

Применение мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга при трансплантации почки

М. Ш. Хубутия, Н. В. Боровкова, О. Н. Ржевская, А. В. Пинчук, Д. А. Васильченко

Численность больных, страдающих хронической болезнью почек, неуклонно растет в течение последних десятилетий, причем ключевыми факторами ухудшения эпидемиологической ситуации стали, наряду с традиционными заболеваниями почек, увеличивающаяся распространенность сахарного диабета, артериальной гипертензии, гиперхолестеринемии, а также увеличение средней продолжительности жизни в человеческой популяции [1]. Общеизвестно, что трансплантация почки является наиболее эффективным методом лечения терминальной стадии хронической почечной недостаточности. Ежегодно в мире выполняется порядка 80 тысяч пересадок почки. Тем не менее такой объем оперативных вмешательств далеко не в полной мере удовлетворяет потребность системы здравоохранения в данной процедуре, так как только 25% пациентов, находящихся в листах ожидания, из-за существующего во всем мире дефицита донорских органов становятся реципиентами почечных трансплантатов [2].

Наряду с нехваткой донорского материала, серьезным вызовом для трансплантологии является и тот факт, что, несмотря на все достижения иммуносупрессивной терапии (ИСТ), увеличить сроки функционирования трансплантированных органов и сроки жизни реципиентов не удастся на протяжении последних двух десятилетий [3]. Полагают, что это обусловлено токсическим действием на трансплантат длительного применения иммуносупрессивных препаратов и развитием опасных осложнений в организме [4]. В стремлении создать условия для бескризового течения послеоперационного периода, выработки трансплантационной толерантности, снижения необходимости использования иммуносупрессивных препаратов и частоты развития инфекционных осложнений, а также для улучшения качества жизни реципиентов как в раннем, так и отдаленном послеоперационном периоде внимание исследователей было обращено на стромальные клетки костного мозга (СК КМ) и прежде всего на мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки (ММСК), применение которых, по данным литературы, оказывает позитивное влияние на течение послеоперационного периода при трансплантации [5].

Негемопоэтические мезенхимальные стромальные прогениторные клетки костного мозга (ММСК КМ) стали известны ученым в шестидесятые годы двадцатого столетия, когда впервые были описаны их свойства, в том числе выдающаяся способность размножаться *in vitro* с сохранением стволовых свойств [6]. Тем не менее значительную часть прошедшего века в наибольшем фокусе внимания клеточных биологов находились гемопоэтические стволовые клетки КМ, что привело к важным открытиям в области физиологии данной популяции клеток, а также подготовило почву для успешного внедрения их трансплантации для лечения некоторых тяжелых патологий, в частности реакции «трансплантат против хозяина» [7, 8].

Отличительным свойством ММСК КМ признана их способность дифференцироваться в клетки мезодермальных тканей, такие как адипоциты, хондроциты и остеокиты [9, 10]. В 2004 г. в пилотном исследовании впервые была продемонстрирована возможность выработки толерантности культивированными ММСК у пациента с развившейся реакцией «трансплантат против хозяина» [11]. С этого момента именно КМ стали рассматривать как первоочередной источник для получения ММСК в терапевтических целях. В то же время стали появляться работы, демонстрирующие возможность извлечения данных клеток и из других источников, таких как жировая ткань, амниотическая жидкость, плацента, ткани зуба, пуповина и др., что доказало широкую распространенность ММСК в тканях организма [5].

В процессе изучения свойств ММСК было обнаружено, что они не имеют специфических маркеров, и поэтому Международное сообщество клеточной терапии (International Society for Cellular Therapy, ISCT) определило минимальный перечень критериев для их идентификации: ММСК должны экспрессировать CD29, CD44, CD73, CD90 и CD105; маркеры CD34, CD14 и CD45 в ММСК не экспрессируются, и это отличает ММСК КМ от гемопоэтических стволовых клеток КМ. Дополнительными критериями для идентификации ММСК признаны их способность к самообновлению без созревания и сохранение потенциала к остеогенной, хондрогенной и адипогенной дифференцировке [9].

В последнее десятилетие ММСК привлекли к себе внимание трансплантологов как высокопотенциальное средство для терапии пациентов, перенесших пересадку солидных органов, в силу двух обстоятельств: ММСК оказывают модулирующее влияние на системы врожденного и приобретенного иммунитета, а также способны индуцировать усиление процессов регенерации трансплантата путем секреции проангиогенных и антифибротических факторов [12]. На сегодняшний день в мире уже накоплен некоторый опыт применения ММСК, который демонстрирует способность этих клеток не только ингибировать процесс отторжения и увеличивать срок жизни трансплантата, но и при определенных обстоятельствах индуцировать негативные последствия [13–15].

Цель настоящей работы — проанализировать имеющийся в мире опыт применения ММСК при трансплантации

почки в эксперименте и клинике для выявления условий их благоприятного использования и минимизации неблагоприятных воздействий на трансплантат и организм реципиента.

Изучение целесообразности применения ММСК при трансплантации органов на доклиническом этапе

Как описывалось ранее, ММСК принимают участие в большом количестве протекающих в организме физиологических процессов, в том числе модуляции иммунного ответа и восстановлении поврежденных тканей. В настоящее время научным сообществом принимается множество разнообразных механизмов влияния на иммунный ответ, среди них в наибольшей степени изученным и важным для трансплантологии является иммуномодулирующий потенциал ММСК.

