

UDC 576.57.085.23.615.012

Современные взгляды на биологию мезенхимальных стволовых клеток (краткое изложение)

О. А. Маслова

ГУ «Институт генетической и регенеративной медицины НАМНУ»
Ул. Вышгородская, 67, Киев, Украина, 04114

rotiferko@gmail.com

В настоящее время мезенхимальным стволовым клеткам (МСК) уделяется достаточно большое внимание, однако до сих пор не раскрытыми остаются некоторые аспекты их биологии. В обзоре представлены материалы современных исследований, посвященные проблемным вопросам биологии МСК. Кратко обсуждается возможность использования МСК в регенеративной медицине.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, регенеративная медицина, культивирование клеток.

Мезенхимальные стволовые (стромальные) клетки (МСК) считают наиболее перспективным инструментом в клеточной и тканевой инженерии. Однако несмотря на относительно длительное детальное изучение МСК в культуре клеток, до сих пор существуют малоизученные аспекты их биологии. Основным «белым пятном» можно считать отсутствие описания свойств МСК в естественных нишах организма, а не только в искусственно созданных условиях культивирования. В частности, автор публикации [1] пишет: «Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) хорошо описаны в культурах клеток, полученных из различных тканей человека. Тем не менее, до сих пор точно не известно их происхождение, частота встречаемости и анатомическое расположение».

Объективность представлений об МСК ограничена различиями в данных о свойствах МСК, возможно, приобретаемых ими в искусственных условиях культивирования в лабораториях, и попытками свести эти свойства к точному набору фенотипических признаков. Традиционное определение МСК – «это клоногенные клетки, способные адгезировать к пластику, экспрессировать определенный набор по-

верхностных маркеров и трилинейно дифференцироваться» является недостаточно емким и требует уточнений.

Свойства МСК обусловлены их происхождением из мезенхимы – эмбриональной ткани, отсутствующей во взрослом организме. Звездчатые клетки мезенхимы заполняют полости в организме эмбриона, синтезируют молекулы внеклеточного матрикса и таким образом поддерживают архитектуру эмбриона. Они способны к амебoidalному движению и фагоцитозу [2]. Мезенхима образуется при гаструляции. Вероятнее всего, что начало этой ткани дают все три зародышевых листка [2–4]. Именно это и позволяет МСК взрослого организма превращаться в клетки тканей не только мезодермальной линии, но и энто- и эктодермального происхождения [3, 4]. Морфологически во взрослом организме наиболее близкой к мезенхиме является рыхлая соединительная ткань, содержащая большое количество межклеточного вещества и фибробластов. Также к примитивным соединительным тканям принадлежит ретикулярная ткань кроветворных органов (костного мозга, селезенки и т. д.). Промежуточное состояние между эмбриональной мезенхимой и взрослой соединительной тканью имеет мукозная соединительная ткань матрикса пуповины (Вартонов сту-

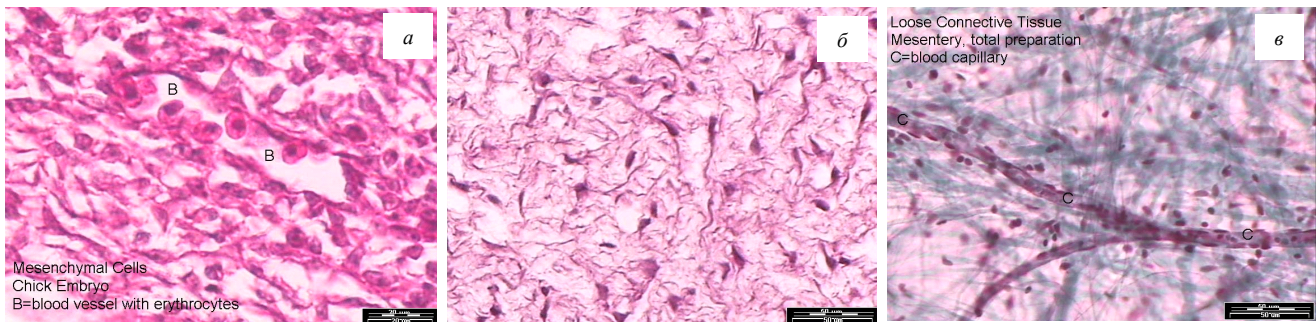


Рис. 1. Сравнение строения мезенхимы и ее производных (www.technion.ac.il/~mdcourse/): а – эмбриональная мезенхима; б – мучозная ткань пуповины; в – рыхлая соединительная ткань

Морфофункциональные различия между клетками эпителиального и мезенхимального типа [9]

Признак	Эпителиальные клетки	Мезенхимальные клетки
Клеточные контакты	Адгезивные контакты (через E-катгерин), десмосомы, плотные контакты	Отсутствуют или слабые
Цитоскелет	Цитокератины	Виментин
Синтез внеклеточного матрикса	Ламинин, колаген IV типа	Фибронектин, коллагены I/III
Экспрессия протеаз	Отсутствует или слабая	Высокая (металлопротеиназы)

день) (рис. 1) [5]. Как на этапе органогенеза, так и при прохождении постнатальных (нормальных и патологических) морфогенетических процессов наблюдается явление обратимых мезенхимально-эпителиальных трансформаций (МЭТ– ЭМТ) [6]. Такие взаимные переходы характеризуются морфологическими изменениями клеток (таблица). Существует мнение, что понимание особенностей процессов ЭМТ–МЭТ позволит приблизиться к объяснению природы МСК *in vivo* [7, 8].

Подобные трансформации наиболее активно проходят при формировании пространственной организации органов в эмбриональном развитии [9]. Во взрослом организме МЭТ и ЭМТ характерны для процессов регенерации тканей, а также для формирования фиброзов, образования карцином и метастазирования опухолей [10]. Регуляция переходов осуществляется с помощью различных сигнальных каскадов [7–10]. Значительную роль в указанных процессах играют микро-РНК и посттрансляционные модификации белков, отмечено также влияние факторов роста и цитокинов [9].

