

Received: 2014.04.28
Accepted: 2014.09.11
Published: 2014.11.13

Mezenchymalne komórki zrębu*

Mesenchymal Stromal Cells

Stanisław Szala¹, Ewa Wiśniewska², Sybilla Matuszczak¹, Justyna Czapla¹

¹ Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

² Katedra i Oddział Kliniczny Kardiologii i Transplantologii Śląskiego Centrum Chorób Serca w Zabrzu

Streszczenie

Mezenchymalne komórki zrębu (MSC) to jedne z najintensywniej badanych komórek w ostatnich latach. Brak swoistych, unikatowych markerów dla komórek pochodzenia mezenchymalnego sprawia, że trudno jest odróżnić komórki MSC od innych, takich jak fibroblasty czy perycyty. Komórki MSC są mieszaniną różnych komórek: o zróżnicowanej morfologii, o różnej ekspresji markerów komórkowych, o różnym stopniu zróżnicowania oraz o różnej zdolności do proliferacji. Większość ich cech fenotypowych zidentyfikowano w hodowlach komórkowych. Jedną z nich jest zdolność różnicowania do trzech linii komórkowych: osteoblastów, adipocytów i chondroblastów. Komórki MSC *in vivo* są ważnym elementem funkcjonalnym niszy macierzystych komórek hematopoetycznych oraz występują w ścianach naczyń krwionośnych, gdzie mogą brać udział w ich powstawaniu i funkcjonowaniu. Komórki MSC wydzielają wiele różnych czynników, m.in. czynniki antyapoptotyczne, proangiogenne, czynniki stymulujące proliferację komórkową oraz czynniki immunostymulujące.

W pracy zwrócono szczególną uwagę na strategię terapeutyczne wykorzystujące komórki MSC do poprawy pracy uszkodzonego zawałem serca oraz na udział komórek MSC w gojeniu się trudnych do wyleczenia ran. Dzięki wydzielanym przez siebie czynnikom przeciwzapalnym komórki MSC hamują reakcje zapalną, a dzięki wydzielanym cytokinom i czynnikom wzrostu mogą stymulować odbudowę uszkodzonych tkanek i narządów. Skutek terapeutyczny po podaniu komórek MSC polega na ich parakrynnnej aktywności.

Słowa kluczowe:

mezenchymalne komórki zrębu (MSC) • fenotyp MSC • terapia MSC

Summary

Mesenchymal stromal cells (MSCs) have been among the most intensively studied cells in recent years. Lack of specific unique markers for these cells makes it difficult to distinguish MSCs from other types of cells, such as fibroblasts or pericytes. MSCs are a mixture of morphologically different cells with expression of various cellular markers, with varying degrees of differentiation, as well as varying proliferation capacities. The majority of phenotypic features of these cells have been identified through cell culture. One of their basic features is the capacity to differentiate into three cell lines: osteoblasts, adipocytes and chondroblasts. Under *in vivo* conditions, MSCs form an important functional element of the hematopoietic stem cell niche. Residing within the blood vessel wall, MSCs assist in its formation and functioning. MSCs release anti-apoptotic and pro-angiogenic factors, as well as agents that stimulate cell proliferation and also immunostimulating factors.

*Publikacja została sfinansowana z projektu POIG.01.03.01-00-169/09 finansowanego przez Unię Europejską.

Keywords:	In this study, we focused in particular on therapeutic strategies employing MSCs to improve the performance of the infarcted heart as well as on their involvement in the repair of hard-to-heal wounds. Thanks to the released anti-inflammatory agents, MSCs can inhibit inflammatory reactions. Owing to cytokines and growth factors they can also stimulate regeneration of damaged tissues and organs. The therapeutic effect that follows MSCs administration is linked to their paracrine activity. Mesenchymal stromal cells (MSCs) • MSC phenotype • MSC therapy
Full-text PDF:	http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1128671
Word count:	6082
Tables:	2
Figures:	5
References:	76

Adres autora: prof. dr hab. Stanisław Szala, Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-101 Gliwice; e-mail: sszala@io.gliwice.pl

WSTĘP

Pod koniec lat siedemdziesiątych ub.w. grupa Friedensteina pierwsza wyizolowała i opisała podstawowe cechy komórek mezenchymalnych występujących w szpiku kostnym gryzoni [25,26,27,55]. Komórki rosły na plastikowym podłożu. Morfologicznie były podobne do fibroblastów i w określonych warunkach tworzyły swoiste klony (colony-forming unit (CFU) - fibroblast). Miały także zdolność różnicowania do osteoblastów i chondroblastów.

Późniejszym badaniom prowadzonym w różnych laboratoriach towarzyszyło jednak wiele wątpliwości. Czy badane komórki mezenchymalne to komórki macierzyste, czy tzw. multipotentne komórki zrębu [36]? Czym różnią się od fibroblastów [33]? Jakich są ich relacje z perycytami [10]? Czy pochodzą od perycytów, czy od tzw. komórek przydanki (*tunica adventitia*), komórek znajdujących się w zewnętrznej warstwie dużych naczyń [14]?

Komórki MSC to jedne z najintensywniej badanych komórek. Według bazy danych PubMed: tylko w 2013 r. opublikowano 3441 prac zawierających w tytule „Mezenchymalne komórki macierzyste” i 2458 prac zawierających w tytule „Mezenchymalne komórki zrębu”. W języku polskim również opublikowano 3 artykuły poświęcone komórkom mezenchymalnym [3,42,58].

Autorzy artykułu nie próbują wyczerpująco podsumować wiedzy o tych komórkach ani rozwiązywać sporów i usuwać wątpliwości, ale usiłują zwrócić uwagę na cechy komórek MSC, które można wykorzystać w regeneracji uszkodzonych tkanek i narządów.

CECHY KOMÓREK MEZENCHYMALNYCH, PRÓBY DEFINICJI

Wokół komórek mezenchymalnych pojawiło się sporo niejasności i kontrowersji. Jedną z pierwszych dotyczyła nazwy [49]. Czy badane komórki to komórki macierzyste, czy są to komórki zrębu? Do tej pory niektórzy badacze z uporem stosują nazwę „komórki macierzyste” [14,54,62], inni zaś „komórki zrębu” [33,36,44].

Obecnie wiadomo, że podstawowa procedura izolacji tych komórek, wykorzystująca m.in. zdolność wzrostu komórek na plastikowym podłożu, pozwala wyizolować mieszaninę różnych komórek mezenchymalnych (komórek zrębu), wśród których mogą się także znajdować komórki o takich cechach komórek macierzystych, jak: zdolność do tworzenia klonów, wielokierunkowego różnicowania i samoodnowy [21,65]. W artykule, będzie stosowany termin: mezenchymalne komórki zrębu (MSC) [zob. 9,60,75].

Nie ma jednego, unikatowego markera do oznaczenia komórek MSC. Do ich charakterystyki fenotypowej stosuje się kilka markerów, m.in. CD105, CD90 i CD73 [21] (tab. 1). Niestety, antygeny te nie są swoiste dla MSC i występują także na powierzchni innych komórek [57]. W populacji wyizolowanych komórek mezenchymalnych (CD105⁺ CD90⁺ CD73⁺), niemających zdolności do samoodnowy, znajdują się także komórki CD146⁺, które mają cechy komórek macierzystych [65]. Marker CD146 jest dość swoistym markerem komórek perycytów. Markerem niektórych progenitorowych komórek mezenchymalnych jest CD34 [39,71], który występuje również w wielu innych typach komórek, np. na progenitorowych komórkach śródbłonkowych [67].

Tabela 1. Minimalne kryteria pozwalające zdefiniować komórki mezenchymalne (CD11 lub CD14 - markery monocytów, makrofagów; CD34 - marker komórek progenitorowych; CD45 - marker leukocytów; CD79a lub CD19 - markery komórek B)

Minimalne kryteria pozwalające zdefiniować komórki mezenchymalne (wg The International Society for Cellular Therapy [21])
1. Badane komórki powinny być adherentne do plastikowego podłoża
2. Na powierzchni komórek muszą być trzy podstawowe markery: CD105 (Endoglina), CD90 (Thy-1), CD73 (Ekto-5'-nukleotydaza), nie powinno być natomiast CD45, CD34, CD14 lub CD11b, CD79a lub CD19, HLA- klasy II
3. Komórki te powinny mieć zdolność różnicowania się do osteoblastów, adipocytów i chondroblastów

Komórki określane mianem „komórek MSC” to mieszanina różnych mezenchymalnych komórek: perycytów, komórek przydanki (adventitial cells), fibroblastów, osteoblastów, adipocytów, komórek wyściełających kości [6]. Większość ma markery CD105, CD90, CD73.

