

М.І. Лісяний

Мезенхімальні стовбурові клітини та їх імунні властивості

Мезенхімальні стовбурові клітини (МСК) наявні в різних тканинах організму, у тому числі і в кістковому мозку, жировій тканині, шкірі. Вони можуть розмножуватися не лише в умовах in vivo, але і in vitro. МСК мають великий регенеративний потенціал і здатні трансформуватися в різні типи тканин організму. Крім того, МСК проявляють виражені імуносупресивні властивості та можуть пригнічувати функції різних імунних клітин, особливо Т-лімфоцитів, кілерних і дендритних клітин. Ці властивості вже використовуються в клініці для гальмування аутоімунних реакцій і реакцій транспланта проти хазяїна. Показано, що імуносупресія МСК досягається завдяки синтезу таких гуморальних факторів, як цитокіни, індоламіно-2, 3-діоксигенази, оксиду азоту тощо. У разі використання МСК при інфаркті міокарда у щурів ці клітини трансформуються в міоцити та змінюють свій антигенний профіль, втрачаючи здатність гальмувати імунні реакції, що призводить до їх відторгнення. Ці факти важливі для з'ясування механізму їх дії та використання в клінічній практиці як для імуносупресії, так і клітинної терапії.

Ключові слова: мезенхімальні стовбурові клітини, імуносупресія, цитокіни, HLA-антигени.

Загальна характеристика МСК. Серед нових методів лікування низки складних захворювань чільне місце займає клітинна терапія, яка здатна відновлювати або регенерувати тканини, що змінилися з віком або через хворобу. Зокрема, посилено вивчаються мезенхімальні стовбурові клітини кісткового мозку (МСК) і апробовані при окремих захворюваннях [18, 42, 55]. Фізіологічна роль МСК пов'язана з їх особливою локалізацією в синусоїдальних судинах дорослого кісткового мозку і здійсненні контролю та регуляції його взаємозв'язку з периферичною кров'ю – це своєрідний “охоронець воріт” кісткового мозку, що підтримує його гомеостаз [45]. При штучній трансплантації в організм реципієнта, МСК проявляють і інші функції в залежності від мікрооточення й експресії генів певних антигенів і поверхневих молекул. Однак відсутність оптимальних клінічних протоколів як отримання та стандартизації цих клітин, так

© М.І. Лісяний

і методів застосування є істотним гальмом до широкого їх клінічного застосування. Залишається до кінця не з'ясованим значення таких явищ, як походження та проліферативна активність МСК, їх регенеративно-диференціальний потенціал, імуносупресивна й антигенна здатність, стан органа-мішені, на яку спрямована терапія цих клітин [45]. Велика увага останнім часом приділяється МСК, що виділені з жирової тканини, тобто жировим мезенхімальним стовбуровим клітинам (ЖМСК), які більш доступні для отримання, ніж кістковомозкові МСК [46].

Відомо, що МСК, як і ЖМСК, здатні до самовідтворення, а також до диференціації в різні типи тканин мезенхімального та іншого походження, включаючи остеоцити, хондріоцити, гепатоцити, адипоцити, нейрони, м'язові, епітеліальні клітини [24, 27, 43] в залежності від мікрооточення або факторів диференціювання. Показано, що МСК мають

значну протизапальну та імуномодулювальну дію [3, 9, 38, 39]. Якщо ж диференціальний потенціал МСК залежить від мікрооточення *in vivo* і проявляється не відразу, то імуносупресивна здатність – негайно після застосування, що є підставою для використання МСК при багатьох аутоімунних і запальних захворюваннях. Більше того, їхню імуносупресивну активність відносять до конституційних, а диференційну – до індукованих, набутих властивостей, яка супроводжується синтезом і секрецією різних факторів, активацією ендогенних прогеніторних клітин і їх диференціюванням [9, 63]. Так, МСК широко почали застосовувати для лікування реакції трансплантат проти хазяїна (РТПХ), системного червоного вовчачка (СЧВ), ревматоїдного артриту (РА), розсіяного склерозу (РС), діабету, гіпертиреозу тощо [5, 6, 8, 13, 62, 58, 61, 62]. Сьогодні визначено необхідний мінімум вимог до МСК як кістковомозкового, так і жирового походження, який рекомендується Міжнародним товариством клітинної терапії. Серед них такі: 1) здатність прилипати до пластика; 2) відсутність гемопоетичних маркерів (CD-45, 3,14,11 в, 79а, 19 і HLA-DR); 3) потрібний потенціал мезодермального диференціювання в остеобласти, хондріобласти, адипоцити 4) імуномодулювальна здатність [16]. Крім мезодермальної спрямованості диференціювання, МСК властивий ектодермальний шлях – у нейрони та ендодермальний – у міоцити та гепатоцити [24, 43, 46].

