

УДК 612.017.1 : 57.04

Регуляция иммунитета мультипотентными мезенхимными стромальными клетками

Ю. П. Рубцов^{1*}, Ю. Г. Суздальцева², К. В. Горюнов¹, Н. И. Калинина¹, В. Ю. Сысоева¹,
В. А. Ткачук¹

¹Факультет фундаментальной медицины Московского государственного университета
им. М.В. Ломоносова, 119192, Москва, Ломоносовский просп., 31, корп. 5

²Российский кардиологический научно-производственный комплекс МЗ и СР РФ, 121552,
Москва, ул. 3-я Черепковская, 15а

*E-mail: yrubtsov@gmail.com

Поступила в редакцию 15.11.2011 г.

РЕФЕРАТ Клетки иммунной системы отвечают за развитие процесса воспаления и участвуют в повреждении тканей и органов как при травмах, так и при различных патологиях. Контроль активации клеток иммунной системы помог бы достичь значительного прогресса в регенеративной медицине, лечении больных с аутоиммунными и дегенеративными заболеваниями. Доказано, что мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (МСК) способны супрессировать иммунный ответ за счет ингибирования созревания дендритных клеток, угнетения функции Т- и В-лимфоцитов, профессиональных киллеров при аутоиммунных и воспалительных заболеваниях. МСК легко выделить практически из любой ткани или органа и размножить в культуре. Эти клетки способны к самоподдержанию и дифференцировке в клетки мезодермального листа. В настоящем обзоре собраны и проанализированы данные о молекулярных механизмах, обеспечивающих взаимное влияние МСК и клеток иммунитета, которые могут быть использованы при разработке новых подходов к терапии аутоиммунных заболеваний.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА иммунная система, мультипотентные мезенхимные стромальные клетки, воспаление, аутоиммунные заболевания, регенерация, иммуносупрессия.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ МСК – мультипотентные мезенхимные стромальные клетки; CD – кластер дифференцировки; SDF-1 – фактор, секретируемый стволовыми клетками 1; CXCR4 – C-X-C-рецептор хемокинов 4; VEGF – фактор роста эндотелия сосудов; IGF-1 – инсулиноподобный фактор роста 1; BDNF – нейротрофический фактор мозга; TGF- β – трансформирующий фактор роста β ; BMP – морфогенетический белок костной ткани; IL-10 – интерлейкин-10; TNF- α – фактор некроза опухолей α ; NK-клетки – натуральные киллеры; ДК – дендритные клетки; IFN- γ – интерферон γ ; МНС – главный комплекс гистосовместимости; IDO – индоламин-2,3-дезоксигеназа; PGE2 – простагландин E2; ICAM – молекула межклеточной адгезии; VCAM – молекула адгезии клеток сосудов; IL-1 β – интерлейкин-1 β ; GVHD – реакция трансплантат против хозяина; EAE – экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит; TLR – Толл-подобный рецептор; HLA-G5 – неклассическая молекула антигена комплекса гистосовместимости I класса, G5.

ВВЕДЕНИЕ. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МСК

Мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (далее МСК) были впервые охарактеризованы в пионерской работе группы Фриденштейна в 1971 г. [1]. В этом исследовании было показано, что из клеток костного мозга можно выделить гетерогенную фракцию клеток, которые морфологически напоминают фибробласты и способны к прикрепленному росту в культуре, выдерживая множественные пассажы. Эти клетки экспрессируют на поверхности набор маркеров, который свидетельствует об их мезенхимном происхождении, и способны к дифференци-

ровке в клетки жировой ткани, кости, хряща [1] и, в меньшей степени, другие типы клеток. Набор маркеров, характерных для МСК, представлен CD105, CD166, CD54, CD90, CD55, CD13, CD73, Stro-1, CD44, в то же время гемопоэтические маркеры CD14, CD45, CD34 и CD133 [2] на поверхности МСК отсутствуют. Позднее установили, что клетки с похожими свойствами можно выделить не только из костного мозга, но и из других источников, в частности жировой ткани [3].

Более детальное изучение свойств МСК показало, что из части единичных клеток можно получить

клоны, способные к самоподдержанию в культуре [4]. Популяции МСК из разных источников можно пассировать в культуре, в отличие от терминально дифференцированных клеток, при этом гетерогенность культуры сильно зависит от пассажа [5]. Скорость роста и деления МСК в культуре постепенно снижается, и за это отвечает процесс укорочения теломер на концах хромосом [6, 7].

Отсутствие «надежных» поверхностных маркеров сильно затрудняет идентификацию и изучение МСК *in vivo*, поэтому до сих пор непонятно, являются ли МСК артефактом выделения и культивирования сложной смеси клеток *in vitro* или эта популяция действительно существует в организме. Мнения о природе МСК существенно различаются. В ряде работ наглядно показано, что по многим параметрам МСК напоминают фибробласты – другой вид клеток стромы [8]. В отдельных работах МСК сравнивают с популяцией перицитов – клеток, ассоциированных с эндотелием сосудов и несущих на поверхности набор маркеров, немногим отличающийся от такового у МСК [9, 10]. Тем не менее интерес исследователей и медиков к МСК, в первую очередь, обусловлен уникальными свойствами МСК, которые делают их привлекательным объектом для клеточной и генетической терапии, отодвигая вопросы их происхождения и филогении на второй план.

МСК МИГРИРУЮТ В ОЧАГ ПОВРЕЖДЕНИЯ

МСК, при их введении животным с индуцированными повреждениями или патологией внутренних органов, способны мигрировать к месту повреждения или в очаг воспаления. Об этом свидетельствуют результаты экспериментов по системному введению МСК, меченных различными способами (использовали клетки, экспрессирующие флуоресцирующий белок, клетки доноров-самцов переносили реципиентам-самкам, человеческие клетки использовали для гетерологичного переноса в мышей или крыс), реципиентам с такими повреждениями [11–15]. В течение короткого времени перенесенные клетки удается обнаружить в месте повреждения. Миграция МСК к месту повреждения (воспаления) зависит от хемокинов, о чем косвенно свидетельствуют результаты анализа экспрессии рецепторов хемокинов МСК. МСК экспрессируют целый спектр рецепторов хемокинов [16–18]. Вклад большинства из них в направленную миграцию МСК не установлен, однако показано, что ключевую роль играет рецептор хемокина SDF-1, C-X-C-рецептор хемокинов 4 (CXCR4). Уровень CXCR4 значительно возрастает в клетках в условиях стресса [16, 19, 20]. Блокирование сигнала через этот рецептор биохимическими или генетическими методами приводит к наруше-

нию миграции МСК в очаг повреждения/воспаления [19]. Роль CXCR4 крайне важна, так как этот рецептор также отвечает за удержание гемопоэтических стволовых клеток в костном мозге. Конкуренция МСК и гемопоэтических клеток за лиганд SDF-1, может приводить к выходу стволовых клеток из костного мозга при системных поражениях [21, 22]. Раньше было принято считать, что миграция МСК в поврежденную ткань свидетельствует об их активном участии в репарации и регенерации тканей. При более детальном исследовании поведения и миграции МСК при гетерологическом переносе выяснилось, что при пересадке МСК процент клеток, достигающих очага повреждения, очень мал. Более того, клетки не задерживаются в ткани, а достаточно быстро исчезают. В связи с этим была пересмотрена исходная концепция, которая предполагала, что основная функция МСК заключается в непосредственном замещении поврежденных клеток ткани за счет дифференцировки [10]. Вместо этого предложена гипотеза, которая подразумевает, что при стрессе и повреждении МСК могут за счет секреции растворимых факторов регулировать состояние резидентных стволовых клеток и клеток-предшественников, способствуя их делению и дифференцировке [23]. Таким образом, для МСК была предложена роль мобильных поставщиков факторов, необходимых для регенерации и ремоделирования ткани.

СЕКРЕТОРНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ МСК И РЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ПРОЦЕССЫ

МСК обладают необычной способностью секретировать широкий спектр биологически активных молекул, в частности факторы роста, цитокины, гормоны и низкомолекулярные медиаторы, которые регулируют ключевые физиологические процессы [23]. Продукция этих факторов, а также умение МСК вырабатывать/разрушать внеклеточный матрикс лежат в основе физиологического эффекта, который МСК оказывают на поврежденную ткань [24–26]. Так, показано, что продукция растворимых факторов МСК способна поддерживать как клетки ткани, так и резидентные стволовые клетки и клетки-предшественники в условиях гипоксии и воспаления, которыми неизбежно сопровождаются раневые и патологические повреждения [27–29]. Доказано, что секреция МСК проангиогенных факторов, таких, как VEGF, IGF-1 и ряда других, ускоряет рост и созревание сосудов в очаге повреждения [30–32], нейротрофных факторов, в особенности BDNF, – восстановление поврежденных нейронов [33–35], а морфогенов семейства TGF- β , таких, как BMP-2, -4 и -7, способствует восстановлению костной и хрящевой

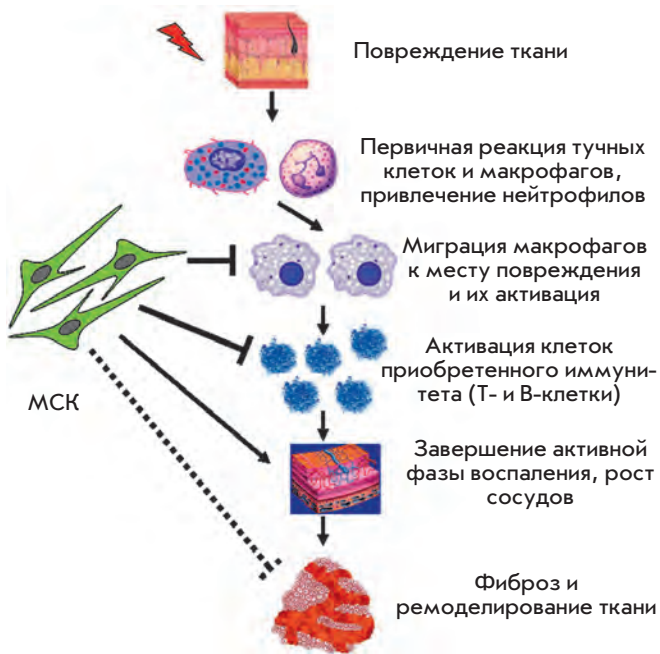


Рис. 1. Последовательность событий при повреждении/воспалении ткани и участие в них клеток иммунной системы. Положительный эффект MSC на отдельные стадии показан стрелками, негативное/ингибирующее действие отмечено затупленными стрелками.

ткани при переломах [36–38] (рис. 1). Не исключено, что прямые контакты с окружающими клетками и структурами (микроокружением) также играют немаловажную роль в регенеративной функции MSC, однако экспериментальные работы, поддерживающие это мнение, немногочисленны.

ИММУННЫЕ КЛЕТКИ В ПОВРЕЖДЕНИИ ТКАНЕЙ И РЕГЕНЕРАЦИИ

Рассматривая специфические условия, которые сопутствуют процессам заживления и регенерации тканей, следует особо отметить вклад в этот процесс клеток иммунной системы. Ни для кого не секрет, что иммунная система млекопитающих, в том числе человека, представляет собой сложный защитный механизм, состоящий из многих типов клеток, которые успешно справляются с инфекционными агентами различной природы. Эволюционно наиболее древняя часть иммунитета представлена клетками, которые отвечают за распознавание чужеродных молекул и немедленную реакцию на их присутствие [39]. Эти клетки путем предоставления молекулярных сигналов передают эстафету клеткам приобретенного (адаптивного) иммунитета, которые отвечают за развитие мощного ответа, как правило, сопровождающегося выделением значительных количеств

цитотоксических и провоспалительных молекул [40, 41]. К сожалению, непросто контролировать такой мощный и сложный механизм и точно дозировать силу и направление ударов. Расплатой за это служит чрезмерное повреждение тканей и органов, сопровождающее иммунный ответ в острой или хронической форме [39].

Существует вполне определенная последовательность реакций иммунной системы, которые сопровождают любое повреждение внутренних органов, ранение или инфекцию. В качестве сенсоров повреждения выступают тканерезидентные тучные клетки, дендритные клетки (ДК) и макрофаги [38]. Они запускают цепочку иммунных реакций, выбрасывая провоспалительные цитокины, хемокины и факторы, которые обеспечивают миграцию и стимуляцию других типов клеток. Важнейшую роль в этом процессе играют цитокины и молекулы адгезии, которые обеспечивают быстрое накопление нейтрофилов в участке повреждения [39]. Продукция цитокинов и хемокинов нейтрофилами, в свою очередь, приводит к миграции макрофагов и выбросу ими еще больших количеств провоспалительных цитокинов, таких, как $IFN-\gamma$ и $TNF-\alpha$ [40]. Секреция еще больших количеств цитокинов воспаления рекрутирует Т- и В-клетки, ускоряя их активацию и созревание. Они накапливаются в зоне повреждения, значительно усиливая воспаление за счет выработки новых доз цитокинов и провоспалительных факторов, что нередко приводит к нежелательному повреждению и гибели окружающих клеток ткани [41–44]. Воспалительный ответ, в свою очередь, запускает молекулярные механизмы, которые сдерживают активацию и деление клеток иммунной системы. Эти механизмы включают увеличение чувствительности активированных клеток к апоптозу, повышение уровня рецепторов к противовоспалительным цитокинам ($IL-10$ и $TGF-\beta$) на поверхности иммунных клеток и продукции этих цитокинов активированными клетками, негативных коактиваторных молекул, активацию и увеличение количества регуляторных клеток [45–47]. Все эти события приводят к завершению острой фазы иммунного ответа, гибели поврежденных и активированных клеток, фагоцитозу клеточных остатков профессиональными фагоцитами [48]. В то же время продукция таких факторов, как $TGF-\beta$, способствует фиброзным изменениям в структуре ткани, способствуя замещению исходной ткани фибрином и соединительной тканью [49, 50]. Немаловажную роль при этом играют как клетки окружающей ткани, которые в составе внеклеточного матрикса предоставляют факторы роста и цитокины, так и клетки эндотелия сосудов, которые обеспечивают миграцию нужных клеток в очаг повреждения [51]. Суммируя сказанное выше,

следует подчеркнуть, что клетки иммунной системы вовлечены во все фазы регенеративных процессов в тканях (рис. 1). От их участия во многом зависит то, как быстро и насколько продуктивно будет происходить заживление. Кроме того, уровень воспаления и повреждения в ткани в значительной мере зависит от взаимодействия клеток ткани и клеток иммунной системы.