Ежегодно появляются сведения об успешном получении МСК, соответствующих классическим критериям, из достаточно «экзотических» источни-

ков, таких как менструальная кровь [11], зубы [12] и периферическая кровь [13, 14]. Согласно одним публикациям, МСК присутствуют в крови здоровых людей [15–17], согласно другим – эти клетки там отсутствуют [18] либо появляются в крови только при заболеваниях или травмах, требующих их системной мобилизации (например, при тяжелых ожогах) [19, 20]. Показано, что МСК, полученные из периферической крови, имеют свойства, аналогичные МСК костного мозга [14]. Однако основное внимание все же уделяют клеткам, выделенным из костного мозга, жировой ткани и фетальных тканей (плацента, пуповина и т. п.) [21, 22]. В отличие от взрослого организма, где мезенхима полностью превратилась в различные соединительные ткани, пуповина как производное желточного мешка и аллантоиса содержит примитивную форму внезародышевой мезенхимы – Вартонов студень [23]. В ее составе преобладают фибробластоподобные клетки, активно синтезирующие гликозаминогликаны. По мнению некоторых авторов, МСК матрикса пуповины сохраняют не мультипотентный (как МСК взрослых), а плюрипотентный [24] стволовый потенциал (есть данные о возможности экспрессии ими эмбриональных маркеров Oct4 и Tra-1-60, Tra- 1-81, SSEA-

1, SSEA-4, [25]) и имеют иммунофенотип, несколько отличающийся от зрелого, что открывает дополнительные возможности для аллотрансплантаций [26].

Первые сведения об МСК появились еще в 1960–1970-х годах [27–31], однако вопрос выбора их корректного наименования стал активно подниматься лишь в 2004–2006 гг. В связи с интенсификацией работ с данными клетками и расширением диапазона источников их получения все чаще звучали предложения о замене термина «мезенхимальные стволовые клетки» более точными определениями, которые четко отражали бы биологические особенности каждой популяции таких клеток. Вышла рекомендация Международного общества клеточной терапии, в которой было предложено использовать термин «мультипотентные стромальные клетки» [32]. Однако сегодня интерес к терминологии снизился, поэтому названия «мезенхимальные стволовые» и «мультипотентные стромальные» клетки в современной литературе встречаются практически с одинаковой частотой. Получило распространение также определение «мезенхимальные/стромальные клетки».

Одной из основных проблем биологии МСК является то, что все места их локализации во взрослом организме *in vivo* до сих пор не выявлены [1, 33–35]. Имеются лишь некоторые сведения о нишах МСК в костном мозге и периваскулярных участках, при этом показано, что эти клетки можно выделить и из других тканей. Данные об МСК касаются систем *in vitro* [1, 33–36] и можно предположить, что они имеют существенно измененный рецепторный портрет в результате процедур получения и пересевов [37–39]. Хотя МСК в культуре действительно хорошо описаны, на сегодня не существует специфического маркера или даже однозначного набора маркеров для определения МСК в организме. Ведутся активные поиски их оптимального сочетания для точной идентификации. Международное общество клеточной терапии предприняло попытку представить изученные к тому времени признаки МСК как их необходимые критерии [32], но, к сожалению, позже была показана недостаточность указанных признаков для полной характеристики МСК. Согласно рекомендациям Международного общества клеточной терапии, общими для всех МСК независимо от ис-

точника и способа получения являются такие свойства, как способность адгезировать к пластику (признак, который можно наблюдать уже в культуре клеток, а не в самом организме), легко дифференцироваться в хондро-, osteo- и адипоциты, экспрессировать CD105, CD90, CD73 и не экспрессировать CD34, CD45, CD11, HLA-DR [32]. Список других поверхностных маркеров значительно варьирует в зависимости от источника МСК. Среди новых предложенных положительных маркеров – CD13, CD29, CD271, CD166, CD146, 140b, CD106 и др. [40, 41]. Составляются комбинации из десятков и сотен поверхностных маркеров, которые экспрессируются МСК, однако единого рекомендованного набора до сих пор не существует.

Обнаружены также различия в потенциале дифференциации субпопуляций МСК, полученных из разных источников [35, 42].

Существенные трудности связаны и с тем, что вышеуказанные положительные маркеры являются довольно распространенными среди различных клеток организма. Это исключает возможность отличить МСК от соседних клеток, например, на препаратах тканей. Так, CD105 (SH2), или эндоглин, являющийся гликопротеином и входящий в состав рецепторного комплекса для TGF-beta, экспрессируется на поверхности эндотелиальных клеток, активированных макрофагов, фибробластов и гладкомышечных клеток [43], что делает невозможным различить МСК и эти типы клеток. CD90, или Thy-1, экспрессируется, кроме МСК, еще и на поверхности тимоцитов, нейронов, гемопоэтических стволовых клеток, NK-клеток, эндотелиоцитов, клеток почек, циркулирующих клеток меланомы, фолликулярно-дендритных клеток, фибробластов и миофибробластов [44]. Экспрессия CD73 (SH3/SH4), или экто-5'-нуклеотидазы, также характерна для олигодендроцитов, В- и Т-лимфоцитов, нейронов, перитцитов, фибробластов, кардиомиоцитов и других типов клеток [45]. Существует мнение, что эти маркеры пригодны для определения МСК в тех случаях, когда наличие других типов клеток полностью исключено.

Все чаще возникает предположение о том, что критерии для определения МСК в условиях культуры могут относиться и к другим типам клеток [1].

