

ВНУТРИКЛЕТОЧНЫЕ ИММУНОГЛОБУЛИНЫ В ЛИНИЯХ NAMALVA И U266 ПРИ СОКУЛЬТИВИРОВАНИИ С МЕЗЕНХИМНЫМИ СТРОМАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ

© А. А. Айзенштадт,^{1, 2} Н. А. Иванова,² В. В. Багаева,² А. Б. Смолянинов,^{1, 2}
А. А. Пиневич,³ М. П. Самойлович,³ В. Б. Климович³

¹ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова,

² ООО Покровский банк стволовых клеток

и ³ Российский научный центр радиологии и хирургических технологий, Санкт-Петербург;

¹электронный адрес: aizendt@gmail.com

Данные о влиянии мезенхимных стромальных клеток (МСК) на синтез иммуноглобулинов противоречивы. Они были получены в основном с использованием МСК, выделенных из костного мозга. Свойства МСК из других тканей изучены в этом отношении недостаточно. В настоящей работе культуры МСК получали из пупочного канатика, жировой ткани и костного мозга здоровых доноров, а также из костного мозга пациентов с аутоиммунными заболеваниями. Все МСК из указанных источников обладали сходным набором поверхностных маркеров. Методом сокультивирования исследовали влияние МСК, находящихся в экспоненциальной или стационарной фазе роста, на содержание иммуноглобулинов М и Е в клетках линий Namalva и U266 соответственно. МСК из костного мозга здоровых доноров вне зависимости от фазы роста культуры не влияли на синтез иммуноглобулинов. Пролиферирующие МСК костного мозга, полученные от пациентов с болезнью Крона или с рассеянным склерозом, стимулировали их продукцию. МСК жировой ткани и пупочного канатика в экспоненциальной фазе роста также стимулировали синтез иммуноглобулинов. МСК в стационарной фазе роста усиливали продукцию IgM в клетках Namalva и подавляли синтез IgE в клетках U266. Таким образом, МСК, полученные из разных источников, но имеющие сходный фенотип, различаются по способности модулировать продукцию иммуноглобулинов в клетках В-лимфоидного ряда. Действие МСК определяется фазой роста культуры и может быть различным в отношении лимфобластоидных и миеломных клеток.

Ключевые слова: мезенхимные стромальные клетки, иммуномодуляция, Namalva, U266, иммуноглобулины.

Принятые сокращения: МСК — мезенхимные стромальные клетки, IgM и IgE — иммуноглобулины М и Е соответственно.

Мезенхимные стромальные (стволовые) клетки (МСК) были впервые описаны как недифференцированные фибробластоподобные элементы костного мозга взрослых особей, способные при культивировании прикрепляться к поверхности пластика, расти при низкой плотности в виде отдельных колоний и дифференцироваться в клетки жировой, хрящевой и костной тканей (Friedenstein et al., 1968; Pittenger et al., 1999; Bianco, Gehron, 2000). МСК могут также давать начало клеткам эндотелия (Oswald et al., 2004), кардиомиоцитам (Tomchuck et al., 2008), нейронам и астроцитам (Jori et al., 2005). Основным источником материала для исследований МСК длительное время служил костный мозг лабораторных животных и человека. В последние годы привлекают внимание МСК, выделенные из жировой ткани взрослых людей (Zimmerlin et al., 2010) и соединительной ткани пупочного канатика (Romanov et al., 2003; Sarugaser et al., 2005), поскольку они обладают схожим дифференцировочным потенциалом и иммунофенотипом (CD105, CD90, CD44, CD73, Stro-1 и CD166), но более высокой пролиферативной активностью по сравнению с МСК костного мозга (Kern et al., 2006).

В 2002—2003 гг. были опубликованы сообщения о неизвестной ранее способности МСК ингибировать пролиферацию Т-лимфоцитов (Bartholomew et al., 2002; Di Nicola et al., 2002; Le Blanc et al., 2003). Дальнейшие исследования показали, что влияние МСК распространяется и на другие клетки иммунной системы (естественные киллеры, дендритные клетки, регуляторные Т-лимфоциты и В-лимфоциты). Согласно мнению экспертов, способность МСК выступать в роли иммуномодуляторов может найти применение при пересадке органов и тканей, при лечении проявлений тканевой несовместимости, аутоиммунных и аллергических заболеваний (Tyndall et al., 2007). Аналогичная точка зрения отражена в обзорах, обобщающих итоги исследований в данном направлении (Кругляков и др., 2006; Rasmusson, 2006; Uccelli et al., 2006).