Niektóre prace zawierają listy markerów identyfikowanych na powierzchni komórek MSC [19,49,54]. Do pozytywnej identyfikacji komórek MSC korzysta się także z nowych markerów, m.in.: CD49b, STRO-1, CD271 (NGFR), CD200, SSEA-1, SSEA-4. Do negatywnej natomiast m.in. z: CD31, CD45, CD133, CD144.

We wczesnych hodowlach komórek mezenchymalnych dominują komórki o kształcie podobnym do wrzeciona (komórki „fibroblastoidalne”). W hodowlach starszych, obserwuje się natomiast duże płaskie komórki (przeciętna średnica wzrasta z 10 do około 20 μm) [8]. Komórki te kontaktują się ze sobą za pośrednictwem długich, przekraczających 200 μm , wypustek [76].

Niekiedy w hodowlach pierwotnych można zauważyć małe, okrągłe komórki mające zdolność do samoodnawiania [13]. Komórki mezenchymalne mają ograniczoną liczbę podziałów. Po kilku, kilkunastu pasażach przestają się dzielić i giną w wyniku starzenia [34].

Zdaniem badaczy z The International Society for Cellular Therapy (ISCT) jedną z podstawowych cech komórek mezenchymalnych jest ich zdolność różnicowania się *in vitro* do trzech linii komórkowych: osteoblastów, adipocytów i chondroblastów [21] (tab.1).

Komórki mezenchymalne różnią się jednak potencjałem do różnicowania [64]. Niektóre z klonów komórkowych mogą się różnicować do wszystkich trzech linii (do osteoblastów, adipocytów i chondroblastów), inne do dwóch (np. tylko do osteoblastów i chondroblastów), a niektóre do jednej linii komórkowej. Komórki, które zawierają na swej powierzchni marker CD146

mają dwukrotnie większą zdolność do różnicowania się do trzech wyżej wymienionych linii komórkowych [64]. Klony komórkowe powstałe z pojedynczych komórek wykazują swoistą niejednorodność, heterogenną. Komórki znajdujące się wewnątrz klonu mają inne właściwości fenotypowe niż komórki znajdujące się na zewnątrz klonu [56]. Komórki MSC są więc mieszaniną różnych komórek: o zróżnicowanej morfologii (kształtach), o różnej ekspresji markerów komórkowych, o różnym stopniu zróżnicowania, o różnej zdolności do proliferacji.

Brak swoistych, unikatowych markerów dla komórek pochodzenia mezenchymalnego sprawia, że trudno jest odróżnić komórki MSC od fibroblastów [32]. Oba rodzaje komórek mają na swojej powierzchni te same antygeny (CD105, CD90, CD73) i zdolność różnicowania do trzech linii komórkowych. Wydaje się, że komórki MSC są bardziej proangiogenne od fibroblastów i mają większą zdolność hamowania reakcji zapalnej [7]. Niektóre dane wskazują na duże podobieństwo antygenowe perycytów do komórek MSC [17]. Oba typy komórek mają podobne umiejscowienie w ścianach naczyń i biorą udział w regeneracji uszkodzonych tkanek. Fibroblasty wydają się komórkami mającymi bardziej ograniczony potencjał do różnicowania niż perycyty [15].

Dokładna definicja komórek MSC powinna spełniać kryteria ISCT i zawierać dodatkowe informacje [41]:

- o pochodzeniu komórek MSC (tkanka, narząd, organizm),
- o warunkach hodowli (hodowla pierwotna vs hodowla komórek sortowanych),
- o składzie pożywek hodowlanych,
- o obecności markerów (tzw. markerów pozytywnych) lub ich braku (tzw. markerów negatywnych),
- o potencjale do różnicowania,
- o zdolności do klonowania,
- o transkryptomach, proteomach, sekretomach.

Zauważa się, że komórki MSC to swoisty fenomen „hodowlany”: większość bowiem cech fenotypowych tych komórek została zidentyfikowana w hodowlach komórkowych [41]. Nie jest jednak pewne, czy obserwowane cechy *in vitro* są identyczne z cechami istniejącymi *in vivo*.

FUNKCJE KOMÓREK MSC

Wiele danych wskazuje, że *in vivo* komórki MSC mogą pełnić trzy podstawowe funkcje:

- są ważnym elementem funkcjonalnym niszy macierzystych komórek hematopoetycznych (hematopoietic stem cells, HSC) [24],
- występujące w ścianach naczyń krwionośnych komórki MSC mogą brać udział w powstawaniu i funkcjonowaniu naczyń krwionośnych [9,11],
- mogą mieć istotny udział w powstawaniu immunosupresji oraz w hamowaniu reakcji zapalnej [44,59].

Znajdująca się w szpiku kostnym nisza komórek hematopoetycznych spełnia trzy podstawowe kryteria zaproponowane przez Schofielda [66]:

- komórki progenitorowe/macierzyste zajmują zdefiniowane pod względem anatomicznym miejsce,
- zdolność komórek progenitorowych/macierzystych do samoodnowy jest regulowana, kontrolowana przez komórki sąsiadujące z komórkami macierzystymi,
- opuszczenie przez komórki progenitorowe/macierzyste niszy prowadzi do ich ukierunkowanego różnicowania.

W niszy macierzystych komórek hematopoetycznych (HSC) komórki MSC pełnią swego rodzaju funkcje „kontrolne”: dzięki wydzielanej przez siebie chemokinie CXCL12 kontrolują proliferację i zdolność do samoodnowy

komórek HSC oraz limfoidalnych komórek progenitorowych CLP (common lymphoid progenitors) [20,31] (ryc. 1). Chemokinę CXCL12 wydzielają także tzw. komórki CAR (CXCL12 - abundant reticular cells). Chemokina ta kontroluje stan spoczynkowy zarówno komórek HPC (hematopoietic progenitor cells), jak i ukierunkowanych prekursorów komórek B (committed B cell precursor).

Coraz więcej danych świadczy o tym, że zarówno duże, jak i małe naczynia krwionośne mogą być źródłem komórek mezenchymalnych [11,48]. Według niektórych badaczy komórki mezenchymalne MSC wywodzą się z perycytów [11]. Świadczą o tym dane wskazujące, że perycyty mają na swej powierzchni typowe markery dla MSC (CD90, CD105, CD73). Perycyty jest niezwykle trudno odróżnić od MSC. Niektóre grupy badawcze utożsamiają wręcz komórki MSC z perycytami (MSC = perycyty) [10].

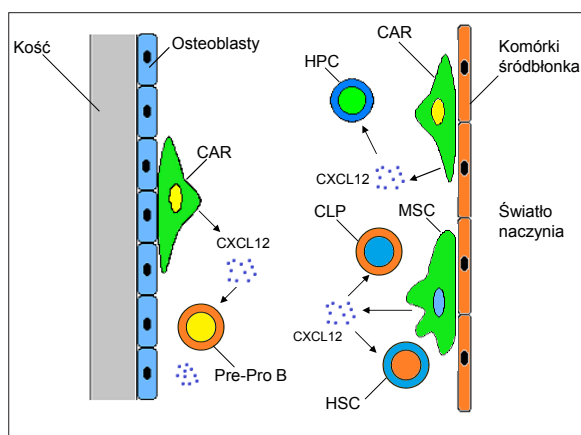
Perycyty to komórki, które tworzą swoiste relacje z drobnymi naczyniami krwionośnymi (mniejszymi niż 100 µm) [1]. Pokrywają i otaczają głównie kapilary i mikronaczynia. Wraz z komórkami śródbłonkowymi są osłonięte błoną podstawną. Dzięki wydzielanym czynnikom wzrostu perycyty mają wpływ na procesy formowania nowych naczyń, a dzięki swej kurczliwości mogą także modyfikować średnice mikronaczyń i tym samym regulować przepływ krwi.

Duże naczynia krwionośne są zbudowane z trzech, w miarę dobrze zdefiniowanych, warstw komórek [14,16] (ryc. 2). Warstwę wewnętrzną (*tunica intima*) tworzą komórki śródbłonkowe, warstwę pośrednią (*tunica media*) - komórki mięśni gładkich, a warstwę zewnętrzną (*tunica adventitia*) - fibroblasty, makrofagi, komórki tuczne, limfocyty T i B, dendrocyty oraz tkanka łączna [50]. Warstwa ta ma własny system unaczynienia. Są to naczynia naczyń, *vasa vasorum*. W *tunica adventitia* zidentyfikowano także komórki o fenotypie CD34⁺CD31⁻ [14].

