, и у одной из них была успешно проведена трансплантация ГСК. Во втором случае в связи с прогрессирующей дыхательной недостаточностью была проведена трансплантация легких. Зарегистрировано два летальных исхода. В одном случае смерть наступила от фибрилляции желудочков через 6 мес, в другом внезапная смерть зафиксирована у больной с рестри-

тивной кардиопатией и фиброзирующим миокардитом через 23 мес. У одного больного исходно отмечалась кальцификация перикарда, и она усугубилась после введения МСК. Этот факт вызывает интерес, так как известно, что в экспериментах на мышах после введения МСК может развиваться кальцификация перикарда.

Обширная литература посвящена научному обоснованию и разработкам методов использования МСК при заболеваниях костей и суставов, в частности при остеоартрозе и РА, в первую очередь с целью восстановления необратимо поврежденных тканей. Несмотря на огромную экспериментальную базу, качественные клинические испытания пока не проводились, имеются лишь отдельные сообщения. Так, у 12 больных остеоартрозом было проведено лечение МСК, при котором клетки накладывались на хрящевые дефекты в коленных суставах в специальных фиксирующих подложках. Через 42 нед у больных, получивших МСК, тканевая регенерация суставных тканей была существенно лучше, чем в контрольной группе больных, не получивших терапии МСК [47]. В другой работе однократное введение аутологичных стволовых клеток внутрисуставно 6 женщинам с остеоартрозом коленных суставов, которым планировалось протезирование коленного сустава, привело к существенному уменьшению боли и улучшению функции в первые 6 мес после инъекции. В последующие 6 мес было отмечено некоторое уменьшение эффекта. По данным МРТ, проведенной через год после инъекции, было отмечено увеличение толщины хряща и уменьшение зон субхондрального отека у трех больных [48]. Недавно опубликована интересная работа, в которой предполагается, что наиболее перспективный метод тканевой инженерии суставного хряща — совместное культивирование суставных хондроцитов и МСК. Авторы показали, что МСК стимулируют хондрогенез благодаря трофическому эффекту, значительно повышая хондрогенный потенциал суставных хондроцитов. Кроме того, такой метод позволяет решить проблему недостаточного количества аутологичных первичных суставных хондроцитов [49].

Исследования, проведенные в эксперименте на модели РА (коллагеновый артрит), показали, что МСК человека из жировой ткани играют ключевую роль в поддержании иммунологической толерантности, проявляя способность подавлять активность Т-клеток и воспалительный ответ, и индуцируют генерацию и активацию антиген-специфичных T_{reg} [50]. Недавно аллогенные МСК были применены для лечения тяжелого рефрактерного РА у 4 больных. Через 1 и 6 мес после однократного системного введения МСК у трех из них снизились СОЭ, боль, оцениваемая по визуальной аналоговой шкале, и DAS28, а у двух больных через 6 мес отмечен удовлетворительный эффект по критериям EULAR. У этих двух больных, имевших эффект от введения МСК, развилось обострение РА через 7 и 23 мес. Никаких серьезных побочных эффектов не было. Авторы отмечают, что при хорошей переносимости эффективность терапии МСК остается предметом дискуссий [51].

Подводить итоги клинических испытаний эффекта МСК при ревматических заболеваниях преждевременно. Имеющиеся данные трудно интерпретировать, так как в исследования включались неоднородные группы больных, до и после трансплантации они получали разное лечение, применялись нестандартизованные оценки исходов. В целом анализ опубликованных данных по механизму

действия МСК дает основание для оптимизма, так как очевидно, что введение МСК способно «перезагрузить» иммунную систему, в частности, путем подавления потенциала повреждающего Th1/Th17-ответа и усиления протективного ответа, опосредованного T_{reg} . Способность МСК генерировать *de novo* T_{reg} может быть в терапевтическом плане более успешной, чем использование нейтрализующих антител против одного цитокина как по эффективности, так и по безопасности [52].