Проявления и механизмы иммуномодулирующей активности МСК изучены недостаточно. Так, не достигнута ясность относительно влияния МСК на пролиферацию, дифференцировку и функциональную активность В-лимфоцитов и плазматических клеток-продуцентов антител. Описано как супрессорное (Corcione et al., 2006;

Che et al., 2012), так и стимулирующее влияние МСК на пролиферацию В-лимфоцитов и на синтез антител (Rasmussen et al., 2007; Traggiai et al., 2008). Предполагают, что противоречия обусловлены различными условиями постановки экспериментов и могут быть устранены в ходе дальнейших исследований (Franquesa et al., 2012). В ряде работ в качестве тест-объектов действия МСК использовали постоянные В-клеточные линии (Amé-Thomas et al., 2007; Vocelli-Tyndall et al., 2007), преимущества которых состоят в стабильной пролиферации и конститутивной продукции иммуноглобулинов разных классов.

Цель настоящей работы состояла в изучении влияния культур МСК из разных источников, находящихся в экспоненциальной или стационарной фазе роста, на продукцию иммуноглобулинов М и Е В-клеточных линий Namalva и U266 соответственно.

Материал и методика

Получение и культивирование МСК. Образцы костного мозга, жировой ткани и пупочного канатика получали при наличии информированного согласия доноров. Костный мозг получали из подвздошной кости от двух здоровых доноров и двух пациентов с иммунопатологическими состояниями в стадии обострения (с болезнью Крона и рассеянным склерозом). Аспират костного мозга разделяли центрифугированием (400 g, 30 мин) в градиенте плотности фикола. Фракцию мононуклеарных клеток на границе фаз собирали, промывали фосфатно-солевым буферным раствором (PBS), после чего вносили в полную питательную среду Advanced Stem, содержащую 20 % заменителя сыворотки NuClone, и высевали во флаконы (площадь 75 см²) при плотности 100 тыс. кл./см². Через 3 сут среду меняли для удаления неприкрепившихся клеток.

Образцы подкожной жировой ткани получали от двух здоровых доноров. Ткань механически измельчали, затем инкубировали при 37 °С в 0.2%-ном растворе коллагеназы I типа в PBS. Диссоциированные клетки отмывали от фермента центрифугированием (400 g, 10 мин) и высевали во флаконы при плотности 100—400 тыс. кл./см². Среду меняли через 24 ч.

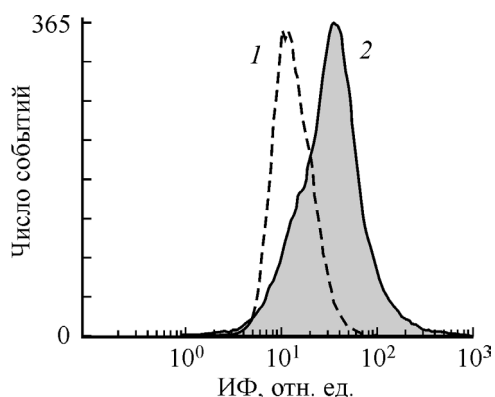


Рис. 1. Распределение интенсивности флуоресценции (ИФ) клеток линии Namalva, меченных антителами против IgM.

Кривые: 1 — клетки в монокультуре ($X_{\text{mean}} = 19$), 2 — при контактном сокультивировании с МСК костного мозга пациента с болезнью Крона ($X_{\text{mean}} = 44$).

Пупочный канатик был получен при неосложненных родах. Сосуды канатика промывали PBS, заполняли 0.2%-ным раствором коллагеназы IV типа в том же буфере, промывали и повторно заполняли раствором коллагеназы, затем клеммировали с двух сторон и инкубировали в течение 1 ч при 37 °С. Полученную взвесь клеток отмывали от фермента центрифугированием (400 g, 10 мин) и высевали во флаконы при плотности 100—400 тыс. кл./см². Среду меняли через 3 сут. При достижении 70—80 % конфлюэнтности монослоя МСК пересеивали при плотности 5 тыс. кл./см² и культивировали в полной питательной среде, содержащей 10 % заменителя сыворотки.

