

МЕЗЕНХИМАЛЬНЫЕ СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ (МСК) В КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ

Е.Б. Владимирская,
Израиль

Ключевые слова: стволовые клетки, мезенхимальные стволовые клетки, пластичность, терапия

Существование в костном мозге наряду со стволовыми кроветворными клетками стволовых клеток стромы, образующих в культуре колонии фибробластоподобных клеток, было впервые показано А.Я. Фриденштейном и соавт. [1]. Эти клетки получили название колониеобразующих предшественников фибробластов (КОЕ-ф). Стволовая природа КОЕ-ф (способность к самообновлению и дифференцировке в различные мезенхимальные и немезенхимальные элементы) была подтверждена в многочисленных исследованиях [2—5]. В связи со способностью этих клеток к самоподдержанию и дифференцировке в различные клеточные линии мезенхимы (остеоидную, хондрогенную, адипогенную) они позднее получили название мезенхимальных стволовых клеток (МСК) [6], или мезенхимальных клеток-предшественников (МКП) [7]. В последние годы в литературе чаще всего используется термин МСК. Независимо от используемой терминологии, во всех исследованиях имеются в виду прилипающие мезенхимальные клетки, при культивировании *ex vivo* образующие колонии веретенообразно вытянутых клеток, по морфологии напоминающих фибробласты.

МСК в последние годы широко используются в клеточной терапии. Направления этой терапии, связанные с основными свойствами МСК, могут быть разделены на 3 группы:

- поддержка кроветворения при котрансплантации с гемопоэтическими стволовыми клетками (ГСК);
- замещение и восстановление функции поврежденных негемопоэтических тканей (кости, хряща, скелетных мышц, сердечной мышцы, нервной ткани, печени и др.);
- подавление иммунных конфликтов при аллогенной неродственной трансплантации и тяжелых аутоиммунных процессах.

Рассмотрим подробнее каждое из них.

Котрансплантация с ГСК

Это направление клеточной терапии связано с основными свойствами МСК: способностью формировать стромальное микроокружение кроветворного костного мозга; обеспечивать прикрепление кроветворных клеток и снабжение их необходимыми цитокинами и ростовыми факторами; участвовать в строительстве и васкуляризации костного плацдарма.

Дополнительным основанием для развития этого вида терапии стали наблюдения о снижении числа клоногенных фибробластов после аллогенной трансплантации ГСК на протяжении нескольких лет у детей и практически пожизненно у взрослых [8].

В течение долгого времени считалось, что строма не трансплантируется. Основанием для этого послужили данные о том, что МСК, выращенные из костного мозга реципиента в разные сроки после аллогенной трансплан-

тации, в подавляющем большинстве случаев не имели признаков донорского происхождения [9]. Однако встречались и единичные противоположные наблюдения в эксперименте [10] и клинике [11]. Такое различие может быть объяснено тем, что содержание МСК в трансплантате костного мозга, составляющее менее 1%, обычно было ниже уровня, необходимого для успешного приживления, а положительные результаты были получены при переливании достаточно большого количества МСК.

Проведенные в конце 1990-х годов исследования по трансплантации костномозговых стромальных клеток при незавершенном остеогенезе как в эксперименте, так и у людей подтвердили трансплантабельность МСК и положили начало широкомасштабным исследованиям в этой области.

Результаты доклинических испытаний котрансплантации МСК с кроветворными стволовыми клетками на экспериментальных моделях [12—16] позволили прийти к следующим заключениям:

- МСК ускоряют и улучшают приживление ГСК;
- действие МСК, стимулирующее приживление и пролиферацию ГСК, не является линейно-специфическим, способствует в равной мере пролиферации миелоидных и лимфоидных клеток;
- действие МСК реализуется через высвобождение цитокинов, регулирующих приживление (SDF1), пролиферацию и дифференцировку кроветворных клеток (ГМ-КСФ, Г-КСФ, SCF, ИЛ-6) и иммуносупрессивный эффект (активин-А);
- котрансплантация гемопоэтических стволовых клеток с МСК обеспечивает приживление даже относительно небольшого количества CD34+ клеток.

Эти данные явились основанием для клинического использования МСК вместе с ГСК с целью повышения эффективности трансплантации гемопоэтической ткани.

В этом направлении особенно успешно работает группа ученых из Кливленда, США [17—20].

Клинические испытания I фазы подтвердили, что МСК могут быть выделены в достаточном количестве из аспирата костного мозга и после 4—7 пассажей в культуре введены пациенту в количестве до 50×10^6 без осложнений и побочных эффектов [17]. При этом МСК, выращенные из костного мозга реципиентов в различные сроки после трансплантации (от 17 до 192 мес), демонстрируют черты частичного, а чаще полного химеризма [21].

Мультицентровые исследования II—III фазы, проведенные на достаточно большом контингенте больных со злокачественными и незлокачественными заболеваниями [22], показали, что котрансплантация ГСК с МСК, выращенными в культуре (4—7 пассажей) и введенными внутривенно в количестве $1,0\text{—}5,0 \times 10^6$ за 4 ч до ГСК, приводила к более быстрому приживлению ГСК, а также

к снижению частоты и интенсивности острой и хронической реакции «трансплантат против хозяина» (РТПХ).

Эти данные позволяют предположить, что наиболее перспективным методом котрансплантации ГСК и МСК может стать при неродственной аллогенной трансплантации, а также в случаях с ограниченным количеством ГСК в трансплантате, например в пуповинной крови.

МСК в клеточной терапии негематологических заболеваний

Клетки стромального микроокружения характеризуются очень высокой пластичностью, т.е. способностью в своей дифференцировке преодолевать барьеры линейной специфичности, приобретая профиль экспрессии и функциональный фенотип, уникальные для клеток других тканей. Многократно и убедительно показано, что клоны стромальных адипоцитов под действием определенных стимуляторов могут подвергаться остеогенной дифференцировке и образовывать кость *in vivo* [23, 24], фибробласты могут превращаться в адипоциты [25, 26], а хондроциты — в остеогенные клетки и обратно [27, 28]. Разработаны условия стимуляции направленной дифференцировки МСК в культуре, подтвержденной специфическими молекулярными стигматами (табл. 1).

Такая пластичность в пределах клеточных элементов стромального микроокружения, т.е. в пределах мезенхимальной ткани, получила название ортодоксальной пластичности [46].

Способность МСК при трансплантации *in vivo* превращаться в остеобласты стали использовать для **репарации кости** с начала 1990-х годов. Это и положило начало клеточной терапии с МСК.

Локальная трансплантация стромальных фибробластов, размноженных в культуре, неоднократно применялась для реконструкции костных дефектов как у лабораторных животных, так и в экспериментальной терапии

[47—53]. Были получены обнадеживающие результаты, требующие, однако, серьезных клинических испытаний с целью упрощения и стандартизации культуральных условий наработки МСК, выбора состава и структуры оптимальных носителей стромальных клеток, установления числа клеток, необходимых для регенерации нужного объема кости.

Были предприняты отдельные попытки локального применения МСК в лечении остеоартроза для восстановления утраченного внутрисуставного хряща или торможения его прогрессирующей деструкции [54]. Эта актуальная проблема нуждается в дальнейшей разработке.

Наиболее существенные результаты были получены при использовании МСК в лечении редкой генетической патологии — незавершенного остеогенеза (НО). Сутью патологии является генетическое расстройство остеобластов, экспрессирующих дефектный тип коллагена I, основного структурного белка кости. Через несколько месяцев после трансплантации в различных органах мышци-реципиента (кость, хрящ, легкие, селезенка) были выявлены МСК донорского происхождения. При этом в кости донорские МСК дифференцировались в остециты, продуцирующие нормальный уровень коллагена I типа [10]. Аналогичные результаты были получены при одновременной трансплантации аллогенных стромальных и костномозговых клеток детям с НО, что сопровождалось существенным клиническим улучшением: уменьшением частоты спонтанных переломов, нормализацией темпа роста кости, улучшением ее минерализации [11, 55]. Однако многие вопросы остаются нерешенными. Введение детям с НО генетически меченных МСК показало, что при наличии выраженного клинического эффекта и существенной нормализации структуры и состава кости содержание остецитов донорского происхождения в кости

Таблица 1. Дифференцировочный потенциал МСК *in vitro* при ортодоксальной пластичности [4]

Направление дифференцировки	Стимуляция	Молекулярный фенотип	Свойства
Адипоциты	Дексаметазон + изометилметилксантин [29]. Дексаметазон + изометилметилксантин + индометацин + инсулин [30,31]. Дексаметазон + инсулин [32]	PPAR γ 2 C/EBP β aP2 Адипсин Лептин Липопротеин липаза [30, 33, 34]	Накопление каплей жира в цитоплазме [35]
Хондроциты	ТФР β 3 + аскорбиновая кислота [30]. ТФР β 1 + аскорбиновая кислота [32]	Cbfa-1 Коллаген типов II и X Аггрекан [36, 37]	Матрикс, обогащенный протеингликанами и коллагеном типов II и X [30,32]
Остеобласты	Дексаметазон + β -глицерофосфат + аскорбиновая кислота [38]	Cbfa-1 Щелочная фосфатаза Костный сиалопротеин Остеопонтин Остеокальцин Коллаген типа I [30, 33, 37, 40]	Минерализованный матрикс [39]
Теноциты	BMP-12 [41]	Коллаген типа II Протеингликаны [42]	Улучшают биомеханические свойства имплантированного сухожилия [42]
Клетки, поддерживающие гемопоэз	Гидрокортизон + лошадиная сыворотка [43]. Гемопоэтические стволовые клетки [44]	—	Поддерживают дифференцировку CD34+ клеток [43]. Поддерживают образование остеокластов [44]. Поддерживают мегакарио- и тромбоцитопоэз [45]

реципиента спустя 6 мес после трансплантации не превышало 2%. Было высказано несколько предположений, объясняющих этот феномен [11]: небольшая фракция нормальных остеобластов достаточна для нормализации работы стромального микроокружения остеоцитов; остеобласты донорского происхождения — короткоживущая популяция, резко сократившаяся к моменту исследования (80—100 дней), в то время как наработанные ими нормальные волокна коллагена обеспечивают депонирование минералов в матриксе кости значительно дольше. Недостаточная продолжительность наблюдения не позволяет пока оценить длительность приживления МСК и отдаленные результаты. В марте 2004 г. в банке данных по клиническим протоколам (включает 31 700 клинических испытаний из 130 стран; <http://clinicaltrials.gov>) было зарегистрировано пилотное исследование NCT00187018 «МСК-терапия незавершенного остеогенеза», выполняемое группой исследователей из St. Jude Children's Research Hospital (Мемфис, США), цель которого — разработка адекватной тактики и теоретического обоснования использования трансплантации МСК в лечении НО у детей.