Многие аспекты клинического применения МСК вызывают целый ряд вопросов. Неясно, каковы будут отдаленные результаты такого лечения, будут ли рецидивы болезни после однократного курса или повторных курсов лечения МСК. Какие клетки предпочтительнее использовать — аллогенные или аутологичные? Один из самых обсуждаемых вопросов связан с гетерогенностью популяции МСК, которая зависит, в частности, от источника выделения клеток. Как осуществить оптимальный выбор источника МСК? Важно также учитывать, что компоненты среды для культивации МСК влияют на пролиферацию, экспрессию растворимых факторов и др., поэтому важным вопросом остается недостаточная стандартизация методов получения клеток для сравнения результатов. Необходимым условием применения МСК в клинической практике является внедрение стандартов качества и безопасности клеточных продуктов. Основной вывод исследователей заключается в необходимости масштабных контролируемых испытаний, для которых нужно провести большую работу по стандартизации критериев включения, клинического ответа, оценки посттрансплантационной иммуносупрессии, лечения рецидивов и т. д. Важно не переоценивать терапевтический потенциал МСК и провести рандомизированные испытания эффективности и безопасности инфузий МСК в сравнении с традиционной фармакотерапией. Такие исследования помогут определить место МСК в лечении аутоиммунных заболеваний и разработать инновационную клеточную терапию при ревматических болезнях.

Предметом особого внимания является безопасность клеточной терапии. В первую очередь это относится к возможности злокачественного перерождения трансплантируемых клеток. В экспериментах на мышах было отмечено, что при культивации уже на ранних пассажах стволовые клетки могут подвергаться злокачественной трансформации, а при длительном культивировании этот феномен возникает закономерно [53]. Важно подчеркнуть, что при культивации стволовые клетки оказываются в условиях, близких, но отнюдь не идентичных, физиологическим. Они извлечены из своего естественного микроокружения и лишены его ингибирующих и регулирующих сигналов. Происходят генетические aberrации, в результате которых клетка может приобрести опухолевые характеристики. Полагают, что это связано с инбредностью линий мышей, участвовавших в экспериментах [54]. В отличие от МСК мыши, стволовые клетки человека не склонны к злокачественной трансформации на ранних пассажах культивации — для человека этот феномен не продемонстрирован. Можно считать доказанным, что трансплантация МСК человека, подвергшихся недолгой (до 10 пассажей) культивации, безопасна, так как даже при длительной культивации они стабильно сохраняют свои основные характеристики. В частности, было показано, что при длительном,

до 25 пассажей, культивировании в МСК человека, выделенных из КМ здоровых доноров, не происходило хромосомных aberrаций, клетки сохраняли стабильный кариотип *in vitro* и при достижении «лимита Хейфлика» («точки кризиса») подвергались апоптозу [55, 56]. В то же время в более ранних работах было показано, что МСК здоровых доноров после прохождения клетками 50 пассажей *in vitro* накапливали геномные нарушения и в части культур происходила злокачественная трансформация с частотой от 50% в клетках из жировой ткани [57] до 1% в клетках из КМ [58]. Предполагалось, что феномен злокачественной трансформации, возможно, зависел от генотипа доноров МСК. В последующем была опубликована только одна работа, в которой эти данные подтверждались при длительной (более 100 пассажей) культивации МСК человека, полученных из КМ, при этом 46% культур претерпевали злокачественную трансформацию [59]. Однако позднее сами авторы объяснили злокачественную трансформацию МСК контаминацией культур клетками опухолевых линий, с которыми одновременно велась работа в лаборатории [60].