ПРЕЗЕНТАЦИЯ АНТИГЕНОВ МСК

Принимая во внимание секреторный потенциал МСК, а также влияние на микроокружение в очаге повреждения, позитивный эффект МСК в различных моделях регенерации тканей можно, по крайней мере отчасти, объяснить их влиянием на клетки иммунной системы (рис. 1). В связи с этим иммунологические свойства МСК достаточно подробно изучены, чего, к сожалению, пока нельзя сказать о молекулярных механизмах, которые обуславливают эти свойства. Иммунологически МСК сильно отличаются от соматических клеток тем, что они практически не узнаются иммунной системой ввиду их фенотипических особенностей [52, 53]. Это свойство МСК делает их привлекательным объектом для трансплантологии, так как позволяет обойти проблему иммунологической совместимости. МСК по сравнению с другими типами клеток экспрессируют крайне незначительные количества молекул МНС I и МНС II и не несут костимуляторных молекул CD40, CD80 и CD86, которые необходимы для активации Т-клеток [54]. В то же время в ходе дифференцировки экспрессия МНС восстанавливается, что приводит к узнаванию и уничтожению потомства МСК клетками иммунной системы реципиента [55]. В полностью гетерологичных культурах МСК не вызывают аллогенной смешанной реакции лимфоцитов [54]. Экспрессия МНС МСК может изменяться в зависимости от условий культивирования. В частности, в присутствии небольших концентраций IFN- γ МСК активируют экспрессию генов МНС, что в результате приводит к их способности презентировать антиген (*in vitro*). Большие дозы IFN- γ не оказывают такого эффекта [56].

В течение последних лет показано, что МСК могут супрессировать иммунный ответ, замедляя созревание ДК, подавляя функции Т-лимфоцитов, В-лимфоцитов и натуральных киллеров (НК) [57–60].

ИММУНОРЕГУЛЯЦИЯ МСК *IN VITRO*

Большая часть данных об иммунологических свойствах МСК получена в экспериментах по сокультивированию или совместной инкубации МСК и клеток иммунной системы *in vitro*. В экспериментах данного типа лейкоциты крови человека или индивидуальные

популяции, например Т-клетки, после активации помещают в культуру с МСК. После чего влияние МСК на иммунные клетки и, наоборот, влияние иммунных клеток на МСК определяют, измеряя скорость деления клеток, их метаболическую активность, уровень экспрессии маркеров активации, уровень апоптоза, секрецию цитокинов и факторов роста и т.д. В результате установлены основные закономерности и механизмы, влияющие на результат взаимодействия МСК и клеток иммунной системы [57–60] (рис. 2, 3). Оказалось, что МСК по-разному воздействуют на различные типы клеток иммунной системы. Наивные (неактивированные) Т-клетки лучше выживают и делятся в культуре в присутствии МСК и супернатантов культур МСК. В то же время активированные Т-клетки подвержены иммуносупрессии в присутствии МСК. Установлено, что МСК снижали пролиферативный потенциал Т-клеток, экспрессию маркеров активации и коактиваторных молекул, способность секретировать провоспалительные цитокины, такие, как IFN- γ и TNF- α [58, 59, 61]. Похожий эффект наблюдали и в случае дендритных клеток. Сокультивирование ДК человека или мыши с МСК приводило к тому, что созревание ДК, проявляющееся в экспрессии на поверхности клеток молекул главного комплекса гистосовместимости, способности процессировать и представлять белковый антиген в виде пептидов CD4 и CD8 Т-клеткам, было снижено по сравнению с контрольными сокультурами [60, 62, 63]. Эффект состоял также в снижении уровня костимуляторных молекул, необходимых для продуктивной презентации антигенов Т-клеткам. Кроме того, МСК негативно влияют на активацию других видов иммунных клеток в культуре, в частности NK [64, 65] и В-клеток [57, 66, 67]. В случае В-клеток наблюдают замедление деления и секреции иммуноглобули-

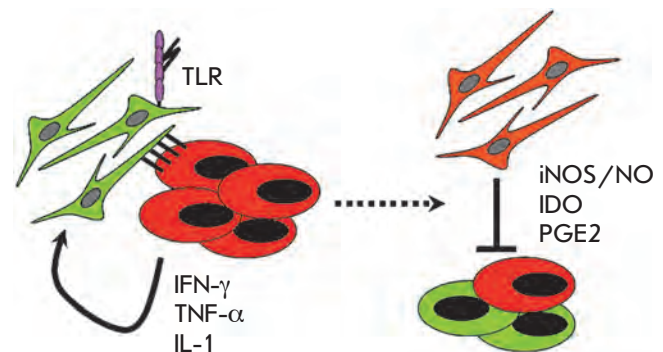


Рис. 2. Схематическое представление ключевых факторов, стимулирующих иммуносупрессорные свойства МСК (слева), и растворимых медиаторов негативного влияния МСК на функцию Т-клеток (справа).

нов разных типов (IgA, IgM, IgG), а также снижение экспрессии рецепторов хемокинов (CXCR4, CXCR5, CXCL12), выражающееся в угнетении хемотаксиса клеток [57, 64]. Набор факторов, секретируемых МСК, негативно влияет на продукцию антител плазматическими клетками за счет действия активных лигандов CCL2 и CCL7, которые образуются в результате активности матриксных металлопротеиназ, выделяемых МСК [65] (рис. 3).

Влияние МСК на иммунные клетки в ранних работах определяли в культуре мононуклеаров крови, активированных путем предварительной инкубации с антителами к Т-клеточному рецептору либо с неспецифическими активаторами иммунного ответа (гемагглютинин, суперантигены, LPS) [57–60]. В таких тестах Т-клетки – это самая удобная для изучения популяция клеток, так как это – наиболее многочисленная и лучше всего охарактеризованная фракция клеток иммунной системы. Именно поэтому механизм влияния МСК на Т-клетки довольно хорошо изучен. Из экспериментов по влиянию МСК на активацию и эффекторную функцию Т-клеток установлено, что иммуносупрессорные свойства присущи только МСК, которые предварительно инкубировали с активированными Т-клетками [68] (рис. 2). Более того, инкубация МСК с индивидуальными очищенными провоспалительными цитокинами, например с IFN- γ , приводит к появлению у МСК (и супернатантов культур МСК) иммуносупрессорных свойств [69–72]. Это свидетельствует о том, что цитокины стимулируют МСК, и такая «активация» лежит в основе проявления ими иммуносупрессорных свойств (рис. 2).

