

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ТКАНЕЙ ВЗРОСЛОГО ОРГАНИЗМА

© П. В. Кругляков, И. Б. Соколова, Д. Г. Полынцев

ООО «Транс-Технологии», Санкт-Петербург;
электронный адрес: pitkus@alkorbio-ru

В обзоре подробно описаны все типы стволовых клеток взрослого организма: гемопоэтические, мышечные, нервной ткани, кожи, эндотелия, кишечника, миокарда и мезенхимные стволовые клетки (МСК). Обсуждаются методические подходы работы со стволовыми клетками и возможности их применения в клеточной терапии различных заболеваний. Особое внимание удалено МСК, поскольку количество экспериментальных работ с применением этих клеток постоянно увеличивается. По мнению авторов, МСК являются наиболее перспективным материалом для применения в лечебной практике человека.

Ключевые слова: стволовые клетки, клеточная терапия.

Принятые сокращения: ГСК — гемопоэтические стволовые клетки, КМ — костный мозг, МСК — мезенхимные стволовые клетки, НСК — нейрональные стволовые клетки. СКК — стволовые клетки кожи, СКМ — стволовые клетки миокарда, СКСМ — стволовые клетки скелетной мускулатуры.

В течение жизни во взрослом организме постоянно происходит гибель клеток различных тканей как при естественном обновлении (апоптоз), так и при повреждениях (некроз). Восстановление утраченных клеток происходит за счет камбиональных элементов (Wlodarski, 1985; Simon et al., 2003). В кишечнике, коже, мышцах, красном костном мозге, печени и головном мозге существуют пролиферирующие тканеспецифические популяции клеток (Saris et al., 1999; Presnell et al., 2002; Laurson et al., 2005).

В последние годы в тканях сформировавшегося организма были выявлены клеточные элементы, способные к дифференцировке не только в тканеспецифических направлениях, но и в клетки иного тканевого происхождения. При этом происходит потеря первичных тканевых маркеров и функций и приобретение маркеров и функций вновь образованного клеточного типа (Filip et al., 2004). Это явление получило название трансдифференцировки. А подобные клеточные элементы классифицируют как мультипотентные стволовые клетки взрослого организма. Еще одно их свойство — способность к миграции в другие ткани *in vivo* (Satake et al., 2004; Mothe, Tator, 2005).

К настоящему моменту выделены следующие типы стволовых клеток взрослого организма: гемопоэтические, мышечные, нервной ткани, кожи, эндотелия, кишечника, миокарда и мезенхимные стволовые клетки (МСК) (Friedenstein et al., 1976, 1987; Spangrude et al., 1988; Stemple, Anderson, 1992; Pereira et al., 1995; Bjerknes, Cheng, 1999; Morrison et al., 1999; Uchida et al., 2000; Prockop et al., 2001; Rietze et al., 2001; Spradling et al., 2001; Toma et al., 2001; Capela, Temple, 2002; Jankowski et al., 2002; Kruger et al., 2002; Bel et al., 2003; Parker et al., 2003; Pollesskaya et al., 2003; Wang et al., 2004).

Гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) — популяция мультипотентных стволовых кле-

ток — в настоящее время охарактеризованы наиболее полно. ГСК находятся в красном костном мозге взрослого организма. Впервые популяция ГСК была выделена из костного мозга (КМ) мыши около 20 лет назад (Spangrude et al., 1988). Клоногенные свойства этих клеток, доказанные позднее в экспериментах *in vivo* и *in vitro*, позволили выделять данные клетки с высоким уровнем чистоты (~85—95 %) (Spangrude et al., 1988; Smith et al., 1991; Uchida, Weissman, 1992; Morrison, Weissman, 1994; Osawa et al., 1996; Wagers et al., 2002). Фенотипическим «портретом» чистых популяций ГСК считается присутствие на поверхности клетки маркеров CD34, CD133, c-kit (CD117) и отсутствие CD38, а также специфических маркеров комитированных клеток гликофорина A, CD2, CD3, CD4, CD8, CD14, CD15, CD16, CD19, CD20, CD56 и CD66 (Lin⁻). Следует отметить, что маркеры CD133 и c-kit характерны не только для ГСК и не могут считаться основными при их выделении (Hilbe et al., 2004; Florek et al., 2005).

Долгое время считалось, что ГСК способны дифференцироваться только в клетки крови. В экспериментах *in vivo* было показано, что популяция трансплантированных ГСК полностью восстанавливает гемопоэз у сублетально облученных мышей (Abrams, Deisseroth, 1979). Исследования по выявлению мультипотентности ГСК, выполненные в последние годы, показали, что при трансплантации в кровоток ГСК могут дифференцироваться также в гепатоциты, клетки эпителия и эндотелий (Stadtfeld, Graf, 2005). В литературе представлены данные о выявлении кардиомиоцитов и миоцитов с меткой трансплантированных ГСК. Однако дифференцировка ГСК в данных направлениях поставлена под сомнение результатами исследований последних 2 лет. Показано, что в области повреждения ГСК способны дифференцироваться в макрофаги и сливаться с клетками ткани реципиента (Alva-

rez-Dolado et al., 2003; Camargo et al., 2003; Vassilopoulos et al., 2003).

Несмотря на разработанные протоколы выделения чистых популяций ГСК из взрослого организма, нет методик их культивирования *in vitro*. Существующие методы позволяют лишь сохранить или незначительно обогатить популяцию ГСК (McMillen, Simmons, 1986; Dooley et al., 2004). Уже первые попытки их культивирования показали необходимость присутствия фидерного слоя из клеток стromы КМ (Dexter et al., 1980). Как выяснилось позднее, клетки стромы КМ являются ключевыми регуляторами популяции ГСК. Стромальные элементы определяют пролиферацию и дифференцировку ГСК в КМ. Доказано, что пролиферация ГСК определяется воздействием тромбо-поэтина, фактора роста стволовой клетки (SCF, stem cell factor) и Flt3-лиганды (Gothor et al., 1998). Основным источником этих факторов в КМ являются клетки стромы (Breems et al., 1998). Следует отметить, что стромальные клеточные элементы выделяют и факторы, определяющие дифференцировку ГСК (Moore, 2002). Клетки стромы КМ определяют и эффект миграции ГСК в КМ (хоуминг-эффект ГСК). Так, уже через 3—24 ч после внутривенного введения от 10 до 20 % донорских ГСК оказываются в КМ реципиента (Orschell-Traycoff et al., 2000; Plett et al., 2002). Хоуминг ГСК определяется градиентом стромального фактора CDF-1 и его взаимодействием с рецептором CXCR4 на поверхности ГСК. Обработка ГСК антителами к CXCR4 блокирует их миграцию (Jo et al., 2000). Основным продуцентом CDF-1 в КМ является стroma костного мозга (Imai et al., 1999).

ГСК способны мигрировать не только в КМ, но и из него в кровоток. Показано, что выход ГСК из КМ происходит в ответ на воздействие факторов мобилизации: гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (ГМ-КСФ, granulocyte-macrophage colony stimulating factor), гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ, granulocyte colony stimulating factor) и фактора стволовой клетки (SCF, stem cell factor) (Jansen et al., 2005). Эти факторы также выделяются клетками стромы (Okubo et al., 2000). Воздействие ГМ-КСФ и Г-КСФ увеличивает количество ГСК в периферической крови на порядок (Sohn et al., 2002; Gupta et al., 2005).

ГСК могут являться инструментом клеточной терапии при некоторых заболеваниях. При трансплантации ГСК в поврежденную печень экспериментального животного выявляются гепатоциты с меткой донорских клеток (Lagasse et al., 2000). Результаты исследований по применению ГСК при ишемических повреждениях ткани, в том числе и при экспериментальном инфаркте миокарда, показывают появление эндотелиоцитов с донорской меткой (Kamihata et al., 2001). Современный уровень развития биотехнологии позволяет исследователям использовать аутологичные ГСК, выделяя их из периферической крови в достаточном количестве. Однако механизмы трансдифференцировки ГСК в настоящий момент изучены недостаточно. Остается неясным, как ГСК закрепляются в очаге повреждения, если они не способны к адгезии *in vitro*.

Изучение случаев неудачных пересадок костного мозга при первоначальной положительной динамике привело исследователей к выделению отдельной популяции стволовых клеток — SP (side population)-клеток (Szilvassy, Cogu, 1993). Основной функцией данных клеточных элементов, вероятно, является обновление популяции ГСК (Uchida et al., 2001). Частота встречаемости этих клеток в

КМ составляет до 0,01 % мононуклеарной фракции. Фенотипический портрет SP-клеток не установлен. Известно лишь, что на их клеточной поверхности присутствует рецептор множественной лекарственной устойчивости (MDR, multidrug resistance) (Scharenberg et al., 2002). Не существует и методик их культивирования *in vitro*. Их выделяют из КМ и периферической крови (Goodell et al., 1996; Zhou et al., 2001; Alison, 2003). Имеются сообщения о выделении данных клеток из мышц и почек (Tamaki et al., 2003; Iwatani et al., 2004). Известно, что данные клеточные элементы способны дифференцироваться в клетки крови, печени, мышц, почек, костной ткани и в кардиомиоциты (Asakura et al., 2002; Abe et al., 2003; Olmsted-Davis et al., 2003; Iwatani et al., 2004). Полный спектр дифференцировок SP-клеток еще не изучен.

SP-клетки являются очень перспективным материалом для клеточной терапии, однако современная методика их выделения, основанная на окрашивании токсичным красителем Hoechst 33342, позволяет их использование только в экспериментальных моделях.

Нейрональные стволовые клетки (НСК) выделяют из головного мозга развивающегося и сформировавшегося организма. Культивирование НСК происходит в нейросферах, клеточных агрегатах сферической формы. Каждая нейросфера может быть клонального происхождения и состоит из пролиферирующих клеточных элементов разной степени дифференцировки (Reynolds, Reitze, 2005). Гистологический анализ нейросфер показывает, что в них происходит спонтанная дифференцировка клеток в нейрональном, астроглиальном и олигодендроглиальном направлениях (Bazan et al., 2004).

Мультипотентность НСК была доказана в экспериментах, в которых НСК инъецировали в куриный и мышиный эмбрионы. Было показано, что инъекция клеток не приводила к формированию аномального эмбриона. Клетки с меткой донорского материала участвовали в формировании нейроэнцефаломиоцитов, мезодермы и энтодермы куриного эмбриона. Клетки с меткой донорского материала были обнаружены в центральной нервной системе, сердце, печени, кишечнике и легких мыши (Clarke et al., 2000).