Імунні властивості МСК. Багатьма дослідженнями показаний різнобічний імуномодулювальний вплив МСК на імунну відповідь, а саме: 1. МСК є імунопривілейованими і слабоімуногенними клітинами через низьку експресію молекул головного комплексу гістосумісності (ГКС-1) та таких коstimулювальних молекул, як В7-1 (CD-80), В7-2 (CD-86), CD-40 [16]; 2. МСК секретують багато таких розчинних імуномодулювальних факторів, як інтерлейкін-6 (IL-6), макрофагопригнічувальний фактор [26], які гальмують активізацію і проліферацію В- і

Т-клітин, а також пригнічують диференціацію та дозрівання і функцію дендритних клітин [24, 43]. Крім того, МСК синтезують апоптотичні й антизапальні молекули і тим самим захищають тканини організму від ушкодження [26, 32]. Враховуючи наявність в МСК імуносупресивних властивостей, їх рекомендують застосовувати для гальмування РТПХ при трансплантації кісткового мозку та лікування аутоімунних захворювань [5, 6, 8, 13, 62]. ЖМСК контролюють летальну РТПХ у мишей при введенні спільно з несингенними гемопоетичними клітинами [61]. У мишей МСК гальмували розвиток експериментального аутоімунного енцефаліту (ЕАЕ), коли вводили МСК до його індукції або на початку хвороби [62]. При колагеновому артриті МСК гальмували розвиток важких його наслідків, що пов'язується з пригніченням ними вмісту сироваткових прозапальних цитокінів [13]. МСК блокували розвиток аутоімунного тиреоїдиту і синтез Th-1 цитокінів [8]. Окрім того, МСК пригнічували відторгнення алотрансплантата та покращували виживання пересаженої шкіри [47]. МСК у різних тестах *in vitro* пригнічували проліферативну активність Т- і В-лімфоцитів, функцію дендритних і кілерних клітин [11, 23, 56]. Імуносупресорний механізм дії МСК полягав у прямій взаємодії з клітинами імунної системи [25, 47] і індукції синтезу цитокінів [48]. Водночас аутологічні МСК, які були отримані від пацієнтів з аутоімунною патологією та введені цим самим хворим, не завжди давали позитивний результат і нині немає єдиної думки про їх ефективність [2]. Так, Рарадуки та співавт. [40] показали, що МСК кісткового мозку від хворих на ревматоїдний артрит були ослаблені і погано відновлювали гемопоез, а взяті від хворих з розсіяним склерозом мали також знижені імуносупресивні властивості [40, 41].

Імунорегуляторні цитокіни МСК. Нині уявлення про механізми імуносупресії МСК суперечливі і немає єдиної думки про їх природу. Показано, що вони виділяють ба-

гато таких гуморальних факторів, як ІЛ-10, трансформуючий фактор росту- β (ТФР- β) простагландин Е-2, оксид азоту (NO), індоламід 2,3-діоксигенази (IDO), гепатотропний фактор росту (HGF) [1, 27, 33, 37, 49, 53]. Встановлено, що МСК стимулюють активацію Т-регуляторних супресорних клітин [12, 42, 54]. Така кількість чинників, які виділяються МСК з імуносупресивними властивостями, є результатом досліджень з використанням нестандартних прийомів і методів, а також способів культивування МСК. Кожний одержаний новий факт може по-різному трактуватися в залежності від методу дослідження та особливостей патології. Уточнення конкретних механізмів імуносупресії МСК людини і визначення провідних її чинників надзвичайно важливо для практичного застосування МСК [15, 49]. Водночас, аналізуючи ці досить суперечливі та різні за своєю природою дані, можна вважати, що МСК не є однорідною за складом популяцією клітин, а складається з кількох субпопуляцій клітин, як це характерно для лімфоцитів. Суперечливим є питання про механізм розвитку імуносупресії, його тривалість і роль цитокінів у цьому процесі. Нещодавно було однозначно встановлено, що мишині МСК відрізняються від людських, і їх імуносупресивна активність пов'язана із індукцією запальними цитокінами та продукцією NO [49, 50]. На різних моделях було показано, що запальні цитокіни індукують значну продукцію NO, яка в свою чергу гальмує проліферацію і синтез цитокінів лімфоцитами. Як відомо, NO є лабільною, біоактивною, газоподібною молекулою [57], а також показано, що NO і його похідний азотистий радикал (NO^-) може порушувати функцію багатьох ферментів, рецепторів та іонних каналів мембрани клітин [17]. У цьому зв'язку важливо те, що NO є вкрай нестабільним радикалом, який діє тільки на дуже коротку відстань від клітини, що зумовлює необхідність тісного контакту МСК з лімфоцитами для прояву своєї імуносупресивної дії [49, 50]. Встановлено, що хемотаксис мишачих МСК