Иммуногенность и иммуномодулирующие свойства при взаимодействии с клетками (механизмами) врожденного и адаптивного иммунитета

Способность ММСК ускользать от иммунного ответа организма реципиента является одной из ключевых особенностей, определяющих интерес к ним как потенциальному агенту влияния на иммунную систему. Низкая иммуногенность данной популяции клеток связана с отсутствием у них антигенов МНС II и костимуляционных молекул CD40, CD80 и CD86 [16].

Говоря о влиянии ММСК на систему врожденного иммунитета, следует отметить, что оно распространяется практически на всех ее участников в той или иной степени. Так, активация системы комплемента в присутствии ММСК подавляется как за счет присутствия на их поверхности молекул CD46, CD45 и в особенности CD59, так и путем продукции фактора H, который ингибирует конвертацию факторов C3 и C5 в их активные формы [17]. В то же время ММСК имеют рецепторы к C3a и C5a, связывание с которыми повышает их устойчивость к факторам оксидативного стресса и опосредует их миграцию в очаг воспаления [18].

Влияние ММСК на нейтрофилы в настоящее время остается в меньшей степени изученным. Тем не менее известно, что ММСК препятствуют их апоптозу и опосредуют усиление их ответа на бактериальные агенты [19]. Также стало известно, что мишенями ММСК могут быть и такие участники иммунного ответа, как натуральные киллеры (NK-клетки). ММСК снижают дифференцировку их предшественников, а также продукцию ими интерферона γ [20]. В дополнение к этому, взаимодействуя с уже активированными NK-клетками, ММСК снижают их цитотоксичность, продукцию цитокинов, высвобождение гранзима B и экспрессию активирующих рецепторов на их поверхности (NKG2D, NKG2A, NKG2B) [21, 23].

Дендритные клетки, как было продемонстрировано в эксперименте, в присутствии ММСК теряют способность возвращаться в лимфатические узлы и представлять антигены Т-лимфоцитам [24]. Также известно, что ММСК способны ингибировать образование дендритных клеток из моноцитов и CD34+ прекурсорных клеток, с одной стороны, и их активацию через секрецию простагландина E2 (ПГЕ2) и интерлейкина-6 (ИЛ-6), с другой стороны [20, 21]. Более того, в ответ на присутствие ММСК на поверхности дендритных клеток снижается экспрессия рецепторов, свидетельствующих об их созревании [25].

По данным литературы, влияние ММСК распространяется и на макрофаги. Результатом взаимодействия данных клеток становится смещение баланса между популяциями макрофагов M1 и M2 в сторону фенотипа, способствующего ограничению воспалительного иммунного ответа и стимуляции репаративных процессов [26].

Не менее существенное влияние ММСК оказывают и на участников системы приобретенного иммунитета. В одной из первых экспериментальных работ, выполненных группой итальянских иммунологов, было показано, что ММСК существенно подавляют пролиферацию CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов, влияя на них как путем межклеточных взаимодействий, так и за счет неспецифических митогенных стимулов, не вызывая апоптоза эффекторных клеток. Авторы показали *in vitro*, что пролиферация Т-клеток, активированных разными факторами, значительно и дозозависимо снижается при добавлении ММСК в культуру Т-клеток [27]. Позднее в других исследованиях, изучавших свойства ММСК, данные выводы были экстраполированы и на их предшественники — мононуклеарные клетки. Блокировка пролиферативного потенциала Т-клеток, как полагают исследователи, происходит за счет блокировки клеточного цикла на фазах G0/G1 [28–30].

Хорошо известно то, что вырабатываемые мультипотентными мезенхимальными стромальными клетками иммунологически активные молекулы, такие как индоламин-2,3-диоксигеназа, ПГЕ2 и трансформирующий фактор роста β (ТФР- β), воздействуют на Т-клетки, ингибируя их пролиферацию, при помощи различных механизмов [31]. Более того, было показано, что ММСК способны ингибировать активность различных субпопуляций Т-хелперов лимфоцитов (не только Th1, но и Th17) [32]. Дополнительное снижение иммунного ответа при использовании ММСК достигается за счет индукции образования Т-регуляторных клеток (Treg) [33].

Менее изученным остается влияние ММСК на В-клетки. Известно, что в присутствии ММСК ингибируется их дифференцировка, однако не понятно, является ли это результатом прямого или опосредованного воздействия [34]. Недавно полученные результаты указывают также на способность ММСК стимулировать и регуляторную

активность В-клеток [35]. Они напрямую подавляют дифференцировку лимфобластов в эффекторные В-клетки. Кроме того, в присутствии Т-клеток ММСК опосредованно способствуют увеличению популяции регуляторных В-клеток, продуцирующих ИЛ-10, которые обладают противовоспалительной активностью [36].

Репаративный потенциал ММСК был также продемонстрирован в ряде доклинических работ, выполненных исследователями из разных центров. В настоящее время известно, что они проникают в очаги поврежденных тканей, где участвуют в их восстановлении. Изначально существовало мнение, что основной вклад в восстановление поврежденных тканей ММСК вносят за счет собственной трансдифференцировки и замещения погибших клеток. В более поздних работах было показано, что в дополнение к этому данная популяция клеток вырабатывает большие количества биологически активных молекул, таких как цитокины, антиоксиданты, проангиогенные вещества и трофические факторы, способные влиять на восстановительные процессы путем ограничения стрессового ответа, апоптоза, а также модуляции активности иммунных клеток реципиента [37–40].