В последние годы литературу захлестнула волна работ о проявлениях так называемой **неортодоксальной пластичности** МСК. Оказалось, что культивирование МСК с использованием определенных стимуляторов может вызвать дифференцировку стромальных клеток в поперечно-полосатые и гладкие мышечные клетки, в кардио-

миоциты, в клетки нервной ткани, печени, почек, поджелудочной железы. Образованные таким образом клетки имеют характерный для своей ткани фенотип, а иногда и соответствующую функциональную активность (табл. 2). Появились сообщения и о том, что при введении генетически меченных МСК экспериментальному животному метка обнаруживалась в клетках мозга [71], кардиомиоцитах [72] и других органах. Таким образом, МСК, принадлежащие мезодермальному эмбриональному росту, в своей дифференцировке оказались способными преодолевать казавшиеся ранее незыблемыми барьеры эмбрионального развития, превращаясь в клетки тканей, происходящих из эктодермального (нервная ткань) и энтодермального (печень, поджелудочная железа, мочевыводящие пути) эмбриональных ростков.

Эти работы положили начало новой эре использования МСК в клеточной терапии болезней, не связанных с органами кроветворения. Одним из побудительных мотивов широкого использования МСК явилось то, что эти клеточные элементы легко выделить из различных тканей организма и быстро наработать в относительно несложных условиях культивирования.

Наиболее приближенным к клинике является использование МСК в клеточной терапии **болезней сердца**.

Дисфункция миокарда, вызванная связанным с атеросклерозом инфарктом миокарда, — самое частое заболевание и причина смерти взрослого населения. Из-

Таблица 2. Дифференцировочный потенциал МСК *in vitro* при неортодоксальной пластичности

Направление дифференцировки	Стимуляция	Молекулярный фенотип	Свойства
Поперечно-полосатые клетки скелетных мышц	5-Азациитидин [56,57]	MyoD, Myf 5 и 6, MEF-2, миогенин, MRF4, миозин [56, 57]	Многоядерные клетки, способные к сокращению [59]
Гладкомышечные клетки	PDGF-BB [57]	ASMA, Metavinculin, Calponin, h-Caldesmon, гладкомышечный актин [57,60]	—
Клетки миокарда	bFGF [57]	GATA 4 and 6, Сердечный тропонин I и C, Sarcomeric-actin, Slow twitch my-osin, ANP [57]	—
Астроциты	DMSO+ дексаметазон	Глиальный фибриллярный кислый актин, Intermediate filament [61, 62]	Интегрировались в мозг эмбриона [61]
Олигодендроциты Нейроны	PDGF + EGF + линолеиковая кислота [62] DMSO/BHA [63]	Галактоцереброзид [61], нейрофиламент, тубулин В III, синаптофизин [61,62], нестин, нейрогенин 2, NeuroD1, Neurog2, NSI1 [63]	Приобретают клеточную морфологию нейронов. Интеграция в неонатальный мозг [61] и мозг крыс, мышей при экспериментальном инсульте
Клетки печени	HGF и онкостатин [64] Кокультивирование с клетками печени [66]	Клетки приобретают полигональную форму. Альбумин, альфа-фетопротеин. Экспрессия транскрипционных факторов с/EBP β и HNF4 α [64,65]	Улучшает функцию печени при экспериментальном циррозе у крыс [66]
β -клетки поджелудочной железы	Среда, кондиционированная островками поджелудочной железы, кокультивирование с островками поджелудочной железы [67,68] Высокая концентрация глюкозы, никотинамид, β -меркаптоэтанол [69]	IPF1, HLXB9, FOXA2 — транскрипционные факторы раннего развития инсулин-продуцирующих островков. Цитокератин 18 и 19 — маркеры эпителия протоков поджелудочной железы [68]. Типичная морфология клеток островков поджелудочной железы, нестин, секреция инсулина [69]	Снижался уровень глюкозы при введении крысам с экспериментальным диабетом [69]

вестно, что кардиомиоциты *in situ* не обладают способностью к самостоятельной регенерации: по-видимому, в миокарде отсутствуют внутренние механизмы, отвечающие за репарацию поврежденной ткани [72—74]. Высокопластичные стволовые клетки костного мозга, привнесенные в миокард извне, могут быть источником замещения и/или восстановления поврежденного миокарда. Клеточная терапия с их участием находится в центре внимания медицинской науки и практики [75—78].

Пилотные исследования влияния моноклеарной фракции костного мозга на репарацию миокарда в эксперименте и клинике оказались весьма успешными [79]. Однако оставалось неясным, с какими именно клеточными элементами, входящими в состав трансплантата, связан этот эффект, являются ли его продуцентами ГСК, МСК, клетки-предшественники кардиомиоцитов и/или эндотелиальных клеток или какие-либо другие воздействия. Накопившиеся к настоящему времени данные свидетельствуют о том, что МСК костномозгового происхождения представляют собой именно тот тип клеток, который может быть успешно использован для репарации миокарда. Данные исследований различных лабораторий показывают, что МСК под действием различных стимулов как *in vitro*, так и в эксперименте *in vivo* могут дифференцироваться в клетки, обладающие некоторыми чертами кардиомиоцитов [57]. При этом кокультивирование МСК и кардиомиоцитов человека вызывает формирование у МСК наиболее полного фенотипа кардиомиоцитов (экспрессия тяжелых цепей миозина, бета-актина и тропонина Т). При инкубации МСК в среде, кондиционированной кардиомиоцитами, обнаруживается экспрессия одного лишь бета-актина. Таким образом, создается впечатление, что для наиболее полной дифференцировки МСК в сторону кардиомиоцитов необходим тесный контакт с этими клетками [80].

Кроме того, отмечается, что МСК при интрамиокардиальном введении способны дифференцироваться в предшественники гладкомышечных клеток/перicyтов (vSMS/PC) и эндотелиальных клеток [81,82]. При этом у собак с хронической ишемией миокарда продемонстрировано улучшение кровоснабжения и функции сердца, а иммунофлуоресцентный анализ показал локализацию МСК вблизи эндотелиальных и гладкомышечных клеток [83].

Преclinical испытания на моделях инфаркта и хронической ишемии миокарда у крупных животных (овца, собака, свинья) показали безопасность и доступность различных методов введения МСК (внутримиокардиального, интракоронарного, трансэпикардиального) [80].

Клинические испытания клеточной терапии инфаркта миокарда и сердечной недостаточности в последние годы включали в себя, в основном, протоколы с применением стволовых кроветворных клеток [84—86].

Несмотря на большое количество работ о дифференцировочных потенциях и эффективности использования МСК при инфаркте миокарда и сердечной недостаточности на животных моделях, проникновение МСК в клеточную терапию болезней сердца человека только начинается.

Недавно были опубликованы результаты рандомизированного исследования эффективности внутрикоронарного введения МСК больным с острым инфарктом

миокарда [87]. После проведения этой терапии у больных наблюдалось улучшение функции сердца, подтвержденное инструментальными методами исследования и сопровождающееся улучшением общего состояния пациента.

Начато клиническое исследование I фазы, целью которого явилось определение переносимости, безопасности и эффективности внутримыокардиального введения смеси аутологичных МСК и моноклеарных клеток костного мозга во время операции аортокоронарного шунтирования. Смесь клеток вводили после завершения наложения анастомозов в миокард по периметру границы инфаркта [80]. Котрансплантация МСК и костномозговых клеток, по мнению авторов исследования, дополняет дифференцировочные способности МСК ангиогенными потенциями моноклеарной фракции костного мозга.

В сентябре 2006 г. в банке данных по клиническим испытаниям (<http://clinicaltrials.gov>) Медицинским центром Колумбийского университета зарегистрировано клиническое рандомизированное многоцентровое исследование II фазы (NCT00383630) «Трансплантация костномозговых клеток для улучшения функции сердца у лиц с терминальной формой сердечной недостаточности». Контингентом для данного исследования будут 75 пациентов, находящихся в листе ожидания пересадки донорского сердца в 13 центрах кардиохирургии США. Больным будет вводиться интракардиально смесь аутологичных моноклеарных клеток костного мозга и выращенных из него МСК. Цель исследования — сравнить безопасность и эффективность двух типов клеточной терапии, МСК и выделенных иммуноселекцией CD34+ ГСК, в улучшении функции сердца при терминальной сердечной недостаточности.

Перспективы лечения *нейродегенеративных заболеваний* головного и спинного мозга, последствий инсульта и травматического повреждения связаны с возможностью замещения и репарации этой ткани. Известно, что потенциал самообновления нервной ткани *in situ* очень низок и не имеет реального клинического значения. Трансплантация нервной ткани не может иметь терапевтического значения по этическим соображениям, а также и потому, что дифференцированные нервные клетки плохо переносят выделение и почти не приживаются. В то же время клонотипные невральные стволовые клетки (НСК), выделенные из эмбриональной ткани или выращенные из эмбриональных стволовых клеток, могут дифференцироваться в различные клетки мозговой ткани, а следовательно, замещать и репарировать ее в случаях поражения. В последние годы получены многочисленные свидетельства возможности трансдифференцировки МСК в различные виды клеток с фенотипом нервной ткани (нейроны, олигодендроциты, клетки астроглии) [63]. Эта конверсия по описаниям происходит очень быстро в культуральных условиях под действием специфических стимуляторов (см. табл. 2), она подтверждается морфологическими и иммунохимическими исследованиями [61—63]. Трансдифференцировка МСК подтверждена в исследованиях *in vivo* на экспериментальных моделях кровоизлияния в мозг [88, 89, 91] и болезни Альцгеймера [90], сопровождается улучшением моторной функции и общего состояния экспериментальных животных. При этом тип дифференцировки МСК зависит от местоположения в головном мозге: маркеры трансплантированных МСК выявлялись в нейронах гипоталамуса, в нейронах, астроцитах и олигодендроцитах коры, в нейронах и астроцитах вокруг очага кро-

воизлияния [89]. Использование этих свойств МСК, легко выделяемых и конвертируемых в культуру, для репарации нервной ткани представляется очень заманчивым. Однако эти исследования до сих пор не получили клинического развития, что связано с неоднозначной трактовкой результатов доклинических исследований.

Не менее интересные результаты получены при попытках репарировать с помощью МСК дегенеративные изменения в *печени, почках и поджелудочной железе* — органах, происхождение которых связано преимущественно с энтодермальным эмбриональным ростом.