– надзвичайно важливий і критичний момент у прояві NO-індукованої супресії [49]. Якщо для мишиних МСК механізм імуносупресії є доведеним за допомогою NO, то у відношенні МСК людини такої ясності немає, оскільки інгібіція активності NO-синтази призводила до втрати імуносупресивних властивостей МСК мишей і не впливала на активність МСК людини, в той час, як блокада синтезу індол 2,3-діоксигенази (IDO), навпаки, інгібувала імуносупресію МСК людини і не впливала на МСК мишей [34]. З IDO як імуносупресивним фактором пов'язують різні імунні стани організму, зокрема толерантність тканин плоду, імунну ізолюваність кристалика, місцеву імуносупресію в злоякісних пухлинах [35, 36]. IDO синтезується за допомогою реакції перетворення триптофану, незамінної амінокислоти, завдяки кіпуреніновому шляху метаболізму. Вважається, що зменшення концентрації триптофану та продукція супресорних триптофанових метаболітів сприяє прояву імуносупресивних властивостей МСК людини. Порівняльні дослідження імуносупресивних властивостей мишиних і людських МСК показали, що для прояву цих властивостей необхідна їх активація прозапальними цитокінами, зокрема γ -інтерфероном і фактором некрозу пухлини α . Ці цитокіни активують МСК, а також стимулюють виділення ними не тільки NO і IDO, але і синтез хемокінів, які викликають міграцію імунних клітин та створюють локальне мікрооточення, необхідне для прояву імуносупресивної дії [17, 49, 50]. Без додаткової стимуляції цитокінами МСК мають слабку імуносупресивну активність *in vitro*. Ці результати дали можливість припустити, що синтез цитокінів і супресивних агентів МСК кісткового мозку людини не є суто конституційною характеристикою цих клітин, а більшою мірою відноситься до індукованих характеристик, які залежать від стимуляції МСК цитокінами [50]. IDO є нормальним фізіологічним ендогенним чинником, що бере участь у формуванні периферичної толерантності та імуносупресії

плода, пухлини тощо [35, 36]. Застосування 1-метил L-триптофану усувало супресивну дію IDO *in vivo* [34], посилювало розвиток аутоімунної патології [22]. Поєднання 1-метил L-триптофану з хіміотерапією дало змогу підвищити ефект у лікуванні пухлин і, навпаки, гіперекспресія IDO гена у клітинах пухлини призводила до супресії імунної системи при її трансплантації [29, 59].

Пряма взаємодія МСК і імунних клітин. Відомо, що МСК експресують CD-90, CD-73 і не експресують антигени класу HLA-I і HLA-II або молекули костимуляції CD-80, 86,40 чи CD-40 протеїн, тому вони не здатні активувати алогенні Т-клітини [63]. Але з іншого боку МСК експресують неklasичні молекули класу ГКГ-I – HLA-G, що мають великий інгібіторний вплив на клітини імунної системи [30, 52, 54]. Так, молекула HLA-G пригнічує різні імунні функції, в тому числі NK і Т-клітинну цитотоксичність [8, 16], алоантигенвикликану проліферацію, дозрівання дендритних клітин [52]. Молекули класу HLA-G експресуються на різних тканинах здорового організму [28]. Спочатку були виявлені на клітинах цитотрофобластів, де вони підтримують толерантність до плоду [57, 28, 11]. Крім того, антигени HLA-G експресуються і при патології, зокрема в пухлинах і на довгоживучих органних трансплантатах [31, 54]. Протеїн HLA-G може експресуватися в різних ізоформах, нині відомо їх декілька: мембранозв'язані HLA-G молекули від HLAG-1 до HLAG-4; розчинні форми від HLAG-5 до HLA-7 [7, 51]. Для цих молекул виявлено 3 види рецепторів на різних типах клітин: кілерний (KIR-2DL-4/CD158a); лейкоцитарний (LILRB1/ILT-2/CD-85J), імуноглобуліноподібні рецептори та (LILRB2/ILT-4/CD-85d) [7, 31, 51]. Показано, що KIR2DL-4-рецептор експресується на NK-клітинах, тоді як ILT-4 – на мієлоїдних клітинах, а ILT-2 на моноцитах і дендритних клітинах, Т- і В-лімфоцитах тощо [10, 26, 48]. Молекули HLA-G були виявлені спочатку на фетальних МСК [25], а пізніше і на

МСК дорослих особин. Так, МСК експресують як мембранні форми, так і секретують HLA-G-білки в живильне середовище при культивуванні, а нейтралізація цих молекул за допомогою антитіл відмінняє їх імуносупресивну дію [54]. Секреція HLA-G-молекул МСК різко посилюється після антигенного стимулу. Одним із ключових чинників, що визначають секрецію МСК HLA-G-молекул, є IL-10, і обробка IL-10-моноцитів різко посилювала виділення розчинної форми – HLA-G-5 [54]. Водночас відомо, що IL-10 є Th-1-інгібіторним цитокином і синтезується Th-2-лімфоцитами, що передбачає наявність певного зв'язку між МСК і Th-2-лімфоцитами [26, 54]. Показано, що HLA-G-5 та IL-10 діють синергічно і доповнюють один одного в реалізації імуносупресивного впливу [54]. Крім імуносупресивного впливу на Т-клітинну відповідь, молекула HLA-G-5 здатна генерувати накопичення Т-регуляторних CD-4⁺, CD-25⁺, Fox P3⁺-клітин і, як стверджує Selmani та співавт. [54], вона дійсно потрібна для формування Т-регуляторних супресорних клітин. Показано, що МСК синтезують в основному розчинну ізоформу HLA-G-5-молекулу, яка експресується на фетальних еритроїдних прогеніторах в кістковому мозку, і передбачається, що в ньому ця молекула якраз і запускає формування Т-регуляторних клітин для стримування імунної атаки організму на прогеніторні клітини, які знаходяться у кістковому мозку [54]. Таке накопичення Т-регуляторних клітин можливе завдяки прямому контакту МСК і Т-лімфоцитів, а також секреції HLA-G-5-молекул [57, 31, 51]. Тільки після прямої взаємодії МСК і Т-клітин збільшувалася секреція в культуральне середовище HLA-G-5-молекул. Ймовірно, й інші цитокини секретуються МСК після прямої взаємодії з лімфоцитами [54]. Сьогодні вже можна стверджувати, що існує пряма взаємодія МСК з різними типами Т-клітин, що супроводжується посиленням синтезу та секреції клітинами HLA-G-5-молекул, яка забезпечує