В настоящее время полагают, что интерпретация ранних результатов исследований по злокачественной трансформации МСК человека в культуре требует коррекции, поскольку ранее при исследовании клеточных культур не применялись современные техники ДНК-анализа, позволяющие обнаружить эпигенетические нарушения клеток с нормальной морфологией и нормальным кариотипом [54]. Как было показано А. Feinberg и соавт. [61], в некоторых МСК определенные нарушения эпигенетических профилей ДНК (большей частью, ошибки в метилировании ДНК) появляются задолго до возникновения мутаций и перестроек генома и отражают вероятность скорой трансформации. Такие клетки, лишившись в условиях культивирования регулирующего воздействия стромы КМ, теоретически могут активно пролиферировать, что закономерно приводит к ускорению перестройки генома и накоплению хромосомных aberrаций, что в итоге обуславливает злокачественную трансформацию [54]. Вероятно, подобные МСК, находящиеся в состоянии «пре-трансформации», могут существовать и в КМ человека, однако в настоящее время подтверждения этому предположению нет. Поэтому применительно к мышам можно заключить, что МСК могут быть источником злокачественных опухолей, но в отношении человека такого заключения сделать нельзя.

Кроме злокачественной трансформации МСК, обсуждаются и другие механизмы их влияния на опухолевый рост. Полагают, что канцерогенезу могут способствовать иммуносупрессивные свойства МСК, а также их особые взаимоотношения с клетками опухоли. Опухолевые клетки выделяют хемокины, усиливающие миграционную активность МСК, и они могут активно интегрироваться в строму опухоли, где трансформируются в карцинома-ассоциированные фибробласты — клетки, участвующие в прогрессировании роста опухоли. Выделяемые МСК ростовые факторы (в частности, ТФРβ) поддерживают рост клеток рака молочной железы. Известно также, что стимуляция активности регулирующих Т-клеток и снижение активности цитотоксических Т-клеток замедляет миграцию лейкоцитов к раковым клеткам, снижая возможность противодействовать канцерогенезу. Ростовые факторы (фактор роста фибробластов) могут индуцировать не только быструю

экспансию МСК *in vivo*, но и экспрессию HLA и анеуплоидию. Учитывая все эти дискуссионные вопросы, можно заключить, что отдаленная безопасность МСК требует дальнейшего изучения. Однако следует подчеркнуть, что к настоящему времени в международной базе данных (Standart European Blood And Marrow Transplantation Database), объединяющей информацию по лечению стволовыми клетками во всем мире, не зарегистрировано ни одного случая развития злокачественных опухолей при лечении МСК 1010 больных [37].

Безопасность лечения с применением МСК проверялась во многих клинических испытаниях, и было показано, что переносимость терапии ими очень хорошая, а побочные реакции редки. Инфузии МСК обычно хорошо переносятся. На 1000 человек, получивших инфузии МСК, до настоящего времени не зарегистрировано ни одного случая острой токсичности. Отдаленные результаты лечения МСК активно изучаются. Так, в одном из недавних исследований культивированные аутологичные МСК вводились в периферические суставы (213 больных) или в межпозвоночные диски (13 больных), и больных наблюдали в течение 2 лет. Развития неопластических процессов не отмечено [62].

Наряду с потенциальной туморогенностью МСК, их клиническое применение может иметь и другие негативные последствия. Так, неселективное подавление иммуни-

тета потенциально может повышать восприимчивость организма к бактериальным и вирусным инфекциям. При пересадке аллогенных ГСК описан феномен трансмиссии аутоиммунных заболеваний, например развитие мышечно-скелетных синдромов или анкилозирующего спондилоартрита [63]. Развиваются ли подобные состояния после трансплантации МСК, предстоит изучить. Одной из проблем, связанных с применением МСК, являются этические вопросы, многие из которых еще не решены. И, конечно, использование стволовых клеток должно быть не только клинически, но и экономически оправданным.

Заключение. Анализ данных литературы позволяет сделать вывод о безусловной перспективности изучения при ревматических заболеваниях терапевтических возможностей трансплантации МСК как метода регуляции тканевого гомеостаза, контроля воспаления, иммунологических нарушений, тканевой регенерации и фиброза, в частности при дегенеративных заболеваниях костей и суставов, сосудистых повреждениях и ишемических нарушениях. Наряду с огромным потоком научной информации в этой области, о значимости МСК свидетельствует тот факт, что ежегодно частота применения МСК увеличивается. Так, в 2010 г. из всех видов трансплантируемых клеток (включая ГСК, хондроциты, кератиноциты, дермальные фибробласты и др.) именно МСК применялись чаще всего — в 49% всех пересадок [37].