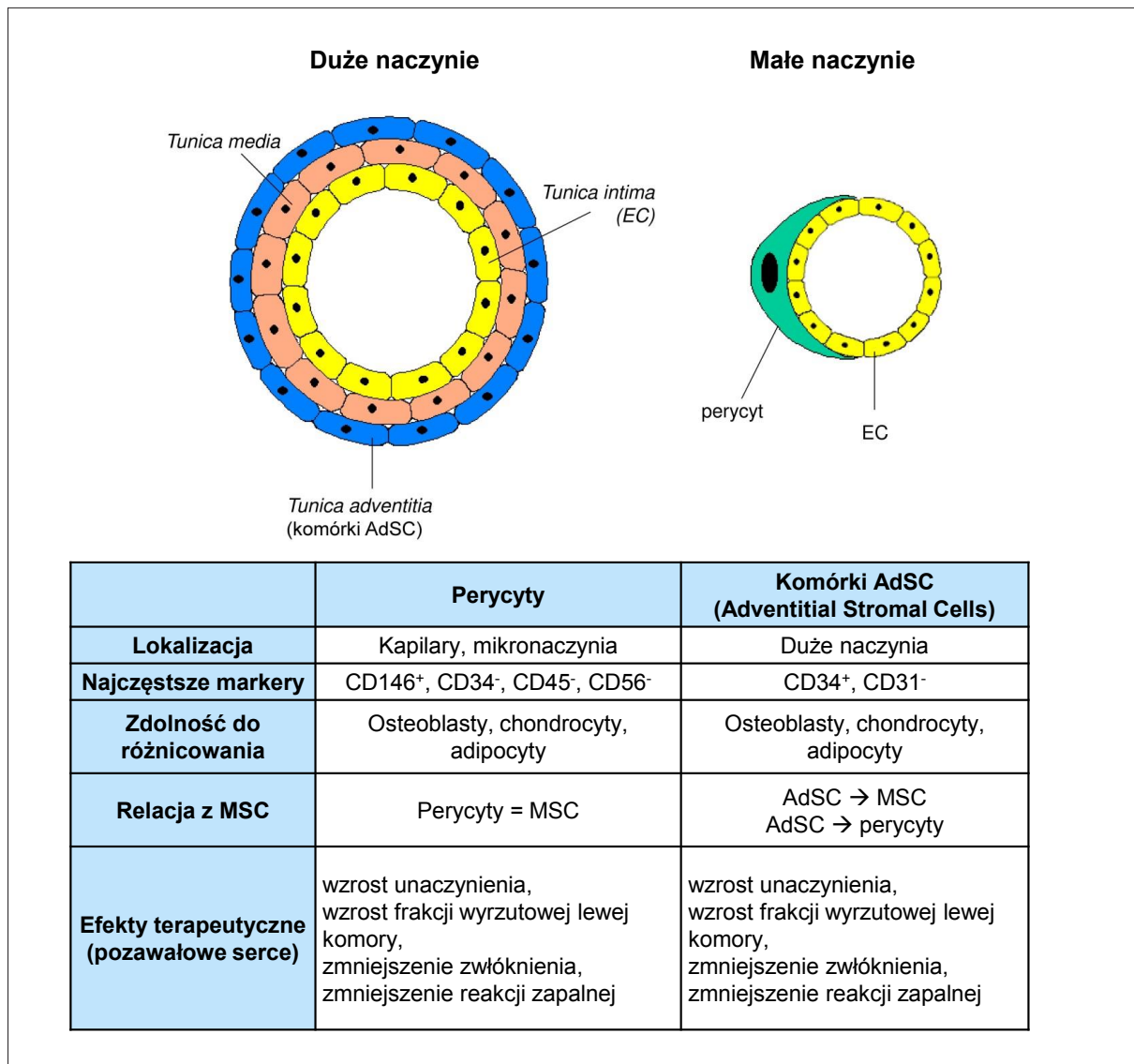
Warstwa zewnętrzna (*tunica adventitia*) odgrywa ważną rolę w tzw. remodelowaniu, przebudowie naczyń [11]. Komórki AdSC (adventitial stromal cells) są aktywowane różnymi czynnikami (uszkodzenia, przeszczepy, hipoksja, nadciśnienie). Aktywacja tych komórek wiąże się ze wzrostem proliferacji oraz swoistym różnicowaniem do miofibroblastów, które wędrują do wewnętrznych warstw naczyń. Miofibroblasty stymulują syntezę białek macierzy pozakomórkowej i uwalniają dodatkowo czynniki regulujące przebudowę naczyń [14].

Według Corselliego i wsp. komórki warstwy *tunica adventitia* mają podstawowy fenotyp: CD34⁺CD31⁻CD146⁺CD45⁻. Na ich powierzchni znajdują się także markery CD105, CD90 i CD73, a więc typowe markery komórek MSC. Świadczy to, że komórki MSC wywodzą się z komórek o fenotypie CD34⁺CD31⁻ [14].

Braun i wsp. twierdzą jednak, że komórki warstwy *tunica adventitia* mają fenotyp CD34⁺CD146⁺CD271⁺. W warunkach *in vitro* różnicują się do komórek o fenotypie CD105⁺.



Ryc. 1. Kontrola proliferacji i samoodnowy komórek HSC przez CXCL12 (SDF1) (wg [31] zmodyfikowano); CXCL12 (SDF1) jest wydzielana przez MSC i EC, białko to kontroluje HSC, CXCL12 wydzielana przez MSC kontroluje CLP (common lymphoid progenitor), CXCL12 wydzielana przez CAR (CXCL12-abundant reticular cells) i osteoblasty kontroluje Pre-Pro B (committed B cell precursor), CXCL12 wydzielana przez CAR kontroluje HPC (haematopoietic progenitor cells)



Ryc. 2. Właściwości perycytów i komórek AdSC (wg [16] zmodyfikowano)

W komórkach tych maleje stężenie antygenu CD34⁺ i wzrasta CD105⁺, CD146⁺, CD271⁺. Proces zachodzi w hodowli komórkowej w ciągu paru dni. Po czterech dniach od założenia hodowli nie ma komórek o fenotypie CD34⁺CD31⁺. Są natomiast komórki o fenotypie komórek MSC [8].

Według Lin i Lue komórki znajdujące się w *tunica adventitia* mogą być komórkami macierzystymi (vascular stem cells, VSC), z których wywodzą się wszystkie komórki tworzące naczynia (m.in. komórki śródbłonne, mięśni gładkich, perycyty) [48]. Niewykluczone, że warstwa *tunica adventitia* mogłaby pełnić rolę swoistej niszy, w której znajdują się spoczynkowe komórki macierzyste/progenitorowe naczyń krwionośnych [50].

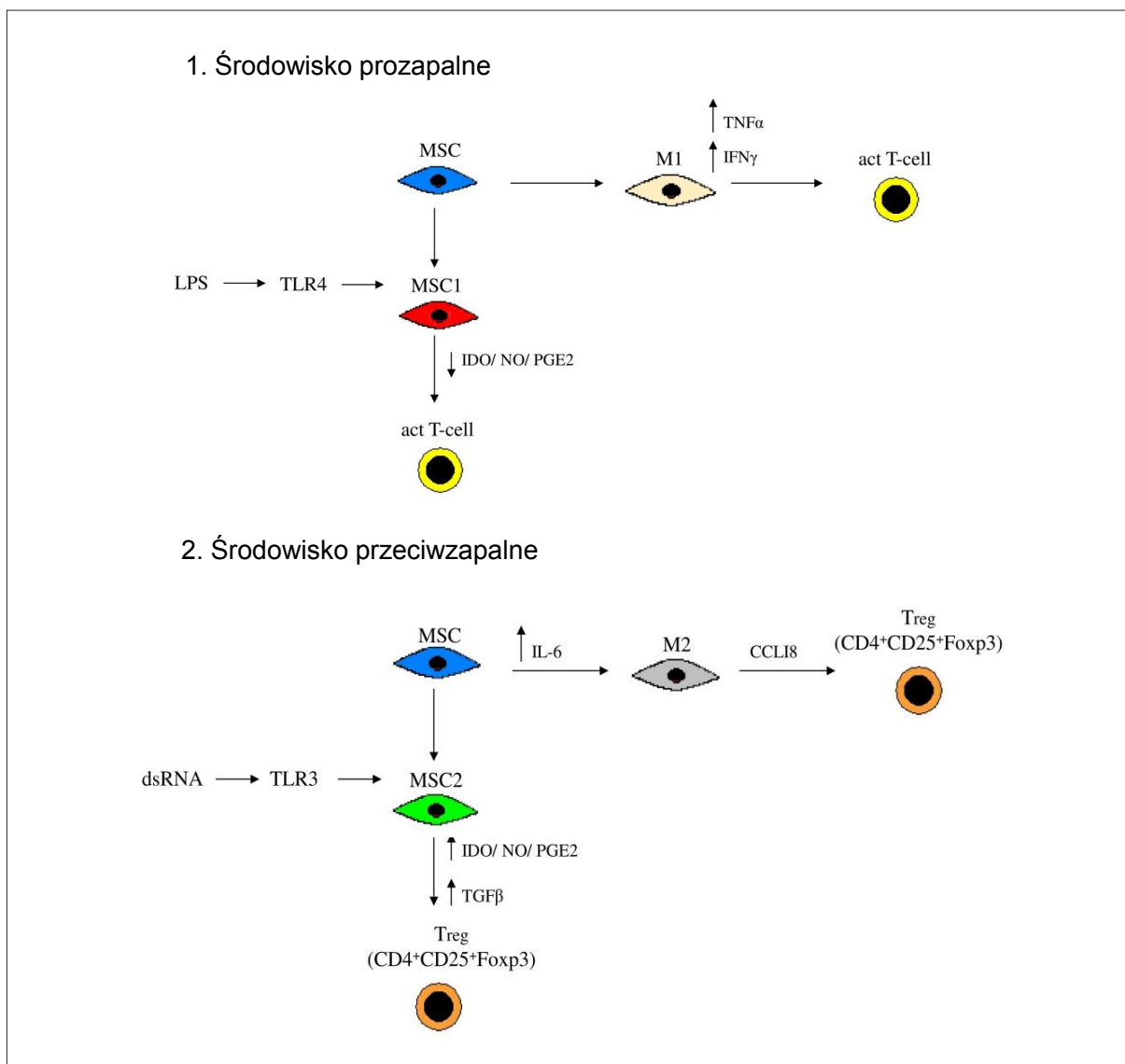
Komórki tej warstwy spełniają bowiem trzy minimalne warunki wymagane dla nisz komórek macierzystych [66]. Komórki CD34⁺CD31⁺ mogłyby być swego rodzaju komórkami macierzystymi (VSC), które po opuszczeniu