Самым трудным является выявление МСК непосредственно в живом организме [33–35, 46]. Несмотря на успешное выделение МСК из разных тканей, их естественные ниши детально описаны только для костного мозга и периваскулярных областей [1, 39]. Из многих тканей взрослого организма получены фибробластоподобные, адгезивные клетки, способные к трехлинейной дифференциации и отвечающие фенотипическим критериям МСК. Но какие морфофункциональные особенности *in vivo* имеют данные клетки – до сих пор точно неизвестно [1]. В последнее время стали появляться сообщения о различных типах клеток взрослого организма, способных, вероятно, приобретать характеристики МСК в культуре [1, 35]. К таким клеткам относят перициты, клетки адвентиции, фибробласты, миофибробласты, ретикулярные клетки, интестинальные клетки и некоторые другие [47]. Наибольшее количество статей посвящено фибробластам [1, 35, 48, 49] как непосредственным производным мезенхимы и перицитам [1, 50] – как клеткам, населяющим одну из гипотетических ниш МСК. Существует предположение, что эти клетки находятся в разных функциональных состояниях, одним из которых может быть мультипотентное. Вероятно также, что определенное (очень малое) количество эмбриональных мезенхимальных клеток не достигает конечных этапов дифференциации и остается в стволовом состоянии в качестве регенеративного пула. Согласно современным взглядам, МСК – это гетерогенная группа клеток со стволовыми свойствами [1, 35, 51]. Считают, что для лучшего понимания состояния МСК *in vivo* необходимо основательно изучить химический и клеточный состав ниш МСК (над чем сейчас и работают в ведущих мировых лабораториях), а также детализировать представления о функциональной и структурной роли МСК в норме и при патологиях.

Находясь в естественном окружении внутри организма, МСК взаимодействуют как с молекулами внеклеточного матрикса, так и между собой, а также с другими типами клеток. По существующим данным, внеклеточный матрикс – это не только механическая опора, но и совокупность лигандов, служащих для запуска определенных сигнальных путей через специфические рецепторы [52]. Именно

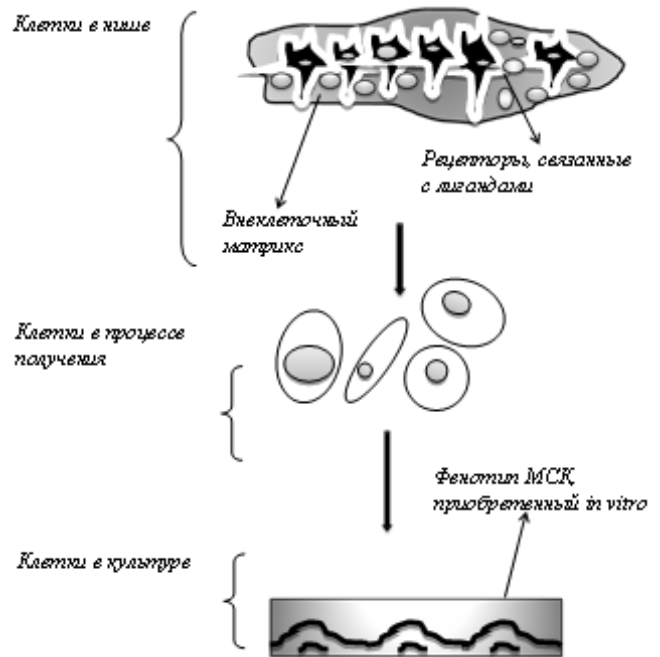


Рис. 2. Схематическое изображение некоторых изменений клеток при получении культуры

от характеристик матрикса в значительной степени зависит судьба МСК. Критично важна как природа веществ, окружающих клетки, так и их физические характеристики, такие как жесткость и упругость (последние исследования показывают, что при определенных условиях изменение плотности и твердости субстрата может играть ключевую роль в выборе пути дифференциации МСК) [53–55].

При получении клеток из любой ткани межклеточный матрикс и межклеточные связи разрушаются (механически или ферментативно), вызывая существенные изменения в рецепторном портрете [37, 38] на поверхности выделенных клеток. Это явление можно назвать «рецепторным шоком» (рис. 2), который сводит на нет все попытки культивировать нативные МСК. И уже после таких серьезных перестроек в условиях культуры клеток, которые не воспроизводят состава естественных ниш организма, культивируемый материал приобретает описанные *in vitro* свойства (рис. 3). Эти свойства помогают идентифицировать МСК по известным признакам, но нужно понимать, что они могут отличаться от характеристик МСК, находящихся в организме. Какие бы современные подходы к оптимизации условий культивирования не использовали, в частно-

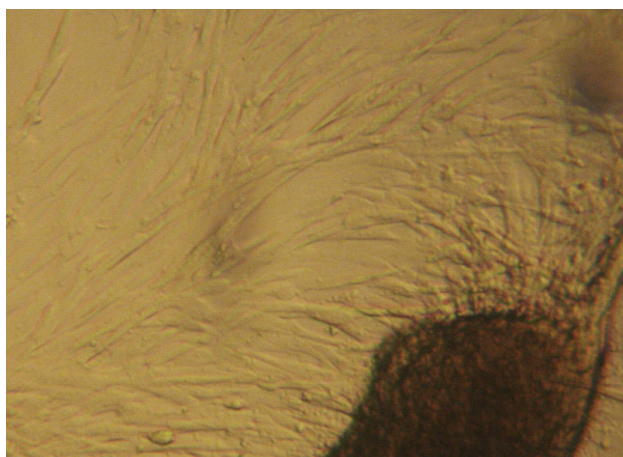


Рис. 3. Культура МСК, полученная из матрикса пуповины человека, 1-й пассаж, неокрашенная; $\times 100$

сти, выращивание клеток с применением искусственных или натуральных материалов либо биореакторов, они не позволяют достоверно и точно воссоздать условия *in vivo*. Наименее воспроизводимой является многоуровневая регуляция жизнедеятельности всех клеток организма: нервная, гуморальная, иммунная. Итак, суммируя вышеизложенное, можно заключить, что МСК называют клетки, приобретающие определенный фенотип уже вне организма.

Одним из важных вопросов является возможность длительного культивирования МСК. Согласно последним литературным данным, МСК необратимо изменяются с каждым последующим пассажем [37, 56, 38]. Однако мнения о том, до какого пассажа можно культивировать МСК без потери мультипотентности, несколько отличаются [57]. Одни авторы указывают на наличие ощутимых морфофизиологических изменений клеток и нарушений в экспрессии определенных генов уже на этапе 2–3-го пассажей [58], другие – 5–6-го [59]. Анализ этих данных приводит к выводу об отсутствии стандартизированных методов поддержания клеток в стабильном мультипотентном состоянии.