як мінімум 4 різних механізми імуносупресії: а) пригнічує цитолітичну активність і секрецію γ -інтерферону Т-лімфоцитами і НК-клітинами, б) прямо гальмує проліферативну відповідь алогенних Т-клітин, с) збільшує вміст ІЛ-10 в мікрооточенні МСК, д) викликає накопичення Т-регуляторних CD-4⁺, CD-25⁺, Foxp3⁺-клітин [54]. Все це можливо завдяки прямій взаємодії Т-лімфоцитів і МСК, яка є першим кроком на шляху імуносупресії. Показано, що МСК можуть бути не тільки імуносупресивними, але також і антигенпрезентуючими клітинами та запустити імунну відповідь [10, 54]. Така подвійна роль МСК пов'язана зі змінами експресії HLA-II антигенів і супресорної коstimулювальної молекули B7-H1/ та DR-L1-рецептора після впливу на них γ -інтерферону [54, 60]. Таким чином, МСК, з одного боку, властива, так звана імунна "привілеція" (захищеність) від розвитку імунних реакцій організму, а з іншого, ці клітини мають пряму і непряму (через гуморальні фактори) імуносупресорну активність, яка спрямована на практично всі ланки природженого і набутого імунітету. Хоча ці дві головні властивості МСК не є абсолютними і можливі різні ситуації, коли вони не проявляються повною мірою, а самі алогенні МСК стають об'єктом імунних реакцій організму.

Антигенні властивості МСК. Так, алогенні СМК кісткового мозку широко застосовуються в медицині, особливо в кардіології при лікуванні інфаркту міокарда. Багатьма роботами показано поліпшення функції серця після трансплантації СМК, але водночас дослідники зіткнулися з певною проблемою: так, СМК, отримані від літніх людей з інфарктом міокарда, мали меншу регенеративну здатність, ніж МСК від молодих осіб, тому аутологічні гістосумісні клітини менш придатні, ніж чужорідні СМК молодих людей [4, 21, 60]. Доля алогенних СМК, введених в міокард, остаточно ще не вивчена і є різні, суперечливі дані, як про приживлення, так і їх відторгнення [20, 43]. Деякі автори аргу-

ментували свій висновок про приживлення МСК тим, що ці клітини є імуносупресорними агентами і їх можна застосовувати при різних аутоімунних захворюваннях. Інші автори свідчать, що при диференціюванні СМК можлива втрата супресорних властивостей цих клітин, що може призводити до відторгнення як СМК, так і їх уже диференційованих прогеніторів [20, 21, 43, 60]. Проведені спеціальні дослідження показали, що обидва ці висновки певною мірою правильні і при введенні СМК спостерігається як імуносупресія, так і активація алоімунних реакцій реципієнта, які направлені на відторгнення введених клітин. Порівнюючи диференційовані *in vitro* і недиференційовані СМК щурів, було встановлено, що в перших СМК збільшується експресія імунних антигенів головного комплексу гістосумісності МНС-1а і МНС-II і CD-86 і в той же час знижується вміст імуносупресорного МНС-1в-протеїну, який виражено представлений тільки на недиференційованих клітинах. Цю різницю в експресії вдалося виразити кількісно. Встановлено, що кількість клітин, яка експресує МНС-1а-молекулу, збільшувалася на 30 %, а кількість клітин, що експресують супресивну молекулу МНС-1в зменшилася на 33 % [60]. Ця різниця вказує, що в процесі диференціювання СМК може відбуватися втрата ними імуносупресивних агентів і збільшення антигенів МНС, які індукують реакції відторгнення. Подібні зміни експресії антигенів гістосумісності спостерігалися і при трансплантації *in vivo*. Так, при введенні МСК щурам в ділянках інфаркту міокарда відзначено, що протягом перших 7 діб не збільшується експресія МНС-1а-антигена на МСК, але вже з 14-ї доби виявляється високий його вміст, а також збільшується кількість клітин, що містять МНС-1а-антиген, при цьому паралельно збільшувалася кількість маркерів міогенного диференціювання [4, 21, 60]. Здатність диференційованих СМК експресувати імуногенні антигени показана в тесті змішаної культури лейкоцитів, де