При культивировании в средах, содержащих специфические стимуляторы дифференцировки печеночных клеток (см. табл. 2), или при кокультивировании с клетками печени МСК приобретают некоторые маркеры печеночных клеток (транскрипционные факторы с/ЕВРβ и HNF4α) и начинают экспрессировать альбумин и альфа-фетопроtein [64–66]. Генетические маркеры МСК обнаруживаются в клетках печени при введении их интрапортально мышам с экспериментальным циррозом печени (до 16% клеток печени содержат маркеры МСК), что сопровождается улучшением функции печени и общего состояния экспериментальных животных [65, 66]. Эти исследования, однако, не дают однозначного ответа о механизме действия МСК, нет убедительных доказательств трансдифференцировки МСК в печеночные клетки.

При использовании трансплантации МСК в лечении острой почечной недостаточности на экспериментальных моделях получен выраженный клинический эффект, отмечаются признаки восстановления структуры и функции почек [92, 93]. При этом генетическая метка трансплантированных МСК обнаруживалась в эпителиальных клетках почечных канальцев вне зоны поражения, что подтверждает тропность МСК к почечной ткани. Однако достоверных доказательств трансдифференцировки МСК в клетки эпителия почечных канальцев и клубочков найти не удается. Механизм лечебного эффекта остается неясным.

Диабет 1-го типа, вызванный аутоиммунным разрушением инсулинпродуцирующих β-клеток поджелудочной железы, является потенциальной мишенью для кле-

точной терапии. Была продемонстрирована способность МСК в культуре под действием стимуляторов созревания инсулинпродуцирующих островков поджелудочной железы и при кокультивировании с β-клетками поджелудочной железы (см. табл. 2) приобретать фенотип и морфологию этих клеток, а также секретировать инсулин [67–69]. Введение этих клеток подкожно крысам с экспериментальным диабетом вызывало у них временное снижение уровня глюкозы [69]. Использование МСК в клеточной терапии диабета, несмотря на пока еще небольшую и недостаточно доказательную экспериментальную базу, несомненно, имеет большие клинические перспективы.

Иммуномодулирующие свойства МСК

МСК, как стало известно в последние годы, обладают еще одной, возможно, уникальной особенностью — иммуносупрессивными свойствами и играют роль модуляторов межлимфоцитарных взаимодействий (табл. 3).

Иммунологические особенности МСК связаны с определенными генетически детерминированными свойствами. На поверхности МСК спонтанно экспрессируются антигены HLA класса I, но не HLA класса II. Последние обнаруживаются в МСК внутриклеточно, и их перемещение на поверхность происходит под действием интерферона-γ [94]. Это свойство весьма стабильно и не меняется при дифференцировке МСК, наиболее выражено у остеогенных предшественников. МСК не экспрессируют молекулы, стимулирующие В-клеточную пролиферацию (В-7, CD40, CD40L, CD80, CD86), и, напротив, экспрессируют антигены, вовлеченные в Т-клеточные взаимодействия (VCAM-1, ICAM-1, LFA-3) [113]. Кроме того, МСК экспрессируют активин-А, подавляющий В-клеточный лимфопоэз [114].

Молекулярные механизмы иммуномодуляторного воздействия МСК до конца не ясны, однако можно выделить основные события:

- взаимодействие с лимфоцитами, которое выражается в ингибции пролиферации спленоцитов, Т- и В-лимфоцитов, блокировании образования регуляторных CD4⁺ Т-клеток, прекращении секреции эффекторных Т- и НК-клеток. В этом участвуют растворимые факторы, такие, как ИЛ-10, ТФР-β, HGF и простагландин E2;

Таблица 3. Участие МСК в аллогенном иммунном ответе

Мишень действия	Действие МСК	Источники
Аллореактивность лимфоцитов	Подавляет пролиферацию аллогенных лимфоцитов, аллореактивную пролиферацию Т- и В-лимфоцитов (растворимые факторы), активирует апоптоз	[94–101]
Функция АПК	Ингибирует созревание АПК/ДК; дифференцировку/функцию ДК моноцитарного происхождения; аллогениндуцированную дифференцировку ДК. Уменьшает секрецию цитокинов ДК; действие наивных и эффекторных Т- и НК-клеток; аллостимуляторную способность ДК. Индуцирует образование CD4 ⁺ регуляторных/супрессорных Т-клеток	[102–106]
Лизис цитотоксическими Т- и НК-клетками	Ингибирует образование цитотоксических лимфоцитов, не снижая литической способности уже образованных цитотоксических Т- и НК-лимфоцитов	[106]
Толерантность к аллогенным тканям	Индуцирует длительное приживание кожного трансплантата	[96]
РТПХ после трансплантации аллогенного КМ	Уменьшает выраженность острой РТПХ при котрансплантации с родственными/неродственными ГСК	[99, 106–111]
Опухолевый рост	Сдерживает пролиферацию меланомных клеток	[112]

Примечание. АПК — антигенпрезентирующие клетки; НК — натуральные киллеры; КМ — костный мозг.

- жесткая ингибция образования дендритных клеток (ДК) из моноцитов под действием ГМ-КСФ и ИЛ-4;
- индукция общей и антигенспецифической иммуносупрессии, что достигается ингибцией аллоантиген-индуцированной дифференцировки ДК, преимущественной активацией клонов Т-лимфоцитов супрессорного фенотипа и продукцией растворимых иммуносупрессивных факторов.

Физиологическое значение иммуносупрессивной активности МСК до конца не ясно. Возможно, таким образом формируется запрет иммунных реакций на территории костного мозга. Эти свойства МСК начали широко использовать в клеточной терапии.

Особые надежды возлагаются на использование МСК в котрансплантации с аллогенными ГСК для лечения тяжелой острой и хронической РТПХ. Первые результаты показали их высокую эффективность [111, 115]. Интересен случай, описанный К. Le Blanc [116]: трансплантация гаплоидентичных МСК (от матери) 9-летнему ребенку с острой РТПХ IV степени, поражением кишечника и печени купировала эту реакцию, состояние кишечника и печени нормализовалось и остается таковым в течение года после МСК-терапии. Примечательно и то, что МСК при этом обладают иммунной толерантностью, не нуждаются в совместимости с тканями реципиента.

На сайте Интернета по клиническим испытаниям (<http://clinicaltrials.gov>) зарегистрировано 2 протокола клинических испытаний МСК в лечении тяжелой РТПХ:

- «Инфузия донорских мезенхимальных стволовых клеток пациентам с острой и хронической РТПХ после проведения трансплантации донорских стволовых клеток» — многоцентровое клиническое испытание I фазы, проводится Национальным институтом рака США, номер гос. регистрации NCT00361049, начало набора больных — август 2006 г.;

- «Оценка роли мезенхимальных стволовых клеток в лечении РТПХ» — открытое неконтролируемое нерандомизированное клиническое испытание I—II фазы, проводится христианским медицинским колледжем (Веллори, Индия), номер гос. регистрации NCT00314483.

Несомненные клинические перспективы имеет способность МСК тормозить пролиферацию и дифференцировку В-лимфоцитов, ответственных за развитие аутоиммунных расстройств [117]. Были получены хорошие результаты в лечении экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита у мышей [118], исследования в этой области продолжаются.

Использование МСК в модуляции иммунного ответа только начинается, многое в механизмах взаимодействия МСК с компонентами иммунной системы остается неясным. Однако несомненно, что МСК могут быть активным компонентом в лечении иммунных конфликтов, индукции иммунной толерантности и снижении трансплантационных осложнений, связанных с отторжением трансплантата и развитием РТПХ.

Источники выделения МСК для проведения клеточной терапии

МСК, отличающиеся характерными иммунофенотипическими признаками и дифференцировочными потенциями, обнаруживаются во многих тканях организма: надкостнице и мышечной ткани [119], костном мозге, печени и крови плода [120], жировой ткани [121, 122], пуповинной крови [123, 124]. Наличие МСК в перифе-

рической крови человека вызывает сомнение: по одним данным, МСК в крови отсутствуют [125], по другим, их содержание очень низкое [126] и выявляется только после действия мобилизующего цитокина (например Г-КСФ) [127].

Значение для клеточной терапии имеют, в основном, 3 источника МСК: костный мозг, жировая ткань и пуповинная кровь. Выбор этих тканей определяется их доступностью, относительной атравматичностью выделения (особенно это касается пуповинной крови) и достаточно высоким содержанием МСК. Нарботка МСК происходит в условиях культивирования КОЕ-ф, общих для МСК из всех источников: отсутствие манипулирования с клетками после выделения, прилипание к пластике, наличие в среде эмбриональной телячьей сыворотки.

В исследованиях разных авторов показана идентичность основных свойств МСК, полученных из разных источников: типичная морфология; характер роста в культуре; способность дифференцироваться под действием специфических стимуляторов в остеогенные, адипогенные и хондрогенные предшественники [4]; поддержка кроветворения в культуре [128]; экспрессия общих поверхностных маркеров и идентичность профиля экспрессии большинства генов [129]. Есть и некоторые различия: МСК, полученные из костного мозга, более коммитированы к остеогенезу, а выделенные из пуповинной крови — к ангиогенезу [130]; эффективность колониеобразования КОЕ-ф из костного мозга ниже, чем из жировой ткани, однако клеточность колоний выше [131]. МСК, выделенные из пуповины доношенных новорожденных с помощью ферментного расщепления [132], отличались от МСК костного мозга более высокой пролиферативной активностью и низкой экспрессией CD106 и HLA-ABC, что свидетельствует о более низкой аллореактивности этих клеток.

При анализе фенотипа и генотипа МСК следует иметь в виду, что исследованию подвергаются не первичные клетки, а МСК, размноженные в культуре под действием различных стимуляторов и других экзогенных факторов, способных влиять на отдельные эпителии поверхностных молекул и менять экспрессию тестируемых генов. Возможно, эти обстоятельства определяют некоторую изменчивость маркерных характеристик МСК и не связаны с их происхождением. Можно согласиться с Р. Bianco и соавт. [133], считающими, что определять фенотип и генотип МСК так же сложно, как «стрелять по движущейся мишени».

Механизмы пластичности МСК и их роль в репарации поврежденных тканей

Как было показано в предыдущих разделах, в клеточной терапии с использованием МСК различают несколько направлений: поддержка кроветворения и ускорение приживления трансплантата; снижение аллореактивности при трансплантации и уменьшение аутоиммунных конфликтов; репарация и замещение поврежденных тканей.

Механизмы действия МСК в первых двух направлениях были рассмотрены выше. В настоящем разделе будут проанализированы механизмы пластичности МСК, обеспечивающие их участие в процессах репарации тканей.