После культивирования клетки можно вводить в подопытный организм в разных целях. Для частичной оценки эффективности поступления клеточного материала необходимо отследить пути его миграции. К современным методам детекции введенных МСК относят ПЦР (RT-PCR), позволяющую определять наличие специфических для человека *Alu*-последовательностей и других маркеров в органах

животных, которым вводили МСК человека; мечение флуоресцентными белками (с последующим анализом гистологических препаратов или с использованием метода конфокальной микроскопии *in vivo*) и радиоактивными частицами; применение техники ПЭТ (позитронно-эмиссионная томография), магнитно-резонансные исследования [60–62]. Согласно литературным данным, описывающим распределение МСК из различных источников в организмах экспериментальных животных, при системном введении клетки в первую очередь детектируются в легких (около 70 % всех клеток), позже их можно отследить в печени (до 15 %), почках (около 20 %), селезенке, сердце и кровеносном русле [62]. Данные о наличии введенных МСК в костном мозге противоречивы. Одними авторами показано присутствие экзогенных МСК в костном мозге [63], другими – такого явления не отмечено [64]. До сих пор не существует однозначного ответа на вопрос, самоуничтожаются ли МСК после выделения определенных веществ, превращаются ли в нужные поврежденному органу типы клеток или не подвергаются никаким изменениям?

Разнообразные подходы *in vivo* позволяют понять особенности хоуминга и распределения введенных клеток. Однако, учитывая потенциальные изменения, присущие прекультивированному материалу, и пользуясь только этими данными, трудно определить локализацию МСК в тканях и органах [1, 65]. Соответственно одной из актуальных задач является поиск различий в состоянии клеток при использовании схемы: существование в нише–выделение из ткани–культивирование–введение в организм–образование новой ниши по требованию (с последующей дифференциацией или самоликвидацией после высвобождения паракринных факторов и т. д.) и собственно клетками, не покидающими пределов организма.

Несмотря на указанные сложности, культивируемые МСК уже используют в регенеративной терапии [64–67]. Осуществляются попытки снизить влияние культивирования на метаболизм МСК и сохранить их исходные характеристики. Проводится экспериментальная работа на животных. При этом тестируются ксеногенные, аллогенные и аутологичные варианты применения клеток. МСК чело-

века также активно внедряют в клинику. Вопросу клинического использования МСК из различных источников посвящено большое количество обстоятельных обзоров [68–73], поэтому в данной работе будут лишь очерчены основные направления регенеративной медицины, в которых востребовано применение МСК. Существует несколько работ, где клеточный материал используют в 1–3-й фазах клинического испытания [74, 75]. Правда, результаты клинических исследований достаточно противоречивы. Если 1-й и 2-й этапы прошли в большинстве случаев вполне успешно, то в отношении 3-го возникли некоторые разногласия, связанные с целесообразностью применения именно МСК по сравнению с традиционными лекарственными средствами. Обсуждению этого вопроса посвящен обзор, цитируемый в [76].

Клетки, культивируемые *in vitro*, можно вводить пациенту локально (как, например, в случае лечения суставов или заживления ран) либо системно (в частности, при инфаркте миокарда). Для системного введения клеток нужно применять суспензию или клеточные агрегаты наименьших размеров, чтобы исключить риск эмболии. Все более вероятным представляется использование МСК в качестве носителей определенных субстанций (самые распространенные – противоопухолевые препараты) [77]. С введением встроенных генетических конструкций МСК приобретают способность синтезировать и выделять требуемые вещества [46, 77]. Среди проблем, возникающих при применении МСК в регенеративной медицине, выделяют следующие: подбор оптимальных источников, культивирование без потери стволовых характеристик, избрание адекватного метода введения в организм, возможность отслеживать судьбу введенного материала в организме.

Хотя детально клинические аспекты в данной работе не будут рассмотрены, необходимо перечислить сферы, в которых такой материал можно использовать, и кратко описать причины выбора именно МСК. Согласно литературным данным, к патологиям, которые могут быть вылечены с помощью МСК, принадлежат нейродегенеративные [78] и аутоиммунные заболевания [79, 80], сердечно-сосудистые болезни [81], инсульты [82], болезни опорно-двигательного аппарата [83], травмы [84], опу-

холи (в том числе и саркомы) [85]. Применение МСК в клинике связано с их потенциальным влиянием на иммунный ответ [86], наличием выраженных паракринных эффектов (например, высвобождение ростовых факторов и цитокинов) [68], участием в восстановлении поврежденных тканей [87]. Ряд современных исследований указывает на исключительно важную роль паракринных эффектов от введения МСК. В связи со способностью МСК к секреции факторов роста, цитокинов и хемокинов эти клетки могут регулировать состояние микроокружения и таким образом стимулировать регенерацию тканей. Иммуномодулирующим эффектам МСК также посвящено большое количество работ, показано влияние МСК на различные этапы иммунного ответа [88–91].

Анализируя современные взгляды на биологию МСК, можно прийти к ряду выводов:

- конкретная анатомическая локализация МСК во взрослом организме определена лишь для костного мозга, хотя эти клетки обнаружены и в других тканях;
- до сих пор четко не сформулирована концепция естественных ниш МСК;
- следствием процедур, выполняемых с клетками вне организма во время культивирования, являются изменения в рецепторном портрете и в других характеристиках МСК, что не позволяет достоверно оценивать их свойства;
- открытым остается вопрос подбора максимально исчерпывающих маркеров, отличающих МСК от всех остальных клеток с похожими фенотипическими признаками и дающих возможность четко продемонстрировать пул МСК в тканях организма.

Также можно сформулировать более корректное определение: МСК в культуре – это гетерогенная группа мультипотентных клеток, вероятно, приобретающих определенные фенотипические свойства уже после выделения из различных тканей: экспрессия набора поверхностных маркеров, адгезия к пластику, способность к индуцированной дифференциации.