В экспериментах использовали культуры МСК 3—4 пассажей, находящиеся в фазе логарифмического роста (30—60 % конфлюэнтности) или в стационарной фазе (100 % конфлюэнтности). Поверхностные маркеры МСК выявляли с помощью меченных флуорохромами антител против CD34, CD45, CD90, CD105 и CD73 на проточном цитофлуориметре FC500 (Beckman Coulter, США) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя. Анализ полученных данных проводили с помощью программного обеспечения СХР.

В-клеточные линии Namalva и U266 были получены из Коллекции клеточных культур Института цитологии РАН (Санкт-Петербург). Клетки выращивали в среде IMDM, содержащей 7 % сыворотки эмбрионов коров NuClone. Клетки считали с помощью автоматического счетчика частиц (Beckman Coulter, США).

Сокультивирование МСК и клеток линий Namalva и U266. МСК рассеивали в ячейки 6-луночного планшета по 10—60 тыс. кл./см² в зависимости от требуемой плотности культуры. Через 1 сут с помощью инвертированного микроскопа оценивали степень конфлюэнтности монослоя МСК и на основании этой оценки определяли фазу роста культуры (экспоненциальная или стационарная). Лимфоидные клетки линии Namalva или U266 вносили по 50 тыс. в ячейки, содержащие МСК в экспоненциальной фазе роста, и по 70 тыс. в ячейки со стационарными культурами МСК. Сокультивирование проводили в течение 3 сут в среде IMDM, содержащей 7 % сыворотки эмбрионов коров. Контролем служили клетки линий Namalva и U266, культивируемые в отсутствие МСК. Все эксперименты проведены в 2—4 повторностях.

Внутриклеточные иммуноглобулины выявляли с помощью проточной цитофлуориметрии с использованием меченных флуоресцеином моноклональных антител, полученных в лаборатории гибридомной технологии Российского научного центра радиологии и хирургических технологий. Для детекции IgM в клетках линии Namalva использовали антитела M-2B9, для выявления IgE в линии U266 — антитела клона E-5D4. Из лунок отбирали клеточную суспензию, затем лунки промывали раствором версена и собирали лимфоидные клетки, прикрепившиеся к монослою МСК. Клетки отмывали, фиксировали ледяным ацетоном, пермеабелизовывали 0.1%-ным раствором Тритона X-100 на PBS в течение 15 мин и инкубировали с соответствующими мечеными антителами в течение 10 мин в темноте при комнатной температуре. Измерения проводили с помощью проточного цитофлуориметра FC500. Показателем содержания иммуноглобулинов служила интенсивность флуоресценции отдельных клеток. На основе полученных данных строили графики распределения клеток по интенсивности флуоресценции и вычисляли ее средние значения в отн. ед. (X_{mean}). При-

мер анализа полученных данных приведен на рис. 1. Каждый вариант сокультивирования повторяли 4 раза. Полученные данные обрабатывали статистически с помощью программы Microsoft Excel. Для каждой выборки определяли ошибку среднего M по формуле $M = \sigma/\sqrt{n}$, где σ — среднеквадратическое отклонение, n — число наблюдений.

В работе использовали среду Advanced Stem (Gibco, Великобритания), сыворотку эмбрионов коров HyClone (Thermo Scientific, Новая Зеландия), заменитель сыворотки HyClone (Thermo Scientific, Великобритания), меченные флуорохромами моноклональные антитела против CD34, CD45, CD90, CD105 и CD73 (Beckman Coulter, США), моноклональные антитела M-2B9 против мю-цепи и E-5D4 против эпсилон-цепи иммуноглобулина человека, полученные в лаборатории гибридомной технологии РНЦРХТ, фиколл (БиолоТ, Россия) и коллагеназу I и IV типов (Sigma-Aldrich, США).

Результаты и обсуждение

Все МСК в культуре были охарактеризованы по экспрессии поверхностных маркеров (см. таблицу). Приведенные данные свидетельствуют о том, что МСК из разных источников обладают сходным фенотипом.