Механизмы ортодоксальной и неортодоксальной пластичности, по-видимому, различны. В первом случае речь идет о линейно-специфической дифференцировке МСК в различные мезенхимальные клеточные элементы (кость, хрящ, жировая и периваскулярная ткань), состав-

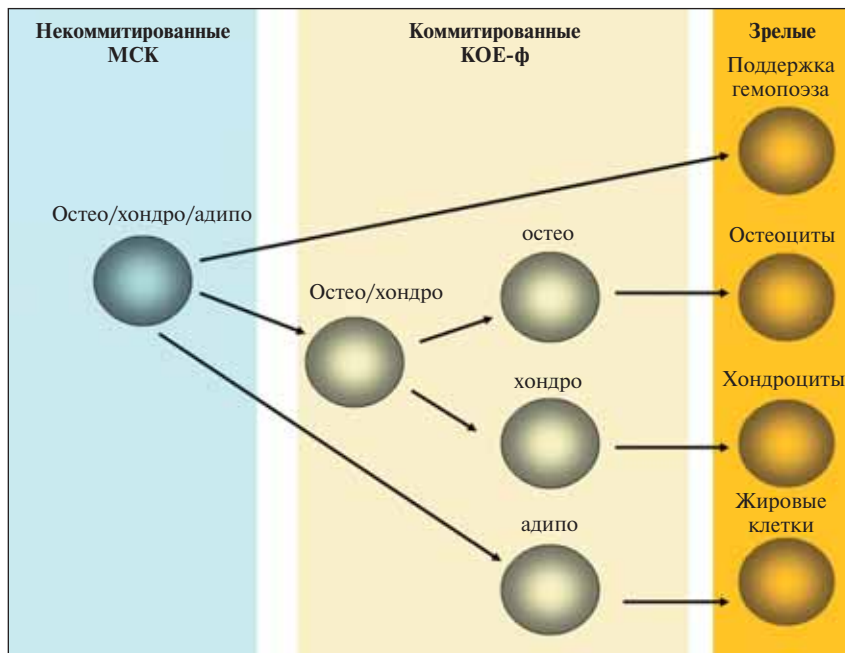


Рис. 1. Модель ортодоксальной чувствительности МСК. Объяснения в тексте

ляющие строму органа, в том числе стромальное микроокружение кроветворения. Во втором случае имеет место дифференцировка, преодолевающая не только межтканевые, но и межэмбриональные барьеры: МСК — производные мезодермального эмбрионального роста, дифференцируются в ткани, происходящие из эктодермального (например, нервная ткань) и энтодермального (например, миокард, печень, поджелудочная железа) эмбриональных ростков. Очевидно, что и рассматривать эти виды трансформаций следует отдельно.

В рамках ортодоксальной пластичности МСК ведут себя как обычные стволовые клетки в постнатальный период — дают начало всем дифференцированным элементам своей ткани. Несмотря на большое количество исследований, остаются до конца не ясными механизмы ортодоксальной пластичности: происходят ли репрограммирование и трансдифференцировка зрелых клеток (остеобластов, фибробластов и жировых клеток) или имеют место дедифференцировка зрелых элементов и образование новых клеточных типов по иерархической модели из МСК. Клональные исследования дифференцировки МСК [134, 135] заставляют отдать предпочтение иерархической модели, представленной на рис. 1. Согласно этой модели, МСК стромального микроокружения полипотентны, могут дифференцироваться во все мезенхимальные элементы, теряя в определенной последовательности свою полипотентность по мере продвижения по иерархической лестнице. Как показали исследования, выполненные на выделенных клонах и линиях МСК [133—135], ключевым направлением дифференцировки этих клеток является остеогенное, что подтверждается постоянной экспрессией в этих клетках на всех этапах иерархической лестницы ранних генов остеогенной дифференцировки (ген коллагена I типа и транскрипционные факторы $CBF\alpha 1$, OSX и OPN). Ранние предшественники МСК экспрессируют также гены ранней адипогенной (LPL — липопротеинлипаза) и хондрогенной ($COLX$ — коллаген X типа) дифференцировок. По мере созревания МСК первой теряется способность

дифференцироваться в сторону жировых клеток. По данным А. Muraglia и соавт. [134], способностью к остеогенной дифференцировке обладают 60—80% первичных клонов МСК костного мозга человека, остеогенные и хондро/адипогенные клоны не выявлены.

Для объяснения механизмов неортодоксальной пластичности существует несколько моделей. Первой версией (казалось бы, лежащей на поверхности) была гипотеза о существовании в постнатальный период среди элементов МСК тотипотентных клеток, обладающих способностью, подобно эмбриональным стволовым клеткам (ЭСК), давать начало клеткам любых тканей. Действительно, такие клетки были выделены из культур МСК, выращенных в определенных условиях, в обедненной питательной среде [136, 137]. Источником их явились прилипающие клетки костного мозга и других органов [138] мы-

ши, крысы и человека [139]. Эти клетки получили название МАРС (multipotent adult progenitor cells) [136]. Под действием специфических индукционных сред в культуре была получена дифференцировка МАРС в клетки с морфологическими и фенотипическими характеристиками нейронов, астроцитов и олигодендроцитов [139], а также гепатоцитов [140]. При внутривенном введении генетически меченных МАРС облученной или иммунодефицитной мыши обнаруживалась их дифференцировка в гемопоэтические клетки, эпителиальные клетки печени, легких и кишечника [137]. МАРС способны к длительному самообновлению, экспрессируют высокий уровень теломеразы, укорочение теломера отсутствует после многократных делений [141]. Иными словами, МАРС обладают, казалось бы, всеми свойствами тотипотентных стволовых клеток и могут быть выделены из популяции МСК. Однако остается неизвестным, являются ли МАРС субпопуляцией МСК, нормально существующей у человека, или их способности представляют собой феномен, развивающийся в особых условиях культивирования. До сих пор никому не удалось выделить эти клетки из тканей в нативном виде, до культивирования. Вопрос о существовании этих клеток *in situ* остается открытым.

Основные доказательства неортодоксальной пластичности МСК, как было показано в предыдущих разделах, получены при их культивировании в индукционных средах *in vitro*. Эти доказательства могут быть разделены на 3 уровня: морфология клеток, иммунофенотипическая характеристика, экспрессия генов. Специфическая функциональная активность трансформированных клеток обычно рассматривается на экспериментальных моделях той или иной патологии при введении этих клеток *in vivo*.

Приобретение МСК специфических морфологических черт подробно рассмотрено на примере невральных клеток с использованием замедленной (цейтраферной) микрокиносъемки [142]. Показано, что специфические морфологические изменения, происходящие обычно в течение нескольких первых часов культивирования, являются не истинной трансформацией клеток, а артефак-

том — результатом дегенеративных изменений под токсическим воздействием DMSO/ВНА.

Экспрессия специфических дифференцировочных маркеров, выявляемая иммунохимически, происходит, как правило, слишком быстро для истинной трансформации, кроме того, их специфичность нередко вызывает сомнение [143]. Так, например, β III-tubuline, NeuN, Tau, CALD1, считавшиеся ранее маркерами невральных клеток, как показали исследования последних лет, неспецифичны для нервной ткани, их появление может быть результатом повышения экспрессии генов, характерных для МСК [144]. Кроме того, следует признать, что иммунофенотипическое исследование, анализирующее небольшое количество маркеров в клетках, вырванных из их физиологического «контекста», — недостаточное основание для установления клеточного типа.

Наиболее убедительным доказательством клеточной трансформации может быть анализ экспрессии генов с помощью микрочиповой диагностики, позволяющей проанализировать транскриптом (совокупностью транскриптов) десятков и сотен тысяч генов. Однако и в этом отношении МСК является сложным объектом, так как генная экспрессия этих клеток очень велика, число и разнообразие экспрессированных генов значительно выше, чем, например, в стволовых кроветворных клетках. В табл. 4 представлено сравнение транскриптов генов этих двух клеточных элементов, составленных при микрочиповом анализе экспрессии более тысячи генов, наиболее часто встречающихся в этих клеточных типах [145].

Изучение экспрессии более 20 000 генов, проведенное при химической индукции невральной диффе-

ренцировки МСК в культуре, показало отсутствие транскрипции специфических для нервной ткани генов и активацию тех же генов, что и при трансформации МСК в другие клеточные элементы, например, овальные клетки печени [142].

Таким образом, абсолютно достоверных доказательств трансдифференцировки МСК в немезенхимальные элементы в культуре не существует.

Механизмом пластичности, альтернативным трансдифференцировке, может быть слияние МСК с клеткой дифференцированных тканей и образование клетки-гибрида с активированными, вместо мезенхимальных, генами партнера по слиянию. В качестве примера можно привести слияние *ex vivo* фибробластов с миобластами, в результате чего ядра фибробластов начинают экспрессировать мышечную мРНК [146]. Начало этих исследований было положено двумя работами, опубликованными в Nature в 2002 г. N. Terada и соавт. [147] культивировали костномозговые клетки мыши с ЭСК и установили частоту слияния $1:10^5$ — $1:10^6$, гибридные клетки приобрели фенотип ЭСК. В работе Q. Ying и соавт. [148] кокультивировали нефракционированные клетки головного мозга мыши с ЭСК и установили частоту образования гибридных клеток $1:10^4$ — $1:10^5$, потомство было тетра- и гексаплоидным. Эти опыты показали, что слияние может быть ответственно за репрограммирование генной экспрессии соматических клеток (сущность пластичности) без необходимости возвращения к стволовым клеткам. При этом клетки не обязательно должны быть полиплоидными; тетраплоидные клетки, образованные после слияния, легко могут превращаться в диплоидные, особенно если слияния ядер не произошло (рис. 2).