ЛИТЕРАТУРА

1. Tyndall A. Successes and failures of stem cell transplantation in autoimmune diseases. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2011;2011:280–4.
2. Chen Y., Shao J.Z., Xiang L.X. et al. Mesenchymal stem cell: a promising candidate in regenerative medicine. *Int J Biochem Cell Biol* 2008;40:815–20.
3. Müller I., Lymperi S., Dazzi T. Mesenchymal stem cell therapy for degenerative inflammatory disorders. *Curr Opin Organ Transplant* 2008;13:639–44.
4. Friedenstein A.J., Petrakova K.V., Kurolesova A.I., Frolova G.P. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissue. *Transplantation* 1968;6:230–47.
5. Roberts S., Genever P., McCaski A., De Bari C. Prospects of stem cell therapy in osteoarthritis. *Regen Med* 2011;6:351–66.
6. Prockop D.J. Marrow stromal cells as stem cells for non-hematopoietic tissues. *Science* 1997;278:71–4.
7. Domimici M., Le Blank K., Mueller I. et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006;8:315–7.
8. Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C. et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999;284:143–7.
9. Horwitz E., Le Blanc K., Dominici M. et al. Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2005;7:393–5.
10. Rasmusson I. Immune modulation by mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res* 2006;312:2169–79.
11. Le Blanc K., Tammik C., Rosendahl K. et al. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. *Exp Hematol* 2003;31:890–6.
12. Majumdar M.K., Keane-Moore M., Buyaner D. et al. Characterization and functionality of cell surface molecules on human mesenchymal stem cells. *J Biomed Sci* 2003;10:228–41.
13. Schwartz R.H. A cell culture model for T lymphocyte clonal anergy. *Science* 1990;248:1349–56.
14. Nauta A.J., Fibbe W.E. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood* 2007;110:3499–506.
15. Corcione A., Benvenuto F., Ferretti E. et al. Human mesenchymal stem cell modulate B-cells functions. *Blood* 2006;107:367–72.
16. Honczarenko M., Le Y., Swierkowski M. et al. Human BMSC express a distinct set of biologically functional chemokine receptors. *Stem Cells* 2006;24:1030–41.
17. DelaRosa O., Lombardo E., Beraza A. et al. Requirement of INF-gamma-mediated indoleamine 2,3-dioxygenase expression in the modulation of lymphocyte proliferation by human adipose-derived stem cells. *Tissue Eng* 2009;15:2795–806.
18. Zappia E., Casazza S., Pedemonte E. et al. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. *Blood* 2005;106:1755–61.
19. Sheng H., Wang Y., Jin Y. et al. A critical role of INF in priming MSC-mediated suppression of T cell proliferation through up-regulation of B7-H1. *Cell Res* 2008;18:846–57.
20. Di Nicola M., Carlo-Stella C., Magni M. et al. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood* 2002;99:3838–43.
21. English K., Ryan J.M., Tobin L. et al. Cell contact, prostaglandin E(2) and transforming growth factor beta 1 play non-redundant roles in human mesenchymal stem cell induction of CD4+CD25 (High) forkhead box P3+ regulatory T-cells. *Clin Exp Immunol* 2009;156:149–60.
22. Yang S.H., Park M.J., Yoon I.H. et al. Soluble mediators from mesenchymal stem cell suppress T-cell proliferation by inducing IL-10. *Exp Mol Med* 2009;41:315–24.
23. Sato K., Ozaki K., Oh I. et al. Nitric oxide plays a critical role in suppression of T-cell proliferation by mesenchymal stem cells. *Blood* 2007;109:228–34.
24. Ren G., Zhang L., Zhao X. et al. Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide. *Cell Stem Cell* 2008;2:141–50.
25. Rasmusson I., Uhlén M., Le B.K., Levitsky V. Mesenchymal stem cells fail to trigger effector functions of cytotoxic T lymphocytes. *J Leukoc Biol* 2007;82:887–93.
26. Da Silva V.L., Chagettes P.C., Nardi N.B. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *J Cell Sci*