Итак, понимание цитологических и биохимических особенностей МСК не только в культуре, но и в живом организме является ключевым вопросом, решение которого необходимо для более эффектив-

ного и безопасного применения такого материала в клинике. Целью современных работ, направленных на подготовку МСК для использования в регенеративной медицине, должно стать снижение последствий культивирования клеток и поиск путей долговременного поддержания их в культуре без изменений.

O. O. Maslova

Current view of mesenchymal stem cells biology (brief review)

Institute of Genetic and Regenerative Medicine, NAMS of Ukraine
67, Vyshgorodska Str., Kyiv, Ukraine, 04114

Summary

Although mesenchymal stem cells (MSC) are in a focus of attention, some aspects of their biology are still unclear. This paper is a review of current research on MSC biology. The use of MSC in regenerative medicine is also briefly discussed.

Keywords: mesenchymal stem cells, regenerative medicine, cell cultivation.

O. O. Маслова

Сучасні погляди на біологію мезенхімальних стовбурових клітин (короткий виклад)

На сьогодні мезенхімальним стовбуровим клітинам (МСК) приділяють досить значну увагу, однак досі не розкритими залишаються деякі аспекти їхньої біології. В огляді представлено матеріали сучасних досліджень, присвячених проблемним питанням біології МСК. Коротко обговорюється можливість використання МСК у регенеративній медицині.

Ключові слова: мезенхімальні стовбурові клітини, регенеративна медицина, культивування клітин.

REFERENCES

1. *Can A.* Searching for *in vivo* traces of mesenchymal stem cells and their ancestors // *Adult and embryonic stem cells* / Ed. K. Turksen.—Amsterdam: Springer, 2012.—P. 11–24.
2. *Strum J. M., Gartner L. P., Hiatt J. L.* Cell biology and histology.—Hagerstown: Lippincott Williams & Wilkins, 2007.—83 p.
3. *Gulin A. G.* Gistologiya v tablitsah i schemah.—Moscow: PM, 2009.—83 p.
4. *Selezneva T., Mishyn A., Barsukov V.* Gistologiya: polnyi kurs za tri dnya.—Moscow: Eksmo, 2007.—354 p.
5. *Taghizadeh R. R., Cetrulo K. J., Cetrulo C. L.* Wharton's jelly stem cells: future clinical applications // *Placenta*.—2011.—**32**, Suppl 4.—S311–315.
6. *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 mobilized in lung are activated to secrete the anti-inflammatory protein TSG-6 // *Cell Stem Cell*.—2009.—**5**, N 1.—P. 54–63.
7. *Wang Z., Li Y., Ahmad A., Azmi A. S., Kong D., Banerjee S., Sarkar F. H.* Targeting miRNAs involved in cancer stem cell and EMT regulation: an emerging concept in overcoming drug resistance // *Drug Resist. Updat.*—2010.—**13**, N 4–5.—P. 109–118.
8. *Thiery J. P., Acloque H., Huang R. Y., Nieto M. A.* Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease // *Cell*.—2009.—**139**, N 5.—P. 871–890.
9. *Kalluri R.* EMT: when epithelial cells decide to become mesenchymal-like cells // *J. Clin. Invest.*—2009.—**119**, N 6.—P. 1417–1419.
10. *Kalluri R., Zeisberg M.* Fibroblasts in cancer // *Nat. Rev. Cancer*.—2006.—**6**, N 5.—P. 392–401.
11. *Patel A. N., Park E., Kuzman M., Benetti F., Silva F. J., Allickson J. G.* Multipotent menstrual blood stromal stem cells: isolation, characterization, and differentiation // *Cell Transplant.*—2008.—**17**, N 3.—P. 303–311.
12. *Huang G. T., Gronthos S., Shi S.* Mesenchymal stem cells derived from dental tissues vs. those from other sources: their biology and role in regenerative medicine // *J. Dent. Res.*—2009.—**88**, N 9.—P. 792–806.
13. *Ukai R., Honmou O., Harada K., Houkin K., Hamada H., Kocsis J. D.* Mesenchymal stem cells derived from peripheral blood protects against ischemia // *J. Neurotrauma*.—2007.—**24**, N 3.—P. 508–520.
14. *Chong P. P., Selvaratnam L., Abbas A. A., Kamarul T.* Human peripheral blood derived mesenchymal stem cells demonstrate similar characteristics and chondrogenic differentiation potential to bone marrow derived mesenchymal stem cells // *J. Orthop. Res.*—2012.—**30**, N 4.—P. 634–642.
15. *Rocheffort G. Y., Delorme B., Lopez A., Herault O., Bonnet P., Charbord P., Eder V., Domenech J.* Multipotential mesenchymal stem cells are mobilized into peripheral blood by hypoxia // *Stem Cells*.—2006.—**24**, N 10.—P. 2202–2208.
16. *Zvaifler N. J., Marinova-Mutafchieva L., Adams G., Edwards C. J., Moss J., Burger J., Maini R. N.* Mesenchymal precursor cells in the blood of normal individuals // *Arthritis Res.*—2000.—**2**, N 6.—P. 477–488.
17. *Kuznetsov S. A., Mankani M. H., Gronthos S., Satomura K., Bianco P., Robey P. G.* Circulating skeletal stem cells // *J. Cell Biol.*—2001.—**153**, N 5.—P. 1133–1140.
18. *Wexler S. A., Donaldson C., Denning-Kendall P., Rice C., Bradley B., Hows J. M.* Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal «stem» cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not // *Br. J. Haematol.*—2003.—**121**, N 2.—P. 368–374.
19. *Mansilla E., Marin G. H., Drago H., Sturla F., Salas E., Gardner C., Bossi S., Lamonega R., Guzman A., Nunez A., Gil M. A., Piccinelli G., Ibar R., Soratti C.* Bloodstream cells phenotypically identical to human mesenchymal bone marrow stem cells circulate in large amounts under the influence of acute large skin damage: new evidence for their use in regenerative medicine // *Transplant. Proc.*—2006.—**38**, N 3.—P. 967–969.
20. *Kassis I., Zangi L., Rivkin R., Levinsky L., Samuel S., Marx G., Gorodetsky R.* Isolation of mesenchymal stem cells from G-CSF-mobilized human peripheral blood using fibrin microbeads // *Bone Marrow Transplant.*—2006.—**37**, N 10.—P. 967–976.
21. *Hass R., Kasper C., Bohm S., Jacobs R.* Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): a comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC // *Cell Commun. Signal.*—2011.—**9**—P. 12.
22. *Bieback K., Brinkmann I.* Mesenchymal stromal cells from human perinatal tissues: from biology to cell therapy // *World J. Stem Cells*.—2010.—**2**, N 4.—P. 81–92.
23. *Can A., Karahuseyinoglu S.* Concise review: human umbilical cord stroma with regard to the source of fetus-derived stem cells // *Stem Cells*.—2007.—**25**, N 11.—P. 2886–2895.