Таблица 4. Сравнение экспрессии генов в МСК и в CD34+ клетках [145]

Молекулы клеточной адгезии	
МСК:	Laminin receptor 1, Integrin β 1 (fibronectin receptor), Integrin alpha V (vitronectin receptor), Collagens (type I alpha 1, type III alpha 1, type IV alpha 1, type V alpha 1, type VI alpha 1, type VI alpha 2, type VI alpha 3, type VII alpha 1, type XVI alpha 1), Transforming growth factor β -induced, Connective tissue growth factor, Chondroitin sulfate proteoglycan 2 (versican), Fibronectin 1, Activated leukocyte cell adhesion molecule (ALCAM), Milk fat globule-EGF factor 8 protein, Lysyl oxidase-like 2, MIC2, CD151 antigen, RAC1, RAB13, Protein tyrosine kinase 7, Ninjurin 1, Vinculin, Osteoblast specific factor 2, Syndecan 2, Zyxin, Cadherin 11
CD34:	Laminin receptor 1, Collagen type I alpha 1, CD164 antigen (sialomucin), Ninjurin 2, Selectin L, Macrophage erythroblast attacher, Integrin cytoplasmic domain-associated protein 1, Carbohydrate (N-acetylglucosamine 6-O) sulfotransferase 4
Экстрацеллюлярные	
МСК:	Collagens (type I alpha 1, type III alpha 1, type IV alpha 1, type V alpha 1, type VI alpha 1, type VI alpha 2, type VI alpha 3, type VII alpha 1, type XVI alpha 1), SPARC (osteonectin), Insulin-like growth factor binding proteins 3, 4 and 6, Biglycan, Fibrillin 1, Fibronectin 1, Lysozyme, Macrophage migration inhibitory factor, Calgranulins A and B, Stanniocalcin 2, Lumican, Chondroitin sulfate proteoglycan 2 (versican), Granulin, Prosaposin, Connective tissue growth factor, 5-hydroxytryptamine receptor 1D, Tissue factor pathway inhibitor 2, Transforming growth factor β 1, Lysyl oxidase-like 1 and 2, Follistatin-like 1, Nucleobindin 1, Matrix metalloproteinases 2 and 19, Galectin 3, Transforming growth factor β -induced, Dickkopf homolog 3, Amyloid β (A4) precursor protein, Tissue inhibitor of metalloproteinase 1 and 3, Microfibrillar-associated protein 2, Tumor protein translationally controlled 1, Cysteine-rich angiogenic inducer 61, PRSS11 (IGF binding), CR11, ACPP, TM4SF7
CD34:	Collagen type I alpha 1, Tumor protein, translationally controlled 1, Prosaposin, Calgranulin B, Nucleobindin 2, Lysozyme, Macrophage migration inhibitory factor, Tissue factor pathway inhibitor 2, Chorionic somatomammotropin hormone 1, Surfactant, pulmonary-associated protein C, DEF6, Ribonuclease RNase A family 2, Chondroitin sulfate proteoglycan 6 (bamacan)
Клеточная подвижность	
МСК:	Defensin alpha 1, Actins alpha 1, alpha 4 and β , Actin related protein 2/3 complex subunit 1B and subunit 2, Tumor necrosis factor receptor superfamily member 12 A, Annexin A1, Crystallin alpha B, Connective tissue growth factor, Moesin, Gap junction protein alpha 1, RAC1, Tropomyosin 2, Tropomyosin 1, Calgranulin A, Filamin A alpha, Fibronectin 1, Aldolase A
CD34:	Selectin L, Poly(A) binding protein nuclear 1, RalA binding protein 1, Crystallin alpha B, Aldolase A, Actin β , Annexin A1, Actin related protein 2/3 complex subunits 1B and 2, Nebulin-related anchoring protein, Carbohydrate (N-acetylglucosamine 6-O) sulfotransferase 4

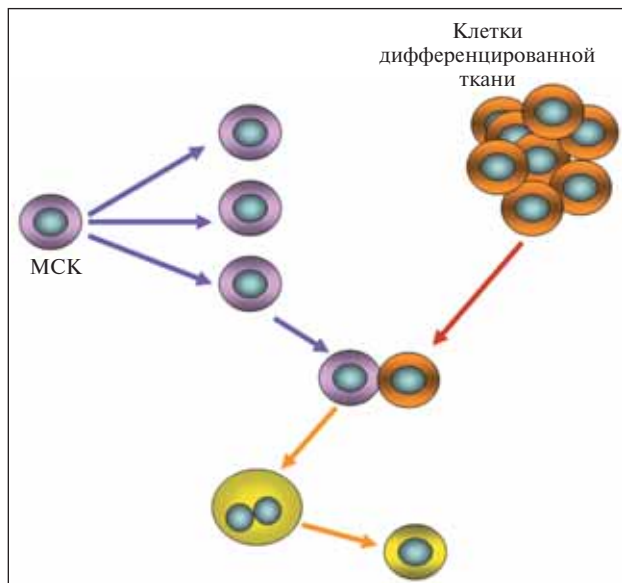


Рис. 2. Модель слияния МСК с дифференцированной негемопоэтической клеткой. Образуется клетка с двумя ядрами, при дальнейшем развитии превращается в диплоидную клетку с генной экспрессией, характерной для негемопоэтической клетки

Пока неясно, является ли слияние физиологическим механизмом репарации или исключением из правил. Предполагается, что в печени слияние — естественный путь репликации и дифференцировки гепатоцитов [149]. Было также показано, что слияние играет ведущую роль в репарации с помощью костномозговых клеток, скелетных мышц и кардиомиоцитов, а также в восстановлении клеток Пуркинью головного мозга [150]. Восстановление островков поджелудочной железы и клубочкового эпителия почек происходит, напротив, без слияния [151, 152]. Весьма примечательно, что только кокультивирование МСК с нервными клетками и кардиомиоцитами дает появление истинных маркеров этих клеток [142]. Это наводит на мысль, что механизм трансдифференцировки МСК в этих случаях может быть слияние.

Таким образом, приведенный выше фактический материал по неортодоксальной пластичности МСК позволяет, с нашей точки зрения, признать, что наиболее реальным механизмом трансдифференцировки МСК в клетки тканей мезодермального происхождения является слияние МСК и клетки дифференцированной ткани. В результате этого образуется клетка-гибрид, сохраняющая, с одной стороны, свойства МСК (характерные признаки стволовой клетки), а с другой — приобретающая свойства клетки, специфичные для партнера по слиянию (фенотип и генетическую программу дифференцировки специфической ткани). Такая клетка обладает, скорее всего, ограниченным пролиферативным потенциалом, с чем связано нахождение обычно небольшой доли трансформированных клеток в поврежденной ткани, являющейся мишенью терапии.

Трансплантация МСК как в клинике, так и в эксперименте почти всегда сопровождается благоприятным клиническим эффектом, зависящим от количества пересаженных клеток, но не от доли клеток с маркерами донорских МСК, обнаруженных в поврежденной ткани реципиента [11]. Более того, с накоплением клинического материала становится ясно, что МСК далеко не всегда

участвуют в замещении поврежденной ткани, являясь так или иначе источником вновь образованных клеток. Значительно чаще они обладают трофическим эффектом, несут с собой ферменты, цитокины и ростовые факторы, необходимые для защиты, спасения и восстановления тканей реципиента. Так, в тщательно проведенных экспериментальных исследованиях показано, что улучшение функции сердца в результате введения МСК в зону инфаркта связано не с трансдифференцировкой этих клеток в кардиомиоциты, а с тем, что они занимают зону некроза, препятствуя развитию рубца [153].

При лечении повреждения головного мозга МСК оказывают терапевтический эффект часто не путем замещения вновь образованной нервной ткани, а за счет переносимых и продуцируемых ими молекул. К ним можно отнести трофические факторы, оказывающие защитное, регенеративное и антиапоптотическое воздействие; ангиогенные факторы, способствующие ревазуляризации поврежденной зоны; противовоспалительные факторы, тормозящие организацию рубца и цитокинзависимое вторичное повреждение ткани; диуретические факторы, уменьшающие отек мозга [153]. При этом необходимо учитывать также уникальные иммуномодулирующие свойства МСК. Именно эти свойства, скорее всего, оказывают положительное воздействие при экспериментальном диабете [67, 68].

Все вышесказанное заставляет признать, что участие МСК в восстановлении поврежденных тканей — сложный, многофакторный процесс. Ведущую роль в нем играют, по-видимому, трофические и иммуномодулирующие свойства МСК, вызывающие репарацию поврежденных тканей, и гораздо меньшую — обновление тканей за счет образования из МСК тем или иным путем новых клеток.

Среди множества вопросов, вытекающих из анализа результатов клеточной терапии с участием МСК, основными представляются следующие.

— Что заставляет МСК двигаться к поврежденным тканям-мишеням и осуществлять «доставку на дом» всего, что обеспечивает клинический ответ на клеточную терапию?

— Почему это свойство возникает только после их выделения и введения в организм вновь, а не работает постоянно *in situ*?

В ответ на эти вопросы можно высказать несколько предположений:

— поврежденные ткани выделяют хемотаксические стимулы, к которым в высшей степени чувствительны МСК, имеющие рецепторы ко многим молекулам межклеточных взаимодействий и обладающие высокой подвижностью в ответ на действие хемотаксических факторов (см. табл. 4). Однако до мобилизации МСК находятся в тесной связи с другими элементами стромы и клетками тканей, в микроокружение которых они входят. Образно говоря, им мешают предсуществующие «социальные» связи;

— для восприятия этих стимулов МСК следует освободиться от своих обычных связей, должна установиться другая «иерархия приоритетов». При разрушении этих связей (мобилизация из костного мозга или других органов, культивирование, обработка ростовыми факторами и др.) рецепторы высвобождаются и становятся доступными для других, не продиктованных «социальной необходимостью» воздействий, например, хемотаксических стимулов поврежденных тканей.

Перспективы применения МСК в клеточной терапии

Использование МСК в клеточной терапии только начинается. Однако уже сейчас понятно, что возможности этих клеток уникальны. От других стволовых клеток, применяющихся в клеточной терапии, и в первую очередь кроветворных, МСК отличаются следующие особенности:

- выраженный трофический эффект;
- иммунная толерантность;
- способность подавлять аллореактивность и ауто-иммунные конфликты;
- возможность наработки больших количеств в культуре.

Дальнейшее развитие клеточной терапии с использованием МСК затрудняет то обстоятельство, что все свойства МСК изучаются не на первичных клетках, выделенных из костного мозга, жировой ткани или пуповинной крови, а на потомках этих клеток, размноженных в культуре и испытывающих на себе многие экзогенные воздействия. Трудность выделения первичных клеток связана с отсутствием специфических маркеров и низким содержанием МСК в тканях: в нефракционированном костном мозге человека — 0,01%, мышцы — 0,001—0,0001% [154]. Многие лаборатории находятся в поиске методов непосредственного выделения МСК из ткани человека и лабораторного животного.

Тем не менее уже сейчас можно сказать, что одним из перспективнейших направлений должно стать использование МСК в генной терапии врожденных и приобретенных заболеваний. Это определяется высокой способностью МСК к пролиферации и дифференцировке в культуре, выраженным хемотаксическим эффектом при введении в организм, и иммунологической толерантностью, позволяющей широко использовать донорские клетки, создавая банки генномодифицированных клеток.

Большие перспективы имеет использование иммуномодулирующего эффекта МСК в терапии аутоиммунных и аутоагрессивных заболеваний.

Дальнейшее изучение свойств МСК, связанных с «чувством дома», хемокинов, на которые они откликаются, репертуара поверхностных молекул адгезии, являющихся ключом для реализации направленного движения и прикрепления МСК, — проблемы, не только имеющие фундаментальное значение, но и чрезвычайно важные для клинического применения МСК в условиях системной инфузии.