недиференційовані або аутологічні МСК не викликали при культивуванні протягом 3 діб появи цитотоксичних лімфоцитів. За таких умов лише диференційовані МСК викликали проліферацію ефекторних Т-лімфоцитів і різке зростання їх кілерної активності. У ділянці інфаркту збільшувалася кількість лімфоцитів СД-3, СД-4, СД-8, що вказує на розвиток реакції відторгнення, а в сироватці крові були наявні аутоантитіла до алогенних лімфоцитів вже на 2–4-му тижні після трансплантації диференційованих клітин. Функція міокарда поліпшилася протягом 4 міс, але вже з 5-го місяця ефект після введення алогенних МСК клітин не проявлявся, тоді як від введення сингенних МСК позитивний ефект ще зберігався [21]. Таким чином, можна стверджувати, що МСК притаманий біфазний імунний стан, який спочатку проявляється імунопривілейованістю, і вони пригнічують локальну імунну реакцію проти себе. При диференціюванні МСК змінюється експресія генів гістосумісності, зникають супресорні і з'являються стимулювальні імунну відповідь антигени, що розвиває імунну відповідь до цих антигенів і формує реакції відторгнення вже диференційованих клітин. Диференційовані у міоцити або васкулярні клітини міокарда МСК відторгаються за рахунок специфічного імунного цитолізу, а імуносупресивний МНС-1в-антиген зникає з поверхні клітин.

Таким чином, можна виділити три різні функціональні стадії розвитку МСК: незрілі, “наївні”; активовані; МСК, що почали диференціюватися. Якщо в неактивованій “наївній” стадії переважають більше контактні взаємодії МСК і клітин імунної системи, що призводить до первинної імуносупресії реципієнта, то вже після активації МСК (2-га стадія розвитку) прозапальними цитокінами (ФНП, ІЛ-1, 6 та γ -інтерфероном), запускається реакція багаторівневої імуносупресії, спрямованої практично на всі субпопуляції лімфоцитів і синтез ними цитокінів, починаючи від дендритних клітин і закінчуючи

клітинною цитотоксичністю. І, нарешті, на етапі запуску процесів диференціювання МСК (3-тя стадія) змінюють спектр цитокінів та свої антигенні властивості, що призводить до експресії антигена HLA II класу і молекул костимуляції, що є основою для імунного їх розпізнавання і запуску реакцій відторгнення у разі їх гістосумісності. Таким чином, МСК дорослого організму здатні змінювати свої антигенні та імуносупресивні властивості в залежності від стадії розвитку та мікрооточення. Імунна “привілейованість”, імуносупресивна активність МСК є вродженою фізіологічною властивістю, яка відображає перші стадії їхнього розвитку. У МСК, які стали на шляху диференціювання, відбувається перебудова, “перезавантаження” генетичної програми, що проявляється, з одного боку, набуттям нових властивостей клітин прогеніторів (міоцитів, нейронів, гепатоцитів), а з іншого – експресією антигенів, які здатні запускати імунні реакції та призводити до відторгнення цих клітин. Такі відмінності у властивостях МСК мають важливе значення і визначають умови застосування в клініці аутологічних або алогенних МСК. Так, якщо необхідна короткочасна супресія на якийсь певний період, то придатні сингенні та алогенні МСК, якщо ж передбачається тривале їх існування з трансформацією в певний тип тканин (моноцити, нейрони, гепатоцити), тоді перевагу мають аутологічні МСК. Як показують наведені вище дані, імуномодулювальні властивості МСК, їх варіації в залежності від методів культивування, доз і способів застосування вивчені ще недостатньо, і майбутні дослідження дадуть змогу відповісти на багато теоретичних і практичних питань.

Н.И. Лисяный

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И ИХ ИММУННЫЕ СВОЙСТВА

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) определяют в различных тканях организма в том числе и в костном мозге, жировой ткани, коже. Они могут размножаться в условиях *in vitro*. МСК имеют большой регенеративный

потенціал и способны трансформироваться в различные типы тканей организма. Помимо этого, МСК имеют выраженные иммуносупрессивные свойства и способны подавлять функции разных иммунных клеток, особенно Т-лимфоцитов, киллерных и дендритных клеток. Эти свойства уже используются в клинике для торможения аутоиммунных реакций и РТПХ. Во многих работах показано что иммуносупрессия МСК достигается благодаря синтезу таких гуморальных факторов, как цитокины, индоламино-2,3 диоксигеназа, оксид азота и др. При использовании МСК при инфаркте миокарда у крыс эти клетки трансформируются в миоциты и изменяют свой антигенный профиль, а также теряют способность тормозить иммунные реакции, что приводит к их отторжению. Эти факты важны для понимания механизма их действия и для использования в клинической практике как с целью иммуносупрессии, так и клеточной терапии.

Ключевые слова: мезенхимально стволовые клетки, иммуносупрессия, цитокины, HLA-антигены.