24. Fong C. Y., Richards M., Manasi N., Biswas A., Bongso A. Comparative growth behaviour and characterization of stem cells from human Wharton's jelly // *Reprod. Biomed. Online.*—2007.—**15**, N 6.—P. 708–718.
25. Anzalone R., Lo Iacono M., Corrao S., Magno F., Loria T., Cappello F., Zummo G., Farina F., La Rocca G. New emerging potentials for human Wharton's jelly mesenchymal stem cells: immunological features and hepatocyte-like differentiative capacity // *Stem Cells Dev.*—2010.—**19**, N 4.—P. 423–438.
26. Fong C. Y., Chak L. L., Biswas A., Tan J. H., Gauthaman K., Chan W. K., Bongso A. Human Wharton's jelly stem cells have unique transcriptome profiles compared to human embryonic stem cells and other mesenchymal stem cells // *Stem Cell Rev.*—2011.—**7**, N 1.—P. 1–16.
27. Becker A. J., McCulloch E. A., Till J. E. Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells // *Nature.*—1963.—**197**, N 4866.—P. 452–454.
28. Siminovich L., McCulloch E. A., Till J. E. The distribution of colony-forming cells among spleen colonies // *J. Cell. Comp. Physiol.*—1963.—**62**, N 3.—P. 327–336.
29. Friedenstein A. J., Deriglasova U. F., Kulagina N. N., Panasuk A. F., Rudakowa S. F., Luria E. A., Ruadkow I. A. Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the *in vitro* colony assay method // *Exp. Hematol.*—1974.—**2**, N 2.—P. 83–92.
30. Friedenstein A. J., Gorskaja J. F., Kulagina N. N. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs // *Exp. Hematol.*—1976.—**4**, N 5.—P. 267–274.
31. Pittenger M. F., Mackay A. M., Beck S. C., Jaiswal R. K., Douglas R., Mosca J. D., Moorman M. A., Simonetti D. W., Craig S., Marshak D. R. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells // *Science.*—1999.—**284**, N 5411.—P. 143–147.
32. 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**, N 4.—P. 315–317.
33. Augello A., Kurth T. B., De Bari C. Mesenchymal stem cells: a perspective from *in vitro* cultures to *in vivo* migration and niche // *Eur. Cell Mater.*—2010.—**20**.—P. 121–133.
34. 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**, N 2.—P. 75–83.
35. Ulrich C., Hart M. L., Rolauffs B., Abele H., Gotze M., Benz K., Aicher W. K. Mesenchymal stromal cells and fibroblasts // *J. Tissue Sci. Eng.*—2012.—**3**.—e109.
36. Nombela-Arrieta C., Ritz J., Silberstein L. E. The elusive nature and function of mesenchymal stem cells // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*—2011.—**12**, N 2.—P. 126–131.
37. Rombouts W. J., Ploemacher R. E. Primary murine MSC show highly efficient homing to the bone marrow but lose homing ability following culture // *Leukemia.*—2003.—**17**, N 1.—P. 160–170.
38. Sarkar D., Spencer J. A., Phillips J. A., Zhao W., Schafer S., Spelke D. P., Mortensen L. J., Ruiz J. P., Vemula P. K., Sridharan R., Kumar S., Karnik R., Lin C. P., Karp J. M. Engineered cell homing // *Blood.*—2011.—**118**, N 25.—e184–191.
39. Jones E., McGonagle D. Human bone marrow mesenchymal stem cells *in vivo* // *Rheumatology (Oxford).*—2008.—**47**, N 2.—P. 126–131.
40. Buhring H. J., Battula V. L., Treml S., Schewe B., Kanz L., Vogel W. Novel markers for the prospective isolation of human MSC // *Ann. N. Y. Acad. Sci.*—2007.—**1106**.—P. 262–271.
41. Covas D. T., Panepucci R. A., Fontes A. M., Silva W. A., Orellana M. D., Freitas M. C., Neder L., Santos A. R., Peres L. C., Janur 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**, N 5.—P. 642–654.
42. Molchanova E. A., Bueverova E. I., Starostin V. I., Domaratskaya E. I. The sensitivity of mesenchymal stromal cells subpopulations with different adhesion properties and derived from hemopoietic organs // *Izv. Akad. Nauk Ser. Biol.*—2011.—N 2.—P. 133–144.
43. Bussolati B., Bruno S., Grange C., Ferrando U., Camussi G. Identification of a tumor-initiating stem cell population in human renal carcinomas // *FASEB J.*—2008.—**22**, N 10.—P. 3696–3705.
44. De Francesco F., Tirino V., Desiderio V., Ferraro G., D'Andrea F., Giuliano M., Libondi G., Pirozzi G., De Rosa A., Papaccio G. Human CD34⁺/CD90⁺ ASCs are capable of growing as sphere clusters, producing high levels of VEGF and forming capillaries // *PLoS ONE.*—2009.—**4**, N 8.—e6537.
45. Hunsucker S. A., Mitchell B. S., Spychala J. The 5'-nucleotidases as regulators of nucleotide and drug metabolism // *Pharmacol. Ther.*—2005.—**107**, N 1.—P. 1–30.
46. Baksh D., Song L., Tuan R. S. Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy // *J. Cell. Mol. Med.*—2004.—**8**, N 3.—P. 301–316.
47. Corselli M., Chen C. W., Crisan M., Lazzari L., Peault B. Perivascular ancestors of adult multipotent stem cells // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*—2010.—**30**, N 6.—P. 1104–1109.
48. Haniffa M. A., Collin M. P., Buckley C. D., Dazzi F. Mesenchymal stem cells: the fibroblasts' new clothes? // *Haematologica.*—2008.—**94**, N 2.—P. 258–263.
49. Bozo I., Deev R. V., Pinaev G. P. Is «fibroblast» a specialized cell or a functional condition of mesenchymal cells derivatives? // *Tsitologiya.*—2010.—**52**, N 2.—P. 99–109.
50. 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., Badylak S., Buhring H. J., Giacobino J. P., Lazzari L., Huard J., Peault B. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs // *Cell Stem Cell.*—2008.—**3**, N 3.—P. 301–313.
51. Wuchter P., Wagner W., Ho A. D. Mesenchymal stem cells: an oversimplified nomenclature for extremely heterogeneous progenitors // *Regenerative Medicine / Ed. G. Steinhoff.*—Heidelberg: Springer, 2011.—Pt 2.—P. 377–395.
52. Reilly G. C., Engler A. J. Intrinsic extracellular matrix properties regulate stem cell differentiation // *J. Biomech.*—2010.—**43**, N 1.—P. 55–62.
53. Tse J. R., Engler A. J. Stiffness gradients mimicking *in vivo* tissue variation regulate mesenchymal stem cell fate // *PLoS ONE.*—2011.—**6**, N 1.—e15978.
54. Peyton S. R., Kalcioğlu Z. I., Cohen J. C., Runkle A. P., Van Vliet K. J., Lauffenburger D. A., Griffith L. G. Marrow-derived stem cell motility in 3D synthetic scaffold is governed by geometry along with adhesivity and stiffness // *Biotechnol. Bioeng.*—2011.—**108**, N 5.—P. 1181–1193.
55. Huebsch N., Arany P. R., Mao A. S., Shvartsman D., Ali O. A., Bencherif S. A., Rivera-Feliciano J., Mooney D. J. Harnessing traction-mediated manipulation of the cell/matrix interface to control stem-cell fate // *Nat. Mater.*—2010.—**9**, N 6.—P. 518–526.
56. Wagner W., Horn P., Castoldi M., Diehlmann A., Bork S., Saffrich R., Benes V., Blake J., Pfister S., Eckstein V., Ho A. D. Replicative senescence of mesenchymal stem cells: a continuous and organized process // *PLoS ONE.*—2008.—**3**, N 5.—e2213.
57. Osipova E. Y., Shamanskaya T. V., Kurakina O. A., Nikitina V. A., Purbueva B. B., Ustugov A. Y., Kachanov D. Y., Skorobogatova E. V., Dishlevaya Z. M., Roumiantsev S. A. Biological character-