При сокультивировании клеток линии *Namalva* с МСК из костного мозга здоровых доноров содержание внутриклеточного IgM в клетках *Namalva* оставалось на уровне контрольных значений вне зависимости от степени конfluence монослоя МСК (рис. 2). Увеличение содержания IgM наблюдали при сокультивировании клеток *Namalva* с МСК из жировой ткани. МСК, находящиеся в логарифмической или в стационарной фазе роста, стимулировали синтез IgM одинаково эффективно. МСК из пупочного канатика также вызывали увеличение уров-

Фенотип поверхностных антигенов культивируемых МСК, полученных из разных источников

Маркерный антиген	Доля клеток (%), несущих антигены, в культуре, полученной из				
	костного мозга			жировой ткани	пупочного канатика
	здоровых доноров	пациента с рассеянным склерозом	пациента с болезнью Крона		
CD105	98 ± 1	98	99	98 ± 1	97.5 ± 1
CD90	99 ± 1	98	97	97.5 ± 2	98 ± 2
CD73	97.5 ± 2	98	98	99 ± 1	96.5 ± 2
CD13	98 ± 1	99	99.5	97 ± 2	99 ± 1
CD44	97 ± 3	98.5	97.5	99 ± 1	98 ± 1
CD34	0	0.1	0	0	0.1
CD45	0.2	0	0.1	0	0
CD117	0.3	0.2	0.1	0	0

ня IgM. Усиление продукции IgM клетками *Namalva* происходило и при сокультивировании их с МСК из костного мозга пациентов с болезнью Крона и рассеянным склерозом. При этом различий между влиянием МСК, находящихся в логарифмической и в стационарной фазах роста культуры, не было. Таким образом, при контактном сокультивировании с клетками *Namalva* МСК из разных источников либо не влияли на содержание цитоплазматического IgM, либо вызывали его увеличение. Действие пролиферирующих и покоящихся МСК было одинаковым.

Так же как в экспериментах с клетками *Namalva*, МСК из костного мозга здоровых доноров не влияли на

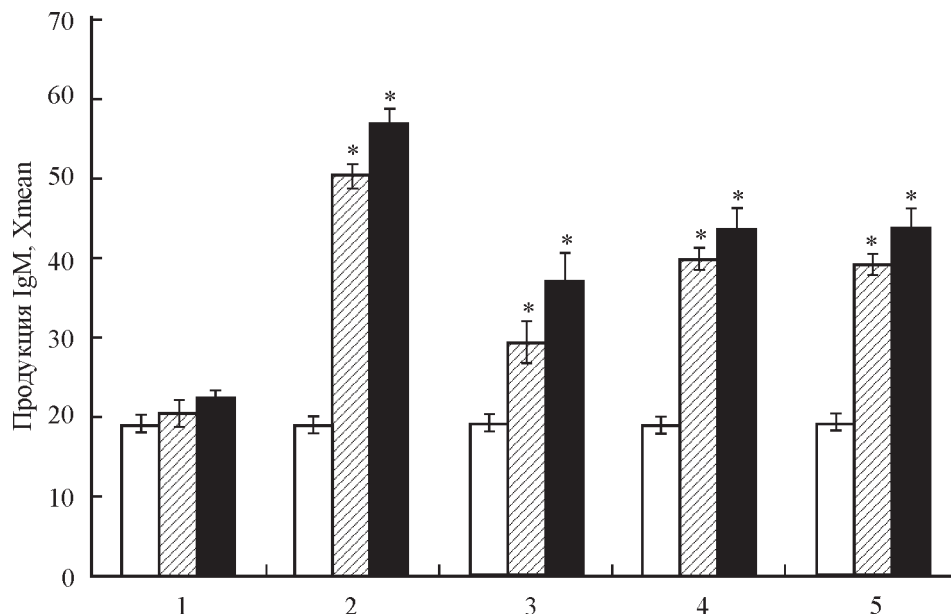


Рис. 2. Уровень внутриклеточного IgM в клетках линии *Namalva*, полученных из разных источников, при сокультивировании с МСК в экспоненциальной или стационарной фазе роста.