N.I. Lisiany

MESENCHYMAL STEM CELLS AND IMMUNOLOGICAL PROPERTIES

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

Key words: Mesenchymal stem cells; Immunosuppression; Cytokine; HLA-antigens

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

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Aggarwal S., Pittenger M.F. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses // *Blood*. – 200. – **105**. – P.1815–1822.
- Al-Refu K., Goodfield M. Hair follicle stem cells in the pathogenesis of the scarring process in cutaneous lupus erythematosus // *Autoimmun. Rev.* – 2009. – **8**. – P.474–477.
- Ankrum J., Karp J.M. Mesenchymal stem cell therapy: two steps forward, one step back // *Trends Mol Med.* – 2010. – **16**. – P.203–209.
- Atoui R., Shum-Tim D., Chiu R.C. Myocardial regenerative therapy: immunologic basis for the potential “universal donor cells” // *Ann Thorac. Surg.* – 2008. – **86**. – P.327–334.
- Augello A., Tasso R., Negrini S.M., Cancedda R., Pennesi G. Cell therapy using allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells prevents tissue damage in collagen-induced arthritis // *Arthritis Rheum.* – 2007. – **56**. – P.1175–1186.
- Cai L., Johnstone B.H., Cook T.G., Tan J., Fishbein M.C., Chen P.S., March K.L. IFATS collection: Human adipose tissue-derived stem cells induce angiogenesis and nerve sprouting following myocardial infarction, in conjunction with potent preservation of cardiac function // *Stem Cells*. – 2009. – **27**. – P.230–237.
- Carosella E.D., Moreau P., Le Maoult J. HLA-G molecules: From maternal-fetal tolerance to tissue acceptance // *Adv. Immunol.* – 2003. – **81**. – P.199–252.
- Choi E.W., Shin I.S., Lee H.W., Park S.Y., Park J.H., Nam M.H., Kim J.S., Woo S.K., Yoon E.J., Kang S.K., Ra J.C., Youn H.Y., Hong S.H. Transplantation of CTLA4Ig gene-transduced adipose tissue-derived mesenchymal stem cells reduces inflammatory immune response and improves Th1/Th2 balance in experimental autoimmune thyroiditis // *J. Gene Med.* – 2011 – **13**. – P.3–16.
- Choi Y.H., Kurtz A., Stamm C. Mesenchymal stem cells for cardiac cell therapy // *Hum Gene Ther.* – 2011. – **22**. – P.3–17.
- Colonna M., Navarro F., Bellon T. A common inhibitory receptor for major histocompatibility complex class I molecules on human lymphoid and myelomonocytic cells // *J. Exp. Med.* – 1997. – **6**. – P.1809–1818.
- Corcione A., Benvenuto F., Ferretti E., Giunti D., Cappiello V., Cazzanti F., Risso M., Gualandi F., Mancardi G.L., Pistoia V., Uccelli A. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions // *Blood*. – 2006. – **107**. – P.367–372.
- Di Nicola M., Carlo-Stella C., Magni M. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli // *Ibid.* – 2002. – **99**. – P. 3838–3843.
- Djouad F., Bouffi C., Ghannam S., Noil D., Jorgensen C. Mesenchymal stem cells: innovative therapeutic tools for rheumatic diseases // *Nat. Rev. Rheumatol.* – 2009. – **5**. – P.392–399.
- Djouad F., Charbonnier LM, Bouffi C, Louis-Plence P, Bony C, Apparailly F, Cantos C, Jorgensen C, Noel D. Mesenchymal stem cells inhibit the differentiation of dendritic cells through an interleukin-6-dependent mechanism // *Stem Cells*. – 2007. – **25**. – P.2025–2032.