Дополнительно были получены сведения о реализации проангиогенного потенциала ММСК. Ключевую роль, как показал ряд экспериментальных работ, в этом процессе играет фактор роста эндотелия сосудов, выработка которого контролируется ИЛ-8 и регулируется внутриклеточным сигнальным путем PI3 k-Akt [41, 42].

Способность ММСК индуцировать выработку трансплантационной толерантности

К настоящему времени выполнен ряд работ на экспериментальных моделях, изучавших эффекты ММСК при трансплантации солидных органов. В своем большинстве они концентрировали внимание на способности увеличивать сроки функционирования трансплантата и снижать интенсивность отторжения. В отдельных работах авторами предпринимались попытки выявить субстрат, за счет которого ММСК реализуют свой потенциал в организме реципиента. Эти исследования показали, что ММСК способны ослаблять реакцию отторжения пересаженного органа как путем снижения и соотношения провоспалительных Th-клеток, так и путем увеличения популяции Т-регуляторных клеток. Такие работы выполнялись на моделях отторжения пересаженного сердца, кожного лоскута и почки [43–46]. В 2010 г. в исследовании итальянской группы ученых была наглядно продемонстрирована возможность улучшения функции почечного трансплантата и уменьшения повреждения канальцевого аппарата [47].

Среди многочисленных задач, решавшихся в экспериментальных работах, главное внимание было обращено на выявление оптимального времени введения ММСК реципиенту для модуляции иммунного ответа и выявления взаимосвязи этого фактора и возникновения противо-/провоспалительных эффектов. Было выявлено, что инфузии аутологичных клеток, проводимые до операции, являются более эффективными в отношении увеличения срока функционирования трансплантата [48]. Клетки, введенные до трансплантации органа, преимущественно локализовались в лимфоидных органах, где оказывали положительное влияние на увеличение популяции Т-регуляторных клеток. В противоположность этому при введении ММСК после операции они локализовались преимущественно в трансплантате, где стимулировали миграцию нейтрофилов и накопление С3-комплемента с развитием дисфункции органа. Данные факты во многом стали подтверждением гипотезы о том, что ММСК изменяют соотношение между регуляторными и эффекторными клетками в сторону первых. В дополнение к этому Ge и др. показали, что именно Т-регуляторные клетки (CD4+CD25+Foxp3) являются необходимым элементом индукции трансплантационной толерантности при трансплантации почки, причем увеличение популяции Т-регуляторных клеток происходит под действием выработки индоламин-2,3-диоксигеназы [49]. Дополнительно в работе отечественных ученых было продемонстрировано, что малые дозы ММСК КМ ($0,2\text{--}0,5 \times 10^6$ клеток на кг) при однократном применении способны оказать защитное десенсибилизирующее воздействие на ткань пересаженной почки, находящейся в состоянии децентрализации, и пролонгировать сроки нормального функционирования без признаков выраженной деструкции, тогда как при тех же условиях высокие дозы аутологичных ММСК КМ приводят к ускоренному развитию симптомов хронической трансплантационной нефропатии [50].

Приведенные выше доклинические данные о позитивных эффектах ММСК вселяют в исследователей большие надежды на возможность экстраполяции результатов, полученных в эксперименте, на людей с трансплантированными органами. Однако включение ММСК в стандарты лечения реципиентов осложняется рядом факторов, учет которых невозможен в экспериментальных работах, среди них существенное изменение иммунного статуса реципиентов под воздействием приема иммуносупрессивной терапии (ИСТ) и различие воспалительных реакций у животных и людей [51].

Опыт применения ММСК в клинической практике

С момента начала накопления знаний о природе и физиологии ММСК КМ наука неуклонно стремилась к тому, чтобы внедрить их в протоколы лечения различных заболеваний. К настоящему времени опубликованы результаты ряда работ об успешном применении ММСК при таких хронических воспалительных заболеваниях, как болезнь Крона, неспецифический язвенный колит [52, 53] и сахарный диабет [54], а также реакции «трансплантат против хозяина», возникшей после аллотрансплантации костного мозга [55]. Более того, регуляторные органы Европы и Северной Америки уже одобрили препараты на основе ММСК КМ для применения при ряде заболеваний (реакция

«трансплантат против хозяина», неспецифический язвенный колит) [56, 57].

Благоприятное влияние ММСК на функцию трансплантата

К настоящему времени завершено несколько исследований по применению ММСК КМ у пациентов, перенесших аллотрансплантацию почки [58, 59]. Еще несколько исследований проводятся с целью выработки толерантности в организме реципиента и улучшения выживаемости трансплантата, минимизировав иммуносупрессивную терапию [59, 60].

Пилотным клиническим исследованием безопасности и целесообразности терапии реципиента аутологичными ММСК при трансплантации почки стала работа, выполненная Perico и др. [58]. Двум пациентам на седьмые сутки после операции были проведены внутривенные инфузии клеток (дозы $1,7 \times 10^6$ и $2,0 \times 10^6$ клеток/кг массы тела). Дополнительно в качестве индукционной ИСТ был использован базиликсимаб (20 мг внутривенно перед и на четвертые сутки после операции). У обоих пациентов в результатах лабораторных исследований в периферической крови наблюдалось увеличение популяции регуляторных Т-клеток (CD4+CD25++FoxP3+CD127-) и снижение числа провоспалительных Т-клеток (CD8+CD45RO+). Несмотря на наличие лабораторных признаков повышения толерогенного статуса, у обоих пациентов наблюдалась транзиторная острая почечная недостаточность. Позднее авторы предположили, что привлечение ММСК в пересаженный орган и усиление его повреждения было вызвано тем, что сразу после введения клетки попадали в воспалительную среду организма, которая в раннем послеоперационном периоде была следствием ишемического и реперфузионного повреждения трансплантата [61].