Группы столбиков: 1 — МСК, полученные из костного мозга здоровых доноров, 2 — МСК из жировой ткани, 3 — МСК из пупочного канатика, 4 — МСК из костного мозга пациентов с болезнью Крона, 5 — МСК из костного мозга пациентов с рассеянным склерозом; белые столбики — контроль (клетки в отсутствие МСК), заштрихованные — МСК в стационарной фазе роста (100 % конfluence), черные — МСК в логарифмической фазе роста (30—60 % конfluence). Вертикальные отрезки — ошибки среднего. Звездочкой показана достоверность отличия от контроля ($P < 0.05$).

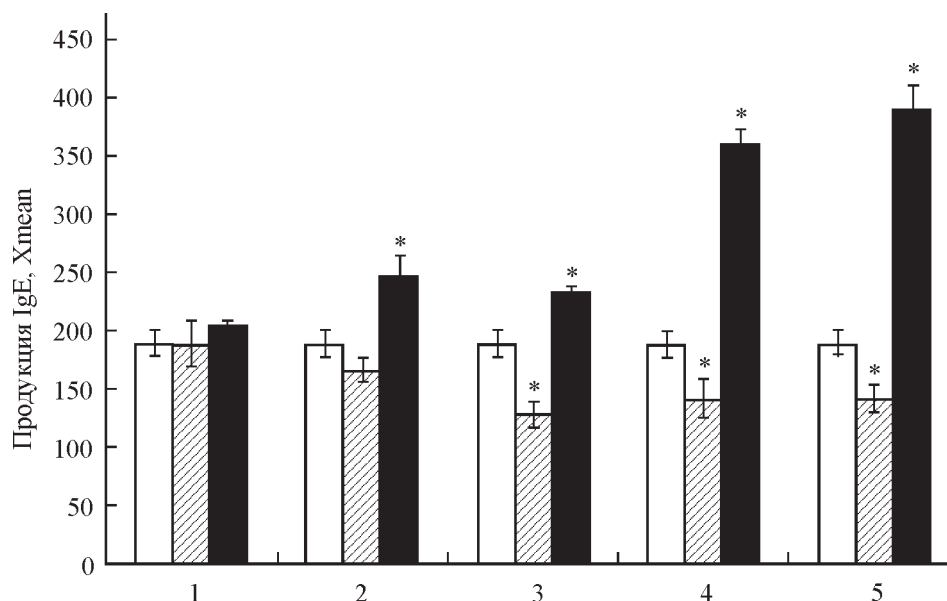


Рис. 3. Уровень внутриклеточного IgE в клетках линии U266, полученных из разных источников, при сокультивировании с МСК в экспоненциальной или стационарной фазе роста.

Обозначения те же, что и на рис. 2.

уровень продукции IgE клетками линии U266 (рис. 3). МСК из жировой ткани и пупочного канатика усиливали продукцию IgE, если находились в фазе логарифмического роста. МСК, прекратившие пролиферацию вследствие достижения конфлюэнтного монослоя, оказывали слабое тормозящее влияние на накопление IgE. Наибольшее влияние на продукцию IgE клетками U266 наблюдали при сокультивировании с пролиферирующими МСК пациентов, страдающих аутоиммунными заболеваниями. Присутствие покоящихся МСК оказывало на синтез IgE слабый тормозящий эффект. Таким образом, при сокультивировании с миеломными клетками U266 пролиферирующие МСК оказывали стимулирующее влияние на накопление IgE, тогда как МСК в стационарной фазе проявляли ингибирующий эффект.

Результаты работы позволяют заключить, что МСК, выделенные из разных источников, различаются по способности модулировать продукцию иммуноглобулинов в клетках В-лимфоидного ряда. МСК из костного мозга здоровых доноров вне зависимости от фазы роста клеток не влияли на синтез IgM и IgE. Проллиферирующие МСК костного мозга пациентов с аутоиммунными заболеваниями в стадии обострения оказывали стимулирующее влияние на продукцию иммуноглобулинов в обеих клеточных линиях. МСК жировой ткани и пупочного канатика здоровых доноров принципиально не различались между собой по влиянию на синтез иммуноглобулинов лимфоидными клетками. Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что МСК, выделенные из разных источников и имеющие сходный фенотип поверхностных антигенов, обладают разными функциональными свойствами. Это согласуется с представлениями о неравнозначности МСК разных тканей и необходимости выработать более широкий набор базовых критериев для характеристики этих клеток (Wagner et al., 2005; Li et al., 2009; Strioga et al., 2012).