АКТИВАЦИЯ ИММУНОСУПРЕССОРНЫХ СВОЙСТВ МСК ТРЕБУЕТ ИХ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ СТИМУЛЯЦИИ ПРОВСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЦИТОКИНАМИ

Рецепция каких цитокинов необходима для проявления МСК иммуносупрессорных свойств? Ответ на этот вопрос получен при помощи блокирующих антител к различным провоспалительным цитокинам в сокультурах МСК и активированных Т-клеток [69–72]. Использование этого подхода показало, что нейтрализация IFN- γ , снижение уровня рецептора IFN- γ путем сверхэкспрессии в МСК микроРНК, интерферирующих с мРНК одной из его субъединиц, а также использование МСК из мышей с нокаутом гена рецептора IFN- γ приводит к значительному снижению способности таких модифицированных МСК угнетать активацию Т-клеток в культуре [69]. Альтернативный путь активации МСК провоспалительными цитокинами требует участия сразу нескольких белков, в частности IFN- γ , TNF- α , IL-1 β . Участие этих цитокинов подтверждено в опытах *in vitro* с использованием антител, блокирующих соответствующие

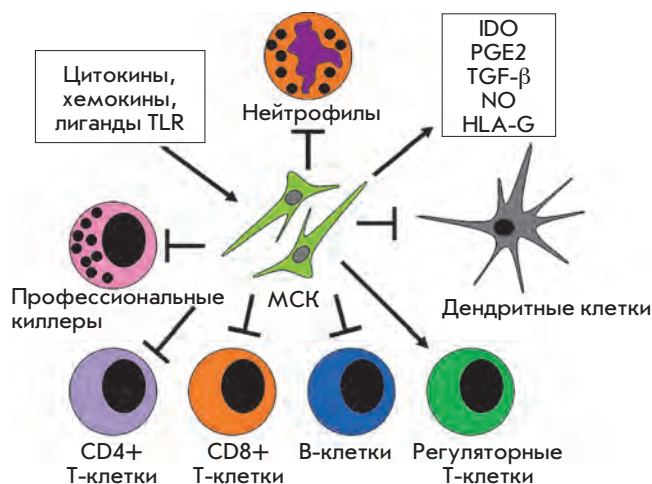


Рис. 3. Спектр клеточных мишеней иммуносупрессии МСК. В рамке слева представлены факторы – индукторы иммуносупрессии МСК, справа – основные молекулы – медиаторы супрессии. МСК вызывают апоптоз у нейтрофилов, подавляют созревание дендритных клеток и продукцию ими провоспалительных цитокинов (IFN- γ , IL-12, TNF- α), замедляют деление и дифференцировку В-клеток в плазматические клетки, снижают продукцию ими иммуноглобулинов, угнетают деление NK, CD4+ и CD8+ Т-клеток, продукцию ими цитокинов и формирование цитотоксических CD8 Т-клеток. В то же время МСК стимулируют выработку IL-10 дендритными и регуляторными Т-клетками и способствуют экспансии Т-клеток. Стрелками показано положительное влияние МСК на функцию клеток, стрелками с тупыми концами – негативное влияние.

цитокины. Любопытно, что при этом блокада одного или попарно двух разных цитокинов из этой тройки незначительно снижала иммуносупрессорные свойства МСК в культуре [69]. Только одновременная блокада всех трех факторов приводила к выраженному физиологическому эффекту.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИММУНОРЕГУЛЯЦИИ КЛЕТКАМИ МСК

Изучение различий на молекулярном уровне между «обычными» и активированными МСК показало, что под действием цитокинов изменяется экспрессия целого ряда генов, которые могут отвечать за механизмы супрессии (рис. 2). В частности, под действием провоспалительных цитокинов происходит увеличение уровня индоламин-2,3-дезоксигеназы (IDO) в МСК [73]. Ранее было показано, что IDO является негативным регулятором функции Т-клеток. Считается, что секретируемая форма этого фермента снижает концентрацию свободного триптофана, большие количества которого необходимы быстро делящимся

активированным Т-клеткам [74]. Более того, катаболит триптофана – кинуренин, который является продуктом ферментативной активности IDO, тоже подавляет активацию Т-клеток [74]. Эксперименты с использованием синтетического ингибитора IDO или МСК из мышей с дефицитом IDO подтверждают важную роль этого белка в иммуносупрессии МСК [69, 74, 75].

Альтернативный путь активации МСК одновременно IFN- γ , TNF- α и IL-1 β также установлен на молекулярном уровне и главным образом заключается в значительном увеличении экспрессии гена *iNOS* (индуцибельной NO-синтазы) МСК. *iNOS* – это фермент, который отвечает за продукцию клетками NO в стрессовых условиях. Уровень транскрипции гена *iNOS* в нормальных условиях крайне низок. Известно, что в целом ряде клеток иммунной системы уровень *iNOS* значительно возрастает под действием цитокинов и других стрессовых воздействий [76]. Увеличение уровня *iNOS* МСК при активации может свидетельствовать об увеличении продукции NO этими клетками. Действие NO на стимулированные Т-клетки, согласно существующим данным, заключается в подавлении их деления, секреции цитокинов, а также, по-видимому, увеличении уровня гибели клеток. Использование ингибиторов, а также МСК, дефицитных по *iNOS*, показало, что активность *iNOS* или NO необходима для проявления иммуносупрессорных свойств МСК [76].

Интересно, что различные механизмы иммуносупрессии, согласно полученным недавно данным, по всей видимости, могут зависеть от наличия/отсутствия контактов между клетками. В случае контактного сокультивирования МСК и активированных Т-клеток наблюдали преимущественно увеличение в системе уровня TNF- α , но не IFN- γ . Соответственно иммуносупрессия при этом преимущественно зависела от *iNOS*. С другой стороны, использование бесконтактной модели приводило к реализации альтернативной программы, требующей выработки IFN- γ и соответственно использующей для иммуносупрессии продукцию IDO [69].

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ИММУНОСУПРЕССИИ МСК

Механизмы, с помощью которых МСК нейтрализуют активацию клеток иммунной системы, не ограничиваются только секрецией IDO и NO. Показано, что МСК постоянно экспрессируют индуцируемый фермент – циклооксигеназу-2 (COX-2), который отвечает за синтез простагландина E2 (PGE2) из арахидоновой кислоты. PGE2 – это липид, негативно влияющий на активацию Т-клеток. Инкубация МСК в присутствии лимфоцитов крови приводит к суще-

ственному увеличению уровня PGE2 в культуре [59, 75, 77, 78]. Это может свидетельствовать о взаимодействии МСК и Т-клеток, которое приводит к увеличению синтеза иммуносупрессорных молекул. Инкубация МСК в присутствии IFN- γ и TNF- α приводит к всплеску уровня экспрессии COX-2 и секреции PGE2, свидетельствуя о том, что уровень воспаления может контролировать выработку этой регуляторной молекулы [77]. Добавление в смешанную культуру Т-клеток и МСК ингибиторов PGE2 значительно снизило уровень иммуносупрессии [77, 78].