Дополнительным фактом, подтверждающим нецелесообразность введения ММСК в воспалительную среду, которая снижает терапевтический потенциал этих клеток, стали результаты исследования, выполненного при трансплантации почки этой же группой ученых несколько позднее [62]. Двоим пациентам, получавшим в качестве индукционной ИСТ кроличий антиtimoцитарный глобулин (6 дней, начиная с предоперационных суток), инфузия ММСК была проведена за сутки до трансплантации. Ни у одного из этих пациентов в послеоперационном периоде не отмечалась дисфункция нефротрансплантата. Как показал мониторинг иммунного статуса, у этих пациентов было также отмечено увеличение числа регуляторных и снижение провоспалительных Т-клеток. Оба пациента имели удовлетворительную функцию нефротрансплантата спустя год после операции, даже несмотря на отмечавшийся у одного из них (на 17-е сутки) эпизод острого отторжения.

В одном из наиболее крупных, завершившихся к сегодняшнему дню исследований, включавшем 159 пациентов, перенесших родственную трансплантацию почки, была предпринята попытка уменьшить количество получаемой ИСТ на фоне терапии ММСК [63]. Реципиенты были разделены на три группы, первая из которых получала инъекции аутологичных ММСК ($1-2 \times 10^6$ клеток/кг) на 0-й и 14-й день после операции наряду со стандартной терапией ингибитором кальциневрина. Вторая группа получала ММСК в том же режиме, но в комбинации со сниженной на 20% дозой ингибитора кальциневрина. В качестве контроля были использованы результаты наблюдения за пациентами, получавшими индукционную терапию базиликсимабом и ингибиторы кальциневрина в стандартных дозах без ММСК КМ. Дополнительно реципиенты из всех групп получали терапию глюкокортикостероидами (ГКС) и микофенолата мофетилем в качестве поддерживающей иммуносупрессии. У пациентов первой и второй групп, получавших лечение с применением аутологичных ММСК, было отмечено достоверно более быстрое восстановление функции трансплантата, меньшее число случаев острого отторжения к 6-му месяцу, подтвержденных биопсией. В течение первого года после операции у них было отмечено существенное снижение частоты возникновения оппортунистических инфекций по сравнению с контролем. Помимо применения ММСК, возможным объяснением снижения инфекционных осложнений может быть и то, что большинство пациентов в данном исследовании имели отрицательный серологический статус в отношении цитомегаловирусной инфекции. К сожалению, протоколом данного исследования не предусматривался иммунологический мониторинг, в связи с чем трудно судить о том, каким образом были реализованы описанные положительные эффекты.

В 2015 г. группой ученых из Индии на четырех пациентах было показано, что внутривенное введение аутологичных ММСК пациентам после пересадки почки оказывает положительное влияние на выработку толерогенного статуса. В данной работе ММСК ($0,2-0,3 \times 10^6$ клеток/кг первым двум пациентам и $2,1-2,8$ третьему и четвертому пациенту) вводились реципиентам за сутки до и спустя 30 дней после операции. В качестве основной ИСТ терапии пациенты получали такролимус, микофенолата мофетил и ГКС. В качестве дополнительной индукционной терапии вводился кроличий антиtimoцитарный глобулин (в течение 3 дней, начиная с предоперационных суток). У всех пациентов из основной группы отмечалась удовлетворительная функция трансплантата и отсутствие гистологических отклонений в биоптатах, взятых через 1 и 3 месяца после операции. По сравнению с группой контроля у пациентов, дополнительно получавших терапию ММСК, был отмечен достоверно более высокий уровень Т-регуляторных клеток. Другим интересным наблюдением исследователей стало то, что у пациентов основной группы также увеличивалось число CD4 Т-клеток, однако увеличение данной популяции не сопровождалось увеличением их пролиферативного потенциала и не было пропорционально увеличению числа регуляторных клеток, то есть клинически был подтвержден эффект иммуномодуляции и развития трансплантационной толерантности [64].

Альтернативные варианты применения аутологичных ММСК были изучены группой ученых из Нидерландов. В рамках своего исследования они предложили использовать терапию ММСК ($1-2 \times 10^6$ клеток/кг) в тот момент, когда у пациента, по результатам биопсии, обнаруживалось субклиническое отторжение (через 4 недели после операции) или признаки интерстициального фиброза и тубулярной атрофии (через 6 месяцев после операции). Такие больные получали по две инфузии аутологичных ММСК с перерывом в неделю. Важно отметить, что в данном исследовании режим приема ИСТ оставался неизменным на всем протяжении наблюдения. Данная работа показала, что применение ММСК в комбинации с трехкомпонентной схемой ИСТ (микофенолата мофетил, ГКС и препарат, имеющий в своем составе циклоспорин А) смягчает острое отторжение в течение 24 недель после инфузии. Более того, у всех пациентов, получивших инфузии ММСК, было отмечено существенное снижение пролиферации мононуклеарных клеток в периферической крови [59].