Использованные в настоящей работе в качестве тест-объектов клеточные линии представляют собой производные В-лимфоцитов, иммортализованные на разных стадиях дифференцировки. Лимфобластоидная линия Namalva продуцирует IgM, что указывает на ее происхождение из В-клеток ранних стадий созревания (Guy et al., 1987). Миеломная линия U266 является потомком клона зрелых плазматических клеток, трансформированных на одной из поздних фаз развития, после активации гена, кодирующего синтез эpsilon-цепи IgE (Nilsson, 1971; Hardy, Hayakawa, 2001). Из приведенных данных следует, что МСК могут по-разному влиять на продукцию иммуноглобулинов в лимфобластоидных и миеломных клетках. На лимфобластоидные клетки МСК оказывали либо стимулирующее действие, либо не оказывали эффекта. Действие МСК на миеломные клетки могло проявляться как в усилении, так и в подавлении продукции IgE. Факторы, стимулирующие накопление IgE миеломными клетками, продуцировали только пролиферирующие МСК. Представленные в работе результаты могут объяснять ряд имеющихся в литературе противоречий, касающихся способности МСК влиять на продукцию иммуноглобулинов клетками В-лимфоидного ряда. В частности, расхождения в оценке влияния МСК жировой ткани на содержание иммуноглобулинов в клетках Namalva и U266 с данными, описанными ранее (Самойлович и др., 2013), могут быть связаны с разными фазами роста МСК в культуре, с разным численным соотношением МСК и лимфоидных клеток, а также с разными сроками сокультивирования. При оценке влияния МСК на продукцию иммуноглобулинов надо также принимать во внимание, что лимфоидные клетки, представляющие разные стадии дифференцировки, могут стимулировать МСК к выработке разных цитокинов и ростовых факторов. Однако эта сторона взаимодействия МСК и В-лимфоидных клеток остается наименее изученной и требует дальнейших исследований.