Показано, что МСК при инкубации с лимфоцитами или провоспалительными цитокинами секретируют повышенный уровень IL-10 и TGF- β – противовоспалительных цитокинов, которые негативно влияют на активацию и деление Т-клеток. Блокирующие антитела к этим факторам частично снимают иммуносупрессорный эффект, наблюдаемый в отсутствие антител *in vitro* [79]. Считается, что выработка IL-10 и TGF- β МСК при активации не столько прямо влияет на Т-клетки, сколько ускоряет экспансию регуляторных Т-клеток, минорной популяции CD4-лимфоцитов, мощных негативных регуляторов иммунного ответа [80].

Еще один растворимый фактор, возможно, участвующий в регуляции иммунного ответа МСК – это неклассическая молекула антигена комплекса гистосовместимости I класса, G5 (HLA-G5). Молекулы этого типа играют важную роль в установлении иммунологической толерантности при беременности. МСК секретируют растворимую изоформу HLA-G5 в условиях контактов между МСК и Т-клетками в смешанных гетерологичных культурах. HLA-G5 супрессирует пролиферацию Т-клеток и угнетает цитотоксические свойства NK-клеток, одновременно ускоряя деление регуляторных Т-клеток [65].

Недавно было установлено, что МСК экспрессируют набор Толл-подобных рецепторов (Toll-like receptors – TLR), которые отвечают за узнавание молекулярных мотивов различных патогенов и активацию клеток врожденного иммунитета [81]. МСК в культуре экспрессируют целый набор TLR (TLR1–TLR8) [82]. Стимуляция МСК путем инкубации с лигандами различных TLR (таких, как, например, LPS) приводит к транслокации фактора транскрипции NF- κ B в ядро и активации программы, которая в подавляющем большинстве случаев одновременно повышает иммуносупрессорные свойства МСК и увеличивает секрецию IL-6 [83, 84]. Увеличение активности МСК при лигировании TLR несложно объяснить тем, что пути передачи сигнала от рецептора IFN- γ и TLR пересекаются [83, 84]. Таким образом, эффект от лигирования TLR может приводить (подобно IFN- γ) к увеличению секреции PGE2 и IDO [81].

Приведенные выше механизмы активации МСК и иммуносупрессии опосредованы растворимыми факторами. В то же время описаны механизмы подавления иммунного ответа МСК, которые зависят от межклеточных контактов. Один из наиболее изученных примеров – это молекулы клеточной адгезии ICAM-1 и VCAM-1 [85, 86], уровень которых на поверхности МСК значительно возрастает в присутствии факторов воспаления. Эти молекулы отвечают за направленную миграцию лейкоцитов и их прохождение через стенки кровеносных сосудов. Показано, что увеличение экспрессии ICAM-1 и VCAM-1 МСК – это один из возможных механизмов иммуносупрессии, так как использование блокирующих антител к этим молекулам снижало уровень иммуносупрессии МСК в культуре [85]. Результаты экспериментов в культуре подтверждаются данными опытов *in vivo*, в которых для иммуносупрессии использовали МСК с нокаутом ICAM-1 и VCAM-1 [85]. К сожалению, результаты этих экспериментов нельзя интерпретировать однозначно, так как неспецифический вклад генетического дефекта в клеточную подвижность невозможно отделить от непосредственного вклада ICAM-1 и VCAM-1 в подавление функции Т-клеток.

ИММУНОСУПРЕССИЯ МСК *IN VIVO*

Способность МСК супрессировать иммунный ответ в контексте всего организма *in vivo* впервые обнаружили в экспериментах по пересадке кожи у обезьян. Введение МСК замедляло развитие иммунологической реакции на трансплантат [68]. Кроме того, оказалось, что МСК можно использовать при тяжелых случаях реакции GVHD (реакция трансплантат против хозяина). Введение МСК мышам, у которых наблюдалось развитие летальной реакции GVHD после пересадки костного мозга, увеличивало их выживаемость [87, 88]. Механизмы, отвечающие за улучшение клинической картины, не были определены достоверно и были частично охарактеризованы в дополнительных опытах с использованием животных. Так, показано, что Т-клетки с дефицитом IFN- γ невосприимчивы к супрессии со стороны МСК в модели GVHD. В этой системе преактивация МСК IFN- γ приводила к пятикратному увеличению иммуносупрессорных свойств МСК по сравнению с контрольными клетками [87–90].

Иммуносупрессорный эффект МСК было бы заманчиво использовать при таких аутоиммунных состояниях человека, как сахарный диабет, артрит, рассеянный склероз, системная красная волчанка. В мышинной модели экспериментального аутоиммунного энцефалита (ЕАЕ – experimental autoimmune encephalitis), аналога рассеянного склероза, системное введение МСК заболевшим мышам предот-

вращало развитие воспалительных инфильтратов (Т-клеток, В-клеток и макрофагов) и процесс демиелинизации в ЦНС, а также снижало ответ Т-клеток на MOG (пептиды, производные миелина) [91]. Среда, в которой растили МСК, в условиях ЕАЕ угнетала активацию CD4⁺ Т-клеток, снижая фосфорилирование в них белка STAT-3 [92]. Инфильтрация CD4 Т-клеток в спинной мозг мышей, получивших МСК, была снижена, как и уровень провоспалительных цитокинов TNF- α и IL-17 [91]. В другой работе перенос МСК из мышей линии Balb/c реципиентам линии B57BL/6 с выраженными симптомами ЕАЕ приводил к смягчению симптомов, которое выражалось в снижении инфильтрации иммунных клеток в ЦНС и снижении уровня цитокинов IFN- γ и IL-17 в крови [93].

В мышинной модели индуцированного коллагеном артрита системное введение МСК из жировой ткани человека значительно снижало вероятность развития и тяжесть заболевания. При этом уровень воспаления и иммунного ответа по Th1-типу был значительно снижен. Инъекция МСК приводила к подавлению экспансии антиген-специфических клеток, синтезирующих IFN- γ и IL-17 [94]. Наряду с этим наблюдали увеличение секреции противовоспалительного цитокина IL-10 в лимфатических узлах, прилегающих к воспаленным суставам, и увеличение числа регуляторных Т-клеток с фенотипом CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ [94]. *In vitro* МСК подавляли активацию и деление Т-клеток, полученных от больных ревматоидным артритом, в ответ на коллаген, усиливая секрецию Т-клетками IL-10 [95]. Более того, МСК стимулировали образование регуляторных Т-клеток, способных супрессировать ответ Т-клеток на коллаген и снижать уровень ферментов, разрушающих межклеточный матрикс, в синовиальных клетках [95]. Однако результаты независимого исследования, выполненного с использованием специфической субпопуляции МСК, экспрессирующей маркер Flk-1, показали, что МСК, напротив, способны усиливать проявления артрита, повышая секрецию IL-6 и дифференцировку по типу Th17 [96].

В модели острой почечной недостаточности введение МСК восстанавливало функцию почек, снижая уровень провоспалительных цитокинов (IL-1 β , TNF- α , IFN- γ) [97]. Участие МСК в контроле развития фиброза изучено в модели хронической почечной недостаточности у крыс. Наряду со снижением уровня IL-6 и TNF- α введение МСК приводило к уменьшению фиброзных изменений и восстановлению функции почек. Кроме того, отмечали увеличение уровня противовоспалительных цитокинов [98]. В модели экспериментального фиброза легких МСК снижали уровень легочного воспаления, вероятно, за счет секреции антагониста рецептора IL-1 [99].