Продолжением данной работы стало другое, незавершенное в настоящее время, исследование. В новой работе 70 реципиентов с трансплантированными почками, получающих индукцию алемтузумабом и терапию стероидами, такролимусом и эверолимусом, рандомизировали на две группы, одна из которых получает двукратные инфузии ММСК в дозе $1-2 \times 10^6$ клеток/кг и исключение из схемы терапии такролимуса, а другая продолжает стандартное лечение, снизив на 50% дозу такролимуса. В качестве конечной точки исследования определено гистологическое снижение фиброза к 24-й неделе наблюдения. Данное исследование позволит проверить гипотезу, согласно которой при использовании ММСК возможно уменьшить объем ИСТ [60].

Дозирование и способы введения ММСК

До настоящего времени в завершенных опубликованных работах дозы и кратность введения ММСК определялись эмпирически. Однако, для широкомасштабного внедрения данного метода терапии в клиническую практику, понимание оптимальной дозы и схемы использования ММСК является определяющим. В исследованиях по применению ММСК при трансплантации почки использовались дозы $0,5 \times 10^6 - 5 \times 10^6$ клеток на кг, в то же время для лечения других нозологий, в том числе реакций «трансплантат против хозяина», допускалось применение более высоких доз (до 9×10^6) [65, 66]. Внутривенный метод введения клеток показал себя достаточно эффективным и безопасным для пациента, в том числе и при трансплантации почки. Дополнительно была продемонстрирована возможность введения клеток непосредственно в трансплантат или под его капсулу, что способствовало большей локализации клеток в трансплантате и предотвращало их задержку в легких [67].

Взаимодействие ММСК с препаратами ИСТ

Немаловажным вопросом, возникающим при обсуждении клинического потенциала данного метода терапии, является взаимодействие ММСК с иммуносупрессивной терапией. Недостаточная изученность данного метода лечения в настоящее время не позволяет проводить исследования на пациентах, полностью исключив ИСТ. В связи с этим важно понимать, каким образом будет влиять применение данных средств на процесс отторжения трансплантата. Завершенные работы позволяют в значительной мере раскрыть потенциал данных взаимодействий. Так, Buro и др. на смешанной культуре лимфоцитов продемонстрировали усиление иммуномодулирующего эффекта ММСК в присутствии циклоспорина А, такролимуса, ингибитора mTOR и отсутствие влияния на добавление в среду дексаметазона [68]. В дополнение к этим данным другой группой ученых было показано, что преинкубация ММСК с ингибиторами кальциневрина повышает их иммунорегуляторный потенциал в отношении пролиферативной активности мононуклеаров периферической крови [69]. С другой стороны, помимо позитивного влияния терапии ММСК на различные субпопуляции Т-лимфоцитов, усиление активности Т-регуляторных клеток также оказывает свое влияние на конечные результаты терапии [70]. При изучении взаимодействий ИСТ с ММСК в ряде работ на животных также было показано увеличение срока жизни трансплантата при совместном использовании ММСК как с микофенолата мофетилем, так и с ингибиторами mTOR [71, 72].

Безопасность применения ММСК

На начальных этапах внедрения каких-либо средств терапии одним из первых встает вопрос безопасности их применения. В независимости от того, какой тип ИСТ применяется, все пациенты после аллотрансплантации почки имеют повышенный риск возникновения оппортунистических инфекций и злокачественных новообразований [73, 74]. Дополнительно возникающими рисками при использовании ММСК являются такие осложнения, как токсичность вводимых клеток и их иммуногенность [75]. К настоящему времени в клинических исследованиях не было отмечено ни одного случая непосредственного токсического эффекта ММСК и возникновения злокачественных новообразований. Однако все завершенные исследования не имели большого периода наблюдения для детальной оценки частоты отдаленных осложнений. Говоря о частоте оппортунистических инфекций, следует отметить, что в настоящее время имеются противоречивые данные о влиянии ММСК на риск их возникновения [59, 63]. Так, в исследовании Tap и др. было показано значительное снижение частоты инфекционных осложнений. Другие авторы сообщают о возможном увеличении числа таких осложнений, связанных с введением аутологичных ММСК. Опыт применения ММСК при других патологиях, таких как реакция «трансплантат против хозяина» после аллотрансплантации гемопоэтических стволовых клеток костного мозга, также говорит о тенденции к увеличению числа инфекционных осложнений [76–78]. Все эти наблюдения

подчеркивают необходимость тщательного мониторингирования возникающих нежелательных реакций и требуют разработки соответствующих протоколов безопасной терапии пациентов после введения ММСК.

Заключение

Описанные данные наглядно демонстрируют пройденный за кратчайший срок эволюционный путь внедрения использования ММСК у пациентов, перенесших трансплантацию почки. Достигнутые результаты позволяют говорить об их высоком терапевтическом потенциале. Путь клинических испытаний, на который встал данный вид терапии, неминуемо должен прийти к проведению крупных многоцентровых исследований с твердыми конечными точками, такими как выживаемость трансплантата, смертность пациентов, частота эпизодов острых отторжений. Немаловажной будет являться и длительность периода, на протяжении которого будут отслеживаться данные результаты, так как имеющиеся в настоящее время препараты ИСТ уже накопили продолжительный позитивный опыт применения.

В ближайшей перспективе, с точки зрения практического внедрения, важным будет выявить влияние различных режимов дозирования и времени введения на процесс отторжения пересаженного органа, а также долгосрочно оценить влияние добавления терапии ММСК на качество жизни реципиентов. Именно эти аспекты применения данного метода клеточной терапии вызывают наибольшее число вопросов.