Для клеточной терапии НСК наиболее перспективны при использовании их ортодоксального дифференцировочного потенциала (нейроны и глия). К настоящему моменту разработаны коктейли химических индукторов комитированности НСК к дифференцировке в одном направлении (Bithell, Williams, 2005). НСК локализованы в субэпендимном клеточном слое 3-го и 4-го желудочков головного мозга (Romanko et al., 2004). Таким образом, выделение НСК связано с разрушением головного мозга донора (Rietze et al., 2001). Но возможно использование аллогенного материала для клеточной терапии ЦНС из-за наличия гематоэнцефалического барьера и отсутствия иммунологических реакций на чужеродный материал. Эксперименты с применением фетального материала при терапии болезни Паркинсона к настоящему моменту уже проведены как на экспериментальных животных, так и в клинике (Burnstein et al., 2004).

Стволовые клетки кожи (СКК) выделяют из кожи эмбриона или из кожи взрослого организма (Dunnwald et al., 2001). Детальная локализация СКК в коже не определена. Известно, что кластеры СКК располагаются в области основания волоссянного фолликула (в волоссяном эпидермисе) (Alonso, Fuchs, 2003). Представлены данные о том, что СКК присутствуют в базальном слое эпидерми-

са наравне с камбимальными элементами эпителия (Toma et al., 2001).

Возможность применения СКК в качестве агентов клеточной терапии связывают прежде всего с терапией повреждений кожи. Уже проведены первые экспериментальные и клинические исследования (Pellegrini et al., 1998; Юдинцева и др., 1999; Лапин и др., 2003; Блинова и др., 2006). Зарубежными и отечественными исследователями разработана технология дермальных эквивалентов с применением СКК (Michel et al., 1999; Hasegawa et al., 2004). Эти разработки уже применяются в клинике при обширных ожогах (Gohari et al., 2002). Однако потенции СКК не ограничиваются дифференцировкой в клетки кожи. Выделенные из эпидермиса СКК способны к дифференцировке и в нейрональном направлении (Amoh et al., 2005).

Стволовые клетки скелетной мускулатуры (СКСМ). В поперечнополосатой мускулатуре помимо клеток-сателлитов, способных к дифференцировке в миоциты, обнаружены мышечные стволовые клетки. СКСМ могут дифференцироваться в нейроны и глию, миоциты, остеоциты, хондроциты и адипоциты. В настоящее время активно обсуждается фенотип СКСМ. Различные научные группы используют для исследований клетки, сходные по дифференцировочному потенциальному, но с различной фенотипической характеристикой. Возможно, в исследованиях используются одинаковые клеточные элементы, но подтвердить или опровергнуть этот факт невозможно. Точная локализация СКСМ в мышечной ткани неизвестна. Последние указывают на то, что клетки популяции СКСМ являются мезенхимными стволовыми клетками (МСК), локализованными в мышечной ткани (Chu et al., 2002; Zhang et al., 2003; Bhagavati, Xu, 2004).

Стволовые клетки миокарда (СКМ) впервые выделены в 2003 г. (Beltrami et al., 2003). Но еще в 70-х годах прошлого столетия Румянцеву с коллегами удавалось выявлять митозы кардиомиоцитов в миокарде взрослого животного (Rumyantsev, 1973, 1983). В 1996 г. удалось выделить *in vitro* из миокарда новорожденных крыс пролиферирующие клеточные элементы, способные к дифференцировке в кардиомиоциты (Warejcka et al., 1996). Однако только Белтрами с коллегами удалось выявить в миокарде взрослого животного кластеры клеточных элементов, способных к пролиферации (Beltrami et al., 2003). Из миокарда была выделена клеточная популяция с фенотипом Lin⁻, c-kit⁺, и эти клетки культивировали *in vitro*. Обнаружили, что как *in vitro*, так и *in vivo* (при трансплантации в миокард) данные клетки способны дифференцироваться в кардиомиоциты и эндотелий сосудов. Трансплантация таких клеток в область повреждения миокарда приводила к появлению в зоне повреждения кардиомиоцитов и сосудов из донорских клеток и существенному уменьшению зоны повреждения (Lanza et al., 2004). Однако методика выделения данных клеточных элементов очень сложна и связана с полным разрушением мышечной ткани сердца.

Мезенхимные стволовые клетки (МСК) — резиденты стромы КМ, присутствующие в нем в небольшом количестве (1 на 10^4 — 10^5 клеток) (Jorgensen et al., 2003). Они обладают всеми свойствами мультипотентных стволовых клеток — способностью к самоподдержанию и дифференцировке в нескольких направлениях.

В аорто-гонадно-мезонефрической (АГМ) области человеческого и мышевидного эмбрионов, в области эмбрионального гемопоэза, обнаружен подлежащий, стро-

мальный, слой клеток (Cortes et al., 1999; Marshall et al., 1999; Tavian et al., 1999). Клетки этого слоя не экспрессируют гемопоэтических и эндотелиальных маркеров. Показано, что эти клетки продуцируют белки внеклеточного матрикса. Показано, что клетки АГМ при культивировании *in vitro* (в условиях культивирования МСК) способны поддерживать как эмбриональный, так и взрослый гемопоэз (Ohneda et al., 1998; Oostendorp et al., 2002a, 2002b). Это свойство, характерное для МСК (Dexter et al., 1980).

Фетальные МСК циркулируют в крови на 7—12-й неделе эмбрионального развития, составляя до 0,4 % ядерных клеток (Campagnoli et al., 2002). Исследователям удалось выделить МСК из поджелудочной железы, легких и из очагов раннего гемопоэза — печени и селезенки. Фетальные МСК имеют те же фенотипические характеристики, что и МСК взрослого организма. Однако они имеют несколько более широкий дифференцировочный потенциал (Campagnoli et al., 2001). Важно отметить, что циркуляция МСК отмечается только в первом триместре развития зародыша. Попытки выделить МСК из фетальной крови на более поздних сроках не увенчались успехом (Wexter et al., 2003). Таким образом, предшественники МСК участвуют в формировании органов зародыша, но их роль в раннем развитии позвоночных ясна только в отношении эмбрионального гемопоэза.

Открытие МСК связано с именем Александра Фридленштейна. В работах под его руководством в 60-х годах XX в. было показано, что в строме КМ взрослого организма присутствуют клеточные элементы, способные к дифференцировке в клетки костной ткани (Лурия и др., 1966). Было продемонстрировано, что при трансплантации КМ под капсулу почки из клеток стромы КМ формируется кость (Фридленштейн и др., 1968). Позднее было показано, что трансплантация КМ в область повреждения костной ткани ускоряет формирование костного регенерата (Lalykina et al., 1976). В работах Фридленштейна 1970-х годов были разработаны основные методики культивирования предшественников костной ткани (Фридленштейн и др., 1973). Эти ученые доказали, что в КМ присутствуют не только предшественники костной ткани, но и клетки, дифференцирующиеся в направлении клеток хрящевой и жировой тканей (Фридленштейн и др., 1986). Работы научной группы Фридленштейна заложили основу для идентификации, выделения и изучения биологии МСК.

К настоящему моменту известен полный список поверхностных маркеров МСК (Pittenger, Martin, 2004). Необходимый и достаточный более краткий фенотип МСК используется в экспериментальных работах. Считается, что на поверхности МСК отсутствуют CD34, CD45, CD14, гликофорин А, Т- или В-клеточные маркеры и присутствуют Thy-1 (CD90), эндоглин (CD105), VCAM-1 (CD106) и рецептор гилауроновой кислоты (CD44) (Guo et al., 2001).

МСК взрослого организма обнаружены и выделены не только из КМ, но и из жировой и мышечной тканей, кожи и головного мозга (Kuznetsov et al., 2001; Jiang et al., 2002; Zhang et al., 2003; Dicker et al., 2005; Katz et al., 2005; Shin et al., 2005). Основным источником МСК в настоящее время считается красный костный мозг (Hung et al., 2002). Аспирация КМ — низкотравматичная процедура для человека и крупных млекопитающих. Для выделения МСК из красного костного мозга мелких животных разработаны и апробированы общепринятые методики. Выделение из других источников сопровождается ферmenta-

тивным разрушением фрагмента ткани или органа донора (Katz et al., 2005).

Свойство самоподдержания популяции МСК было доказано в лаборатории проф. Д. Прокопа. В своих исследованиях эта группа показала высокую пролиферативную способность МСК *in vitro* при полном сохранении основных свойств этих клеток, фенотипа и дифференцировочного потенциала (Prockop et al., 2001). Было показано, что культивирование МСК следует проводить в условиях низкой плотности (не более 100 клеток на 1 см²). Такой подход позволяет максимально снизить возможность спонтанной дифференцировки. К настоящему моменту исследователями из Университета г. Хиросимы разработана методика, позволяющая культивировать МСК при высокой плотности посева, при этом в среду культивирования следует добавлять основной фактор роста фибробластов (bFGF). Добавление в среду культивирования bFGF ингибирует спонтанные дифференцировки МСК (Tsutsumi et al., 2001).

Дифференцировочный потенциал МСК экспериментально активно исследовался в последние 10 лет. Показано, что эти клетки могут дифференцироваться *in vitro* в направлении остеоцитов, адипоцитов, хондроцитов, миоцитов, фиброцитов, гепатоцитов, клеток стромы КМ, кардиомиоцитов, эндотелиоцитов и клеток эпителия.

Так, добавление в среду культивирования МСК дексаметазона приводит к случайной дифференцировке клеток в адипоцитарном, хондроцитарном, остеоцитарном и миоцитарном направлениях (Young et al., 1995; Johnstone et al., 1998; Pittenger et al., 1999; Martin et al., 2002; Zuk et al., 2002). Позднее эти дифференцировки назвали ортодоксальными. Дифференцировка МСК в ортодоксальных направлениях может происходить спонтанно при культивировании в условиях высокой плотности посева.

К настоящему моменту разработаны условия, позволяющие *in vitro* получать дифференцировку МСК в одном направлении. Так, например, при добавлении в среду культивирования дексаметазона, β -глицерофосфата и аскорбиновой кислоты МСК дифференцируются в остеоцитарном направлении (Jaiswal et al., 1997). В настоящий момент к ортодоксальным направлениям относят и дифференцировку в строму КМ (Pittenger et al., 2000).