При аутоиммунном диабете типа 1 аллогенный перенос МСК предиабетическим мышам NOD замедлял развитие болезни, способствуя усилению иммунного ответа типа 2 [72, 99, 100]. Предотвращение разрушения β -клеток и последующего развития диабета достигалось при однократном внутривенном введении МСК, причем этот эффект можно связать с индукцией регуляторных Т-клеток [99, 100]. МСК из костного мозга, размноженные в культуре, при введении крысам с индуцированным стрептозотоцином повреждением β -клеток мигрировали в поджелудочную железу, увеличивали уровень секреции инсулина и способствовали нормализации уровня сахара в крови [101]. Более того, отмечено увеличение уровня PDX-1 и инсулина в островках Лангерганса, что свидетельствует об активации β -клеток у мышей, получавших МСК [101].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итог, хочется отметить, что в настоящее время получены обнадеживающие данные, касающиеся перспектив использования МСК и препаратов, основанных на секретируемых ими факторах, в терапии аутоиммунных заболеваний и регенера-

тивной медицине. Приведенные материалы убедительно доказывают, что иммуносупрессорный потенциал МСК можно усилить путем инкубации этих клеток с факторами воспаления и цитокинами. Кроме того, существует возможность получения генетически модифицированных МСК с улучшенными иммуносупрессорными характеристиками. Тем не менее следует помнить, что невозможность строгого контроля состояния МСК в культуре и недостаточно доказанная генетическая стабильность этих клеток сдерживают внедрение клеточных технологий на основе МСК. Еще один немаловажный фактор – накопление данных о способности МСК поддерживать и ускорять рост опухолей за счет секреции факторов, положительно влияющих на регенерацию тканей [102]. ●

Работа выполнена в рамках Госконтракта (№ 16.512.11.2088) «Исследование регуляции взаимодействий мезенхимальных стромальных клеток жировой ткани и иммунных клеток in vitro с целью предотвращения аутоиммунных заболеваний» Министерства образования и науки Российской Федерации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Luria E.A., Panasyuk A.F., Friedenstein A.Y. // Transfusion. 1971. V. 11. P. 345–349.
- Kassem M. // Cloning Stem Cells. 2004. V. 6. P. 369–374.
- da Silva Meirelles L., Chagastelles P.C., Nardi N.B. // J. Cell Sci. 2006. V. 119. P. 2204–2213.
- Kastrinaki M.C., Andreakou I., Charbord P., Papadaki H.A. // Tissue Eng. Part C Methods. 2008. V. 14. P. 333–339.
- Basciano L., Nemos C., Foliguet B., de Isla N., de Carvalho M., Tran N., Dalloul A. // BMC Cell Biol. 2011. V. 30. P. 12.
- Zimmermann S., Voss M., Kaiser S., Kapp U., Waller C.F., Martens U.M. // Leukemia. 2003. V. 17. P. 1146–1149.
- Tsai C.C., Chen C.L., Liu H.C., Lee Y.T., Wang H.W., Hou L.T., Hung S.C. // J. Biomed. Sci. 2010. V. 17. P. 74.
- Haniffa M.A., Collin M.P., Buckley C.D., Dazzi F. // Haematologica. 2009. V. 94. P. 258–263.
- Feng J., Mantesso A., De Bari C., Nishiyama A., Sharpe P.T. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2011. V. 108. P. 6503–6508.
- Augello A., Kurth T.B., De Bari C. // Eur. Cell Mater. 2010. V. 20. P. 121–133.
- Jang K.S., Lee K.S., Yang S.H., Jeun S.S. // J. Korean Neurosurg. Soc. 2010. V. 48. P. 391–398.
- Zimmermann C.E., Gierloff M., Hedderich J., Acil Y., Wiltfang J., Terheyden H. // Tissue Eng. Part A. 2011. V. 17. P. 1147–1156.
- Wei N., Gong P., Liao D., Yang X., Li X., Liu Y., Yuan Q., Tan Z. // Cytotherapy. 2010. V. 12. P. 514–521.
- Westrich J., Yaeger P., He C., Stewart J., Chen R., Selezniuk G., Larson S., Wentworth B., O'Callaghan M., Wadsworth S., et al. // Cell Transplant. 2010. V. 19. P. 937–948.
- Sordi V. // Transplantation. 2009. V. 15. (9 Suppl). P. 42–45.
- Lau T.T., Wang D.A. // Expert. Opin. Biol. Ther. 2011. V. 11. P. 189–197.
- Ponte A.L., Marais E., Gallay N., Langonné A., Delorme B., Héroult O., Charbord P., Domenech J. // Stem Cells. 2007. V. 25. P. 1737–1745.
- Dwyer R.M., Potter-Beirne S.M., Harrington K.A., Lowery A.J., Hennessy E., Murphy J.M., Barry F.P., O'Brien T., Kerin M.J. // Clin. Cancer Res. 2007. V. 13. P. 5020–5027.
- Wynn R.F., Hart C.A., Corradi-Perini C., O'Neill L., Evans C.A., Wraith J.E., Fairbairn L.J., Bellantuono I. // Blood. 2004. V. 104. P. 2643–2645.
- Bhakta S., Hong P., Koc O. // Cardiovasc. Revasc. Med. 2006. V. 7. P. 19–24.
- Theiss H.D., Vallaster M., Rischpler C., Krieg L., Zaruba M.M., Brunner S., Vanchev Y., Fischer R., Gröbner M., Huber B., et al. // Stem Cell Res. 2011. V. 7. P. 244–255.
- Mohty M., Ho A.D. // Exp. Hematol. 2011. V. 39. P. 723–729.
- Meyerrose T., Olson S., Pontow S., Kalomoiris S., Jung Y., Annett G., Bauer G., Nolte J.A. // Adv. Drug Deliv. Rev. 2010. V. 62. P. 1167–1174.
- Schneider R.K., Anraths J., Kramann R., Bornemann J., Bovi M., Knüchel R., Neuss S. // Biomaterials. 2010. V. 31. P. 7948–7959.
- Kasper G., Glaeser J.D., Geissler S., Ode A., Tuischer J., Matziolis G., Perka C., Duda G.N. // Stem Cells. 2007. V. 25. P. 1985–1994.
- Tapp H., Deepe R., Ingram J.A., Hanley E.N. Jr., Gruber H.E. // Arthritis Res. Ther. 2008. V. 10. P. R89.
- Joo S.Y., Cho K.A., Jung Y.J., Kim H.S., Park S.Y., Choi Y.B., Hong K.M., Woo S.Y., Seoh J.Y., Cho S.J., et al. // Cytotherapy. 2010. V. 12. P. 361–370.

