

Клеточные технологии в трансплантации почки

К.Т. Момыналиев¹, В.Б. Огай², Е.В. Хорошун³, Н.Н. Бабенко⁴, М.М. Каабак⁴

¹ Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева.

Астана, Республика Казахстан

² РГП «Национальный центр биотехнологии». Астана, Республика Казахстан

³ Лаборатория Ситилаб. Москва, Россия

⁴ Российский научный центр хирургии им. академика Б.В. Петровского,
Российская академия медицинских наук. Москва, Россия

Cell technologies in renal transplantation

K.T. Momyraliev¹, V.B. Ogay², E.V. Khoroshun³, N.N. Babenko⁴, M.M. Kaabak⁴

¹ L.N. Gumilyov Eurasian National University. Astana, Republic Kazakhstan

² National Center for Biotechnology. Astana, Republic Kazakhstan

³ Laboratory CityLab. Moscow, Russia

⁴ B.V. Petrovsky Russian scientific center of surgery, Russian Academy of Medical Sciences.
Moscow, Russia

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки, регуляторные Т-клетки, дендритные клетки, иммунологическая толерантность, трансплантация почки

В настоящее время трансплантация почки прочно утвердилась в качестве основного метода заместительной терапии при хронической почечной недостаточности в терминальной стадии. Благодаря современным иммунодепрессантам, резко повысилась краткосрочная выживаемость пациентов и трансплантата. Однако долгосрочная выживаемость аллотрансплантата почки не улучшается такими же темпами. Хроническая нефропатия аллотрансплантата остается наиболее частой причиной потери трансплантата, тогда как сердечно-сосудистые заболевания остаются ведущей причиной смертности пациентов после трансплантации. Для улучшения результатов трансплантации важно продолжать разработку новых стратегий профилактики острых и хронических отторжений, в том числе за счет уменьшения необходимости пожизненной иммуносупрессии и повышения донор-специфической толерантности. В данном обзоре рассматриваются различные стратегии использования клеточных технологий в применении к пересадке почки. Использование мезенхимальных стволовых клеток (МСК) среди всех клеточных технологий при трансплантации почки является перспективной терапевтической стратегией для управления возникновением и прогрессирования болезни «трансплантат против хозяина». Предварительные данные свидетельствуют о том, что использование МСК может обеспечить потенциальные выгоды в трансплантации почки за счет уменьшения дозы иммуносупрессивных препаратов, которое необходимо для поддержания долгосрочного выживания и функции трансплантата после операции.

Currently, renal transplantation has firmly established as the main method of replacement therapy in patients with the end stage chronic renal disease. Thanks to modern immunosuppressive drugs, short-term graft and patient survival are dramatically increased. However, long-term renal allograft survival has improved in a lesser extent. Chronic allograft nephropathy is the most common cause of graft failure, whereas cardiovascular diseases remain the leading cause of death among patients receiving renal transplantation. To improve the results of transplantation, it is important to continue developing new strategies for the prevention of acute and chronic rejection. Two of such strategies are reducing the need for lifelong immunosuppressive therapy and enhancing donor-specific tolerance. This paper reviews different strategies of using cellular technology in renal transplantation. The use of mesenchymal stem cells (MSCs) is a promising therapeutic strategy for controlling the onset and progression of the «graft

Адрес для переписки: Куват Темиргалиевич Момыналиев. Евразийский национальный университет им. Л.Н. Гумилева
010008 Республика Казахстан, Астана, ул. Мунайтмасова 5
E-mail: dhoroshun@gmail.com

versus host disease». Preliminary data indicate that the use of MSCs can provide potential benefits in renal transplantation by reducing the doses of immunosuppressive drugs required for maintaining the long-term survival and graft function after surgery.

Key words: *mesenchymal stem cells, regulatory T-cells, dendritic cells, immunological tolerance, renal transplantation*

Введение

С момента первой успешной аллогенной трансплантации почки в 1954 году до настоящего времени в мире проведено уже более одного миллиона таких пересадок [74]. В настоящее время, трансплантация почки прочно утвердилась в качестве основного метода заместительной терапии при хронической почечной недостаточности терминальной стадии. Благодаря современным иммунодепрессантам, резко повысилась краткосрочная выживаемость пациентов и трансплантата. Несмотря на это, долгосрочная выживаемость аллотрансплантата почки не улучшается такими же темпами, даже после появления новых, более мощных иммуносупрессивных препаратов [68, 91]. Как показывает клиническая практика, выживаемость аллотрансплантата в первый год составляет 95 и 89%, если трансплантат получен от живых или умерших доноров почки, соответственно. В течение пяти лет после трансплантации выживаемость трансплантированной почки падает до 80% и 67% соответственно [27]. Хроническая нефропатия аллотрансплантата остается наиболее частой причиной его потери, тогда как сердечно-сосудистые заболевания остаются ведущей причиной смертности пациентов после трансплантации [10, 44]. Смертность пациентов составляет около 20% в начальный период после трансплантации и затем увеличивается до 40% [92, 24, 79, 84, 40].