- 2006;119:2204–13.
27. Hu Y., Liao L., Wang O. et al. Isolation and identification of mesenchymal stem cells from human fetal pancreas J Lab Clin Med 2003;141:342–9.
28. Romanov Y.A., Svintitskaya V.A., Smirnov V.N. Searching for alternative sources of potential human mesenchymal stem cells: candidate VSC-like cells from umbilical cord. Stem Cells 2003;21:105–10.
29. Hu Y., Liao L., Wang O. et al. Isolation and identification of mesenchymal stem cells from human fetal pancreas. J Lab Clin Med 2003;141:342–9.
30. Wexler S.A., Donaldson C., Denning-Kendall P. et al. Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal “stem” cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not. Br J Haematol 2003;121:368–74.
31. Sun L., Aklyama K., Zhang H. et al. Mesenchymal stem cell transplantation reserves multiorgan dysfunction in systemic lupus erythematosus mice and humans. Stem Cells 2009;27:1421–32.
32. Ortiz L.A., Dutreil M., Fattman C. Interleukin1 receptor antagonist mediates the antiinflammatory and antifibrotic effect of mesenchymal stem cells during lung injury. PNAS USA 2007;104:11002–7.
33. Curley G.F., Hayes M., Ansari B. et al. Mesenchymal stem cell enhance recovery and repair following ventilator-induced lung injury in the rat. Thorax 2012;67:496–501.
34. Kajstura J., Rota M., Hall S.R., Hosoda T. Evidence for human lung stem cells. N Engl J Med 2011;364:1795–806.
35. Шумаков В.М., Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е. и др. Экспериментальное обоснование эффективности применения стволовых и прогениторных клеток костного мозга для регуляции восстановительных процессов в органах при остром и хроническом повреждениях. Вестн РАМН 2004;9:44–7.
36. Расулов М.Ф., Васильченко А.В., Онищенко Н.А. и др. Первый опыт применения мезенхимальных стромальных клеток костного мозга для лечения больной с глубокими ожоговыми ранами кожи. Клеточн технол в биол и мед 2005;1:42–6.
37. Martin I., Baldomero H., Bocelo-Tyndall C. et al. A survey on cell and engineered tissue therapies in Europe in 2010. Tissue Eng Part A, 2012 Jul 19 [Epub. ahead of print].
38. Sun L., Wang D., Liang J. et al. Umbilical cord mesenchymal stem cell transplantation in severe and refractory Systemic Lupus Erythematosus. Arthr Rheum 2010;8:2467–75.
39. Liang J., Gu F., Wang H. et al. Mesenchymal stem cell transplantation for diffuse alveolar hemorrhage in SLE. Nat Rev Rheumatol 2010;6:486–9.
40. Liang J., Zhang H., Hua B. et al. Allogenic mesenchymal stem cells transplantation in refractory systemic lupus erythematosus: a pilot clinical study. Ann Rheum Dis 2010;69:1423–9.
41. Carrion F., Nova E., Ruiz C. et al. Autologous mesenchymal stem cell treatment increased T-regulatory cells with no effect on disease activity in two systemic lupus erythematosus patients. Lupus 2010;19:317–22.
42. Larghero J., Farge D., Braccini A. et al. Phenotypical and functional characteristics of in vitro expanded bone marrow mesenchymal stem cell from patients with systemic sclerosis. Ann Rheum Dis 2008;67:443–9.
43. Cipriani P., Guiducci S., Miniati I. et al. Impairment of endothelial cell differentiation from bone marrow-derived mesenchymal stem cells: new insight into the pathogenesis of systemic sclerosis. Arthr Rheum 2007;56:1994–2004.
44. Del Papa N., Quirici N., Soligo D. et al. Bone marrow endothelial progenitors are defective in systemic sclerosis. Arthr Rheum 2006;54:2605–15.
45. Christopeit M., Schendel M., Foll J. et al. Marked improvement of severe progressive systemic sclerosis after transplantation of mesenchymal stem cells from allogenic haploidentical al-related donor mediated by ligation of CD 137L. Leukemia 2008;22:1062–4.