15. Djouad F., Plence P., Bony C. Immunosuppressive effect of mesenchymal stem cells favors tumor growth in allogeneic animals // *Blood*. – 2003. – **102**. – P.3837–3844.
16. Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop D., Horwitz E. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement // *Cytotherapy*. – 2006. – **8**. – P.315–317.
17. Edwards T.M., Rickard N.S. New perspectives on the mechanisms through which nitric oxide may affect learning and memory processes // *Neurosci. Biobehav. Rev.* – 2007. – **31**. – P. 413–425.
18. Garcia-Gomez I., Elvira G., Zapata A.G., Lamana M.L., Ramirez M., Castro J.G., Arranz M.G., Vicente A., Bueren J., Garcia-Olmo D. Mesenchymal stem cells: biological properties and clinical applications // *Exp. Opin. Biol. Ther.* – 2010. – **10**. – P.1453–1468.
19. Grohmann U., Orabona C., Fallarino F. CTLA-4-Ig regulates tryptophan catabolism in vivo // *Nat. Immunol.* – 2002. – **3**. – P. 1097–1101.
20. Hare J.M., Traverse J.H., Henry T.D., Dib N., Strumpf R.K., Schulman S.P. A randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation study of intravenous adult human mesenchymal stem cells (prochymal) after acute myocardial infarction // *J. Amer. Coll. Cardiol.* – 2009. – **54**. – P.2277–2286.
21. Heiss C., Keymel S., Niesler U., Ziemann J., Kelm M., Kalka C. Impaired progenitor cell activity in age-related endothelial dysfunction // *Ibid.* – 2005. – **45**. – P.1441–1448.
22. Hulkower K., Brosnan C.F., Aquino D.A. Expression of CSF-1, c-fms, and MCP-1 in the central nervous system of rats with experimental allergic encephalomyelitis // *J. Immunol.* – 1993. – **150**. – P. 2525–2533.
23. Jiang X.X., Zhang Y., Liu B., Zhang S.X., Wu Y., Yu X.D., Mao N. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells // *Blood*. – 2005. – **105**. – P.4120–4126.
24. Jiang Y., Jahagirdar B.N., Reinhardt R.L., Schwartz R.E., Keene C.D., Ortiz-Gonzalez X.R., Reyes M., Lenvik T., Lund T., Blackstad M., Du J., Aldrich S., Lisberg A., Low W.C., Largaespada D.A., Verfaillie C.M. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow // *Nature*. – 2002. – **418**. – P.41–49.
25. Krampera M., Glennie S., Dyson J., Scott D., Laylor R., Simpson E., Dazzi F. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide // *Blood*. – 2003. – **101**. – P.3722–3729.
26. Le Blanc K., Ringden O. Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience // *J. Intern. Med.* – 2007. – **262**. – P.509–525
27. Lee O.K., Kuo T.K., Chen W.M., Lee K.D., Hsieh S.L., Chen T.H. Isolation of multipotent mesenchymal stem cells from umbilical cord blood // *Blood*. – 2004. – **103**. – P.1669–1675.
28. Lila N., Rouas-Freiss N., Dausset J. Soluble HLA-G protein secreted by allo-specific CD4⁺ T cells suppresses the allo-proliferative response: A CD4⁺ T cell regulatory mechanism // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2001. – **98**. – P.12150–12155.
29. Liu H., Liu L., Fletcher B.S. Sleeping Beauty-based gene therapy with indoleamine 2,3-dioxygenase inhibits lung allograft fibrosis // *FASEB J.* – 2006. – **20**. – P.2384–2386.
30. Majumdar M.K., Keane-Moore M., Buyaner D. Characterization and functionality of cell surface molecules on human mesenchymal stem cells // *J. Biomed. Sci.* – 2003. – **10**. – P.228–241.
31. McMaster M.T., Librach C.L., Zhou Y. Human placental HLA-G expression is restricted to differentiated cytotrophoblasts // *J. Immunol.* – 1995. – **154**. – P.3771–3778.
32. Meirelles Lda S., Fontes A.M., Covas D.T., Caplan A.I. Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells // *Cytokine Growth Factor Rev.* – 2009. – **20**. – P.419–427.
33. Meisel R., Zibert A., Laryea M. Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation // *Blood*. – 2004. – **103**. – P. 4619–4621.
34. Mellor A.L., Munn D.H. IDO expression by dendritic cells: Tolerance and tryptophan catabolism // *Nat. Rev. Immunol.* – 2004. – **4**. – P. 762–774.
35. Muller A.J., Prendergast G.C. Indoleamine 2,3-dioxygenase in immune suppression and cancer // *Curr. Cancer Drug Targets*. – 2007. – **7**. – P. 31–40.
36. Munn D.H., Mellor A.L. IDO and tolerance to tumors // *Trends Mol. Med.* – 2004. – **10**. – P. 15–18.
37. Nasef A., Chapel A., Mazurier C. Identification of IL-10 and TGF-beta transcripts involved in the inhibition of T-lymphocyte proliferation during cell contact with human mesenchymal stem cells // *Gene Exp.* – 2007. – **13**. – P.217–226.
38. Nauta A.J., Fibbe W.E. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells // *Blood*. – 2007. – **110**. – P.3499–3506.
39. Oh J.Y., Kim M.K., Shin M.S., Lee H.J., Ko J.H., Wee W.R., Lee J.H. The anti-inflammatory and antiangiogenic role of mesenchymal stem cells in corneal wound healing following chemical injury // *Stem Cells*. – 2008. – **26**. – P.1047–1055
40. Papadaki H.A., Kritikos H.D., Gemetzi C., Koutala H., Marsh J.C., Boumpas D.T., Eliopoulos G.D. Bone marrow progenitor cell reserve and function and stromal cell function are defective in rheumatoid arthritis: evidence for a tumor necrosis factor alpha-mediated effect // *Blood*. – 2002. – **99**. – P.1610–1619.
41. Papadaki H.A., Tsagournisakis M., Mastorodemos V., Pontikoglou C., Damianaki A., Pyrovolaki K., Stamatopoulos K., Fassas A., Plaitakis A., Eliopoulos G.D. Normal bone marrow hematopoietic stem cell reserves and normal stromal cell function support the use of autologous stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis // *Bone Marrow Transplant.* – 2005. – **36**. – P.1053–1063.
42. Parekkadan B., Milwid J.M. Mesenchymal stem cells as