28. Breitbart E.A., Meade S., Azad V., Yeh S., Al-Zube L., Lee Y.S., Benevenia J., Arinze T.L., Lin S.S. // *J. Orthop. Res.* 2010. V. 28. P. 942–949.
29. Battiwalla M., Hematti P. // *Cytotherapy.* 2009. V. 11. P. 503–515.
30. Park K.S., Kim Y.S., Kim J.H., Choi B., Kim S.H., Tan A.H., Lee M.S., Lee M.K., Kwon C.H., Joh J.W., et al. // *Transplantation.* 2010. V. 89. P. 509–517.
31. Kumar S., Wan C., Ramaswamy G., Clemens T.L., Ponnazhagan S. // *Mol. Ther.* 2010. V. 18. P. 1026–1034.
32. Tang J., Wang J., Zheng F., Kong X., Guo L., Yang J., Zhang L., Huang Y. // *Mol. Cell. Biochem.* 2010. V. 339. P. 107–118.
33. Trzaska K.A., King C.C., Li K.Y., Kuzhikandathil E.V., Nowycky M.C., Ye J.H., Rameshwar P. // *J. Neurochem.* 2009. V. 110. P. 1058–1069.
34. Yang J., Wu H., Hu N., Gu X., Ding F. // *Neurochem. Res.* 2009. V. 34. P. 1685–1694.
35. Neuhuber B., Timothy Himes B., Shumsky J.S., Gallo G., Fischer I. // *Brain Res.* 2005. V. 1035. P. 73–85.
36. Burastero G., Scarfi S., Ferraris C., Fresia C., Sessarego N., Fruscione F., Monetti F., Scarfó F., Schupbach P., Podestà M., et al. // *Bone.* 2010. V. 47. P. 117–126.
37. Granero-Moltó F., Weis J.A., Miga M.I., Landis B., Myers T.J., O'Rear L., Longobardi L., Jansen E.D., Mortlock D.P., Spagnoli A. // *Stem Cells.* 2009. V. 27. P. 1887–1898.
38. Osyczka A.M., Leboy P.S. // *Endocrinology.* 2005. V. 146. P. 3428–3437.
39. Ioannou A., Dalle Lucca J., Tsokos G.C. // *Clin. Immunol.* 2011. V. 141. P. 3–14.
40. Maskrey B.H., Megson I.L., Whitfield P.D., Rossi A.G. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2011. V. 31. P. 1001–1006.
41. Ratajczak M.Z., Kim C.H., Wojakowski W., Janowska-Wieczorek A., Kucia M., Ratajczak J. // *Leukemia.* 2010. V. 24. P. 1667–1675.
42. Iadecola C., Anrather J. // *Nat. Med.* 2011. V. 17. P. 796–808.
43. Witte E., Witte K., Warszawska K., Sabat R., Wolk K. // *Cytokine Growth Factor Rev.* 2010. V. 21. P. 365–379.
44. Rouse B.T., Sehrawat S. // *Nat. Rev. Immunol.* 2010. V. 10. P. 514–526.
45. Konkel J.E., Chen W. // *Trends Mol. Med.* 2011. V. 17. P. 668–676.
46. Hoyne G.F. // *Clin. Dev. Immunol.* 2011. V. 2011. P. 2949–2968.
47. Nurieva R.I., Liu X., Dong C. // *Immunol. Rev.* 2011. V. 241. P. 133–144.
48. Torchinsky M.B., Garaude J., Blander J.M. // *Curr. Opin. Immunol.* 2010. V. 22. P. 55–62.
49. Lei B., Hitomi H., Mori T., Nagai Y., Deguchi K., Mori H., Masaki T., Nakano D., Kobori H., Kitaura Y., et al. // *J. Pharmacol. Sci.* 2011. V. 117. P. 98–105.
50. Gong K., Chen Y.F., Li P., Lucas J.A., Hage F.G., Yang Q., Nozell S.E., Oparil S., Xing D. // *J. Hypertens.* 2011. V. 29. P. 1810–1819.
51. Umemoto E., Hayasaka H., Bai Z., Cai L., Yonekura S., Peng X., Takeda A., Tohya K., Miyasaka M. // *Crit. Rev. Immunol.* 2011. V. 31. P. 147–169.
52. Marigo I., Dazzi F. // *Semin. Immunopathol.* 2011. V. 33. P. 593–602.
53. Devine S.M., Cobbs C., Jennings M., Bartholomew A., Hoffman R. // *Blood.* 2003. V. 101. P. 2999–3001.
54. Krampera M., Glennie S., Dyson J., Scott D., Laylor R., Simpson E., Dazzi F. // *Blood.* 2003. V. 101. P. 3722–3729.
55. Liu H., Kemeny D.M., Heng B.C., Ouyang H.W., Melendez A.J., Cao T. // *J. Immunol.* 2006. V. 176. P. 2864–2871.
56. Romieu-Mourez R., François M., Boivin M.N., Stagg J., Galipeau J. // *J. Immunol.* 2007. V. 179. P. 1549–1558.
57. Corcione A., Benvenuto F., Ferretti E., Giunti D., Cappiello V., Cazzanti F., Risso M., Gualandi F., Mancardi G.L., Pistoia V., et al. // *Blood.* 2006. V. 107. P. 367–372.
58. Di Nicola M., Carlo-Stella C., Magni M., Milanese M., Longoni P.D., Matteucci P., Grisanti S., Gianni A.M. // *Blood.* 2002. V. 99. P. 3838–3843.
59. Aggarwal S., Pittenger M.F. // *Blood.* 2005. V. 105. P. 1815–1822.
60. Zhang W., Ge W., Li C., You S., Liao L., Han Q., Deng W., Zhao R.C. // *Stem Cells Dev.* 2004. V. 13. P. 263–271.
61. Le Blanc K., Rasmusson I., Götherström C., Seidel C., Sundberg B., Sundin M., Rosendahl K., Tammik C., Ringdén O. // *Scand. J. Immunol.* 2004. V. 60. P. 307–315.
62. Nauta A.J., Kruisselbrink A.B., Lurvink E., Willemze R., Fibbe W.E. // *J. Immunol.* 2006. V. 177. P. 2080–2087.
63. Jiang X.X., Zhang Y., Liu B., Zhang S.X., Wu Y., Yu X.D., Mao N. // *Blood.* 2005. V. 105. P. 4120–4126.
64. Sotiropoulou P.A., Perez S.A., Gritzapis A.D., Baxevas C.N., Papamichail M. // *Stem Cells.* 2006. V. 24. P. 74–85.
65. Selmani Z., Naji A., Zidi I., Favier B., Gaiffe E., Obert L., Borg C., Saas P., Tiberghien P., Rouas-Freiss N., et al. // *Stem Cells.* 2008. V. 26. P. 212–222.
66. Rasmusson I., Le Blanc K., Sundberg B., Ringdén O. // *Scand. J. Immunol.* 2007. V. 65. P. 336–343.
67. Rafei M., Hsieh J., Fortier S., Li M., Yuan S., Birman E., Forner K., Boivin M.N., Doody K., Tremblay M., et al. // *Blood.* 2008. V. 112. P. 4991–4998.
68. Bartholomew A., Sturgeon C., Siatskas M., Ferrer K., McIntosh K., Patil S., Hardy W., Devine S., Ucker D., Deans R., et al. // *Exp. Hematol.* 2002. V. 30. P. 42–48.
69. Hemeda H., Jakob M., Ludwig A.K., Giebel B., Lang S., Brandau S. // *Stem Cells Dev.* 2010. V. 19. P. 693–706.
70. Ryan J.M., Barry F., Murphy J.M., Mahon B.P. // *Clin. Exp. Immunol.* 2007. V. 149. P. 353–363.
71. Du Y.Y., Zhou S.H., Zhou T., Su H., Pan H.W., Du W.H., Liu B., Liu Q.M. // *Cytotherapy.* 2008. V. 10. P. 469–478.
72. Ortiz L.A., Dutreil M., Fattman C., Pandey A.C., Torres G., Go K., Phinney D.G. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. V. 104. P. 11002–11007.
73. Meisel R., Zibert A., Laryea M., Göbel U., Däubener W., Dilloo D. // *Blood.* 2004. V. 103. P. 4619–4621.
74. Chen W. // *Nat. Immunol.* 2011. V. 12. P. 809–811.
75. Kang J.W., Kang K.S., Koo H.C., Park J.R., Choi E.W., Park Y.H. // *Stem Cells Dev.* 2008. V. 17. P. 681–693.
76. Ren G., Zhang L., Zhao X., Xu G., Zhang Y., Roberts A.I., Zhao R.C., Shi Y. // *Cell Stem Cell.* 2008. V. 2. P. 141–150.
77. Chen K., Wang D., Du W.T., Han Z.B., Ren H., Chi Y., Yang S.G., Zhu D., Bayard F., Han Z.C. // *Clin. Immunol.* 2010. V. 135. P. 448–458.
78. Spaggiari G.M., Abdelrazik H., Becchetti F., Moretta L. // *Blood.* 2009. V. 113. P. 6576–6583.
79. Nasef A., Chapel A., Mazurier C., Bouchet S., Lopez M., Mathieu N., Sensebe L., Zhang Y., Gorin N.C., Thierry D., et al. // *Gene Expr.* 2007. V. 13. P. 217–226.
80. Di Ianni M., Del Papa B., De Ianni M., Moretti L., Bonifacio E., Cecchini D., Sportoletti P., Falzetti F., Tabilio A. // *Exp. Hematol.* 2008. V. 36. P. 309–318.
81. Pevsner-Fischer M., Morad V., Cohen-Sfady M., Rousso-Noori L., Zanin-Zhorov A., Cohen S., Cohen I.R., Zipori D. // *Blood.* 2007. V. 109. P. 1422–1432.
82. Raicevic G., Najar M., Stamatopoulos B., De Bruyn C., Meuleman N., Bron D., Toungouz M., Lagneaux L. // *Cell. Immunol.* 2011. V. 270. P. 207–216.
83. Lei J., Wang Z., Hui D., Yu W., Zhou D., Xia W., Chen C., Zhang Q., Wang Z., Zhang Q., et al. // *Cell. Immunol.* 2011. V. 271. P. 147–156.