Список литературы

- Кругляков П. В., Лохматова Е. Л., Климович В. Б., Зарицкий А. Ю. 2006. Мезенхимные стволовые клетки и иммунопатологические состояния организма. Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. 3(5) : 36—41. (Kruglyakov P. V., Lokhmatoва E. A., Klimovich V. B., Zaritsky A. Yu. 2006. Mesenchymal stem cells and immunopathologic conditions of a human body. *CTTE*. 3(5) : 36—41.)
- Самойлович М. П., Пиневиц А. А., Шаикова О. А., Вартамян Н. Л., Киселева Л. Н., Климович В. Б. 2013. Влияние мезенхимных стромальных клеток на рост В-клеточных линий и синтез ими иммуноглобулинов. Цитология. 55(1) : 45—51. (Samoylovich M. P., Pinevich A. A., Shashkova O. A., Vartanian N. L., Kiseleva L. N., Klimovich V. B. 2013. The influence of mesenchymal stromal cells on B-cell line growth and immunoglobulin synthesis. *Cell Tissue Biol*. 7(3) : 227—234.)
- Amé-Thomas P., Hajjami H. M.-E., Monvoisin C., Jean R., Monnier D., Caulet-Maugendre S., Guillaudoux T., Lamy T., Fest T., Tarte K. 2007. Human mesenchymal stem cells isolated from bone marrow and lymphoid organs support tumor B-cell growth: role of stromal cells in follicular lymphoma pathogenesis. *Blood*. 109(2) : 693—702.
- Bartholomew A., Sturgeon C., Siatskas M., Ferrer K., McIntosh K., Patil S., Hardy W., Devine S., Ucker D., Deans R., Moseley A., Hoffman R. 2002. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Exp. Hematol*. 30 : 42—48.
- Bianco P., Gehron R. P. 2000. Marrow stromal stem cells. *J. Clin. Invest*. 105 : 1663—1668.
- Bocelli-Tyndall C., Bracci L., Spagnoli G., Braccini A., Bouchenaki M., Ceredig R., Pistoia V., Martin I., Tyndall A. 2007. Bone marrow mesenchymal stromal cells (BM-MSCs) from healthy donors and auto-immune disease patients reduce the proliferation of autologous- and allogeneic-stimulated lymphocytes in vitro. *Rheumatology (Oxford)*. 46 : 403—408.
- Che N., Li X., Zhou Z., Liu R., Shi D., Lu L., Sun L. 2012. Umbilical cord mesenchymal stem cells suppress B-cell proliferation and differentiation. *Cell. Immunol*. 274 : 46—53.
- Corcione A., Benvenuto F., Ferretti E., Giunti D., Cappiello V., Cazzanti F., Riso M., Gualandi F., Mancardi G. L., Pistoia V., Uccelli A. 2006. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood*. 107 : 367—372.
- Di Nicola M., Carlo-Stella C., Magni M., Milanese M., Longoni P. D., Matteucci P., Grisanti S., Gianni A. M. 2002. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood*. 99(10) : 3838—3843.
- Franquesa M., Hoogduijn M. J., Bestard O., Grinyó J. M. 2012. Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells on B cells. *Front. Immunol*. 3 : 212.
- Friedenstein A. J., Petrakova K. V., Kurolesova A. I., Frolova G. P. 1968. Heterotopic of bone marrow. Analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues. *Transplantation*. 6 : 230—247.
- Guy K., Middleton P. G., Steel C. M. 1987. Variant sublines of the human B-lymphoma cells *Namalva* are at different stages of differentiation. *Immunology*. 61 : 383—386.
- Hardy R. R., Hayakawa K. 2001. B cell development pathways. *Ann. Rev. Immunol*. 19 : 595—621.
- Jori F. P., Napolitano M. A., Melone M. A., Jori F. P., Napolitano M. A., Melone M. A., Cipollaro M., Cascino A., Altucci L., Peluso G., Giordano A., Galderisi U. 2005. Molecular pathways involved in neural in vitro differentiation of marrow stromal stem cells. *J. Cell. Biochem*. 94 : 645—655.
- Kern S., Eichler H., Stoeve J., Kluter H., Bieback K. 2006. Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. *Stem Cells*. 24 : 1294—1301.
- Le Blanc K., Tammik L., Sundberg B., Haynesworth S. E., Ringden O. 2003. Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex. *Scand J. Immunol*. 57 : 11—20.
- Li G., Zhang X. A., Wang H., Wang X., Meng C. L., Chan C. Y., Yew D. T. W., Tsang K. S., Li K., Tsai S. N., Ngai S. M., Han Z. C., Lin M. C. M., He M. L., Kung H. F. 2009. Comparative proteomic analysis of mesenchymal stem cells derived from human bone marrow, umbilical cord, and placenta: implication in the migration. *Proteomics*. 9 : 20—30.
- Nilsson K. 1971. Synthesis and secretion of IgE by an established human myeloma cell line. *Clin. Exp. Immunol*. 9 : 785—793.
- Oswald J., Boxberger S., Jorgensen B., Feldmann S., Ehninger G., Bornhauser M., Werner C. 2004. Mesenchymal stem cells can be differentiated into endothelial cells in vitro. *Stem Cells*. 22 : 377—384.
- Pittenger M. F., Mackay A. M., Beck S. C., Jaiswal R. K., Douglas R., Mosca J. D., Moorman M. A., Simonetti D. W., Craig S., Marshak D. R. 1999. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*. 284 : 143—147.
- Rasmusson I. 2006. Immune modulation by mesenchymal stem cells. *Exp. Cell Res*. 312 : 2169—2179.
- Rasmusson I., Le Blanc K., Sundberg B., Ringden O. 2007. Mesenchymal stem cells stimulate antibody secretion in human B cells. *Scand. J. Immunol*. 65 : 336—343.
- Romanov Y. A., Svintsitskaya V. A., Smirnov V. N. 2003. Searching for alternative sources of postnatal human mesenchymal stem cells: candidate MSC-like cells from umbilical cord. *Stem Cells*. 21 : 105—110.
- Sarugaser R., Lickorish D., Baksh D., Hosseini M. M., Davies J. E. 2005. Human umbilical cord perivascular (HUCPV) cells: a source of mesenchymal progenitors. *Stem Cells*. 23 : 220—229.
- Strioga M., Viswa N., Darinskas A., Slaby O., Michalek J. 2012. Same or not same? Comparison of adipose tissue-derived versus bone-marrow-derived mesenchymal stem and stromal cells. *Stem Cells Develop*. 21 : 2724—2752.
- Tomchuck S. V. L., Zvezdaryk K. J., Coffelt S. B., Waterman R. S., Danka E. S., Scandurro A. B. 2008. Toll-like receptors on human mesenchymal stem cells drive their migration and immunomodulating responses. *Stem Cells*. 26 : 99—107.
- Traggi E., Volpi S., Schena F., Gattorno M., Ferlito F., Moretta L., Martini A. 2008. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells induce both polyclonal expansion and differentiation of B cells isolated from healthy donors and systemic lupus erythematosus patients. *Stem Cells*. 26 : 562—569.
- Tyndall A., Walker U. A., Cope A., Dazzi F., De Bari C., Fibbe W., Guiducci S., Jones S., Jorgensen C., Le Blanc K., Luyten F., McGonagle D., Martin I., Bocelli-Tyndall C., Pennesi G., Pistoia V., Pitzalis C., Uccelli A., Wulfraat N., Feldmann M. 2007. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells: a review based on an interdisciplinary meeting held at the Kennedy Institute of Rheumatology Division, London, UK, 31 October 2005. *Arthritis Res. Ther*. 9 : 301—311.
- Uccelli A., Moretta L., Pistoia V. 2006. Immunoregulatory function of mesenchymal stem cells. *Eur. J. Immunol*. 36 : 2566—2573.
- Wagner W., Weina F., Seckinger A., Frankhauser M., Wirkner U., Krause U., Blakec J., Schwager C., Ecksteina V., Ansgor W., Ho A. D. 2005. Comparative characteristics of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood. *Exp. Hematol*. 33 : 1402—1416.
- Zimmerlin L., Donnenberg P., Pfeifer M. E., Meyer E. M., Péault B., Rubin J. P., Donnenberg A. D. 2010. Stromal vascular progenitors in adult human adipose tissue. *Cytometry Part A*. 77 : 22—30.