niszy różnicowałyby się do komórek MSC o fenotypie CD105⁺CD90⁺CD73⁺ [48].

Komórki MSC wydzielają wiele różnych czynników: antyapoptotycznych i proangiogennych m.in.: VEGF, HGF, IGF-1, STC-1, TGF-β, GM-CSF, PlGF, MCP-1, bFGF, IL-6 [19]. Wydzielają także wiele czynników stymulujących proliferację komórkową, m.in.: SCF, LIF, M-CSF, SDF-1, ANG-1 oraz immunostymulujących, takich jak np.: IL-6, IL-10, TGF-β, prostaglandynę PGE-2, indoloaminę 2,3-dioksygenazy (IDO), a także wiele chemoatraktantów, m.in.: CCL2-CCL5, CCL7, CCL20, CCL26, CXCL1, CXCL8 (IL-8), CXCL12 (SDF-1) [44,52].

Wiele danych wskazuje, że komórki MSC:

- są sensorami reakcji zapalnej, ponieważ komórki te mają receptory TLR (TLR3 jest receptorem dsRNA, a TLR4 jest receptorem lipopolisacharydu LPS); w zależności od stężenia IFN-γ/TNF-α komórki MSC



Ryc. 3. Polaryzacja komórek MSC i makrofagów (M1 i M2) podczas reakcji zapalnej (wg [4] zmodyfikowano)

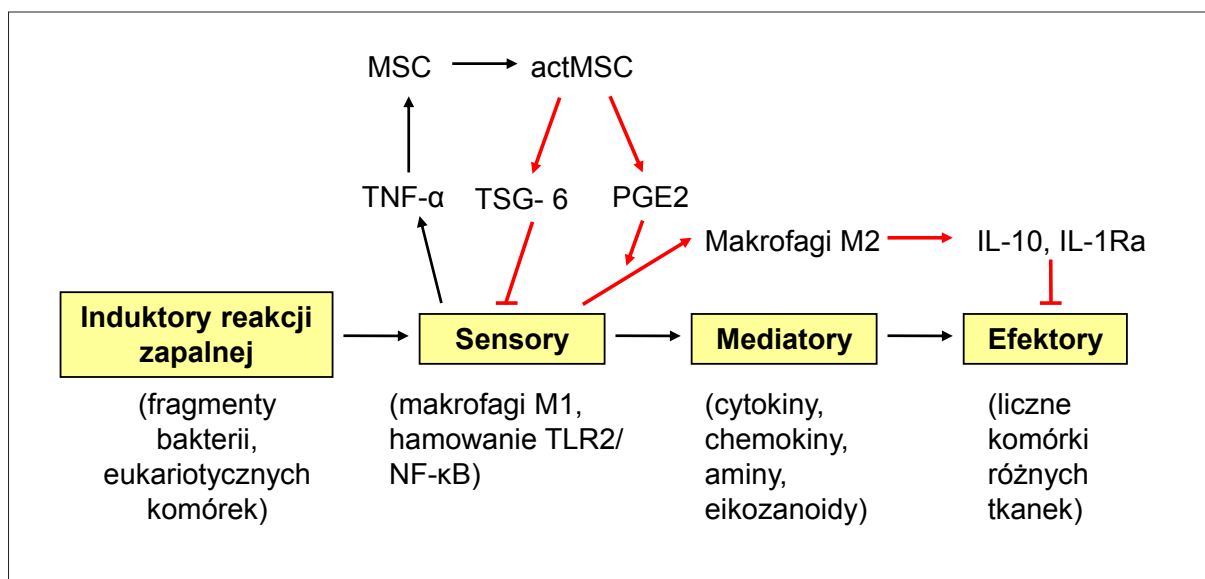
- mogą indukować reakcję prozapalną (niskie stężenie obu cytokin) lub przeciwzapalną (wysokie stężenie obu cytokin) [4],
- mogą dodatkowo rekrutować komórki monocytów/ makrofagów [4],
 - w zależności od stężenia cytokiny IL-6 oraz dioksygenazy indoloaminy (IDO) i prostaglandyny (PGE2) komórki MSC mogą polaryzować makrofagi do M1 (niskie stężenie IL-6) lub polaryzować makrofagi do M2 (wysokie stężenie IL-6 oraz IDO i PGE2) [18].

Szlak sygnałowy aktywujący makrofagi M1 powoduje powstanie cytotoksycznych limfocytów T, natomiast szlak aktywujący M2 powoduje powstanie regulatorowych limfocytów T (CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺) [4] (ryc. 3).

Same komórki MSC mogą również ulegać polaryzacji do MSC1 lub MSC2 (fenotyp MSC1 przypomina fenotyp pro-

zapalnych makrofagów M1, a fenotyp MSC2 - przeciwzapalnych makrofagów M2) [74]. Fenotyp MSC1 powstaje przy niskich stężeniach IDO/NO/PGE2, natomiast fenotyp MSC2 w wysokich stężeniach IDO/NO/PGE2. Podobnie jak w przypadku makrofagów M1 fenotyp MSC1 prowadzi do powstania cytotoksycznych limfocytów T, fenotyp MSC2 natomiast do powstania limfocytów Treg.

Coraz więcej danych wskazuje na istotną rolę komórek mezenchymalnych w hamowaniu reakcji zapalnej, ważnego etapu regeneracji uszkodzonych tkanek [59,60]. Komórki MSC są aktywowane przez prozapalne sygnały (induktory), które stymulują dwa negatywne sprzężenia zwrotne (ryc. 4). Pierwsze sprzężenie stymuluje w komórkach MSC sekrecję PGE-2. Prostaglandyna ta powoduje swoiste fenotypowe „przejście” tzw. rezydentnych prozapalnych makrofagów M1 do przeciwzapalnych makrofagów M2. Drugie sprzężenie zwrotne



Ryc. 4. Hamowanie reakcji zapalnej przez TSG-6 i aktMSC (wg [59] zmodyfikowano); TSG-6 – białko 6 stymulowane przez TNF-α; PGE2 – prostaglandyna E2 – powoduje przejście makrofagów M1 do M2; M1 – makrofagi prozapalne (IL-12, TNF-α, IL-23); M2 – makrofagi przeciwzapalne (IL-10, IL-4)

pobudza natomiast MSC do wydzielania białka TSG-6 (anti-inflammatory protein TNF-α/stimulated gene/protein 6), które wiąże się z receptorem CD44 znajdującym się na rezydentnych makrofagach. Przyłączenie TSG-6 blokuje ścieżkę sygnałową TLR2/NF-κB i hamuje wytwarzanie prozapalnych mediatorów reakcji zapalnej.

Komórki MSC mogą w ten sposób brać udział zarówno w hamowaniu reakcji zapalnej, nie tylko podczas inwazji różnych czynników infekcyjnych, jak i podczas odbudowy/regeneracji uszkodzonych tkanek i narządów [59].