МСК способны дифференцироваться *in vitro* в неортодоксальных направлениях — нейрональном и глиальном, кардиомиоцитарном и гепатоцитарном (Ferrari et al., 1998; Sanchez-Ramos et al., 2000; Woodbury et al., 2000, 2002; Deng et al., 2001; Hong et al., 2005; Long et al., 2005). Сообщения о дифференцировке МСК *in vitro* в эпителиальном и эндотелиальном направлениях являются уникальными, исследователям пока не удалось повторить данные результаты (Le Visage et al., 2004; Oswald et al., 2004).

В экспериментах по трансплантации МСК животным, получившим сублетальную дозу облучения, показано, что донорские клетки дифференцируются помимо остеоцитов, адипоцитов и хондроцитов в гепатоциты, клетки бронхиального эпителия и миоциты (Anjos-Afonso et al., 2004). Трансплантация МСК в кровоток экспериментальных животных приводила к интеграции донорского материала в КМ реципиента. При трансплантации МСК в область 11-го и 12-го сомитов на ранних стадиях развития куриного эмбриона донорский материал участвовал в формировании сердца, печени, головного и спинного мозга, причем донорские клетки дифференцируются по крайней мере в кардиомиоциты (Pochampally et al., 2004). По-

казано, что при инъекции МСК в область 1-го сомита донорские клетки участвуют в формировании почки; более того, экспериментаторы выявили нефроны, сформированные из МСК (Yokoo et al., 2005).

Следует отметить, что время культивирования МСК может негативно сказываться на дифференцировочном потенциале клеток. Исследования, выполненные Прокопом и коллегами, показали, что продолжительное культивирование МСК (15—20 пассажей) сокращает дифференцировочный потенциал клеток. Исследователи обнаружили, что из трех ортодоксальных дифференцировок — остеоцитарной, хондроцитарной и адипоцитарной — МСК дифференцировались только в одном направлении (Phinney et al., 1999; Sekiya et al., 2002).

В работах, посвященных изучению биологии МСК *in vitro*, отмечено, что культивируемые популяции, несмотря на общий фенотип, неоднородны. По физическим и морфологическим свойствам некоторые исследователи выделяют популяцию RS-1. Это мелкие активно пролиферирующие клетки, экспрессирующие Oct-4 — один из маркеров ЭСК. Доля таких клеток невелика и составляет около 1 % (Colter et al., 2000, 2001; Pochampally et al., 2004). Протоколов выделения и культивирования клеток RS-1 исследователям разработать не удалось.

Показано, что существуют две субпопуляции МСК: одна из них, мажорная, составляет около 98 % и определяет основные свойства популяции; другая, минорная, составляет до 2 % и получила название мультипотентных взрослых клеток-предшественников (multipotent adult progenitor cells, MAPC) (Jiang et al., 2002). Показано, что в MAPC происходит экспрессия транскрипционных факторов Oct-4 и Rex-1 — факторов, характерных для эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) (Pesce et al., 1999; Jiang et al., 2002). Однако не доказано, являются MAPC отдельной популяцией стволовых клеток во взрослом организме или являются МСК, прошедшими путь дедифференцировки в условиях *in vitro*.

Такое свойство стромальных клеток КМ, как регуляция гемопоэза *in vitro*, обратило внимание исследователей на паракринные свойства МСК (Dexter et al., 1980; Kogler et al., 2005). Позднее выявили, что МСК могут выступать в качестве фидерного слоя для культур ЭСК, что также определяется продукцией различных ростовых факторов (Cheng et al., 2003).

Показано, что МСК продуцируют *in vitro* макрофагальный колонистимулирующий фактор (M-CSF), интерлейкины (IL) IL-6, IL-8, IL-11, IL-12, IL-14, IL-15, LIF (leukemia inhibitory factor), фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) и фактор роста фибробластов-2 (FGF-2) (Majumdar et al., 2000; Chen et al., 2002). МСК способны отвечать на сигналы стимуляции гемопоэза. Обработка популяции МСК интерлейкином 1 α , стимулятором миелопоэза, вызывает секрецию колонистимулирующих факторов, необходимых для созревания ГСК (GM-CSF, M-CSF и G-CSF) (De Revel et al., 2002; De Ugarte et al., 2003).

Показано, что МСК отвечают и на сигналы повреждения ткани. При добавлении к популяции МСК *in vitro* гомогената ишемизированного головного мозга клетки активно начинали продуцировать фактор роста нервов (NGF), фактор роста гепатоцитов (HGF), а продукция фактора роста сосудов увеличивалась двукратно (Chen et al., 2002).

Косвенные данные о паракринных свойствах МСК *in vivo* были получены при трансплантации клеток в область ишемии головного мозга. Выявили, что при введе-

нии МСК существенно усиливалась миграция эндогенных НСК к зоне повреждения (Wang et al., 2002).

Данные о циркуляции МСК в крови сформировавшегося организма крайне противоречивы. Некоторым исследователям удалось выделить МСК из пуповинной крови, что косвенно свидетельствует о циркуляции этих клеток в организме новорожденного (Romanov et al., 2003; Hong et al., 2005; Lee et al., 2005). Сообщается и о неудачных попытках выделения МСК из пуповинной крови (Wexler et al., 2003).

Эксперименты по выделению МСК из крови взрослого организма дали противоречивые результаты. Удалось выделить МСК из периферической крови здоровых доноров и доказать их дифференцировочный потенциал (Zvafifler et al., 2000). Имеются упоминания о циркулирующих МСК у пациентов с раком груди (Fernandez et al., 1997). Однако представлены данные об отсутствии МСК в периферической крови (Lazarus et al., 1997). В циркулирующей крови присутствуют клетки со свойствами, близкими к МСК, но CD14-позитивные (позитивные по маркеру клеток моноцитарного ряда) (Kuwana et al., 2003). Однако более никому не удалось повторить результат японских исследователей.

Применение факторов мобилизации стволовых клеток, ГМ-КСФ и Г-КСФ, показало возможность обогащения популяции МСК в периферической крови. Воздействие ГМ-КСФ не приводило к миграции МСК в кровоток взрослого организма. Мобилизация МСК из КМ с использованием Г-КСФ приводит к выходу МСК в кровоток. Дифференцировочный потенциал клеток при этом сохраняется *in vitro* и *in vivo* (Kawada et al., 2004).

Миграция МСК в сформировавшемся организме в ответ на различные стимулы исследуется многими учеными. Известно, что при трансплантации МСК в организм взрослого животного без экспериментальных повреждений до 25 % донорского материала обнаруживается в красном костном мозге (Young et al., 1995; Wynn et al., 2004).

Особый интерес представляет миграция МСК в организме, имеющем зону повреждения. Показано, что эндогенные МСК мигрируют в область отторжения аллогенного трансплантата (Wu et al., 2003). При трансплантации МСК в кровоток или область, граничную с травмой, донорские клетки мигрируют в зону повреждения (Lu et al., 2001; Кругляков и др., 2004, 2005; Ji et al., 2004).

Механизм миграции МСК в область повреждения изучен недостаточно. Показано, что на клеточной мембране МСК, как и на ГСК, экспрессируется CXCR4 (CD184) — рецептор хемокина SDF-1, одного из хемокинов, участвующих в развитии реакции воспаления (Wynn et al., 2004). Постоянная продукция SDF-1 выявлена в КМ позвоночных животных, а также в зонах ишемического повреждения ткани (Brenner et al., 2004; Imitola et al., 2004; Tang et al., 2005; Togle et al., 2005). На модели ишемии головного мозга показано, что инъекции белка MCP-1, белка MIP-1 β и ИЛ-8 усиливают миграцию МСК в зону повреждения (Wang et al., 2002b). Полагают, что миграция эндогенных МСК в зону повреждения определяется именно цитокинами и хемокинами воспаления.

Дифференцировочный потенциал МСК, их паракринные свойства позволили многим исследователям рассматривать эти клетки как очень перспективный материал для клеточной терапии различных заболеваний. Более того, возможность использования аутологичного материала многократно увеличила интерес к МСК как к агентам клеточной терапии. МСК применяют для экспериментально-

го восстановления костной, хрящевой и мышечной тканей, связок, покровов и миокарда (Kan et al., 2005).

В современных исследованиях используют различные подходы к применению МСК. При восстановлении костной, хрящевой тканей и связок используют матриксы, позволяющие восстанавливать трехмерную структуру, смоченные или засеянные МСК. В качестве матриксов для восстановления костной ткани применяют гидроксипатит кальция, карбонат кальция, никелид титана, деминерализованный костный матрикс и керамику (Bruder et al., 1998; Wang, Glimcher, 1999; Dong et al., 2002; Wang et al., 2002a; Chen et al., 2003). Схожие технологии применяются и при пластике хрящевой ткани и связок взрослого организма. В качестве матриксов используют коллагеновые пленки, аллогенный донорский материал, фибриновые пленки, полимер лактогликановой кислоты и шелк (Young et al., 1998; Yamada et al., 2003; Meinel et al., 2004; Juncosa-Melvin et al., 2005; Uematsu et al., 2005).

Инъекция клеточной суспензии МСК в область хирургического повреждения хряща приводит к формированию хрящевой ткани *de novo* (Im et al., 2001). При инъекции МСК в межпозвонковый диск увеличивалась продукция компонентов межклеточного вещества хряща, а клетки дифференцировались в хондроциты (Zhang et al., 2005).

При восстановлении кожных покровов часто используют дермальный эквивалент, созданный на основе стволовых клеток кожи и кератиноцитов. Применение МСК при раневых повреждениях кожи и ожогах также дает хорошие результаты. Под руководством Шумакова показано, что трансплантация МСК на раневую поверхность стимулирует регенерацию кожных покровов и предотвращает формирование келоидного рубца (Шумаков и др., 2002).

Трансплантация МСК при ишемических повреждениях головного мозга и травме приводила к стимуляции миграции эндогенных стволовых клеток в область повреждения. Показано, что при интрацеребральном введении МСК объем ишемического повреждения мозга уменьшается (Guan et al., 2004). Часть МСК дифференцируется в нейрональном направлении и интегрируется в нервную ткань. При этом наблюдается частичное восстановление неврологических нарушений у экспериментальных животных (Kang et al., 2003).