Развитие этих и других направлений клинического использования МСК — «клетки со многими лицами», по определению Р. Bianco [46], требует дальнейших серьезных фундаментальных и клинических исследований.

Л и т е р а т у р а

1. Фриденштейн А.Я., Чайлахян Р.К., Лалыкина К.С. О фибробластоподобных клетках в культурах кроветворных тканей морских свинок. Цитология 1970;12:1147—55.
2. Friedenstein A.J., Deriglasova U.F., Kulagina N.N. et al. Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method. Exp Hematol 1974;2(2):83—92.
3. Owen M., Fridenstein A. Stromal stem cells, marrow-derived osteogenic progenitors. Ciba Found Symp 1988;136:42—60.
4. Minguell J.J. Mesenchymal stem cells. Exp Biol Med 2001;226:507—20.
5. Prockop D.J. Marrow stromal cells as stem cells for nonhematopoietic tissues. Science 1997;276:71—4.
6. Caplan A.I. The mesengenic process. Clin Plast Surg 1994;21:429—35.
7. Conget P.A., Minguell J.J. Phenotypal and functional properties of human bone marrow mesenchymal progenitor cells. J Cell Physiol 1999;181:67—73.
8. Galotto M., Berisso G., Delfino L. et al. Stromal damage as a consequence of high dose chemo/radiotherapy in bone marrow transplant recipients. Exp Hematol 1999;27:1460—6.
9. Simmons P., Przepiorka E., Thomas E., Torok-Storb B. Host origin of marrow stromal cells following allogeneic bone marrow transplantation. Nature 1987;328:429—32.
10. Pereira R.F., O'Hara M.D., Laptev A.V. et al. Marrow stromal cells as a source of progenitor cells for nonhematopoietic tissues in transgenic mice with a phenotype of osteogenesis imperfecta. Proc Natl Acad Sci USA 1998;95:1142—7.
11. Horwitz E.M., Prockop D.J., Fitzpatrick L. et al. Transplantability and therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal cells in children with osteogenesis imperfecta. Nat Med 1999;5:309—13.
12. Almeida-Porada G., Porada C.D., Tran N., Zanjani E.D. Cotransplantation of human stromal cell progenitors into preimmune fetal sheep results in early appearance of human donor cells in circulation and boosts cell levels in bone marrow at later time points after transplantation. Blood 2000;95:3620—7.
13. Noort W., Kruiselsbrink A., de Paus R. et al. Co-transplantation of MSC and UCB CD34+ cells results in enhanced hematopoietic engraftment. Exp Hematol 2002;30:870—8.
14. Devine S., Bartholomew A., Mahmud N. et al. Mesenchymal stem cells are capable of homing to the bone marrow of nonhuman primates following systemic infusion. Exp Hematol 2001;29:244—55.
15. El-Badri N., Wang B., Cerry A., Good R. Osteoblasts promote engraftment of allogeneic hematopoietic stem cells. Exp Hematol 1998;26:110—6.
16. Novelli E., Buynier D., Chopra R. Human MSC can enhance human CD34+ cell repopulation of NOD/SCID mice. Blood 1998;92:117 a.
17. Lazarus H.M., Haynesworth S.E., Gerson S.L. et al. Ex vivo expansion and subsequent infusion of human bone marrow-derived stromal progenitor cells (mesenchymal progenitor cells), implications for therapeutic use. Bone Marrow Transplant 1995;16:557—64.
18. Koc O.N., Peters C., Aubourg P. et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells remain host-derived despite successful hematopoietic engraftment after allogeneic transplantation in patients with lysosomal and peroxisomal storage diseases. Exp Hematol 1999;27:1675—81.
19. Gerson S.L. Mesenchymal stem cells, no longer second class marrow citizens. Nat Med 1999;5:262—4.
20. Fibbe W., Noort W. Mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cell transplantation. Ann N Y Acad Sci 2003;996:235—44.
21. Pozzi S., Lizini D., Podesta M. et al. Donor multipotent mesenchymal stromal cells may engraft in pediatric patients given either cord blood or bone marrow transplantation. Exp Hematol 2006;34:934—42.
22. Lazarus H.M., Koc O.N., Devine S.M. et al. Cotransplantation of HLA-identical sibling culture-expanded mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients. Biol Blood Marrow Transplant 2005;11:389—98.
23. Bennett J.H., Joyner C.J., Triffitt J.T. et al. Adipocytic cells cultured from marrow have osteogenic potential. J Cell Sci 1991;99:131—9.
24. Beresford J.N., Bennett J.H., Devlin C. et al. Evidence for an inverse relationship between the differentiation of adipocytic and osteogenic cells in rat marrow stromal cell cultures. J Cell Sci 1992;102:341—51.
25. Weiss L. Haemopoiesis in mammalian bone marrow. Ciba Found Symp 1981;84:5—21.
26. Bianco P., Rinnucci M. The bone marrow stroma in vivo, ontogeny, structure, cellular composition and changes in disease. In: J.N. Beresford, M. Owen (eds). Marrow Stromal Cell Cultures. Cambridge, Cambridge University Press; 1998. p. 10—25.
27. Galotto M., Campanile G., Robino G. et al. Hypertrophic chondrocytes undergo further differentiation to osteoblast-like cells and participate in the initial bone formation in developing chick embryo. J Bone Miner Res 1994;9:1239—49.
28. Gentili C., Bianco P., Neri M. et al. Cell proliferation, extracellular matrix mineralization, and ovotransferrin transient expression during in vitro differentiation of chick hypertrophic chondrocytes into osteoblast-like cells. J Cell Biol 1993;122:703—12.
29. Nuttall M.E., Patton A.J., Olivera D.L. et al. Human trabecular bone cells are able to express both osteoblastic and adipocytic phenotype, implications for osteopenic disorders. J Bone Miner Res 1998;13:371—82.
30. Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C. et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science 1999;284:143—7.
31. Conget P., Minguell J.J. Adenoviral-mediated gene transfer into ex vivo expanded human bone marrow mesenchymal progenitor cells.