Początkowo przypuszczano, że komórki MSC są komórkami hipoiimmunogennymi, ponieważ nie wykazują ekspresji cząsteczek HLA II i kostymulatorowych białek [29]. Ekspresja HLA II może się jednak pojawić w komórkach MSC po stymulacji IFN-γ. Komórki MSC wykorzystuje się nie tylko w przeszczepach autogenicznych, ale także w przeszczepach allogenicznych i ksenogenicznych [47].

Komórki MSC nie są komórkami uprzywilejowanymi immunologicznie. Tworzą natomiast tolerogenne środowisko: modulują w pośredni sposób aktywność komórek dendrytycznych (DC) oraz hamują w sposób bezpośredni aktywność komórek NK, CD8⁺ i CD4⁺. Komórki MSC mogą tworzyć środowisko immunosupresyjne także dzięki wydzielanym przez siebie prostaglandynom i interleukinom [22].

PRÓBY TERAPEUTYCZNEGO ZASTOSOWANIA KOMÓREK MSC

Dotychczasowe dane wskazują, że komórki MSC (a także perycyty i komórki AdSC) mogą brać udział w dwóch procesach, które można wykorzystać w celach terapeutycznych. Dzięki wydzielanym przez siebie czynnikom przeciwzapalnym komórki MSC hamują reakcję

zapalną, a dzięki wydzielanym cytokinom i czynnikom wzrostu mogą stymulować regenerację uszkodzonych tkanek i narządów [5,19,59]. Dotąd (4.04.2014 r.) zarejestrowano 388 badań klinicznych z wykorzystaniem komórek MSC [12].

W tabeli 2 przedstawiono cztery główne strategie terapeutyczne z wykorzystaniem komórek MSC. Komórki MSC:

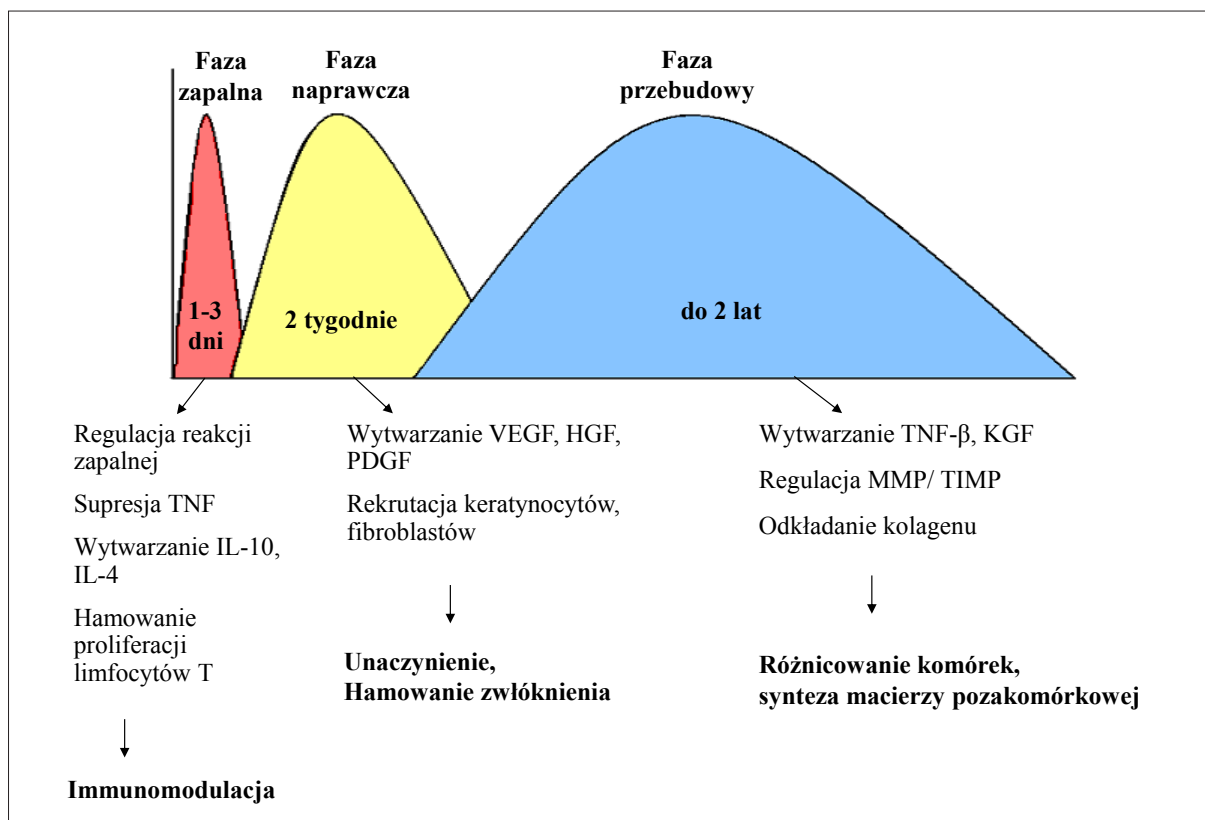
- biorą udział w regeneracji kości, chrząstki i mięśni,
- mogą poprawiać pracę pozawałowego serca, regenerować uszkodzoną wątrobę, sprzyjać gojeniu się ran,
- mogą hamować nieprawidłową odpowiedź odpornościową,
- mogą być nośnikami terapeutycznych genów.

Doświadczenia przedkliniczne oraz próby kliniczne powinny spełniać kilka warunków:

- musi być podjęta decyzja czy będą stosowane komórki autogeniczne czy allogeniczne,
- stosowane w terapii komórki MSC muszą być w miarę homogenne,
- musi być oznaczony optymalny czas transplantacji terapeutycznych komórek,
- musi być oznaczona optymalna liczba transplantowanych komórek („dawka”),
- musi być zbadany optymalny sposób transplantacji komórek MSC.

Autorzy zwracają szczególną uwagę na strategię terapeutyczną wykorzystującą komórki MSC do regeneracji uszkodzonego zawałem serca oraz udziału komórek MSC w gojeniu się trudnych do wyleczenia ran.

W celu poprawy pracy pozawałowego serca komórki MSC można podawać systemowo (do krwiobiegu) lub wprost



Ryc. 5. Rola MSC (wg [51] zmodyfikowano)

do mięśnia sercowego. Podane do krwioobiegu komórki gromadzą się w płucach. Komórki MSC, o średnicy 20-30 μm , blokują mikronaczynia w płucach, tworząc mikro-zatory [40]. Znajdujące się w mikronaczyniach komórki MSC wydzielają białko TSG-6, które ma właściwości przeciwzapalne (ryc. 4). Białko to hamuje aktywność proteaz biorących udział w reakcji zapalnej oraz hamuje infiltrację neutrofilów [45]. Po około 24 godzinach komórki MSC opuszczają płuca i wędrują z krwioobiegu do mięśnia sercowego. Przeciwzapalna aktywność białka TSG-6 ma wpływ na zmniejszenie rozmiarów zawału i poprawę pracy pozawałowego serca [45].

Według Molla i wsp., komórki MSC blokujące małe naczynia, dzięki czynnikowi tkankowemu (TF) na powierzchni, stymulują powstawanie skrzepliny [53]. Jego infiltracja przez neutrofile i monocyty niszczy komórki MSC. Przypuszczalnie aż 80% komórek MSC może ulec zniszczeniu w wyniku reakcji IBMIR (instant blood-mediated inflammatory reaction).

Wszczepiane do mięśnia sercowego komórki MSC mogą się utrzymywać w nim stosunkowo krótko. Niektóre dane wskazują, że po 2 tygodniach od czasu podania, zaledwie kilka ich procent znajduje się jeszcze w pozawałowym sercu [46]. Istnieją jednak dane wskazujące, że niektóre przeszczepione komórki MSC ($\text{CD}34^+$) utrzymują się w pozawałowym sercu nawet przez 12 miesięcy [73].

Czas retencji przeszczepionych komórek w sercu może zależeć od: stresu oksydacyjnego, stanu zapalnego, cytotoksyczności niektórych cytokin, a także braku odpowiednich białek w macierzy zewnątrzkomórkowej (extracellular matrix, ECM) umożliwiających „zakotwiczenie” przeszczepionych komórek MSC [62].

Wynik terapeutyczny, który pojawia się po podaniu komórek MSC może być raczej spowodowany stymulacją komórek gospodarza przez czynniki wydzielane przez komórki MSC (tzw. efekt parakryny) niż przez proliferację czy różnicowanie się komórek MSC do kardiomiocytów [35].