Некоторые исследователи рассматривают МСК как средство доставки генетического материала при генотерапии повреждений нервной ткани. Так, МСК, модифицированные нейротрофическими факторами (BDNF, CNTF и GDNF), введенные в кровоток животным с экспериментальным инсультом, мигрировали в область повреждения и существенно уменьшили объем повреждения мозга (Kurosumi et al., 2005).

Возможность применения МСК для терапии поврежденной мышечной ткани была показана на модели частичного разрыва бедренной мышцы (Natsu et al., 2004). Авторы сообщили, что при введении клеточной суспензии в область разрыва мышцы reparative процессы ускорялись, МСК дифференцировались в миоциты.

Сочетанные пересадки ГСК и МСК в экспериментальной гематологии показали, что котрансплантация МСК существенно усиливает приживление донорского КМ (Angelopoulou et al., 2003; Bensidhoum et al., 2004). Более того, такая котрансплантация не сопровождалась частым для данного рода операцией осложнением — реакцией «хозяин против трансплантата». Результаты этих

исследований позволили начать клиническое исследование по применению МСК при пересадках КМ. Результаты первых применений МСК полностью совпали с ожиданиями врачей, реакции «трансплантат против хозяина» у экспериментальных больных не наблюдалось (Lazarus et al., 2005; Le Blanc, Ringden, 2005).

Вопрос об онкогенном потенциале МСК — один из важнейших в свете клинического применения клеточной терапии. При трансплантации МСК животным с новообразованиями или при котрансплантации МСК и опухоли клетки мигрируют в опухоль, где формируют стromу. В данной исследовательской модели центральная часть солидной опухоли является зоной ишемического повреждения, и репараторные свойства МСК реализуются там в полном объеме (Studeny et al., 2004). Клетки, мигрируя в опухоль, стимулируют ангиогенез и как следствие стимулируют рост опухоли. Дифференцировку МСК в каком-либо направлении исследователи не изучали.

Специфическая миграция МСК в опухоли позволила исследователям применять эти клетки в генотерапии онкологических заболеваний. Показано, что МСК человека и экспериментальных животных не теряют свойств миграции после их модификации различными вирусными системами (Chan et al., 2005). Использование клеток как метод доставки лекарственного препарата уже показано на экспериментальных моделях. Применение МСК, модифицированных интерфероном- α (INF α), позволило продлить срок жизни мыши с терминальной стадией INF-зависимой опухоли в 2 раза. При этом за время продукции INF α размеры опухоли существенно уменьшились (Studeny et al., 2002). К сожалению, разработка эффективных систем переноса и экспрессии генов не завершена. Многие системы заканчивают работу в течение 1—2 мес. Однако результаты, полученные в экспериментальной онкологии, позволяют предположить, что потенциал такой терапии заболеваний очень высок. Следует отметить, что схожие технологии применяются для других патологий. Внесение в МСК генов транскрипционных факторов, определяющих различные дифференцировки, ускоряет процессы формирования ткани из донорского материала. Более того, данные методики позволяют исследователям, имея аутологичный клеточный материал, проводить терапию генетических заболеваний. Уже начато клиническое исследование по применению МСК у пациентов с несовершенным остеогенезом (Le Blanc et al., 2005; Pochampally et al., 2005). Схожее исследование планируется и при миодистрофии Дюшена.

Таким образом, на основании имеющихся данных можно предположить, что стволовые клетки взрослого организма могут являться агентами клеточной терапии повреждений и заболеваний тех органов и тканей, откуда они выделены. Некоторые типы стволовых клеток, мультипотентных по своим свойствам, могут применяться для терапии различных тканей с дифференцировкой в неортодоксальных для них направлениях. Такими стволовыми клетками могут являться МСК.

Список литературы

- Блинова М. И., Калмыкова Н. В., Юдинцева Н. М., Кухарева Л. В., Пинаев Г. П., Лапин А. Ю., Мельцова А. Ж., Серговская Т. В., Синицына В. Ф., Власов А. С. 2006. Использование культурируемых клеток кожи человека для лечения трофических язв. Клеточные культуры. 21 : 33—44.
- Кругляков П. В., Соколова И. Б., Аминева Х. К., Некрасова Н. Н., Вийде С. В., Чередниченко Н. Н., Зарыцкий А. Ю., Семерник Е. Н., Кислякова Т. В., Полянцев Д. Г. 2004. Терапия экспериментального инфаркта миокарда у крыс с помощью трансплантации синтетических мезенхимных стволовых клеток. Цитология. 46 (12) : 1043—1054.
- Кругляков П. В., Соколова И. Б., Аминева Х. К., Некрасова Н. Н., Вийде С. В., Чередниченко Н. Н., Зарыцкий А. Ю., Семерник Е. Н., Кислякова Т. В., Полянцев Д. Г. 2005. Влияние сроков трансплантации мезенхимных стволовых клеток на регенерацию сердечной мышцы крыс после инфаркта. Цитология. 47 (5) : 400—411.
- Лапин А. Ю., Топузов Э. Г., Рубцов М. А., Калмыкова Н. В., Блинова М. И., Пинаев Г. П. 2003. Первый опыт использования культурируемых нормальных фибробластов и кератиноцитов человека в комплексном лечении трофических язв нижних конечностей сосудистого генеза. Трансплантология. 4 (1) : 157—159.
- Лурия Е. А., Чахатова О. В., Фридеништейн А. Я. 1966. Происхождение фибробластоподобных клеток в культуре костного мозга. Цитология. 8 (1) : 115—119.
- Фридеништейн А. Я., Деригласова Ю. Ф., Кулагина Н. Н. 1973. Клонирование клеток-предшественников фибробластов в монослоевой культуре. Бюл. эксперим. биол. мед. 75 (10) : 90—94.
- Фридеништейн А. Я., Петракова К. В., Киралесова А. И., Фролова Г. И. 1968. Предшественники костной и гемопоэтической тканей. Анализ гетеротопических трансплантаций костного мозга. Цитология. 10 (5) : 557—567.
- Фридеништейн А. Я., Чайлахян Р. К., Герасимов Ю. В. 1986. Пролиферативный и дифференцировочный потенциал скелетных костномозговых колониесформирующих клеток. Цитология. 28 (3) : 341—349.
- Шумаков В. И., Онищенко И. А., Крашенинников М. Е., Зайденов В. А., Потапов И. В., Башкина Л. В., Берсенев А. В. 2002. Костный мозг как источник получения мезенхимных клеток для восстановительной терапии поврежденных органов. Вестник трансплантологии искусственных органов. 4 : 46—53.
- Юдинцева Н. М., Горелик Ю. В., Дьяконов И. А., Калмыкова Н. В., Блинова М. И., Пинаев Г. П. 1999. Трансплантология аллогенных эпителиальных пластов кератиноцитов на ожоговые раны. Цитология. 41 (3—4) : 328.
- Abe S., Lauby G., Boyer C., Rennard S., Sharp J. 2003. Transplanted BM and BM side population cells contribute progeny to the lung and liver in irradiated mice. Cytotherapy. 5 : 523—533.
- Abrams R., Deisseroth A. 1979. Prospects for accelerating hematopoietic recovery following myelosuppressive therapy by using autologous, cryopreserved hematopoietic stem cells collected solely from the peripheral blood. Exp. Hematol. 7 (Suppl. 5) : 107—115.
- Alison M. 2003. Tissue-based stem cells: ABC transporter proteins take centre stage. J. Pathol. 200 : 547—550.
- Alonso L., Fuchs E. 2003. Stem cells of the skin epithelium. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 100 (Suppl. 1) : 11 830—11 835.
- Alvarez-Dolado M., Pardal R., Garcia-Verdugo J., Fike J., Lee H., Pfeffer K., Lois C., Morrison S., Alrez-Buylla A. 2003. Fusion of bone-marrow-derived cells with Purkinje neurons, cardiomyocytes and hepatocytes. Nature. 425 : 968—973.
- Amoh Y., Li L., Katsuoka K., Penman S., Hoffman R. 2005. Multipotent nestin-positive, keratin-negative hair-follicle bulge stem cells can form neurons. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 102 : 5530—5534.
- Angelopoulou M., Novelli E., Grove J., Rinder H., Civin C., Cheng L., Krause D. 2003. Cotransplantation of human mesenchymal stem cells enhances human myelopoiesis and megakaryocytopoiesis in NOD/SCID mice. Exp. Hematol. 31 : 413—420.
- Anjos-Afonso F., Siapati E., Bonnet D. 2004. In vivo contribution of murine mesenchymal stem cells into multiple cell-types under minimal damage conditions. J. Cell Sci. 117 : 5655—5664.
- Asakura A., Seale P., Grgis-Gabardo A., Rudnicki M. 2002. Myogenic specification of side population cells in skeletal muscle. J. Cell. Biol. 159 : 123—134.