46. Keyszer G., Christopeit M., Fick S. et al. Treatment of severe progressive systemic sclerosis with transplantation of mesenchymal stromal cells from allogenic related donors: report of five cases. Arthr Rheum 2011;63:2540–2.
47. Wakitani S., Imoto R., Yamamoto T. et al. Human autologous culture expanded bone marrow mesenchymal stem cell transplantation for repair of cartilage defect in osteoarthritic knees. Osteoarthritis Cart 2002;10:199–206.
48. Emadeddin M., Aghdami N., Taghiyar L. et al. Intra-articular injection of autologous mesenchymal stem cells in six patients with knee osteoarthritis. Arch Iran Med 2012;15:422–8.
49. Meretoja V.V., Dahlin R.L., Kasper F.K., Mikos A.G. Enhanced chondrogenesis in co-cultures with articular chondrocytes and mesenchymal stem cells. Biomaterials 2012; Jun 11 [Epub. ahead of print].
50. Gonzales-Rey E., Gonzalez M.A., Varela N. et al. Human adipose-derived mesenchymal stem cells induce inflammatory and T-cells responses and induce regulatory T-cells in vitro in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 2010;69:241–8.
51. Liang J., Li X., Zhang H. et al. Allogeneic mesenchymal stem cells transplantation in patients with refractory RA. Clin Rheumatol 2012;31:157–61.
52. MacDonald G.I.A., Augello A., de Bari C. Role of mesenchymal stem cells in re-establishing immunological tolerance in autoimmune rheumatic diseases. Arthr Rheum 2011;63:2547–57.
53. Zhou Y.F., Bosch-Marce M., Okuyama Y. et al. Spontaneous transformation of cultured mouse bone marrow-derived stromal cells. Cancer Res 2006;66:10849–54.
54. Григорян А.С., Кругляков П.В. Спонтанная злокачественная трансформация мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток в культуре — происходит ли она в действительности? Клеточн трансплантол тканей инженер 2009;4(IV):78–82.
55. Bernardo V.E., Zaffaroni N., Novara F. et al. Human bone marrow derived mesenchymal stem cells do not undergo transformation after long-term in vitro culture and do not exhibit telomere maintenance mechanisms. Cancer Res 2007;67:9142–9.
56. Meza-Zerada L.A., Noer A., Dahl A. et al. High-resolution analysis of genetic stability of human adipose tissue stem cells cultured to senescence. J Cell Mol Med 2008;12:553–63.
57. Rubio D., Garcia-Castro J., Martin M.C. et al. Spontaneous human adult stem cells transformation. Cancer Res 2005;65:3035–9.
58. Wang Y., Huso D.L., Harrington J. et al. Outgrowth of a transformed cell population derived from normal human BM mesenchymal stem cell culture. Cytotherapy 2005;7:509–19.
59. Rosland G.V., Svendsen A., Torsvik A. et al. Long-term cultures of bone marrow-derived human mesenchymal stem cells frequently undergo spontaneous malignant transformation. Cancer Res 2009;69:5331–9.
60. Torsvik A., Rosland G.V., Svendsen A. et al. Spontaneous malignant transformation of human mesenchymal stem cells reflects cross-contamination: putting the search field on track — letter. Cancer Res 2010;70:6393–6.
61. Feinberg A.P., Ohlsson R., Henikoff S. The epigenetic progenitor origin of human cancer. Nat Rev Gen 2006;7:21–33.
62. Centeno C.J., Schultz J.R., Cheever M. et al. Safety and complications reporting on the reimplantation of culture-expanded mesenchymal stem cells using autologous platelet lysate technique. Curr Stem Cell Res Ther 2010;5:81–93.
63. Karia V.R., Cuchacovich R., Espinoza L.R. Undifferentiated spondyloarthritis following allogenic stem cell transplantation. Musculoskeletal Dis 2010;11:132–4.