Niezależnie od tego czy do poprawy pracy pozawałowego serca stosowano komórki MSC, perycyty czy komórki będące prekursorami perycytów wyniki leczenia były podobne [11,28,39,63]. Wszystkie komórki terapeutyczne stymulowały wzrost unaczynienia, natomiast zmniejszały stan zapalny oraz stopień zwłóknienia. W pozawałowym sercu zmniejszała się blizna pozawałowa i zwiększała frakcja wyrzutowa lewej komory. Przypuszcza się, że za wzrost unaczynienia są odpowiedzialne czynniki proangiogenne (np. VEGF, HGF) wydzielane przez komórki terapeutyczne. Zmniejszający się stan zapalny mógł być skutkiem wydzielanych przez komórki terapeutyczne czynników przeciwzapalnych (np. TSG-6, IL-6). Natomiast niewielki stopień zwłóknienia może być skutkiem zahamowania przez komórki terapeutyczne aktywności znajdujących

Tabela 2. Strategie terapeutyczne z wykorzystaniem komórek MSC

Cechy komórek MSC	Strategia terapeutyczna
Komórki MSC ulegają różnicowaniu do osteoblastów, chondrocytów i adipocytów	Komórki MSC biorą udział w regeneracji kości, chrząstki i mięśni
Komórki MSC wydzielają cytokiny i czynniki wzrostowe	Komórki MSC mogą: poprawiać pracę m.in. pozawałowego serca, wpływać na regenerację uszkodzonej wątroby czy płuc, mieć wpływ na gojenie się ran
Komórki MSC wydzielają czynniki immunosupresyjne	1) Transplantowane komórki MSC mogą zapobiegać odrzucaniu przeszczepów (serca, nerek, skóry) 2) Hamowanie nieprawidłowej odpowiedzi odpornościowej (choroba przeszczep przeciw gospodarzowi (GvHD), choroba Crohna, reumatoidalne zapalenie stawów, itp.)
Komórki MSC wykazują tropizm do rejonów prozapalnych, w których znajdują się komórki nowotworowe	Komórki MSC mogą być nośnikami terapeutycznych genów (np. genów kodujących IFN- γ , IL-2, IL-12, TRAIL)

Odnosiłki literaturowe dotyczące różnych strategii terapeutycznych można znaleźć w pracach: 5,29,30,35,52,72.

się w mięśniu sercowym fibroblastów [11]. Komórki te są bowiem głównymi producentami kolagenu, podstawowego białka macierzy pozakomórkowej. Wpływ na zwłóknienie może mieć także wzrost aktywności niektórych metaloproteinaz, np. MMP-2 [11]. Enzymy te degradują m.in. niektóre białka macierzy pozakomórkowej.

Według Katare i wsp. wydzielany przez terapeutyczne komórki (CD34⁺CD31⁻) mikroRNA (miR-132) jest czynnikiem stymulującym proces angiogenezy i hamującym różnicowanie fibroblastów do miofibroblastów, komórek biorących udział w powstawaniu zwłóknienia [39].

Pojawiły się też próby bardziej szczegółowej analizy wydzielanych białek (tzw. sekretomu) przez komórki MSC [43]. Wydzielane białka znajdują się w pęcherzykach wydzielniczych zwanych egzozomami [2,61]. Skład białek w tych pęcherzykach może być w różny sposób modyfikowany [62]. Zmianę profilu wydzielanych przez MSC białek można uzyskać za pomocą: czynników fizjologicznych (np. niedotlenienia komórek MSC), działania na komórki MSC czynnikami farmakologicznymi (m.in. TNF- α , IFN- γ , LPS) oraz modyfikacji genetycznych (np. wprowadzenie do komórek MSC genów kodujących SDF-1, VEGF, HGF, Akt-1).

Komórki MSC z transgenem SDF-1 mają zwiększoną ekspresję białek modyfikujących macierz pozakomórkową i mogą stymulować unaczynienie [70]. Komórki MSC z transgenem, Akt-1 natomiast mają zwiększoną oporność na sygnały proapoptotyczne [30].

Komórki MSC można także wykorzystać do gojenia utrzymujących się ran, np. u chorych na cukrzycę [37,51]. Istnieją dwa sposoby wykorzystania komórek MSC do gojenia ran. Pierwszy polega na podawaniu komórek MSC wprost do tkanek znajdujących się w najbliższym sąsiedztwie rany, drugi - na nakładaniu na rany

komórek MSC z różnymi nośnikami, takimi jak: hydrożele, kapsuły, gąbki kolagenowe, fibryna lub tkankowe rusztowania 3D, tzw. scaffolds [19,23,38,68,69].

Niezależnie od sposobu podawania komórki MSC przyspieszały gojenie się ran [37,51]. Skuteczność terapii zależała od liczby komórek nałożonych na rany, przypuszczalnie zależy od czynników wydzielanych przez komórki MSC (np. VEGF-A, HGF, FGF-2), które m.in. stymulują unaczynienie, tworzenie się ziarniny, migrację keratynocytów. W terapii znaczną rolę odgrywają także czynniki hamujące reakcję zapalną (ryc. 5).

W tabeli 2 są zamieszczone przykłady wykorzystania immunosupresyjnych właściwości komórek MSC w hamowaniu nieprawidłowej odpowiedzi odpornościowej. Szczególne zainteresowanie budzą badania kliniczne, w których usiłuje się wykorzystać komórki MSC do hamowania odpowiedzi odpornościowej w chorobach przeszczep przeciwko gospodarzowi (graft-versus-host disease, GvHD) [19]. W schorzeniu tym limfocyty dawcy rozpoznają antygeny biorcy jako obce antygeny. Infuzje komórek MSC hamują aktywność limfocytów T i tym samym postępowanie choroby.

Oryginalnym rozwiązaniem wykorzystującym komórki MSC do celów leczniczych są próby ich zastosowania do transportu terapeutycznych genów (np. genów kodujących antyangiogenne białka lub genów kodujących tzw. geny samobójcze) [72]. Komórki MSC wykazują wysoką chemotaksję do rejonów objętych stanem zapalnym, a więc rejonów, w których znajdują się komórki nowotworowe. Zmodyfikowane genetycznie komórki MSC uwalniają swoje „cargo” (terapeutyczne białka) w sąsiedztwie komórek nowotworowych. Terapeutyczne białka to najczęściej białka indukujące w komórkach nowotworowych apoptozę (tab. 2).

PODSUMOWANIE

Pisanie prac przeglądowych jest trudnym wyborem między „co pominąć”, a „co wziąć pod uwagę”. Autorzy pominęli wiele artykułów poświęconych komórkom MSC. Wybrano kilkadziesiąt, które zwracały szczególnie uwagę na te cechy komórek MSC, które mogą być

wykorzystane do regeneracji uszkodzonych tkanek i narządów.

Komórki MSC są przedmiotem intensywnych badań laboratoryjnych i klinicznych. I nie wykluczone, że wiele informacji zawartych w pracy ulegnie szybko dezaktualizacji. Nic bowiem tak szybko nie traci aktualności jak prace naukowe.