- Bazan E., Alonso F., Redondo C., Lopez-Toledano M., Alfonso J., Reimers D., Herranz A., Paine C., Serrano A., Cobacho N., Caso E., Lobo M. 2004. In vitro and in vivo characterization of neural stem cells. *Histol. Histopathol.* 19 : 1261—1275.
- Bel A., Messas E., Agbulut O., Richard P., Samuel J., Brunoval P., Hagege A., Menasche P. 2003. Transplantation of autologous fresh bone marrow into infarcted myocardium: a word of caution. *Circulation.* 108 (Suppl. 1) : II247—252.
- Beltrami A., Barlucchi L., Torella D., Baker M., Limana F., Chimenti S., Kasahara H., Rota M., Musso E., Urbanek K., Leri A., Kajstura J., Nadal-Ginard B., Anversa P. 2003. Adult cardiac stem are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell.* 114 : 763—776.
- Bensidhoum M., Chapel A., Francois S., Demarquay C., Mazurier C., Fouillard L., Bouchet S., Bertho J., Gourmelon P., Aiguerperse J., Charbord P., Gorin N., Thierry D., Lopez M. 2004. Homing of in vitro expanded Stro-1+ or Stro-1+ human mesenchymal stem cells into the NOD/SCID mouse and their role in supporting human CD34 cell engraftment. *Blood.* 103 : 3313—3319.
- Bhagavati S., Xu W. 2004. Isolation and enrichment of skeletal muscle progenitor cells from mouse bone marrow. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 318 : 119—124.
- Bithell A., Williams B. 2005. Neural stem cells and cell and cell replacement therapy: making the right cells. *Clin. Sci. (Lond.)* 108 : 13—22.
- Bjerknes M., Cheng H. 1999. Clonal analysis of mouse intestinal epithelial progenitors. *Gastroenterology.* 116 : 7—14.
- Breems D., Blokland E., Siebel K., Mayen A., Engels L., Ploemacher R. 1998. Stroma-contact prevents loss of hematopoietic stem cell quality during ex vivo expansion of CD34+ mobilized peripheral blood stem cells. *Blood.* 91 : 111—117.
- Brenner S., Whiting-Theobald N., Kawai T., Linton G., Rudikoff A., Choi U., Ryser M., Murphy P., Sechler J., Malech H. 2004. CXCR4-transgene expression significantly improves marrow engraftment of cultured hematopoietic stem cells. *Stem Cells.* 22 : 1128—1133.
- Bruder S., Kraus K., Goldberg V., Kadiyala S. 1998. The effect of implants loaded with autologous mesenchymal stem cells on the healing of canine segment bone defects. *J. Bone Joint Surg. Amer.* 80 : 985—996.
- Burnstein R., Foltyne T., He X., Menon D., Svendsen C., Caldwell M. 2004. Differentiation and migration of long term expanded human neural progenitors in a partial lesion model of Parkinson's disease. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 36 : 702—713.
- Camargo F., Green R., Capetanaki Y., Jackson K., Goodell M. 2003. Single hematopoietic stem cells generate skeletal muscle through myeloid intermediates. *Nat. Med.* 9 : 1520—1527.
- Campagnoli C., Bellantuono I., Kumar S., Fairbairn L., Roberts I., Fisk N. 2002. High transduction efficiency of circulating first trimester fetal mesenchymal stem cells: potential targets for in utero ex vivo gene therapy. *BJOG.* 109 : 952—954.
- Campagnoli C., Roberts I., Kumar S., Bennett P., Bellantuono I., Fisk N. 2001. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow. *Blood.* 98 : 2396—2402.
- Capela A., Temple S. 2002. LeX/ssea-1 is expressed by adult mouse CNS stem cells, identifying them as nonpendymal. *Neuron.* 35 : 865—875.
- Chan J., O'Donoghue K., de la Fuente J., Roberts I., Kumar S., Morgan J., Fisk N. 2005. Human fetal mesenchymal stem cells as vehicles for gene delivery. *Stem Cells.* 23 : 93—102.
- Chen S., Revoltella R., Papini S., Michelini M., Fitzgerald W., Zimmerberg J., Margolis L. 2003. Multilineage differentiation of rhesus monkey embryonic stem cells in three-dimensional culture systems. *Stem Cells.* 21 : 281—295.
- Chen X., Li Y., Wang L., Katakowski M., Zhang L., Chen J., Xu Y., Gautam S., Chopp M. 2002. Ischemic rat brain extracts induce human marrow stromal cell growth factor production. *Neuropathology.* 22 : 275—279.
- Cheng L., Hammond H., Ye Z., Zhan X., Deavid G. 2003. Human adult marrow cells support prolonged expansion of human embryonic stem cells in culture. *Stem Cells.* 21 : 131—142.
- Chu J., Zhao J., Ding S., Xu S., Liu A., Wang S. 2002. Activation of automesenchymal stem cells of skeletal muscle by bone morphogenetic protein for rescuing bone marrow failure. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yan Xue Bao.* 24 : 272—275.
- Clarke D., Johansson C., Wilbertz J., Veress B., Nilsson E., Karlstrom H., Lendahl U., Frisen J. 2000. Generalized potential of adult neural stem cells. *Science.* 288 : 1660—1663.
- Colter D., Class R., DiGirolamo C., Prockop D. 2000. Rapid expansion of recycling stem cells in cultures of plastic-adherent cells from human bone marrow. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 97 : 3213—3218.
- Colter D., Sekiya I., Prockop D. 2001. Identification of a subpopulation of rapidly self-renewing and multipotential adult stem cells in colonies of human marrow stromal cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 98 : 7841—7845.
- Cortes F., Deschaseaux F., Uchida N., Labastie M., Friera A., He D., Chartbord P., Peault B. 1999. HCA, an immunoglobulin-like adhesion molecule present on the earliest human hematopoietic precursor cells, is also expressed by stromal cells in blood-forming tissues. *Blood.* 93 : 826—837.
- Deng W., Obrocka M., Fischer I., Prockop D. 2001. In vitro differentiation of human marrow stromal cells into early progenitors of neural cells by conditions that increase intracellular cyclic AMP. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 282 : 148—152.
- De Revel T., Becard N., Sorg T., Rousseau S., Spano J., Thiebot H., Methali M., Gras G., Le Grand R., Dormont D. 2002. Retroviral interleukin 1 alpha gene transfer in bone marrow stromal cells in a primate model: induction of myelopoiesis stimulation. *Br. J. Haematol.* 118 : 875—884.
- De Ugarte D., Alfonso Z., Zuk P., Elbarbary A., Zhu M., Ashjianian P., Benhaim P., Hedrick M., Fraser J. 2003. Differential expression of stem cell mobilization-associated molecules on multi-lineage cells from adipose tissue and bone marrow. *Immunol. Lett.* 89 : 267—270.
- Dexter T., Garland J., Scott D., Scolnick E., Metcalf D. 1980. Growth of factor-dependent hematopoietic precursor cell lines. *J. Exp. Med.* 152 : 1036—1047.
- Dicker A., Le Blanc K., Astrom G., van Harmelen V., Gothers-trom C., Blomqvist L., Arner P., Ryden M. 2005. Functional studies of mesenchymal stem cells derived from adult human adipose tissue. *Exp. Cell Res.* 308 : 283—290.
- Dong J., Uemura T., Kikuchi M., Tanaka J., Tateishi T. 2002. Long-term durability of porous hydroxyapatite with low-pressure system to support osteogenesis of mesenchymal stem cells. *Bio-med. Mater. Eng.* 12 : 203—209.
- Doolley D., Oppenlander B., Xiao M. 2004. Analysis of primitive CD34- and CD34+ hematopoietic cells from adults: gain and loss of CD34 antigen by undifferentiated cells are closely linked to proliferative status in culture. *Stem Cel.* 22 : 556—569.
- Dunnwald M., Tomanek-Chalkley A., Alexandrunas D., Fishbaugh J., Bickenbach J. 2001. Isolating a pure population of epidermal stem cells for use in tissue engineering. *Exp. Dermatol.* 10 : 45—54.
- Fernandez M., Simon V., Herrera G., Cao C., Del Favero H., Minguell J. 1997. Detection of stromal cells in peripheral blood progenitor cell collections from breast cancer patients. *Bone Marrow Transplant.* 20 : 265—271.
- Ferrari G., Cusella-De Angelis G., Coletta M., Paolucci E., Stornaiuolo A., Cossu G., Mavilio F. 1998. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science.* 279 : 1528—1530.
- Filip S., English D., Mokry J. 2004. Issues in stem cell plasticity. *J. Cell Mol. Med.* 8 : 572—577.
- Florek M., Haase M., Marzesco A., Freund D., Ehninger G., Huttner W., Corbeil D. 2005. Prominin-1/CD133, a neural and hematopoietic stem cell marker, is expressed in adult human differentiated cells and certain types of kidney cancer. *Cell Tissue. Res.* 319 : 15—26.
- Friedenstein A., Chailakhyan R., Gerasimov U. 1987. Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation on diffusion chambers. *Cell Tissue Kinet.* 20 : 263—272.
- Friedenstein A., Gorskaja J., Kulagina N. 1976. Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs. *Exp. Hematol.* 4 : 267—274.