- Exp Hematol 2000;28:382–90.
32. D'Ippolito G., Diabira S., Howard G.A. et al. Marrow-isolated adult multilineage inducible (MIAMI) cells, a unique population of postnatal young and old human cells with extensive expansion and differentiation potential. *J Cell Sci* 2004;117:2971–81.
 33. Gori F., Thomas T., Hicok K.C. et al. Differentiation of human marrow stromal precursor cells, bone morphogenetic protein-2 increases OSF2/CBFA1, enhances osteoblast commitment, and inhibits late adipocyte maturation. *J Bone Miner Res* 1999;14:1522–35.
 34. Tontonoz P., Hu E., Spiegelman B.M. Stimulation of adipogenesis in fibroblasts by PPAR gamma 2, a lipid-activated transcription factor. *Cell* 1994;79:1147–56.
 35. Owen M. Marrow stromal stem cells. *J Cell Sci* 1988;10:63–76.
 36. Ailhaud G. Extracellular factors, signalling pathways and differentiation of adipose precursor cells. *Curr Opin Cell Biol* 1990;2:1043–9.
 37. Ducy P., Zhang R., Geoffroy V. et al. Osf2/Cbfa1, a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell* 1997;89:743–54.
 38. Bruder S.P., Jaiswal N., Haynesworth S.E. Growth kinetics, self-renewal, and the osteogenic potential of purified human mesenchymal stem cells during extensive subcultivation and following cryopreservation. *J Cell Biochem* 1997;64:278–94.
 39. Friedenstein A.J., Gorskaja J.F., Kulagina N.N. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp Hematol* 1976;4:267–74.
 40. Stein G.S., Lian J.B. Molecular mechanism mediating proliferation/differentiation interrelationships during progressive development of the osteoblast phenotype. *Endocr Rev* 1993;14:424–42.
 41. Lou J., Xu F., Merkel K., Manske P. Gene therapy, adenovirus-mediated human bone morphogenetic protein-2 gene transfer induces mesenchymal progenitor cell proliferation and differentiation in vitro and bone formation in vivo. *J Orthop Res* 1999;17:43–50.
 42. Young R.G., Butler D.L., Weber W. et al. Use of mesenchymal stem cells in a collagen matrix for Achilles tendon repair. *J Ortho Res* 1998;16:406–13.
 43. Majumdar M.K., Thiede M.A., Mosca J.D. et al. Phenotypic and functional comparison of cultures of marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) and stromal cells. *J Cell Physiol* 1998;176:57–66.
 44. Mbalaviele G., Jaiswal N., Meng A. et al. Human mesenchymal stem cells promote human osteoclast differentiation from CD34+ bone marrow hematopoietic progenitors. *Endocrinology* 1999;140:3736–43.
 45. Cheng L., Qasba P., Vanguri P., Thiede M.A. Human mesenchymal stem cells support megakaryocyte and pro-platelet formation from CD34(+) hematopoietic progenitor cells. *J Cell Physiol* 2000;184:58–69.
 46. Bianco P., Riminucci M., Gronthos S., Robey P. Bone marrow stromal stem cells, nature, biology, and potential applications. *Stem Cells* 2001;19:180–92.
 47. Goshima J., Goldberg V.M., Caplan A.I. The origin of bone formed in composite grafts of porous calcium phosphate ceramic loaded with marrow cells. *Clin Orthop* 1991;269:274–83.
 48. Krebsbach P.H., Kuznetsov S.A., Satomura K. et al. Bone formation in vivo, comparison of osteogenesis by transplanted mouse and human marrow stromal fibroblasts. *Transplantation* 1997;63:1059–69.
 49. Kadiyala S., Young R.G., Thiede M.A. et al. Culture expanded canine mesenchymal stem cells possess osteochondrogenic potential in vivo and in vitro. *Cell Transplant* 1997;6:125–34.
 50. Bruder S.P., Kraus K.H., Goldberg V.M. et al. The effect of implants loaded with autologous mesenchymal stem cells on the healing of canine segmental bone defects. *J Bone Joint Surg Am* 1998;80:985–96.
 51. Gazit D., Turgeman G., Kelley P. et al. Engineered pluripotent mesenchymal cells integrate and differentiate in regenerating bone, a novel cell-mediated gene therapy. *J Gene Med* 1999;1:121–33.
 52. Krebsbach P.H., Mankani M.H., Satomura K. et al. Repair of craniotomy defects using bone marrow stromal cells. *Transplantation* 1998;66:1272–8.
 53. Kon E., Muraglia A., Corsi A. et al. Autologous bone marrow stromal cells loaded onto porous hydroxyapatite ceramic accelerate bone repair in critical-size defects of sheep long bones. *J Biomed Mater Res* 2000;49:328–37.
 54. Barry F.P. Mesenchymal stem cell therapy in joint disease. *Novartis Found Symp* 2005;249:86–96.
 55. Horwitz E.M., Gordon P.L., Koo W.K. et al. Isolated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal cells engraft and stimulate growth in children with osteogenesis imperfecta, Implications for cell therapy of bone. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:8932–7.
 56. Wakitani S., Saito T., Caplan A.I. Myogenic cells derived from rat bone marrow mesenchymal stromal cells exposed to 5-azacytidine. *Muscle Nerve* 1995;18:1417–26.
 57. Reyes M., Verfaillie C.M. Skeletal, smooth and cardiac muscle differentiation from single adult marrow derived mesodermal progenitor cells. *Blood* 1999;94:586a.
 58. Dominov J.A., Dunn J.J., Boone Miller J. Bcl-2 expression identifies an early stage of myogenesis and promotes clonal expansion of muscle cells. *J Cell Biol* 1998;142:537–44.
 59. Williams J.T., Southerland S.S., Souza J. et al. Cells isolated from adult human skeletal muscle capable of differentiating into multiple mesodermal phenotypes. *Am Surg* 1999;65:22–6.
 60. Galmiche M.C., Koteliansky V.E., Briere J. et al. Stromal cells from human long-term marrow cultures are mesenchymal cells that differentiate following a vascular smooth muscle differentiation pathway. *Blood* 1993;82:66–76.
 61. Koppen G.C., Prockop D.J., Phinney D.G. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:10711–6.
 62. Reyes M., Verfaillie C.M. Turning marrow into brain, Generation of glial and neuronal cells from adult bone marrow mesenchymal stem cells. *Blood* 1999;94(10 Suppl 1):377a.
 63. Hermann A., Gastl R., Liebau S. et al. Efficient generation of neural stem cell-like cells from adult human bone marrow stromal cells. *J Cell Sci* 2004;117:4411–22.
 64. TalOns-Visconti R., Bonora A., Jover R. et al. Hepatogenic differentiation of human mesenchymal stem cells from adipose tissue in comparison with bone marrow mesenchymal stem cells. *World J Gastroenterol* 2006;12:5834–45.
 65. Seo M.J., Suh S.Y., Bae Y.C., Jung J.S. Differentiation of human adipose stromal cells into hepatic lineage in vitro and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;328:258–64.
 66. Luk J.M., Wang P.P., Lee C.K. et al. Hepatic potential of bone marrow stromal cells, development of in vitro co-culture and intra-portal transplantation models. *J Immunol Methods* 2005;20(305):39–47.
 67. Couri C., Foss M., Voltarelli C. Secondary prevention of type 1 diabetes mellitus, stopping immune destruction and promoting β -cell regeneration. *Braz J Med Biol Res* 2006;39:1271–80.
 68. Moriscot Ch., deFarapont F., Richard V.-J. et al. Human bone marrow MSC can express insulin and key transcription factors of the endocrine pancreas development pathway upon genetic and/or microenvironmental manipulation in vitro. *Stem Cells* 2005;23:594–604.
 69. Chen L.B., Jiang X.B., Yang L. Differentiation of rat marrow mesenchymal stem cells into pancreatic islet beta-cells. *World J Gastroenterol* 2004;10:3016–20.
 70. Schwarz E.J., Alexander G.M., Prockop D.J. et al. Multipotential marrow stromal cells transduced to produce L-DOPA, engraftment in a rat model of Parkinson disease. *Hum Gene Ther* 1999;10:2539–49.
 71. Makino S., Fukuda K., Miyoshi S. et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *J Clin Invest* 1999;103:697–705.
 72. Beltrami A.P., Urbanek K., Kajstura J. et al. Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001;344:1750–7.
 73. Muller P., Beltrami A.P., Cesselli D. et al. Myocardial regeneration by endogenous adult progenitor cells. *J Mol Cell Cardiol* 2005;39:377–87.
 74. Urbanek K., Torella D., Sheikh F. et al. Myocardial regeneration by activation of multipotent cardiac stem cells in ischemic heart failure. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102:8692–7.
 75. Wang J.S., Shum-Tim D., Galipeau J. et al. Marrow stromal cells for cellular cardiomyoplasty, feasibility and potential clinical advantages. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;120:999–1005.
 76. Siminiak T., Kurpisz M. Myocardial replacement therapy. *Circulation* 2003;108:1167–71.
 77. Wulf G.G., Jackson K.A., Goodell M.A. Somatic stem cell plasticity, current evidence and emerging concepts. *Exp Hematol* 2001;29:1361–70.
 78. Minguell J., Conget P., Erices A. Biology and clinical utilization of mesenchymal progenitor cells. *Braz J Med Biol Res* 2000;33:881–7.
 79. Orlic D., Kajstura J., Chimenti S. et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001;410:701–5.
 80. Minguell J., Erices A. Mesenchymal stem cells and the treatment of cardiac disease. *Exp Biol Med* 2006;231:39–49.
 81. Gojo S., Gojo N., Takeda Y. et al. In vivo cardiovasculargenesis by direct injection of isolated adult mesenchymal stem cells. *Exp Cell Res* 2003;288:51–9.
 82. Davani S., Marandin A., Mersin N. et al. Mesenchymal progenitor cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density, and improve heart function in a rat cellular cardiomyoplasty model. *Circulation* 2003;108:253–8.
 83. Silva G.V., Litovsky S., Assad J.A. et al. Mesenchymal stem cells differentiate into an endothelial phenotype, enhance vascular density, and improve heart function in a canine chronic ischemia model. *Circulation* 2005;111:150–6.
 84. Kovacic J.C., Graham R.M. Stem-cell ther-

- apy for myocardial diseases. *Lancet* 2004;363:1735–6.
85. Assmus B., Schachinger V., Teupe C. et al. Transplantation of progenitor cells and regeneration enhancement in acute myocardial infarction (TOPCARE-AMI). *Circulation* 2002;106:3009–17.
86. Wollert K.C., Meyer G.P., Lotz J. et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction, the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet* 2004;364:141–8.
87. Chen S.L., Fang W.W., Ye F. et al. Effect on left ventricular function of intracoronary transplantation of autologous bone marrow mesenchymal stem cell in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2004;94:92–5.
88. Honma T., Honmou O., Iihoshi S. et al. Intravenous infusion of immortalized human mesenchymal stem cells protects against injury in a cerebral ischemia model in adult rat. *Exp Neurol* 2006;199:56–66.
89. Zhang H., Huang Z., Xu Y., Zhang S. Differentiation and neurological benefit of the mesenchymal stem cells transplanted into the rat brain following intracerebral hemorrhage. *Neurol Res* 2006;28:104–12.
90. Sugaya K., Alvarez A., Marutle A. et al. Stem cell strategies for Alzheimer's disease therapy. *Panminerva Med* 2006;48:87–96.
91. Tropel P., Platel N., Platel J.C. et al. Functional neuronal differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2006;24(12):2868–76. [Epub 2006 Aug 10].
92. Rabb H. Paracrine and differentiation mechanisms underlying stem cell therapy for the damaged kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005;289:29–30.
93. Morigi M., Imberti B., Zoja C. et al. Mesenchymal stem cells are renotropic, helping to repair the kidney and improve function in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:1794–804.
94. 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.
95. Le Blanc K., Rasmussen I., Gotherstrom C. et al. Mesenchymal stem cells inhibit the expression of CD25 (interleukin-2 receptor) and CD38 on phytohemagglutinin-activated lymphocytes. *Scand J Immunol* 2004;60:307–15.
96. Bartholomew A., Sturgeon C., Siatskas M. et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Exp Hematol* 2002;30:42–8.
97. 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.
98. Le Blanc K., Tammik L., Sundberg B. et al. Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex. *Scand J Immunol* 2003;57:11–20.
99. Maitra B., Szekely E., Gjini K. et al. Human mesenchymal stem cells support unrelated donor hematopoietic stem cells and suppress T-cell activation. *Bone Marrow Transplant* 2004;33:597–604.
100. Angoulvant D., Clerc A., Benchalal S. et al. Human mesenchymal stem cells suppress induction of cytotoxic response to alloantigens. *Biorheology* 2004;41:469–76.
101. Augello A., Tasso R., Negrini S.M. et al. Bone marrow mesenchymal progenitor cells inhibit lymphocyte proliferation by activation of the programmed death 1 pathway. *Eur J Immunol* 2005;35:1482–90.
102. Jiang X., Zhang Y., Liu B. et al. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. *Blood* 2005;105:4120–6.
103. Groh M.E., Maitra B., Szekely E., Koc O.N. Human mesenchymal stem cells require monocyte-mediated activation to suppress alloreactive T cells. *Exp Hematol* 2005;33:928–34.
104. Krampera M., Glennie S., Dyson J. et al. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide. *Blood* 2003;101:3722–9.
105. Krampera M., Cosmi L., Angeli R. et al. Role for interferon-gamma in the immunomodulatory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2006;24:386–98.
106. Spaggiari G.M., Capobianco A., Becchetti S. et al. Mesenchymal stem cell-natural killer cell interactions, evidence that activated NK cells are capable of killing MSCs, whereas MSCs can inhibit IL-2-induced NK-cell proliferation. *Blood* 2006;107:1484–90.
107. Beyth S., Borovsky Z., Mevorach D. et al. Human mesenchymal stem cells alter antigen-presenting cell maturation and induce T-cell unresponsiveness. *Blood* 2005;105:2214–9.
108. Aggarwal S., Pittenger M.F. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood* 2005;105:1815–22.
109. Maccario R., Podesta M., Moretta A. et al. Interaction of human mesenchymal stem cells with cells involved in alloantigen-specific immune response favors the differentiation of CD4+ T-cell subsets expressing a regulatory/suppressive phenotype. *Haematologica* 2005;90:516–25.
110. Rasmussen I., Ringden O., Sundberg B., Le Blanc K. Mesenchymal stem cells inhibit the formation of cytotoxic T lymphocytes, but not activated cytotoxic T lymphocytes or natural killer cells. *Transplantation* 2003;76:1208–13.
111. Koc O.N., Gerson S.L., Cooper B.W. et al. Rapid hematopoietic recovery after coinfusion of autologous-blood stem cells and culture-expanded marrow mesenchymal stem cells in advanced breast cancer patients receiving high-dose chemotherapy. *J Clin Oncol* 2000;18:307–16.
112. Djouad F., Plence P., Tropel P. et al. Immunosuppressive effect of mesenchymal stem cells favors tumor growth of allogeneic animals. *Blood* 2003;102:3837–44.
113. Barda-Saad M., Rozenszajn L.A., Ashush H. et al. Adhesion molecules involved in the interactions between early T cells and mesenchymal bone marrow stromal cells. *Exp Hematol* 1999;27:834–44.
114. Shoham T., Parameswaran R., Shav-Tal Y. et al. The mesenchymal stroma negatively regulates B cell lymphopoiesis through the expression of activin A. *Ann N Y Acad Sci* 2003;996:245–60.
115. Le Blanc K., Ringden O. Mesenchymal stem cells, properties and role in clinical bone marrow transplantation. *Curr Opin Immunol* 2006;18:586–91.
116. Le Blanc K., Rasmussen I., Sundberg B. et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet* 2004;363:1439–40.
117. Corcione A., Benvenuto F., Ferretti E. et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood* 2006;107:367–72.
118. Zappia E., Casazza S., Pedemonte E. et al. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. *Blood* 2005;106:1755–61.
119. Nathanson M. Bone matrix-directed chondrogenesis of muscle in vitro. *Clin Orthop* 1985;200:142–58.
120. Campagnoli C., Roberts S., Kumar S. et al. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver and bone marrow. *Blood* 2001;98:2396–402.
121. Loncar D. Ultrastructural analysis of differentiation of rat endoderm in vitro, Adipose vascular-stromal cells induce endoderm differentiation, which in turn induces differentiation of the vascular-stromal cells into chondrocytes. *J Submicrosc Cytol Pathol* 1992;24:509–19.
122. Park S.R., Orefio R.O., Triffitt J.T. Interconversion potential of cloned human marrow adipocytes in vitro. *Bone* 1999;24:549–54.
123. Erices A., Conget P., Minguez J.J. Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood. *Br J Haematol* 2000;109:235–42.
124. Gutierrez-Rodriguez M., Reyes-Maldonado E., Mayani H. Characterization of the adherent cells developed in Dexter-type long-term cultures from human umbilical cord blood. *Stem Cells* 2000;18:46–52.
125. Lazarus H.M., Haynesworth S.E., Gerson S.L., Caplan A.I. Human bone marrow-derived mesenchymal (stromal) progenitor cells (MPCs) cannot be recovered from peripheral blood progenitor cell collections. *J Hematother* 1997;6:447–55.
126. Kuznetsov S.A., Mankani M.H., Gronthos S. et al. Circulating skeletal stem cells. *J Cell Biol* 2001;153:1133–40.
127. Fernandez M., Simon V., Herrera G. et al. Detection of stromal cells in peripheral blood progenitor cell collections from breast cancer patients. *Bone Marrow Transplant* 1997;20:265–71.
128. Владимирская Е.Б., Пурбуева Б.Б., Румянцев А.Г. Влияние мезенхимальных стволовых клеток костного мозга на пролиферацию гранулоцитарно-макрофагальных предшественников при культивировании *in vitro*. *Вопр гематол онкол иммунопатол педиатр* 2006;(5):1–6.
129. Wagner W., Wein F., Seckinger A. et al. Comparative characteristics of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood. *Exp Hematol* 2000;33:1402–16.
130. Panepucci R.A., Siu J.L., Silva W.A. Jr. et al. Comparison of gene expression of umbilical cord vein and bone marrow-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2004;22:1263–78.
131. Sakaguchi Y., Sekiya I., Yagishita K., Muneta T. Comparison of human stem cells derived from various mesenchymal tissues, superiority of synovium as a cell source. *Arthritis Rheum* 2005;52:2521–9.
132. Lu L.L., Liu Y.J., Yang S.G. et al. Isolation and characterization of human umbilical cord mesenchymal stem cells with hematopoiesis-supportive function and other potentials. *Haematologica* 2006;91:1017–26.
133. Bianco P., Robey P. Marrow stromal stem cells: Nature, biology and potential applications. *J Clin Invest* 2000;105:1663–8.
134. Muraglia A., Cancedda R., Quarto R. Clonal mesenchymal progenitors from human bone marrow differentiate in vitro according to a hierarchical model. *J Cell Sci*