Литература

1. *Liyanage T. et al.* Worldwide access to treatment for end-stage kidney disease: a systematic review // *The Lancet*. 2015. Т. 385. № 9981. С. 1975–1982.
2. *Webster A. C. et al.* Chronic kidney disease // *The Lancet*. 2017. Т. 389. № 10075. С. 1238–1252.
3. *Готье С. В.* Иммуносупрессия при трансплантации солидных органов. Тверь: Триада. 2011. Т. 472.
4. *Bamoulid J. et al.* The need for minimization strategies: current problems of immunosuppression // *Transplant International*. 2015. Т. 28. № 8. С. 891–900.
5. *Casiraghi F., Perico N., Remuzzi G.* Mesenchymal stromal cells for tolerance induction in organ transplantation // *Human immunology*. 2017.
6. *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 Proliferation*. 1970. Т. 3. № 4. С. 393–403.
7. *Orkin S. H., Zon L. I.* Hematopoiesis: an evolving paradigm for stem cell biology // *Cell*. 2008. Т. 132. № 4. С. 631–644.
8. *Appelbaum F. R.* Hematopoietic-cell transplantation at 50 // *New England Journal of Medicine*. 2007. Т. 357. № 15. С. 1472–1475.
9. *Dominici M. et al.* Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement // *Cytotherapy*. 2006. Т. 8. № 4. С. 315–317.
10. *Friedenstein A. J., Piatetzky-Shapiro I. I., Petrakova K. V.* Osteogenesis in transplants of bone marrow cells // *Development*. 1966. Т. 16. № 3. С. 381–390.
11. *Le Blanc K. et al.* Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells // *The Lancet*. 2004. Т. 363. № 9419. С. 1439–1441.
12. *Casiraghi F., Perico N., Remuzzi G.* Mesenchymal stromal cells to promote solid organ transplantation tolerance // *Current opinion in organ transplantation*. 2013, 18 (1), 51–58. DOI: 10.1097/MOT.0 b013 e32835 c5016.
13. *Casiraghi F., Perico N., Remuzzi G.* Mesenchymal stromal cells to promote solid organ transplantation tolerance // *Current opinion in organ transplantation*. 2013. Т. 18. № 1. С. 51–58.
14. *Zhou H. P. et al.* Administration of donor-derived mesenchymal stem cells can prolong the survival of rat cardiac allograft // *Transplantation proceedings*. Elsevier, 2006. Т. 38. № 9. С. 3046–3051.
15. *Casiraghi F. et al.* Pretransplant infusion of mesenchymal stem cells prolongs the survival of a semiallogeneic heart transplant through the generation of regulatory T cells // *The Journal of Immunology*. 2008. Т. 181. № 6. С. 3933–3946.
16. *Ryan J. M. et al.* Mesenchymal stem cells avoid allogeneic rejection // *Journal of Inflammation*. 2005. Т. 2. № 1. С. 8.
17. *Tu Z. et al.* Mesenchymal stem cells inhibit complement activation by secreting factor H // *Stem cells and development*. 2010. Т. 19. № 11. С. 1803–1809.
18. *Moll G. et al.* Mesenchymal stromal cells engage complement and complement receptor bearing innate effector cells to modulate immune responses // *PloS one*. 2011. Т. 6. № 7. С. e21703.
19. *Brandau S. et al.* Tissue-resident mesenchymal stem cells attract peripheral blood neutrophils and enhance their inflammatory activity in response to microbial challenge // *Journal of leukocyte Biology*. 2010. Т. 88. № 5. С. 1005–1015.
20. *Jiang X. X. et al.* Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells // *Blood*. 2005. Т. 105. № 10. С. 4120–4126.
21. *Nauta A. J. et al.* Mesenchymal stem cells inhibit generation and function of both CD34+-derived and monocyte-derived dendritic cells // *The Journal of Immunology*. 2006. Т. 177. № 4. С. 2080–2087.
22. *Spaggiari G. M. 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. Т. 107. № 4. С. 1484–1490.