84. Raicevic G., Rouas R., Najar M., Stordeur P., Boufker H.I., Bron D., Martiat P., Goldman M., Nevešignsky M.T., Lagneaux L. // *Hum. Immunol.* 2010. V. 71. P. 235–244.
85. Ren G., Zhao X., Zhang L., Zhang J., L'Huillier A., Ling W., Roberts A.I., Le A.D., Shi S., Shao C., et al. // *J. Immunol.* 2010. V. 184. P. 2321–2328.
86. Najar M., Raicevic G., Id Boufker H., Stamatopoulos B., De Bruyn C., Meuleman N., Bron D., Toungouz M., Lagneaux L. // *Exp. Hematol.* 2010. V. 38. P. 922–932.
87. Le Blanc K., Rasmuson I., Sundberg B., Götherström C., Hassan M., Uzunel M., Ringdén O. // *Lancet.* 2004. V. 363. P. 1439–1441.
88. Le Blanc K., Frassoni F., Ball L., Locatelli F., Roelofs H., Lewis I., Lanino E., Sundberg B., Bernardo M.E., Remberger M., et al. // *Lancet.* 2008. V. 371. P. 1579–1586.
89. Yañez R., Lamana M.L., García-Castro J., Colmenero I., Ramírez M., Bueren J.A. // *Stem Cells.* 2006. V. 24. P. 2582–2591.
90. Polchert D., Sobinsky J., Douglas G., Kidd M., Moadsiri A., Reina E., Genrich K., Mehrotra S., Setty S., Smith B., et al. // *Eur. J. Immunol.* 2008. V. 38. P. 1745–1755.
91. Zappia E., Casazza S., Pedemonte E., Benvenuto F., Bonanni I., Gerdoni E., Giunti D., Ceravolo A., Cazzanti F., Frassoni F., et al. // *Blood.* 2005. V. 106. P. 1755–1761.
92. Rafei M., Campeau P.M., Aguilar-Mahecha A., Buchanan M., Williams P., Birman E., Yuan S., Young Y.K., Boivin M.N., Forner K., et al. // *J. Immunol.* 2009. V. 182. P. 5994–6002.
93. Rafei M., Birman E., Forner K., Galipeau J. // *Mol. Ther.* 2009. V. 17. P. 1799–1803.
94. González M.A., Gonzalez-Rey E., Rico L., Büscher D., Delgado M. // *Arthritis Rheum.* 2009. V. 60. P. 1006–1019.
95. Gonzalez-Rey E., Gonzalez M.A., Varela N., O'Valle F., Hernandez-Cortes P., Rico L., Büscher D., Delgado M. // *Ann. Rheum. Dis.* 2010. V. 69. P. 241–248.
96. Chen B., Hu J., Liao L., Sun Z., Han Q., Song Z., Zhao R.C. // *Clin. Exp. Immunol.* 2010. V. 159. P. 292–302.
97. Semedo P., Palasio C.G., Oliveira C.D., Feitoza C.Q., Goncalves G.M., Cenedeze M.A., Wang P.M., Teixeira V.P., Reis M.A., Pacheco-Silva A., et al. // *Int. Immunopharmacol.* 2009. V. 9. P. 677–682.
98. Semedo P., Correa-Costa M., Antonio Cenedeze M., Maria Avancini Costa Malheiros D., Antonia dos Reis M., Shimizu M.H., Seguro A.C., Pacheco-Silva A., Saraiva Camara N.O. // *Stem Cells.* 2009. V. 27. P. 3063–3073.
99. Fiorina P., Jurewicz M., Augello A., Vergani A., Dada S., La Rosa S., Selig M., Godwin J., Law K., Placidi C., et al. // *J. Immunol.* 2009. V. 183. P. 993–1004.
100. Madec A.M., Mallone R., Afonso G., Abou Mrad E., Mesnier A., Eljaafari A., Thivolet C. // *Diabetologia.* 2009. V. 52. P. 1391–1399.
101. Boumaza I., Srinivasan S., Witt W.T., Feghali-Bostwick C., Dai Y., Garcia-Ocana A., Feili-Hariri M. // *J. Autoimmun.* 2009. V. 32. P. 33–42.
102. Tsukamoto S., Honoki K., Fujii H., Tohma Y., Kido A., Mori T., Tsujiuchi T., Tanaka Y. // *Int. J. Oncol.* 2012. V. 40. P. 163–169.