- 2000;113:1161—6.
135. Gronthos S., Zannettino A.C., Hay S.J. et al. Molecular and cellular characterisation of highly purified stromal stem cells derived from human bone marrow. *J Cell Sci* 2003;116:1827—35.
136. Verfaillie C., Schwartz R., Reyes M., Jiang Y. Unexpected potential of adult stem cells. *Ann NY Acad Sci* 2003;996:231—4.
137. Herzog E., Chai Li., Krause S. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood* 2003;102:3483—93.
138. Jiang Y., Vaessen B., Lenvik T. et al. Multipotent progenitor cells can be isolated from postnatal murine bone marrow, muscle, and brain. *Exp Hematol* 2002;30:896—904.
139. Jiang Y., Jahagirdar B.N., Reinhardt R.L. et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002;418:41—9.
140. Schwartz R.E., Reyes M., Koodie L. et al. Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J Clin Invest* 2002;109:1291—302.
141. Morrison S.J., Prowse K.R., Ho P., Weissman I.L. Telomerase activity in hematopoietic cells is associated with self-renewal potential. *Immunity* 1996;5:207—16.
142. Bertani N., Malatesta P., Volpi G. et al. Neurogenic potential of human mesenchymal stem cells revisited, analysis by immunostaining, time-lapse video and microarray. *J Cell Sci* 2005;118:3925—36.
143. Woodbury D., Schwarz E.J., Prockop D.J., Black I.B. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J Neurosci Res* 2000;61:364—70.
144. Pontius J.U., Wagner L., Schuler G.D. UniGene, a unified view of the transcriptome. In: *The NCBI Handbook*. Bethesda, National Center for Biotechnology Information; 2003.
145. Silva W. Jr., Covas D., Panepucci R. et al. The profile of gene expression of human marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2003;21:661—9.
146. Hardeman E.C., Chiu C.P., Minty A., Blau H.M. The pattern of actin expression in human fibroblast X mouse muscle heterokaryons suggests that human muscle regulatory factors are produced. *Cell* 1986;47:123—30.
147. Terada N., Hamazaki T., Oka M. et al. Bone marrow cells adopt the phenotype of other cells by spontaneous cell fusion. *Nature* 2002;416:542—5.
148. Ying Q.L., Nichols J., Evans E.P., Smith AG. Changing potency by spontaneous fusion. *Nature* 2002;416:545—8.
149. Forbes S., Vig P., Poulsom R. et al. Adult stem cell plasticity, new pathways of tissue regeneration become visible. *Clin Sci* 2002;103:355—69.
150. Martin-Rendon E., Watt S. Exploitation of stem cell plasticity. *Transfus Med* 2003;13:325—49.
151. Verfaillie C., Pera M., Lansdorf P. Stem cells: hype and reality. *Hematology* 2002;369—91.
152. Janus A., Holz G., Theise N., Hussain M. In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion. *J Clin Invest* 2003;11:843—50.
153. Daley G., Goodell M., Snyder E. Realistic prospects for stem cell therapeutics. *Hematology Am Soc Hematol Eoluc Program* 2003;398—418.
154. Simmons P., Short B., Brouard N. The properties of prospectively isolated mesenchymal stem cells from man and mouse. *FFCR 97th Annual Meeting. Education book*, 2006. p. 334—37.

П Р А В И Л А Д Л Я А В Т О Р О В

- Статьи, направляемые в журнал «Онкогематология», должны быть представлены на CD-носителях (дисках — электронная версия) с распечаткой на бумаге в одном экземпляре 14-м шрифтом. Авторы могут присылать свои материалы по электронной почте: info@abvpress.ru. При этом не забудьте указать название журнала.
- Желательно везде гены писать курсивом, белки — обычным шрифтом.
- К статьям, содержащим собственные данные (это относится и к описаниям случаев), должны быть приложены резюме на русском и желательно на английском языках объемом не более 1/3 машинописной страницы и указаны ключевые слова.
- В выходных данных следует указать: название статьи, инициалы и фамилии всех авторов, название учреждения, город. В конце статьи обязательно следует дать контактные телефоны, адрес электронной почты и Ф.И.О. авторов.
- Во всех статьях желательно перевести на английский язык название и обязательно написать по-английски фамилии всех авторов и название учреждения, из которого статья выходит.
- Если статья сопровождается рисунками и таблицами, ссылки на них в тексте обязательны.
- Электронный вариант рисунков должен быть выполнен в формате TIFF, JPG, CMYK с разрешением не менее 300 dpi (точек на дюйм). Векторные иллюстрации — в формате EPS Adobe Illustrator 7.0 — 10.0 (но не MS PowerPoint или MS Excel). Все рисунки должны быть пронумерованы и снабжены подрисуночными подписями. На рисунке указываются: «верх» и «низ»; фрагменты рисунка обозначаются строчными буквами русского алфавита — «а», «б» и т.д. Все сокращения и обозначения, использованные на рисунке, должны быть расшифрованы в подрисуночной подписи. Если рисунки представляются только в электронном варианте, подписи к ним обязательно должны быть даны либо при каждом рисунке, либо на отдельном листе.
- Все таблицы должны быть пронумерованы и иметь заголовки. Все сокращения расшифровываются в примечании к таблице.
- Список литературы приводится в порядке цитирования. Для каждого источника необходимо указать: Ф.И.О. авторов (если авторов не более четырех, то перечислить все их фамилии. Если более четырех, следует указать фамилии и инициалы трех первых авторов, а вместо перечисления остальных ставится «и др.» в русском или «et al.» в английском текстах). Также обязательно следует дать название книги или статьи, название журнала, год, том и номер выпуска (для книги — место издания, название издательства, год).
- Все сокращения (аббревиатуры) в тексте статьи при употреблении в первый раз должны быть полностью расшифрованы.
- Все ссылки печатаются в квадратных скобках
- Все замечания, пожелания и предложения по тексту статьи, сделанные членами редколлегии или рецензентами, будут сообщены автору. После внесения автором необходимой правки статья снова будет просмотрена членом редколлегии и, если это будет необходимо, снова будет сообщено автору о сделанных замечаниях. Никакой правки без ведома автора вноситься не будет.

Журнал «Онкогематология» приглашает всех к активному сотрудничеству.

Связываться можно с любым из следующих членов редколлегии (по всем вопросам, кроме отправления статей):

главный редактор —

Майя Александровна Волкова.

Телефон: 324-28-24,

электронный адрес: volkova@orc.ru;

заместитель главного редактора —

Евгений Александрович Османов.

Телефон: 324-28-14;

ответственный секретарь — Антон Дмитриевич Ширин.

Телефон: 324-28-14,

электронный адрес: shirin-crc@mtu-net.ru

Адрес: 115478, Москва, Каширское шоссе, 24; отделение химиотерапии гемобластозов.