- Gohari S., Gambla C., Healey M., Spaulding G., Gordon K., Swan J., Cook B., West D., Lapierre J. 2002. Evaluation of tissue-engineered skin (human skin substitute) and secondary intention healing in the treatment of full thickness wounds after Mohs micrographic or excisional surgery. *Dermatol. Surg.* 28 : 1107—1114.
- Goodell M., Brose K., Paradis G., Conner A., Mulligan R. 1996. Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating *in vivo*. *J. Exp. Med.* 183 : 1797—1806.
- Gothot A., van der Loo J., Clapp D., Srour E. 1998. Cell cycle-related changes in repopulating capacity of human mobilized peripheral blood CD34(+) cells in non-obese diabetic/severe combined immune-deficient mice. *Blood.* 92 : 2641—2649.
- Guan X., Xu J., Li L., Liu G. 2004. Study on mesenchymal stem cells entering the brain through the blood-brain barrier. *Zhonghua Er Ke Za Zhi.* 42 : 920—923.
- Guo Z., Yang J., Liu X., Li X., Hou C., Tang P., Mao N. 2001. Biological features of mesenchymal stem cells from human bone marrow. *Chin. Med. J. (Engl.).* 114 : 950—953.
- Gupta S., Zhou P., Hassoun H., Kewalramani T., Reich L., Costello S., Drake L., Klimek V., Dhodapkar M., Teruya-Feldstein J., Hedvat C., Kalakonda N., Fleisher M., Filippa D., Qin J., Nimer S., Comenzo R. 2005. Hematopoietic stem cell mobilization with intravenous melphalan and G-CSF in patients with chemoresponsive multiple myeloma: report of a phase II trial. *Bone Marrow Transplant.* 35 : 441—447.
- Hasegawa T., Suga Y., Mizogushi M., Ikeda S., Ogawa H., Kubo K., Matsui H., Kagawa S., Kuroyanagi Y. 2004. Clinical trial of allogeneic cultured dermal substitute for the treatment of intractable skin ulcers in 3 patients with recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *Amer. Acad. Dermatol.* 50 : 803—804.
- Hilbe W., Dirnhofer S., Oberwasserlechner F., Schmid T., Gunsilius E., Hilbe G., Woll E., Kahler C. 2004. CD133 positive endothelial progenitor cells contribute to the tumour vasculature in non-small cell lung cancer. *J. Clin. Pathol.* 57 : 965—969.
- Hong S., Gang E., Jeong J., Ahn C., Hwang S., Yang I., Park H., Han H., Kim H. 2005. *In vitro* differentiation of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 330 : 1153—1161.
- Hung S., Chen N., Hsien S., Li H., Ma H., Lo W. 2002. Isolation and characterization of size-sieved stem cells from human bone marrow. *Stem Cells.* 20 : 249—258.
- Im G., Kim D., Shin J., Hyun C., Cho W. 2001. Repair of cartilage defect in the rabbit with cultured mesenchymal stem cells from bone marrow. *J. Bone Joint Surg. Br.* 83 : 289—294.
- Imai K., Kobayashi M., Wang J., Ohiro Y., Hamada J., Cho Y., Imamura M., Musashi M., Kondo T., Hosokawa M., Asaka M. 1999. Selective transendothelial migration of hematopoietic progenitor cells: a role in homing of progenitor cells. *Blood.* 93 : 149—156.
- Imitola J., Raddassi K., Park K., Mueller F., Nieto M., Teng Y., Frenkel D., Li J., Sidman R., Walsh C., Snyder E., Khoury S. 2004. Directed migration of neural stem cells to sites of CNS injury by the stromal cell-derived factor 1 alpha/CXC chemokine receptor 4 pathway. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 101 : 18 117—18 122.
- Inzunza J., Gertow K., Stromberg M., Matilainen E., Blennow E., Skottman H., Wolbank S., Ahrlund-Richter L., Hovatta O. 2005. Derivation of human embryonic stem cell lines in serum replacement medium using postnatal human fibroblasts as feeder cells. *Stem Cells.* 23 : 544—549.
- Iwatani H., Ito E., Imai E., Matsuzaki Y., Suzuki A., Yamamoto M., Okabe M., Hori M. 2004. Hematopoietic and nonhematopoietic potentials of Hoechst(low)/side population cells isolated from adult rat kidney. *Kidney Int.* 65 : 1604—1614.
- Jaiswal N., Haynesworth S., Caplan A., Bruder S. 1997. Osteogenic differentiation of purified, culture-expanded human mesenchymal stem cells *in vitro*. *J. Cell. Biochem.* 64 : 295—312.
- Jankowski R., Deasy B., Cao B., Gates C., Huard J. 2002. The role of CD34 expression and cellular fusion in the regeneration capacity of myogenic progenitor cells. *J. Cell Sci.* 115 : 4361—4374.
- Jansen J., Hanks S., Thompson J., Dugan M., Akard L. 2005. Transplantation of hematopoietic stem cells from the peripheral blood. *J. Cell Mol. Med.* 9 : 37—50.
- Ji J., He B., Dheen S., Tay S. 2004. Interactions of chemokines and chemokine receptors mediate the migration of mesenchymal stem cells to the impaired site in the brain after hypoglossal nerve injury. *Stem Cells.* 22 : 415—427.
- Jiang Y., Vaessen B., Lenvik T., Blackstad M., Reyes M., Verfaillie C. 2002. Multipotent progenitor cells can be isolated from postnatal murine bone marrow, muscle, and brain. *Exp. Hematol.* 30 : 896—904.
- Jo D., Rafii S., Hamada T., Moore M. 2000. Chemotaxis of primitive hematopoietic cells in response to stromal cell-derived factor-1. *J. Clin. Invest.* 105 : 101—111.
- Johnstone B., Hering T., Caplan A., Goldberg V., Yoo J. 1998. *In vitro* chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells. *Exp. Cell Res.* 238 : 265—272.
- Jorgensen C., Djouad F., Apparailly F., Noel D. 2003. Engineering mesenchymal stem cells for immunotherapy. *Gene Ther.* 10 : 928—931.
- Juncosa-Melvin N., Boivin G., Galloway M., Gooch C., West J., Sklenka A., Butler D. 2005. Effects of cell-to-collagen ratio on mesenchymal stem cell-seeded implants on tendon repair biomechanics and histology. *Tissue Eng.* 11 : 448—457.
- Kamihata H., Matsubara H., Nishiu T., Fujiyama S., Tsutsumi Y., Ozono R., Masaki H., Mori Y., Iba O., Tateishi E., Kosaki A., Shintani S., Murohara T., Imaizumi T., Iwasaka T. 2001. Implantation of bone marrow mononuclear cells into ischemic myocardium enhances collateral perfusion and regional function via side supply of angioblasts, angiogenic ligands, and cytokines. *Circulation.* 104 : 1046—1052.
- Kan I., Melamed E., Offen D. 2005. Integral therapeutic potential of bone marrow mesenchymal stem cells. *Curr. Drug. Targets.* 6 : 31—41.
- Kang S., Lee D., Bae Y., Kim H., Baik S., Jung J. 2003. Improvement of neurological deficits by intracerebral transplantation of human adipose tissue-derived stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Exp. Neurol.* 183 : 355—366.
- Katz A., Tholpady A., Tholpady S., Shang H., Ogle R. 2005. Cell surface and transcriptional characterization of human adipose-derived adherent stromal (hADAS) cells. *Stem Cells.* 23 : 412—423.
- Kawada H., Fujita J., Kinjo K., Matsuzaki Y., Tsuma M., Miyatake H., Muguruma Y., Tsuboi K., Itabashi Y., Ikeda Y., Ogawa S., Okano H., Hotta T., Ando K., Fukuda K. 2004. Nonhematopoietic mesenchymal stem cells can be mobilized and differentiate into cardiomyocytes after myocardial infarction. *Blood.* 104 : 3581—3587.
- Kogler G., Radke T., Lefort A., Sensken S., Fischer J., Sorg R., Wernet P. 2005. Cytokine production and hematopoietic supporting activity of cord blood-derived unrestricted somatic stem cells. *Exp. Hematol.* 33 : 573—583.
- Kruger G., Mosher J., Bixby S., Joseph N., Iwashita T., Morrison S. 2002. Neural crest stem cells persist in the adult gut but undergo changes in self-renewal, neuronal subtype potential, and factor responsiveness. *Neuron.* 35 : 657—669.
- Kurozumi K., Nakamura K., Tamiya T., Kawano Y., Ishii K., Kobune M., Hirai S., Uchida H., Sasaki K., Ito Y., Kato K., Honmou O., Houkin K., Date I., Hamada H. 2005. Mesenchymal stem cells that produce neurotrophic factors reduce ischemic damage in the rat middle cerebral artery occlusion model. *Mol. Ther.* 11 : 96—104.
- Kuwana M., Okazaki Y., Kodama H., Izumi K., Yasuoka H., Ogawa Y., Kawakami Y., Ikeda Y. 2003. Human circulating CD14+ monocytes as a source of progenitors that exhibit mesenchymal cell differentiation. *J. Leukoc. Biol.* 74 : 833—845.
- Kuznetsov S., Mankani M., Gronthos S., Satomura K., Bianco P., Robey P. 2001. Circulating skeletal stem cells. *J. Cell Biol.* 153 : 1133—1140.
- Lagasse E., Connors H., Al-Dhalimy M., Reitsma M., Dohse M., Osborne L., Wang X., Finegold M., Weissman I., Grompe M. 2000. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes *in vivo*. *Nat. Med.* 6 : 1229—1234.