23. *Spaggiari G. M.* et al. Mesenchymal stem cells inhibit natural killer–cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2, 3-dioxygenase and prostaglandin E2 // *Blood*. 2008. T. 111. № 3. C. 1327–1333.
24. *Chiesa S.* et al. Mesenchymal stem cells impair in vivo T-cell priming by dendritic cells // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011. T. 108. № 42. C. 17384–17389.
25. *Du Rocher B.* et al. Mesenchymal stromal cells impair the differentiation of CD14++ CD16 — CD64+ classical monocytes into CD14++ CD16+ CD64++ activate monocytes // *Cytotherapy*. 2012. T. 14. № 1. C. 12–25.
26. *Kim J., Hematti P.* Mesenchymal stem cell-educated macrophages: A novel type of alternatively activated macrophages // *Experimental hematology*. 2009. T. 37. № 12. C. 1445–1453.
27. *Di Nicola M.* et al. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli // *Blood*. 2002. T. 99. № 10. C. 3838–3843.
28. *William T. T.* et al. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation // *Transplantation*. 2003. T. 75. № 3. C. 389–397.
29. *Le Blanc K.* et al. Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex // *Scandinavian journal of immunology*. 2003. T. 57. № 1. C. 11–20.
30. *Glennie S.* et al. Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest anergy of activated T cells // *Blood*. 2005. T. 105. № 7. C. 2821–2827.
31. *Duffy M. M.* et al. Mesenchymal stem cell effects on T-cell effector pathways // *Stem cell research & therapy*. 2011. T. 2. № 4. C. 34.
32. *Ghannam S.* et al. Mesenchymal stem cells inhibit human Th17 cell differentiation and function and induce a T regulatory cell phenotype // *The Journal of Immunology*. 2010. T. 185. № 1. C. 302–312.
33. *English K.* et al. Cell contact, prostaglandin E2 and transforming growth factor beta 1 play non-redundant roles in human mesenchymal stem cell induction of CD4+ CD25 Highforkhead box P3+ regulatory T cells // *Clinical & Experimental Immunology*. 2009. T. 156. № 1. C. 149–160.
34. *Tabera S.* et al. The effect of mesenchymal stem cells on the viability, proliferation and differentiation of B-lymphocytes // *Haematologica*. 2008. T. 93. № 9. C. 1301–1309.
35. *Peng Y.* et al. Mesenchymal stromal cells infusions improve refractory chronic graft versus host disease through an increase of CD5+ regulatory B cells producing interleukin 10 // *Leukemia*. 2015. T. 29. № 3. C. 636.
36. *Franquesa M.* et al. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells abrogate plasmablast formation and induce regulatory B cells independently of T helper cells // *Stem cells*. 2015. T. 33. № 3. C. 880–891.
37. *Prockop D. J.* Repair of tissues by adult stem/progenitor cells (MSCs): controversies, myths, and changing paradigms // *Molecular Therapy*. 2009. T. 17. № 6. C. 939–946.
38. *Da Silva Meirelles L., Caplan A. I., Nardi N. B.* In search of the in vivo identity of mesenchymal stem cells // *Stem cells*. 2008. T. 26. № 9. C. 2287–2299.
39. *Block G. J.* et al. Multipotent stromal cells are activated to reduce apoptosis in part by upregulation and secretion of stanniocalcin-1 // *Stem cells*. 2009. T. 27. № 3. C. 670–681.
40. *Lee R. H.* et al. 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. T. 5. № 1. C. 54–63.
41. *Jia X.* et al. Bone marrow mesenchymal stromal cells ameliorate angiogenesis and renal damage via promoting PI3 k-Akt signaling pathway activation in vivo // *Cytotherapy*. 2016. T. 18. № 7. C. 838–845.
42. *Hou, Yu,* et al. IL-8 enhances the angiogenic potential of human bone marrow mesenchymal stem cells by increasing vascular endothelial growth factor // *Cell biology international*. 2014: 38, 1050–1059.
43. *Bartholomew A.* et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo // *Experimental hematology*. 2002. T. 30. № 1. C. 42–48.
44. *Zhou H. P.* et al. Administration of donor-derived mesenchymal stem cells can prolong the survival of rat cardiac allograft // *Transplantation proceedings*. Elsevier, 2006. T. 38. № 9. C. 3046–3051.
45. *Casiraghi F.* et al. Pretransplant infusion of mesenchymal stem cells prolongs the survival of a semiallogeneic heart transplant through the generation of regulatory T cells // *The Journal of Immunology*. 2008. T. 181. № 6. C. 3933–3946.
46. *Zhang W., Qin C., Zhou Z. M.* Mesenchymal stem cells modulate immune responses combined with cyclosporine in a rat renal transplantation model // *Transplantation proceedings*. Elsevier, 2007. T. 39. № 10. C. 3404–3408.
47. *De Martino M.* et al. Mesenchymal stem cells infusion prevents acute cellular rejection in rat kidney transplantation // *Transplantation proceedings*. Elsevier, 2010. T. 42. № 4. C. 1331–1335.
48. *Casiraghi F.* et al. Localization of mesenchymal stromal cells dictates their immune or proinflammatory effects in kidney transplantation // *American Journal of Transplantation*. 2012. T. 12. № 9. C. 2373–2383.
49. *Ge W.* et al. Regulatory T-cell generation and kidney allograft tolerance induced by mesenchymal stem cells associated with indoleamine 2, 3-dioxygenase expression // *Transplantation*. 2010. T. 90. № 12. C. 1312–1320.
50. *Онищенко Н. А.* и др. Влияние мезенхимальных стволовых клеток костного мозга на развитие посттрансплантационных изменений в почке // *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2016. T. 18. № 1. C. 45–52.
51. *Seok J.* et al. Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2013. T. 110. № 9. C. 3507–3512.
52. *Mao F.* et al. Mesenchymal stem cells and their therapeutic applications in inflammatory bowel disease // *Oncotarget*.