- ristics of mesenchymal stem cells during *ex vivo* expansion // *Br. J. Med. Med. Res.*—2011.—**1**, N 3.—P. 85–95.
58. Angelucci S., Marchisio M., Di Giuseppe F., Pierdomenico L., Sulpizio M., Eleuterio E., Lanuti P., Sabatino G., Miscia S., Di Ilio C. Proteome analysis of human Wharton's jelly cells during *in vitro* expansion // *Proteome Sci.*—2010.—**8**—P. 18.
 59. Chong P. P., Selvaratnam L., Abbas A. A., Kamarul T. Human peripheral blood derived mesenchymal stem cells demonstrate similar characteristics and chondrogenic differentiation potential to bone marrow derived mesenchymal stem cells // *J. Orthop. Res.*—2012.—**30**, N 4.—P. 634–642.
 60. Kraitchman D. L., Tatsumi M., Gilson W. D., Ishimori T., Kedziorek D., Walczak P., Segars W. P., Chen H. H., Fritzsche D., Izbudak I., Young R. G., Marcelino M., Pittenger M. F., Solaiyappan M., Boston R. C., Tsui B. M., Wahl R. L., Bulte J. W. Dynamic imaging of allogeneic mesenchymal stem cells trafficking to myocardial infarction // *Circulation.*—2005.—**112**, N 10.—P. 1451–1461.
 61. Hara M., Murakami T., Kobayashi E. *In vivo* bioimaging using photogenic rats: fate of injected bone marrow-derived mesenchymal stromal cells // *J. Autoimmun.*—2008.—**30**, N 3.—P. 163–171.
 62. Schmidtke-Schrezenmeier G., Urban M., Musyanovych A., Mailander V., Rojewski M., Fekete N., Menard C., Deak E., Tarte K., Rasche V., Landfester K., Schrezenmeier H. Labeling of mesenchymal stromal cells with iron oxide-poly(L-lactide) nanoparticles for magnetic resonance imaging: uptake, persistence, effects on cellular function and magnetic resonance imaging properties // *Cytotherapy.*—2011.—**13**, N 8.—P. 962–975.
 63. Li Z. H., Liao W., Cui X. L., Zhao Q., Liu M., Chen Y. H., Liu T. S., Liu N. L., Wang F., Yi Y., Shao N. S. Intravenous transplantation of allogeneic bone marrow mesenchymal stem cells and its directional migration to the necrotic femoral head // *Int. J. Med. Sci.*—2011.—**8**, N 1.—P. 74–83.
 64. Spencer N. D., Gimble J. M., Lopez M. J. Mesenchymal stromal cells: past, present, and future // *Vet. Surg.*—2011.—**40**, N 2.—P. 129–139.
 65. Mani S. A., Guo W., Liao M. J., Eaton E. N., Ayyanan A., Zhou A. Y., Brooks M., Reinhard F., Zhang C. C., Shipitsin M., Campbell L. L., Polyak K., Brisken C., Yang J., Weinberg R. A. The epithelial-mesenchymal transition generates cells with properties of stem cells // *Cell.*—2008.—**133**, N 4.—P. 704–715.
 66. Bianco P., Robey P. G., Simmons P. J. Mesenchymal stem cells: revisiting history, concepts, and assays // *Cell Stem Cell.*—2008.—**2**, N 4.—P. 313–319.
 67. Salem H. K., Thiemermann C. Mesenchymal stromal cells: current understanding and clinical status // *Stem Cells.*—2010.—**28**, N 3.—P. 585–596.
 68. Bernardo M. E., Pagliara D., Locatelli F. Mesenchymal stromal cell therapy: a revolution in regenerative medicine? // *Bone Marrow Transplant.*—2012.—**47**, N 2.—P. 164–171.
 69. Herberts C. A., Kwa M. S., Hermesen H. P. Risk factors in the development of stem cell therapy // *J. Transl. Med.*—2011.—**9**—P. 29.
 70. Sensebe L., Bourin P., Tarte K. Good manufacturing practices production of mesenchymal stem/stromal cells // *Hum. Gene Ther.*—2011.—**22**, N 1.—P. 19–26.
 71. Lasala G. P., Minguell J. J. Vascular disease and stem cell therapies // *Br. Med. Bull.*—2011.—**98**—P. 187–197.
 72. Si Y. L., Zhao Y. L., Hao H. J., Fu X. B., Han W. D. MSCs: Biological characteristics, clinical applications and their outstanding concerns // *Ageing Res. Rev.*—2011.—**10**, N 1.—P. 93–103.