- Lalykina K., Latsinik N., Epikhina S., Fridenshtein A. 1976. Self-maintenance of induced bone tissue Bull. Exp. Biol. Med. 81 : 239—242.
- Lanza R., Moore M., Wakayama T., Perry A., Shieh J., Hendrikx J., Leri A., Chimenti S., Monsen A., Nurzynska D., West M., Kajstura J., Anversa P. 2004. Regeneration of the infarcted heart with stem cells derived by nuclear transplantation. Circ. Res. 94 : 820—827.
- Laurson J., Selden C., Hodgson H. 2005. Hepatocyte progenitors in man and in rodents—multiple pathways, multiple candidates. Int. J. Exp. Pathol. 86 : 1—18.
- Lazarus H., Haynesworth S., Gerson S., Caplan A. 1997. Human bone marrow-derived mesenchymal (stromal) progenitor cells (MPCs) cannot be recovered from peripheral blood progenitor cell collections. J. Hematother. 6 : 447—455.
- Lazarus H., Koc O., Devine S., Curtin P., Maziarz R., Holland H., Shpall E., McCarthy P., Atkinson K., Cooper B., Gerson S., Laughlin M., Loberiza F., Moseley A., Bacigalupo A. 2005. Cotransplantation of HLA-identical sibling culture-expanded mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells in hematologic malignancy patients. Biol. Blood Marrow Transplant. 11 : 389—398.
- Le Blanc K., Gotherstrom C., Ringden O., Hassan M., McMahon R., Horwitz E., Anneren G., Axelsson O., Nunn J., Ewald U., Norden-Lindeberg S., Jansson M., Dalton A., Strom E., Westergren M. 2005. Fetal mesenchymal stem-cell engraftment in bone after in utero transplantation in a patient with severe osteogenesis imperfecta. Transplantation. 79 : 1607—1614.
- Le Blanc K., Ringden O. 2005. Use of mesenchymal stem cells for the prevention of immune complications of hematopoietic stem cell transplantation. Haematologica. 90 : 438a.
- Lee M., Yang M., Park J., Kim H., Kim Y., Choi J. 2005. Isolation of mesenchymal stem cells from cryopreserved human umbilical cord blood. Int. J. Hematol. 81 : 126—130.
- Le Visage C., Dunham B., Flint P., Leong K. 2004. Coculture of mesenchymal stem cells and respiratory epithelial cells to engineer a human composite respiratory mucosa. Tissue Eng. 10 : 1426—1435.
- Long X., Olszewski M., Huang W., Kletzel M. 2005. Neural cell differentiation *in vitro* from adult human bone marrow mesenchymal stem cells. Stem Cells Develop. 14 : 65—69.
- Lu D., Li Y., Wang L., Chen J., Mahmood A., Chopp M. 2001. Intraarterial administration of marrow stromal cells in a rat model of traumatic brain injury. J. Neurotrauma. 18 : 813—819.
- Majumdar M., Thiede M., Haynesworth S., Bruder S., Gerson S. 2000. Human marrow-derived mesenchymal stem cells (MSCs) express hematopoietic cytokines and support long-term hematopoiesis when differentiated toward stromal and osteogenic lineages. J. Hematother. Stem Cell Res. 9 : 841—848.
- Marshall C., Moore R., Thorogood P., Brickell P., Kinnon C., Thrasher A. 1999. Detailed characterization of the human aorta-gonad-mesonephros region reveals morphological polarity resembling a hematopoietic stromal layer. Develop. Dyn. 215 : 139—147.
- Martin D., Cox N., Hathcock T., Niemeyer G., Baker H. 2002. Isolation and characterization of multipotential mesenchymal stem cells from feline bone marrow. Exp. Hematol. 30 : 879—886.
- McMillen M., Simmons R. 1986. Long-term bone marrow culture as a stem cell source for differentiate. J. Surg. Res. 40 : 193—197.
- Meinel L., Hofmann S., Karageorgiou V., Zichner L., Langer R., Kaplan D., Vunjak-Novakovic G. 2004. Engineering cartilage-like tissue using human mesenchymal stem cells and silk protein scaffolds. Biotechnol. Bioeng. 88 : 379—391.
- Michel M., L'Heureux N., Pouliot R., Xu W., Auger F., Germani L. 1999. Characterization of a new tissue-engineered human skin equivalent with hair. In Vitro Cell Develop. Biol. Anim. 35 : 318—326.
- Moore M. 2002. Cytokine and chemokine networks influencing stem cell proliferation, differentiation, and marrow homing. J. Cell. Biochem. Suppl. 38 : 29—38.
- Morrison S., Weissman I. 1994. The long-term repopulating subset of hematopoietic stem cells is deterministic and isolatable by phenotype. Immunity. 1 : 661—673.
- Morrison S., White P., Zock C., Anderson D. 1999. Prospective identification, isolation by flow cytometry, and *in vivo* self-renewal of multipotent mammalian neural crest stem cells. Cell. 96 : 737—749.
- Mothe A., Tator C. 2005. Proliferation, migration, and differentiation of endogenous ependymal region stem/progenitor cells following minimal spinal cord injury in the adult rat. Neuroscience. 131 : 177—187.
- Natsu K., Ochi M., Mochizuki Y., Hachisuka H., Yanada S., Yasunaga Y. 2004. Allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stromal cells promote the regeneration of injured skeletal muscle without differentiation into myofibers. Tissue Eng. 10 : 1093—1112.
- Ohneda O., Fennie C., Zheng Z., Donahue C., La H., Villacorta R., Cairns B., Lasky L. 1998. Hematopoietic stem cell maintenance and differentiation are supported by embryonic aorta-gonad-mesonephros region-derived endothelium. Blood. 92 : 908—919.
- Okubo T., Matsui N., Yanai N., Obinata M. 2000. Stroma-dependent maintenance of cytokine responsive hematopoietic progenitor cells derived from long-term bone marrow culture. Cell Struct. Funct. 25 : 133—139.
- Olmsted-Davis E., Gugala Z., Camargo F., Gannon F., Jackson K., Kienstra K., Shine H., Lindsey R., Hirschi K., Goodell M., Brenner M., Davis A. 2003. Primitive adult hematopoietic stem cells can function as osteoblast precursors. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 100 : 15 877—15 882.
- Oostendorp R., Harvey K., Kusadasi N., de Brujin M., Saris C., Ploemacher R., Medvinsky A., Dzierzak E. 2002a. Stromal cell lines from mouse aorta-gonads-mesonephros subregions are potent supporters of hematopoietic stem cell activity. Blood. 99 : 1183—1189.
- Oostendorp R., Medvinsky A., Kusadasi N., Nakayama N., Harvey K., Orelia C., Ottersbach K., Covey T., Ploemacher R., Saris C., Dzierzak E. 2002b. Embryonal subregion-derived stromal cell lines from novel temperature-sensitive SV40 T antigen transgenic mice support hematopoiesis. J. Cell Sci. 115 : 2099—2108.
- Orschell-Tracyoff C., Hiatt K., Dagher R., Rice S., Yoder M., Srour E. 2000. Homing and engraftment potential of Sca-1(+)lin(—) cells fractionated on the basis of adhesion molecule expression and position in cell cycle. Blood. 96 : 1380—1387.
- Osawa M., Nakamura K., Nishi N., Takahashi N., Tokumoto Y., Inoue H., Nakuchi H. 1996. *In vivo* self-renewal of c-Kit⁺ Sca-1⁺ Lin^(low) hemopoietic stem cells. J. Immunol. 156 : 3207—3214.
- Oswald J., Boxberger S., Jorgensen B., Feldman S., Ehninger G., Bornhauser M., Werner C. 2004. Mesenchymal stem cells can be differentiated into endothelial cells *in vitro*. Stem Cells. 22 : 377—384.
- Parker M., Seale P., Rudnicki M. 2003. Looking back to the embryo: defining transcriptional networks in adult myogenesis. Nat. Rev. Genet. 4 : 497—507.
- Pellegrini G., Bondanza S., Guerra L., De Luca M. 1998. Cultivation of human keratinocyte stem cells: current and future clinical applications. Med. Biol. Eng. Comput. 36 : 778—790.
- Pereira R., Halford K., O'Hara M., Leeper D., Sokolov B., Pollard M., Bagasra O., Prockop D. 1995. Cultured adherent cells from marrow can serve as long-lasting precursor cells for bone, cartilage, and lung in irradiated mice. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 92 : 4857—4861.
- Pesce M., Anastassiadis K., Scholer H. 1999. Oct-4: lessons of totipotency from embryonic stem cells. Cells Tissues Organs. 165 : 144—152.
- Phinney D., Kopen G., Isaacson R., Prockop D. 1999. Plastic adherent stromal cells from the bone marrow of commonly used strains of inbred mice: variations in yield, growth, and differentiation. J. Cell. Biochem. 72 : 570—585.
- Pittenger M., Mackay A., Beck S., Jaiswal R., Douglas R., Mosca J., Moorman M., Simonetti D., Craig S., Marshak D. 1999. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science. 284 : 143—147.

- Pittenger M., Martin B. 2004. Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics. *Circ. Res.* 95 : 9—20.
- Pittenger M., Mosca J., McIntosh K. 2000. Human mesenchymal stem cells: progenitor cells for cartilage, bone, fat and stroma. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 251 : 3—11.
- Plett P., Frankovitz S., Orschell-Traycoff C. 2002. *In vivo* trafficking, cell cycle activity, and engraftment potential of phenotypically defined primitive hematopoietic cells after transplantation into irradiated or nonirradiated recipients. *Blood.* 100 : 3545—3552.
- Pochampally R., Horwitz E., Digirolamo C., Stokes D., Prockop D. 2005. Correction of a mineralization defect by overexpression of a wild-type cDNA for COL1A1 in marrow stromal cells (MSCs) from a patient with osteogenesis imperfecta: a strategy for rescuing mutations that produce dominant-negative protein defects. *Gene Ther.* 12 : 1119—1125.
- Pochampally R., Neville B., Schwartz E., Li M., Prockop D. 2004. Rat adult stem cells (marrow stromal cells) engraft and differentiate in chick embryos without evidence of cell fusion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 101 : 9282—9285.
- Polesskaya A., Seale P., Rudnicki M. 2003. Wnt signaling induces the myogenic specification of resident CD45+ adult stem cells during muscle regeneration. *Cell.* 113 : 841—852.
- Presnell S., Petersen B., Heidaran M. 2002. Stem cells in adult tissues. *Semin. Cell. Develop. Biol.* 13 : 369—376.
- Prockop D., Sekiya I., Colter D. 2001. Isolation and characterization of rapidly self-renewing stem cells from cultures of human marrow stromal cells. *Cytotherapy.* 3 : 393—396.
- Reynolds B., Rietze R. 2005. Neural stem cells and neurospheres — re-evaluating the relationship. *Nat. Methods.* 2 : 333—336.
- Rietze R., Valcanis H., Brooker G., Thomas T., Voss A., Bartlett P. 2001. Purification of a pluripotent neural stem cell from the adult mouse brain. *Nature.* 412 : 736—739.
- Romanko M., Rothstein R., Levison S. 2004. Neural stem cells in the subventricular zone are resilient to hypoxia/ischemia whereas progenitors are vulnerable. *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* 24 : 814—825.
- Romanov Y., Svintsitskaya V., Smirnov V. 2003. Searching for alternative sources of postnatal human mesenchymal stem cells: candidate MSC-like cells from umbilical cord. *Stem Cells.* 21 : 105—110.
- Rumyantsev P. 1973. Post-injury DNA synthesis, mitosis and ultrastructural reorganization of adult frog cardiac myocytes. An electron microscopic-autoradiographic study. *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 139 : 431—450.
- Rumyantsev P. 1983. DNA synthesis in atrial myocytes of rats with aortic stenosis. *Adv. Myocardiol.* 4 : 147—162.
- Sanchez-Ramos J., Song S., Cardozo-Pelaez F., Hassi C., Steedeford T., Willing A., Freeman T., Saporta S., Janssen W., Patel N., Cooper D., Sanberg P. 2000. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells *in vitro*. *Exp. Neurol.* 164 : 247—256.
- Saris D., Sanyal A., An K., Fitzsimmons J., O'Driscoll S. 1999. Periosteum responds to dynamic fluid pressure by proliferating *in vitro*. *J. Orthop. Res.* 17 : 668—677.
- Satake K., Lou J., Lenke L. 2004. Migration of mesenchymal stem cells through cerebrospinal fluid into injured spinal cord tissue. *Spine.* 29 : 1971—1979.
- Scharenberg C., Harkey M., Torok-Storb B. 2002. The ABCG2 transporter is an efficient Hoechst 33342 efflux pump and is preferentially expressed by immature human hematopoietic progenitors. *Blood.* 99 : 507—512.
- Sekiya I., Larson B., Smith J., Pochampally R., Cui J., Prockop D. 2002. Expansion of human adult stem cells from bone marrow stroma: conditions that maximize the yields of early progenitors and evaluate their quality. *Stem Cells.* 20 : 530—541.
- Shih D., Lee D., Chen S., Tsai R., Huang C., Tsai C., Shen E., Chiu W. 2005. Isolation and characterization of neurogenic mesenchymal stem cells in human scalp tissue. *Stem Cells.* 7 : 1012—1020.
- Simon T., Van Sickle D., Kunishima D., Jackson D. 2003. Cambium cell stimulation from surgical release of the periosteum. *J. Orthop. Res.* 21 : 470—480.
- Smith C., Gasparetto C., Collins N., Gillio A., Muensch M., O'Reilly R., Moore M. 1991. Purification and partial characterization of a human hematopoietic precursor population. *Blood.* 77 : 2122—2128.
- Sohn S., Kim J., Seo K., Chae Y., Jung J., Suh J., Lee K. 2002. GM-CSF-based mobilization effect in normal healthy donors for allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 30 : 81—86.
- Spangrude G., Heimfeld S., Weissman I. 1988. Purification and characterization of mouse hematopoietic stem cells. *Science.* 241 : 58—62.
- Spradling A., Drummond-Barbosa D., Kai T. 2001. Stem cells find their niche. *Nature.* 414 : 98—104.
- Stadtfeld M., Graft T. 2005. Assessing the role of hematopoietic plasticity for endothelial and hepatocyte development by non-invasive lineage tracing. *Development.* 132 : 203—213.
- Stemple D., Anderson D. 1992. Isolation of a stem cell for neurons and glia from the mammalian neural crest. *Cell.* 71 : 973—985.
- Studeny M., Marini F., Champlin R., Zompetta C., Fidler I., Andreeff M. 2002. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells as vehicles for interferon-beta delivery into tumors. *Cancer Res.* 62 : 3603—3608.
- Studeny M., Marini F., Dembinski J., Zompetta C., Cabreira-Hansen M., Bekele B., Champlin R., Andreeff M. 2004. Mesenchymal stem cells: potential precursors for tumor stroma and targeted-delivery vehicles for anticancer agents. *J. Natl. Cancer Inst.* 96 : 1593—1603.
- Szilvassy S., Cory S. 1993. Phenotypic and functional characterization of competitive long-term repopulating hematopoietic stem cells enriched from 5-fluorouracil-treated murine marrow. *Blood.* 81 : 2310—2320.
- Tamaki T., Akatsuka A., Okada Y., Matsuzaki Y., Okano H., Kimura M. 2003. Growth and differentiation potential of main- and side-population cells derived from murine skeletal muscle. *Exp. Cell Res.* 291 : 83—90.
- Tang Y., Qian K., Zhang Y., Shen L., Phillips M. 2005. Mobilizing of haematopoietic stem cells to ischemic myocardium by plasmid mediated stromal-cell-derived factor-1 alpha (SDF-1 alpha) treatment. *Regul. Pept.* 125 : 1—8.
- Tavian M., Cortes F., Charbord P., Labastie M., Peault B. 1999. Emergence of the haematopoietic system in the human embryo and foetus. *Haematologica.* 84. Suppl. EHA-4 : 1—3.
- Togel F., Isaac J., Hu Z., Weiss K., Westenfelder C. 2005. Renal SDF-1 signals mobilization and homing of CXCR4-positive cells to the kidney after ischemic injury. *Kidney Int.* 67 : 1772—1784.
- Toma J., Akhavan M., Fernandes K., Barnabe-Heider F., Sadiqot A., Kaplan D., Miller F. 2001. Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin. *Nat. Cell Biol.* 3 : 778—784.
- Tsutsumi S., Shimazu A., Miyazaki K., Pan H., Koike C., Yoshida E., Takagishi K., Kato Y. 2001. Retention of multilineage differentiation potential of mesenchymal cells during proliferation in response to FGF. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 288 : 413—419.
- Uchida N., Buck D., He D., Reitsma M., Masek M., Phan T., Tsukamoto A., Gage F., Weissman I. 2000. Direct isolation of human central nervous system stem cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 97 : 14 720—14 725.
- Uchida N., Fujisaki T., Eaves A., Eaves C. 2001. Transplantable hematopoietic stem cells in human fetal liver have a CD34(+) side population (SP)phenotype. *J. Clin. Invest.* 108 : 1071—1077.
- Ushida N., Weissman I. 1992. Searching for hematopoietic stem cells: evidence that Thy-1.1 lo Lin- Sca-1 + cells are the only stem cells in C57BL/Ka-Thy-1.1 bone marrow. *J. Exp. Med.* 175 : 175—184.
- Uematsu K., Hattori K., Ishimoto Y., Yamauchi J., Habata T., Takakura Y., Ohgushi H., Fukuchi T., Sato M. 2005. Cartilage regeneration using mesenchymal stem cells and a three-dimensional poly-lactic-glycolic acid (PLGA) scaffold. *Biomaterials.* 26 : 4273—4279.