PIŚMIENICTWO

- [1] Armulik A., Genové G., Betsholtz C.: Pericytes: developmental, physiological, and pathological perspectives, problems, and promises. *Dev. Cell*, 2011; 21: 193-215
- [2] Baglio S.R., Pegtel D.M., Baldini N.: Mesenchymal stem cell secreted vesicles provide novel opportunities in (stem) cell-free therapy. *Front. Physiol.*, 2012; 3: 359
- [3] Bajek A., Olkowska J., Drewa T.: Mezenchymalne komórki macierzyste narzędziem terapeutycznym w regeneracji tkanek i narządów. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2011; 65: 124-132
- [4] Bernardo M.E., Fibbe W.E.: Mesenchymal stromal cells: sensors and switchers of inflammation. *Cell Stem Cell*, 2013; 13: 392-402
- [5] Bernardo M.E., Pagliara D., Locatelli F.: Mesenchymal stromal cell therapy: a revolution in Regenerative Medicine? *Bone Marrow Transplant.*, 2012; 47: 164-171
- [6] Bianco P., Cao X., Frenette P.S., Mao J.J., Robey P.G., Simmons P.J., Wang C.Y.: The meaning, the sense and the significance: translating the science of mesenchymal stem cells into medicine. *Nat. Med.*, 2013; 19: 35-42
- [7] Blasi A., Martino C., Balducci L., Saldarelli M., Soleti A., Navone S.E., Canzi L., Cristini S., Invernici G., Parati E.A., Alessandri G.: Dermal fibroblasts display similar phenotypic and differentiation capacity to fat-derived mesenchymal stem cells, but differ in anti-inflammatory and angiogenic potential. *Vasc. Cell*, 2011; 3: 5
- [8] Braun J., Kurtz A., Barutcu N., Bodo J., Thiel A., Dong J.: Concerted regulation of CD34 and CD105 accompanies mesenchymal stromal cell derivation from human adventitial stromal cell. *Stem Cells Dev.*, 2013; 22: 815-827
- [9] Bronckaers A., Hilkens P., Martens W., Gervois P., Ratajczak J., Struys T., Lambrechts I.: Mesenchymal stem/stromal cells as a pharmacological and therapeutic approach to accelerate angiogenesis. *Pharmacol. Ther.*, 2014; 143: 181-196
- [10] Caplan A.I.: All MSCs are pericytes? *Cell Stem Cell*, 2008; 3: 229-230
- [11] Chen C.W., Okada M., Proto J.D., Gao X., Sekiya N., Beckman S.A., Corselli M., Crisan M., Saparov A., Tobita K., Péault B., Huard J.: Human pericytes for ischemic heart repair. *Stem Cells*, 2013; 31: 305-316
- [12] ClinicalTrials.gov. <http://www.clinicaltrials.gov> (04.04.2014)
- [13] Colter D.C., Sekiya I., Prockop D.J.: Identification of a subpopulation of rapidly self-renewing and multipotential adult stem cells in colonies of human marrow stromal cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 7841-7845
- [14] Corselli M., Chen C.W., Sun B., Yap S., Rubin J.P., Péault B.: The tunica adventitia of human arteries and veins as a source of mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev.*, 2012; 21: 1299-1308
- [15] Covas D.T., Panepucci R.A., Fontes A.M., Silva W.A. Jr., Orellana M.D., Freitas M.C., Neder L., Santos A.R., Peres L.C., Jamur M.C., Zago M.A.: Multipotent mesenchymal stromal cells obtained from diverse human tissues share functional properties and gene-expression profile with CD146⁺ perivascular cells and fibroblasts. *Exp. Hematol.*, 2008; 36: 642-654
- [16] Crisan M., Corselli M., Chen W.C., Péault B.: Perivascular cells for regenerative medicine. *J. Cell. Mol. Med.*, 2012; 16: 2851-2860
- [17] Crisan M., Yap S., Casteilla L., Chen C.W., Corselli M., Park T.S., Andriolo G., Sun B., Zheng B., Zhang L., Norotte C., Teng P.N., Traas J., Schugar R., Deasy B.M., et al.: A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs. *Cell Stem Cell*, 2008; 3: 301-313
- [18] Dayan V., Yannarelli G., Billia F., Filomeno P., Wang X.H., Davies J.E., Keating A.: Mesenchymal stromal cells mediate a switch to alternatively activated monocytes/macrophages after acute myocardial infarction. *Basic Res. Cardiol.*, 2011; 106: 1299-1310
- [19] de Girolamo L., Lucarelli E., Alessandri G., Avanzini M.A., Bernardo M.E., Biagi E., Brini A.T., D'Amico G., Fagioli F., Ferrero I., Locatelli F., Maccario R., Marazzi M., Parolini O., Pessina A., Torre M.L., Italian Mesenchymal Stem Cell Group: Mesenchymal stem/stromal cells: a new „cells as drugs” paradigm. Efficacy and critical aspects in cell therapy. *Curr. Pharm. Des.*, 2013; 19: 2459-2473
- [20] Ding L., Morrison S.J.: Haematopoietic stem cells and early lymphoid progenitors occupy distinct bone marrow niches. *Nature*, 2013; 495: 231-235
- [21] Dominici M., Le Blanc K., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F., Krause D., Deans R., Keating A., Prockop D.J., Horwitz E.: Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 2006; 8: 315-317
- [22] English K.: Mechanisms of mesenchymal stromal cell immunomodulation. *Immunol. Cell Biol.*, 2013; 91: 19-26
- [23] Falanga V., Iwamoto S., Chartier M., Yufit T., Butmarc J., Kouttab N., Shrayder D., Carson P.: Autologous bone marrow-derived cultured mesenchymal stem cells delivered in a fibrin spray accelerate healing in murine and human cutaneous wounds. *Tissue Eng.*, 2007; 13: 1299-1312
- [24] Frenette P.S., Pinho S., Lucas D., Scheiermann C.: Mesenchymal stem cell: keystone of the hematopoietic stem cell niche and a stepping-stone for regenerative medicine. *Annu. Rev. Immunol.*, 2013; 31: 285-316
- [25] Friedenstein A.J., Chailakhjan R.K., Lalykina K.S.: The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Tissue Kinet.*, 1970; 3: 393-403
- [26] Friedenstein A.J., Chailakhyan R.K., Latsinik N.V., Panasyuk A.F., Keiliss-Borok I.V.: Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues. *Cloning in vitro and retransplantation in vivo*. *Transplantation*, 1974; 17: 331-340
- [27] Friedenstein A.J., Piatetzky-Shapiro I.I., Petrakova K.V.: Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. *J. Embryol. Exp. Morphol.*, 1966; 16: 381-390
- [28] Gaebel R., Furlani D., Sorg H., Polchow B., Frank J., Bieback K., Wang W., Klopsch C., Ong L.L., Li W., Ma N., Steinhoff G.: Cell origin of human mesenchymal stem cells determines a different healing performance in cardiac regeneration. *PLoS One*, 2011; 6: e15652
- [29] Gneocchi M., Danieli P., Cervio E.: Mesenchymal stem cell therapy for heart disease. *Vascul. Pharmacol.*, 2012; 57: 48-55