INTRACELLULAR IMMUNOGLOBULINS IN NAMALVA AND U266 CELLS CO-CULTIVATED WITH MESENCHYMAL STROMAL CELLS

*A. A. Ayzenshtadt,^{1, 2} N. A. Ivanova,² V. V. Bagaeva,² A. B. Smolyaninov,^{1, 2} A. A. Pinevich,³
M. P. Samoylovich,³ V. B. Klimovich³*

¹North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, ²Stem Cell Bank Pokrovsky, Ltd., and

³Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies, St. Petersburg;

¹e-mail: aizendt@gmail.com

There are contradictory data concerning the influence of mesenchymal stromal cells (MSC) on immunoglobulin (Ig) production. Most of them were obtained using MSC from bone marrow. Properties of MSC from other tissues are elusive. In the present work MSC cultures were derived from umbilical cord, adipose tissue, and bone marrow of healthy donors, as well as from bone marrow of patients with autoimmune diseases. MSC from all these sources had similar surface markers phenotype. The influence of co-cultivation with MSC at exponential or stationary phase on IgM and IgE content in Namalva and U266 cells was evaluated. MSC from bone marrow of healthy donors had no effect on IgM and IgE production. Proliferating MSC obtained from patients with Crohn's disease and multiple sclerosis stimulated Ig production. Exponentially growing MSC derived from umbilical cord and adipose tissue also stimulated Ig synthesis. MSC at stationary cultures amplified IgM production in Namalva cells and suppressed IgE synthesis in U266. Thus, MSC with similar phenotype but derived from different sources differ in their capacity to modulate Ig production in B-lymphoid cells. The effect of MSC depends on their growth stage and may differ for lymphoblastoid and myeloma cells.

Key words: mesenchymal stromal cells, immunomodulation, Namalva, U266, immunoglobulins.