- Vassilopoulos G., Wang P., Russell D. 2003. Transplanted bone marrow regenerative liver by cell fusion. *Nature*. 422 : 901—904.
- Wagers A., Sherwood R., Christensen J., Weissman I. 2002. Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells. *Science*. 297 : 2256—2259.
- Wang J., Glimcher M. 1999. Characterization of matrix-induced osteogenesis in rat calvarial bone defects. I. Differences in the cellular response to demineralized bone matrix implanted in calvarial defects and in subcutaneous sites. *Calcif. Tissue Int.* 65 : 156—165.
- Wang J., Wu Y., Harrington J., McNiece I. 2004. *Ex vivo* expansions and transplantation of mouse bone marrow-derived hematopoietic stem/progenitor cells. *J. Zhejiang Univ. Sci.* 5 : 157—163.
- Wang L., Li Y., Chen J., Gautam S., Zhang Z., Lu M., Chopp M. 2002a. Ischemic cerebral tissue and MCP-1 enhance rat bone marrow stromal cell migration in interface culture. *Exp. Hematol.* 30 : 831—836.
- Wang L., Li Y., Chen X., Chen J., Gautam S., Xu Y., Chopp M. 2002b. MCP-1, MIP-1, IL-8 and ischemic cerebral tissue enhance human bone marrow stromal cell migration in interface culture. *Hematology*. 7 : 113—117.
- Warejcka D., Harvey R., Taylor B., Young H., Lucas P. 1996. A population of cells isolated from rat heart capable of differentiating into several mesodermal phenotypes. *J. Surg. Res.* 62 : 233—242.
- Wexler S., Donaldson C., Denning-Kendall P., Rice C., Bradley B., Hows J. 2003. Adult bone marrow is a rich source of human mesenchymal stem cells but umbilical cord and mobilized adult blood are not. *Br. J. Haematol.* 121 : 368—374.
- Wlodarski K. 1985. Orthotopic and ectopic chondrogenesis and osteogenesis mediated by neoplastic cells. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 200 : 248—265.
- Woodbury D., Reynolds K., Black I. 2002. Adult bone marrow stromal stem cells express germline, ectodermal, endodermal, and mesodermal genes prior to neurogenesis. *J. Neurosci. Res.* 69 : 908—917.
- Woodbury D., Schwarz E., Prockop D., Black I. 2000. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J. Neurosci. Res.* 61 : 364—370.
- Wu G., Nolta J., Jin Y., Barr M., Yu H., Starnes V., Cramer D. 2003. Migration of mesenchymal stem cells to heart allografts during chronic rejection. *Transplantation*. 75 : 679—685.
- Wynn R., Hart C., Corradi-Perini C., O'Neill L., Evans C., Wraith J., Fairbairn L., Bellantuono I. 2004. A small proportion of mesenchymal stem cells strongly expresses functionally active CXCR4 receptor capable of promoting migration to bone marrow. *Blood*. 104 : 2643—2645.
- Yamada Y., Boo J., Ozawa R., Nagasaka T., Okazaki Y., Hata K., Ueda M. 2003. Bone regeneration following injection of mesenchymal stem cells and fibrin glue with a biodegradable scaffold. *J. Craniomaxillofac. Surg.* 31 : 27—33.
- Yokoo T., Ohashi T., Shen J., Sakurai K., Miyazaki Y., Utsunomiya Y., Takahashi M., Terada Y., Eto Y., Kawamura T., Osumi N., Hosoya T. 2005. Human mesenchymal stem cells in rodent whole-embryo culture are reprogrammed to contribute to kidney tissues. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 102 : 3296—3300.
- Young H., Mancini M., Wright R., Smith J., Black A., Reagan C., Lucas P. 1995. Mesenchymal stem cells reside within the connective tissues of many organs. *Develop. Dyn.* 202 : 137—144.
- Young R., Butler D., Weber W., Caplan A., Gordon S., Fink D. 1998. Use of mesenchymal stem cells in a collagen matrix for Achilles tendon repair. *J. Orthop. Res.* 16 : 406—413.
- Zhang B., Wang F., Feng L., Dun A., Dong L., Li J., Yang H. 2003. Isolating and culturing rat marrow mesenchymal stem cells and studying their phenotypical and functional properties. *Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 34 : 738—741.
- Zhang M., Guo Z., Liu X., Wu Y., Hou C., Mao N. 2003. Development of methodology for isolation and culture of mesenchymal stem cells derived from mouse skeletal muscle. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 11 : 538—541.
- Zhang Y., Guo X., Xu P., Kang L., Li J. 2005. Bone mesenchymal stem cells transplanted into rabbit intervertebral discs can increase proteoglycans. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 430 : 219—226.
- Zhou S., Schuetz J., Bunting K., Colapietro A., Sampath J., Morris J., Lagutina I., Grosveld G., Osawa M., Nakuchi H., Sorrentino B. 2001. The ABC transporter Bcrp1/ABCG2 is expressed in a wide variety of stem cells and is a molecular determinant of the side-population phenotype. *Nat. Med.* 7 : 1028—1034.
- Zuk P., Zhu M., Ashjian P., De Ugarte D., Huang J., Mizuno H., Alfonso Z., Fraser J., Benhaim P., Hedrick M. 2002. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol. Biol. Cell*. 13 : 4279—4295.
- Zvaipler N., Marinova-Mutafchieva L., Adams G., Edwards C., Moss J., Burger J., Maini R. 2000. Mesenchymal precursor cells in the blood of normal individuals. *Arthritis Res.* 2 : 477—488.

Поступила 26 XII 2007

STEM CELLS FROM ADULT DIFFERENTIATED TISSUES

P. V. Kruglyakov, I. B. Sokolova, D. G. Polynsev

Trans-Technologies, Itd., St. Petersburg

The review thoroughly describes all types of adult stem cells which have been isolated by the present time — hematopoietic, muscle, neural, skin, endothelial, intestinal and mesenchymal stem cells. Their isolation, *in vitro* cultivation, and possible application in cell therapy of various diseases are discussed. Mesenchymal stem cells (MSC) are of great concern now because they are, in the authors' opinion, the most promising material for application in the therapy of humans.

Key words: adult stem cells, cell therapy, mesenchymal stem cells.