- [30] Gneccchi M., He H., Noiseux N., Liang O.D., Zhang L., Morello F., Mu H., Melo L.G., Pratt R.E., Ingwall J.S., Dzau V.J.: Evidence supporting paracrine hypothesis for Akt-modified mesenchymal stem cell-mediated cardiac protection and functional improvement. *FA-SEB J.*, 2006; 20: 661-669
- [31] Greenbaum A., Hsu Y.M., Day R.B., Schuettpeiz L.G., Christopher M.J., Borgerding J.N., Nagasawa T., Link D.C.: CXCL12 in early mesenchymal progenitors is required for haematopoietic stem-cell maintenance. *Nature*, 2013; 495: 227-230
- [32] Haniffa M.A., Collin M.P., Buckley C.D., Dazzi F.: Mesenchymal stem cells: the fibroblasts' new clothes? *Haematologica*, 2009; 94: 258-263
- [33] Hematti P.: Mesenchymal stromal cells and fibroblasts: a case of mistaken identity? *Cytotherapy*, 2012; 14: 516-521
- [34] Ho A.D., Wagner W., Franke W.: Heterogeneity of mesenchymal stromal cell preparations. *Cytotherapy*, 2008; 10: 320-330
- [35] Horwitz E.M., Dominici M.: How do mesenchymal stromal cells exert their therapeutic benefit? *Cytotherapy*, 2008; 10: 771-774
- [36] Horwitz E.M., Le Blanc K., Dominici M., Mueller I., Slaper-Cortenbach I., Marini F.C., Deans R.J., Krause D.S., Keating A.: Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 2005; 7: 393-395
- [37] Jackson W.M., Nesti L.J., Tuan R.S.: Concise review: clinical translation of wound healing therapies based on mesenchymal stem cells. *Stem Cells Transl. Med.*, 2012; 1: 44-50
- [38] Jiang D., Qi Y., Walker N.G., Sindrilaru A., Hainzl A., Wlaschek M., MacNeil S., Scharffetter-Kochanek K.: The effect of adipose tissue derived MSCs delivered by a chemically defined carrier on full-thickness cutaneous wound healing. *Biomaterials*, 2013; 34: 2501-2515
- [39] Katare R., Riu F., Mitchell K., Gubernator M., Campagnolo P., Cui Y., Fortunato O., Avolio E., Cesselli D., Beltrami A.P., Angelini G., Emanueli C., Madeddu P.: Transplantation of human pericyte progenitor cells improves the repair of infarcted heart through activation of an angiogenic program involving micro-RNA-132. *Circ. Res.*, 2011; 109: 894-906
- [40] Kean T.J., Lin P., Caplan A.I., Dennis J.E.: MSCs: delivery routes and engraftment, cell-targeting strategies, and immune modulation. *Stem Cells Int.*, 2013; 2013: 732742
- [41] Keating A.: Mesenchymal stromal cells: new directions. *Cell Stem Cell*, 2012; 10: 709-716
- [42] Korta K., Kupczyk P., Skóra J., Pupka A., Zejler P., Hołysz M., Gajda M., Nowakowska B., Barć P., Dorobisz A.T., Dawiskiba T., Szyber P., Bar J.: Stem and progenitor cells in biostructure of blood vessel walls. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2013; 67: 982-995
- [43] Lai R.C., Chen T.S., Lim S.K.: Mesenchymal stem cell exosome: a novel stem cell-based therapy for cardiovascular disease. *Regen. Med.*, 2011; 6: 481-492
- [44] Le Blanc K., Mougiakakos D.: Multipotent mesenchymal stromal cells and the innate immune system. *Nat. Rev. Immunol.*, 2012; 12: 383-396
- [45] Lee R.H., Pulin A.A., Seo M.J., Kota D.J., Ylostalo J., Larson B.L., Semprun-Prieto L., Delafontaine P., Prockop D.J.: Intravenous hMSCs improve myocardial infarction in mice because cells embolized in lung are activated to secrete the anti-inflammatory protein TSG-6. *Cell Stem Cell*, 2009; 5: 54-63
- [46] Leiker M., Suzuki G., Iyer V.S., Canty J.M. Jr., Lee T.: Assessment of a nuclear affinity labeling method for tracking implanted mesenchymal stem cells. *Cell Transplant.*, 2008; 17: 911-922
- [47] Li J., Ezzelarab M.B., Cooper D.K.: Do mesenchymal stem cells function across species barriers? Relevance for xenotransplantation. *Xenotransplantation*, 2012; 19: 273-285
- [48] Lin C.S., Lue T.F.: Defining vascular stem cells. *Stem Cells Dev.*, 2013; 22: 1018-1026
- [49] Lindner U., Kramer J., Rohwedel J., Schlenke P.: Mesenchymal stem or stromal cells: toward a better understanding of their biology? *Transfus. Med. Hemother.*, 2010; 37: 75-83
- [50] Majesky M.W., Dong X.R., Hoglund V., Daum G., Mahoney W.M. Jr.: The adventitia: a progenitor cell niche for the vessel wall. *Cells Tissues Organs*, 2012; 195: 73-81
- [51] Maxson S., Lopez E.A., Yoo D., Danilkovitch-Miagkova A., Leroux M.A.: Concise review: role of mesenchymal stem cells in wound repair. *Stem Cells Transl. Med.*, 2012; 1: 142-149
- [52] Meirelles L. da 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: 419-427
- [53] Moll G., Rasmusson-Duprez I., von Bahr L., Connolly-Andersen A.M., Elgue G., Funke L., Hamad O.A., Lönnies H., Magnusson P.U., Sanchez J., Teramura Y., Nilsson-Ekdahl K., Ringdén O., Korsgren O., Nilsson B., Le Blanc K.: Are therapeutic human mesenchymal stromal cells compatible with human blood? *Stem Cells*, 2012; 30: 1565-1574
- [54] Murray I.R., West C.C., Hardy W.R., James A.W., Park T.S., Nguyen A., Tawonsawatruk T., Lazzari L., Soo C., Péault B.: Natural history of mesenchymal stem cells, from vessel walls to culture vessels. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2014; 71: 1353-1374
- [55] Owen M., Friedenstein A.J.: Stromal stem cells: marrow-derived osteogenic precursors. *Ciba Found. Symp.*, 1988; 136: 42-60
- [56] Pevsner-Fischer M., Levin S., Zipori D.: The origins of mesenchymal stromal cell heterogeneity. *Stem Cell Rev.*, 2011; 7: 560-568
- [57] Phinney D.G., Sensebé L.: Mesenchymal stromal cells: misconceptions and evolving concepts. *Cytotherapy*, 2013; 15: 140-145
- [58] Pojda Z., Machaj E., Kurzyk A., Mazur S., Dębski T., Gilewicz J., Wysocki J.: Mezenchymalne komórki macierzyste. *Postępy Biochem.*, 2013; 59: 187-197
- [59] Prockop D.J.: Concise review: two negative feedback loops place mesenchymal stem/stromal cells at the center of early regulators of inflammation. *Stem Cells*, 2013; 31: 2042-2046
- [60] Prockop D.J., Oh J.Y.: Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): role as guardians of inflammation. *Mol. Ther.*, 2012; 20: 14-20
- [61] Rak J.: Extracellular vesicles - biomarkers and effectors of the cellular interactome in cancer. *Front. Pharmacol.*, 2013; 4: Art. 21
- [62] Ranganath S.H., Levy O., Inamdar M.S., Karp J.M.: Harnessing the mesenchymal stem cell secretome for the treatment of cardiovascular disease. *Cell Stem Cell*, 2012; 10: 244-258
- [63] Rossini A., Frati C., Lagrasta C., Graiani G., Scopece A., Cavalli S., Musso E., Baccarin M., Di Segni M., Fagnoni F., Germani A., Quaini E., Mayr M., Xu Q., Barbuti A. i wsp.: Human cardiac and bone marrow stromal cells exhibit distinctive properties related to their origin. *Cardiovasc. Res.*, 2011; 89: 650-660
- [64] Russell K.C., Phinney D.G., Lacey M.R., Barrilleaux B.L., Meyertholen K.E., O'Connor K.C.: *In vitro* high-capacity assay to quantify the clonal heterogeneity in trilineage potential of mesenchymal stem cells reveals a complex hierarchy of lineage commitment. *Stem Cells*, 2010; 28: 788-798
- [65] Sacchetti B., Funari A., Michienzi S., Di Cesare S., Piersanti S., Saggio I., Tagliafico E., Ferrari S., Robey P.G., Riminucci M., Bianco P.: Self-renewing osteoprogenitors in bone marrow sinusoids can organize a hematopoietic microenvironment. *Cell*, 2007; 131: 324-336
- [66] Schofield R.: The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell. *Blood Cells*, 1978; 4: 7-25
- [67] Sidney L.E., Branch M.J., Dunphy S.E., Dua H.S., Hopkinson A.: Concise review: evidence for CD34 as a common marker for diverse progenitors. *Stem Cells*, 2014; 32: 1380-1389
- [68] Sorrell J.M., Caplan A.I.: Topical delivery of mesenchymal stem cells and their function in wounds. *Stem Cell Res. Ther.*, 2010; 1: 30

- [69] Stoff A., Rivera A.A., Sanjib Banerjee N., Moore S.T., Numnum T.M., Espinosa-de-Los-Monteros A., Richter D.F., Siegal G.P., Chow L.T., Feldman D., Vasconez L.O., Mathis J.M., Stoff-Khalili M.A., Curiel D.T.: Promotion of incisional wound repair by human mesenchymal stem cell transplantation. *Exp. Dermatol.*, 2009; 18: 362-369
- [70] Tang J., Wang J., Guo L., Kong X., Yang J., Zheng F., Zhang L., Huang Y.: Mesenchymal stem cells modified with stromal cell-derived factor 1 alpha improve cardiac remodeling via paracrine activation of hepatocyte growth factor in a rat model of myocardial infarction. *Mol. Cells*, 2010; 29: 9-19
- [71] Traktuev D.O., Merfeld-Clauss S., Li J., Kolonin M., Arap W., Pasqualini R., Johnstone B.H., March K.L.: A population of multipotent CD34-positive adipose stromal cells share pericyte and mesenchymal surface markers, reside in a periendothelial location, and stabilize endothelial networks. *Circ. Res.*, 2008; 102: 77-85
- [72] Uchibori R., Tsukahara T., Ohmine K., Ozawa K.: Cancer gene therapy using mesenchymal stem cells. *Int. J. Hematol.*, 2014; 99: 377-382
- [73] Wang J., Zhang S., Rabinovich B., Bidaut L., Soghomonyan S., Alauddin M.M., Bankson J.A., Shpall E., Willerson J.T., Gelovani J.G., Yeh E.T.: Human CD34⁺ cells in experimental myocardial infarction: long-term survival, sustained functional improvement, and mechanism of action. *Circ. Res.*, 2010; 106: 1904-1911
- [74] Waterman R.S., Tomchuck S.L., Henkle S.L., Betancourt A.M.: A new mesenchymal stem cell (MSC) paradigm: polarization into a pro-inflammatory MSC1 or an immunosuppressive MSC2 phenotype. *PLoS One*, 2010; 5: e10088
- [75] Watt S.M., Gullo F., van der Garde M., Markeson D., Camicia R., Khoo C.P., Zwaginga J.J.: The angiogenic properties of mesenchymal stem/stromal cells and their therapeutic potential. *Br. Med. Bull.*, 2013; 108: 25-53
- [76] Wuchter P., Boda-Heggemann J., Straub B.K., Grund C., Kuhn C., Krause U., Seckinger A., Peitsch W.K., Spring H., Ho A.D., Franke W.W.: *Processus* and *recessus adhaerentes*: giant adherens cell junction systems connect and attract human mesenchymal stem cells. *Cell Tissue Res.*, 2007; 328: 499-514

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.