- therapeutics // *Annu Rev Biomed. Eng.* – 2010. – **12**. – P.87–117.
43. Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C., Jaiswal R.K., Douglas R., Mosca J.D., Moorman M.A., Simonetti D.W., Craig S., Marshak D.R. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells // *Science.* – 1999. – **284**. – P.143–147.
 44. Pittenger M.F., Martin B.J. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics // *Circulat. Res.* – 2004. – **36**. – P.95–99.
 45. Ra J., Kang S., Shin S. Stem cell treatment for patients with autoimmune disease by systemic infusion of culture-expanded autologous adipose tissue derived mesenchymal stem cells // *J. Transl. Med.* – 2011. – **9**. – P.181–198.
 46. Ra J.C., Shin I.S., Kim S.H., Kang S.K., Kang B.C., Lee H.Y., Kim Y.J., Jo J.Y., Yoon E.J., Choi H.J., Kwon E. Safety of intravenous infusion of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in animals and humans // *Stem Cells Dev.* – 2011. – **20**. – P.1295–1296.
 47. Rasmuson L., Ringd N.O., Sundberg B., Le Blanc K. Mesenchymal stem cells inhibit lymphocyte proliferation by mitogens and alloantigens by different mechanisms // *Exp. Cell Res.* – 2005. – **305**. – P.33–41.
 48. Ren G., Zhang L., Zhao X. Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide // *Cell Stem. Cell.* – 2008. – **2**. – P. 141–150.
 49. Ren G., Zhang L., Zhao X., Xu G., Zhang Y., Roberts A.I., Zhao R.C., Shi Y. Mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression occurs via concerted action of chemokines and nitric oxide // *Stem Cells.* – 2008. – **2**. – P.141–150.
 50. Ren G., Su F., Zhang L. Species variation in the mechanisms of mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression // *Stem Cells.* – 2009. – **27**. – P.1954–1962.
 51. Ristich V., Liang S., Zhang W. Tolerization of dendritic cells by HLA-G // *Eur. J. Immunol.* – 2005. – **35**. – P.1133–1142.
 52. Rouas-Freiss N., Marchal R.E., Kirszenbaum M. The alpha1 domain of HLA-G1 and HLA-G2 inhibits cytotoxicity induced by natural killer cells: Is HLA-G the public ligand for natural killer cell inhibitory receptors? // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1997. – **94**. – P.5249–5254.
 53. Sato K., Ozaki K., Oh I. Nitric oxide plays a critical role in suppression of T-cell proliferation by mesenchymal stem cells // *Blood.* – 2007. – **109**. – P.228–234.
 54. Selmani Z., Naji A., Zidi I., Favier B., Gaiffe E., Obert L., Borg C., Saas P., Tiberghien P., Rouas-Freiss N., Carosella E.D., Deschaseaux F. *Epub* 2007 Oct 11. Human leukocyte antigen-G5 secretion by human mesenchymal stem cells is required to suppress T lymphocyte and natural killer function and to induce CD4+CD25highFOXP3+ regulatory T cells // *Stem. Cells.* – 2008. – **26**. – P.212–222.
 55. Si Y.L., Zhao Y.L., Hao H.J., Fu X.B., Han W.D. MSC: Biological characteristics, clinical applications and their outstanding concerns // *Ageing Res Rev.* – 2011. – **10**. – P.93–103.
 56. Spaggiari G.M., Capobianco A., Abdelrazik H., Becchetti F., Mingari M.C., Moretta L. Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2, 3-dioxygenase and prostaglandin E2 // *Blood.* – 2008. – **111**. – P.1327–1333.
 57. Stamler J.S., Singel D.J., Loscalzo J. Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms // *Science.* – 1992. – **258**. – P.1898–1902.
 58. Togel F., Weiss K., Yang Y., Hu Z., Zhang P., Westenfelder C. Vasculotropic, paracrine actions of infused mesenchymal stem cells are important to the recovery from acute kidney injury // *Amer. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2007. – **292**. – P.1626–1635.
 59. Uytendove C., Pilotte L., Theate I. Evidence for a tumoral immune resistance mechanism based on tryptophan degradation by indoleamine 2,3-dioxygenase // *Nat. Med.* – 2003. – **9**. – P. 1269–1274.
 60. Xi-Ping Huang, Ph.D. Zhuo Sun M.D., Yasuo Miyagi M.D., Heather McDonald Kinkaid, MSc Li Zhang M.D., PhD Differentiation of Allogeneic Mesenchymal Stem Cells Induces Immunogenicity and Limits Their Long-Term Benefits for Myocardial Repair // *Circulation.* – 2010. – **122**. – P.2419–2429.
 61. Yasez R., Lamana M.L., Garcta-Castro J., Colmenero I., Ramtrez M., Bueren J.A. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have in vivo immunosuppressive properties applicable for the control of the graft-versus-host disease // *Stem Cells.* – 2006. – **24**. – P.2582–2591.
 62. Zappia E., Casazza S., Pedemonte E., Benvenuto F., Bonanni I., Gerdoni E., Giunti D., Ceravolo A., Cazzanti F., Frassoni F., Mancardi G., Uccelli A. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy // *Blood.* – 2005. – **106**. – P.1755–1761.
 63. Zhang M., Mal N., Kiedrowski M., Chacko M., Askari A.T., Popovic Z.B., Koc O.N., Penn MS. SDF-1 expression by mesenchymal stem cells results in trophic support of cardiac myocytes after myocardial infarction // *FASEB J.* – 2007. – **21**. – P.3197–3207.