 73. Parekkadan B., Milwid J. M. Mesenchymal stem cells as therapeutics // *Annu. Rev. Biomed. Eng.*—2010.—**12**—P. 87–117.
 74. Mazzini L., Ferrerob I., Luparello V., Rustichelli D., Gunetti M., Mareschi K., Testa L., Stecco A., Tarletti R., Miglioretti M., Fava E., Nasuelli N., Cisari C., Massara M., Vercelli R., Oggioni G., Carriero A., Cantello R., Monaco F., Fagioli F. Mesenchymal stem cell transplantation in amyotrophic lateral sclerosis: A Phase I clinical trial // *Exp. Neurol.*—2010.—**223**, N 1.—P. 229–237.
 75. Bourin P., Sensebe L., Planat-Benard V., Roncalli J., Bura-Riviere A., Casteilla L. Culture and use of mesenchymal stromal cells in phase I and II clinical trials // *Stem Cells Int.*—2010.—**2010**—doi:10.4061/2010/503593.
 76. Ankrum J., Karp J. M. Mesenchymal stem cell therapy: two steps forward, one step back // *Trends Mol. Med.*—2010.—**16**, N 5.—P. 203–209.
 77. Loebinger M. R., Janes S. M. Stem cells as vectors for antitumor therapy // *Thorax.*—2010.—**65**, N 4.—P. 362–369.
 78. Joyce N., Annett G., Wirthlin L., Olson S., Bauer G., Nolte J. Mesenchymal stem cells for the treatment of neurodegenerative disease // *Regen. Med.*—2010.—**5**, N 6.—P. 933–946.
 79. Uccelli A., Prockop D. J. Why should mesenchymal stem cells (MSCs) cure autoimmune diseases? // *Curr. Opin. Immunol.*—2010.—**22**, N 6.—P. 768–774.
 80. Tyndall A., Uccelli A. Multipotent mesenchymal stromal cells for autoimmune diseases: teaching new dogs old tricks // *Bone Marrow Transplant.*—2009.—**43**, N 11.—P. 821–828.
 81. Hatzistergos K. E., Blum A., Ince T., Grichnik J. M., Hare J. M. What is the oncologic risk of stem cell treatment for heart disease? // *Circ. Res.*—2011.—**108**, N 11.—P. 1300–1303.
 82. Lee J. S., Hong J. M., Moon G. J., Lee P. H., Ahn Y. H., Bang O. Y. A long-term follow-up study of intravenous autologous mesenchymal stem cell transplantation in patients with ischemic stroke // *Stem Cells.*—2010.—**28**, N 6.—P. 1099–1106.
 83. Richter W. Mesenchymal stem cells and cartilage *in situ* regeneration // *J. Intern. Med.*—2009.—**266**, N 4.—P. 390–405.
 84. Jackson W. M., Lozito T. P., Djouad F., Kuhn N. Z., Nesti L. J., Tuan R. S. Differentiation and regeneration potential of mesenchymal progenitor cells derived from traumatized muscle tissue // *J. Cell Mol. Med.*—2011.—**15**, N 11.—P. 2377–2388.
 85. Ciavarella S., Dominici M., Dammacco F., Silvestris F. Mesenchymal stem cells: a new promise in anticancer therapy // *Stem Cells Dev.*—2011.—**20**, N 1.—P. 1–10.
 86. Herrero C., Perez-Simon J. A. Immunomodulatory effect of mesenchymal stem cells // *Braz. J. Med. Biol. Res.*—2010.—**43**, N 5.—P. 425–430.
 87. Hanson S. E., Gutowski K. A., Hematti P. Clinical applications of mesenchymal stem cells in soft tissue augmentation // *Aesthet. Surg. J.*—2010.—**30**, N 6.—P. 838–842.
 88. Hoogduijn M. J., Roemeling-van Rhijn M., Korevaar S. S., Engela A. U., Weimar W., Baan C. C. Immunological aspects of allogeneic and autologous mesenchymal stem cell therapies // *Hum. Gene Ther.*—2011.—**22**, N 12.—P. 1587–1591.
 89. Menard C., Tarte K. Immunosuppression and mesenchymal stem cells: back to the future // *Med. Sci. (Paris)*—2011.—**27**, N 3.—P. 269–274.
 90. Marigo I., Dazzi F. The immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells // *Semin. Immunopathol.*—2011.—**33**, N 6.—P. 593–602.
 91. Hoogduijn M. J., Popp F., Verbeek R., Masoodi M., Nicolaou A., Baan C., Dahlke M. H. The immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their use for immunotherapy // *Int. Immunopharmacol.*—2010.—**10**, N 12.—P. 1496–1500.

Received 11.11.11