2017. Т. 8. № 23. С. 38008.
53. Князев О. В. и др. Комбинированная клеточная антицитокиновая терапия способствует более выраженному уменьшению степеней воспаления слизистой оболочки кишки при болезни Крона // Доказательная гастроэнтерология. 2016. Т. 7. № 1. С. 66 а-67.
54. Lu D. et al. Comparison of bone marrow mesenchymal stem cells with bone marrow-derived mononuclear cells for treatment of diabetic critical limb ischemia and foot ulcer: a double-blind, randomized, controlled trial // Diabetes research and clinical practice. 2011. Т. 92. № 1. С. 26–36.
55. Prasad V. K. et al. Efficacy and safety of ex vivo cultured adult human mesenchymal stem cells (Prochymal™) in pediatric patients with severe refractory acute graft-versus-host disease in a compassionate use study // Biology of Blood and Marrow Transplantation. 2011. Т. 17. № 4. С. 534–541.
56. Griffin M. D. et al. Concise review: adult mesenchymal stromal cell therapy for inflammatory diseases: how well are we joining the dots? // Stem Cells. 2013. Т. 31. № 10. С. 2033–2041.
57. Verstockt B. et al. New treatment options for inflammatory bowel diseases // Journal of gastroenterology. 2018. С. 1–6.
58. Perico N. et al. Autologous mesenchymal stromal cells and kidney transplantation: a pilot study of safety and clinical feasibility // Clinical Journal of the American Society of Nephrology. 2011. Т. 6. № 2. С. 412–422.
59. Reinders M. E. J. et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells for the treatment of allograft rejection after renal transplantation: Results of a phase I study // Stem cells translational medicine. 2013. Т. 2. № 2. С. 107–111.
60. Reinders M. E. J. et al. Autologous bone marrow derived mesenchymal stromal cell therapy in combination with everolimus to preserve renal structure and function in renal transplant recipients // Journal of translational medicine. 2014. Т. 12. № 1. С. 331.
61. Casiraghi F. et al. Localization of mesenchymal stromal cells dictates their immune or proinflammatory effects in kidney transplantation // American Journal of Transplantation. 2012. Т. 12. № 9. С. 2373–2383.
62. Perico N. et al. Mesenchymal stromal cells and kidney transplantation: pretransplant infusion protects from graft dysfunction while fostering immunoregulation // Transplant International. 2013. Т. 26. № 9. С. 867–878.
63. Tan J. et al. Induction therapy with autologous mesenchymal stem cells in living-related kidney transplants: a randomized controlled trial // Jama. 2012. Т. 307. № 11. С. 1169–1177.
64. Mudrabettu C. et al. Safety and efficacy of autologous mesenchymal stromal cells transplantation in patients undergoing living donor kidney transplantation: a pilot study // Nephrology. 2015. Т. 20. № 1. С. 25–33.
65. Le Blanc K. et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study // The Lancet. 2008. Т. 371. № 9624. С. 1579–1586.
66. Ball L. M. et al. Multiple infusions of mesenchymal stromal cells induce sustained remission in children with steroid-refractory, grade III–IV acute graft-versus-host disease // British journal of haematology. 2013. Т. 163. № 4. С. 501–509.
67. Reinders M. E. J. et al. Mesenchymal stromal cell therapy for solid organ transplantation // Transplantation. 2018. Т. 102. № 1. С. 35–43.
68. Buron F. et al. Human mesenchymal stem cells and immunosuppressive drug interactions in allogeneic responses: an in vitro study using human cells // Transplantation proceedings. Elsevier, 2009. Т. 41. № 8. С. 3347–3352.
69. Hoogduijn M. J. et al. Susceptibility of human mesenchymal stem cells to tacrolimus, mycophenolic acid, and rapamycin // Transplantation. 2008. Т. 86. № 9. С. 1283–1291.
70. Hajkova M. et al. Mesenchymal Stem Cells Attenuate the Adverse Effects of Immunosuppressive Drugs on Distinct T Cell Subpopulations // Stem Cell Reviews and Reports. 2017. Т. 13. № 1. С. 104–115.
71. Popp F. C. et al. Mesenchymal stem cells can induce long-term acceptance of solid organ allografts in synergy with low-dose mycophenolate // Transplant immunology. 2008. Т. 20. № 1–2. С. 55–60.
72. Eggenhofer E. et al. Features of synergism between mesenchymal stem cells and immunosuppressive drugs in a murine heart transplantation model // Transplant immunology. 2011. Т. 25. № 2–3. С. 141–147.
73. Fulginiti V. A. et al. Infections in recipients of liver homografts // Transplantation. 1969. Т. 7. № 3. С. 205.
74. Vajdic C. M., van Leeuwen M. T. Cancer incidence and risk factors after solid organ transplantation // International journal of cancer. 2009. Т. 125. № 8. С. 1747–1754.
75. Casiraghi F. et al. Multipotent mesenchymal stromal cell therapy and risk of malignancies // Stem Cell Reviews and Reports. 2013. Т. 9. № 1. С. 65–79.
76. Хубутя М. Ш. и др. Первый опыт успешной трансплантации тонкой кишки в институте скорой помощи им. Н. В. Склифосовского // Журнал им. НВ Склифосовского «Неотложная медицинская помощь». 2016. № 3. С. 12–22.
77. Von Bahr L. et al. Analysis of tissues following mesenchymal stromal cell therapy in humans indicates limited long-term engraftment and no ectopic tissue formation // Stem cells. 2012. Т. 30. № 7. С. 1575–1578.
78. Moermans C. et al. Impact of cotransplantation of mesenchymal stem cells on lung function after unrelated allogeneic hematopoietic stem cell transplantation following non-myeloablative conditioning // Transplantation. 2014. Т. 98. № 3. С. 348–353.

М. Ш. Хубутя*, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН

Н. В. Боровкова*, доктор медицинских наук

О. Н. Ржевская**, доктор медицинских наук, профессор

А. В. Пинчук*, кандидат медицинских наук

Д. А. Васильченко**, ¹

*** ГБУЗ НИИ СП им. Н. В. Склифосовского ДЗМ, Москва**

**** ФГБОУ ВО МГМСУ им. А. И. Евдокимова МЗ РФ, Москва**

¹ Контактная информация: wrestler931@yandex.ru

Применение мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток костного мозга при трансплантации почки/ М.

Ш. Хубутя, Н. В. Боровкова, О. Н. Ржевская, А. В. Пинчук, Д. А. Васильченко

Для цитирования: Лечащий врач № 9/2018; Номера страниц в выпуске: 16-22

Теги: реципиент, отторжение, иммунный ответ, иммуногенность

© «Открытые системы», 1992-2018. Все права
защищены.