Таким образом, для улучшения результатов трансплантации важно продолжать разработку новых стратегий профилактики острых и хронических отторжений, в том числе за счет уменьшения необходимости пожизненной иммуносупрессии и повышения донор-специфической толерантности. «Толерантность трансплантата» описывает состояние, при котором отсутствует деструктивный иммунный ответ реципиента на хорошо функционирующий донорский орган, при отсутствии или минимальной иммуносупрессии и сохранении интактной иммунной системы [89]. Предполагается, что толерантность трансплантата будет способствовать лучшим результатам не только с точки зрения более продолжительной выживаемости, но и с точки зрения общего состояния здоровья реципиентов.

Экспериментальная толерантность аллотрансплантата сейчас показана на животных [51]. Индукция толерантности трансплантата построено на преимуществах природных механизмов, с помощью которых иммунная система препятствует развитию аутоиммунных заболеваний. Различают периферическую и центральную толерантность.

Центральная толерантность является результатом интрамитического удаления T-регуляторных (T-reg) клеток с высокой авидностью к антигенам тимуса, в то время как такие механизмы, как клональное удаление, истощение, анергия и активная иммуносупрессия обуславливают периферическую толерантность [59].

Центральная толерантность

Центральная толерантность включает в себя, прежде всего, механизмы, аналогичные механизмам обеспечивающим ауто толерантность, при которых T-клетки реактивные к клеткам и тканям собственного организма подвергаются запрограммированной клеточной смерти (апоптозу) и удаляются из репертуара T-клеток в процессе эмбрионального развития. Чтобы использовать этот механизм для индукции толерантности у взрослых, в отличие от ауто толерантности плода, в первую очередь необходимо удалить существующую зрелую T-клеточную популяцию. Далее важно регулировать экспрессию антигенов донора в тимусе с целью удаления аутореактивных T-клеток, то есть «научить» тимус удалять T-клетки, реактивные к антигенам донора [85]. Клинически индукция центральной толерантности достигается за счет общего облучения (для удаления зрелых T-клеток), а затем восстановления клетками костного мозга донора (например, пересадка костного мозга), что обеспечивает приживание донорских стволовых клеток в тимусе [47]. Такое состояние называется химеризм – одновременное присутствие живых клеток различной генетической природы (донор и реципиент) в одном организме (Рис.1).

Хотя этот подход приемлем для пациентов с угрожающими для жизни злокачественными новообразованиями, миелоаблативный режим слишком токсичен для среднестатистического пациента с терминальной стадией почечной недостаточности. Кроме того, существуют теоретические недостатки иммунологически полного аллогенного химеризма, который ведет к нарушению способности организма бороться с инфекциями. Эти проблемы были преодолены посредством развития смешанного химеризма с использованием не-миелоаблативной схемы индукции с заселением гемопоэтическими клетками донора и реципиента (в том числе, периферическими стволовыми клетками) [64]. Типичные режимы кондиционирования включают истощение T-клеток антителами, наряду различными цитотоксическими агентами, на основе протоколов с пони-



Рис. 1.

женной токсичностью, которые были разработаны для аллогенной трансплантации стволовых клеток у пожилых пациентов с онкогематологическими заболеваниями. Персистенция донорских клеток в периферической крови может легко контролироваться такими методами, как проточная цитометрия и количественная полимеразная цепная реакция в режиме реального времени.

На сегодняшний день известно несколько успешных случаев «индуцированной» центральной толерантности при трансплантации почек. В работе Fudaba Y и соавт., шесть пациентов с почечной недостаточностью вследствие множественной миеломы, получили одновременно почку и костный мозг от HLA-идентичных родственников доноров после немиелоаблативного режима кондиционирования, включая циклофосфамид (ЦФ), антитимоцитарный глобулин и облучение тимуса [34]. Циклоспорин (ЦС) вводили в течение 2 месяцев после трансплантации и после инфузии лейкоцитов доноров. У трех из четырех пациентов с транзитным химеризмом не было зафиксировано никаких эпизодов отторжения, несмотря на отмену иммуносупрессии или химиотерапевтического лечения. Только у одного пациента из четырех был зафиксирован эпизод отторжения после прекращения применения ЦС. Была проведена терапия против отторжения и после 1 года стабильной функции почки, иммуносупрессия была успешно снята. Среди двух пациентов с полным химеризмом, у которых в разное время были зафиксированы реакция «трансплантат против хозяина», облитерирующий бронхиолит и пневмонии, отторжения не наблюдалось. Таким образом, только у одного из шести пациентов был зафиксирован эпизод отторжения, у которого затем была успешно снята иммуносупрессия.

Используя ту же стратегию, макрохимеризм был создан у пациентов с трансплантацией почек в сочетании с трансплантацией костного мозга от HLA-неидентичных доноров. Тем не менее, истинная толерантность не была достигнута, что потребовало

повторного назначения иммуносупрессивной терапии [71].

Kawai T. и коллеги провели комбинированную трансплантацию костного мозга и почек при одном несоответствии HLA-гаплотипа от родственных доноров с использованием препаративного немиелоаблативного режима [47]. У всех реципиентов был зафиксирован транзитный химеризм и обратимый синдром капиллярной утечки. Гуморальное отторжение наблюдалось только у одного пациента, несмотря на раннюю сильную иммуномодуляцию, включающую облучение тимуса, применение ЦФ, моноклональных антител к CD2, ЦС и ритуксимаба. У четырех других реципиентов иммуносупрессивная терапия была прекращена спустя 9-14 месяцев после трансплантации, при этом функция почек оставалась стабильной в течение 2,0-5,3 лет после трансплантации. Т-клетки этих четырех реципиентов, протестированные в условиях *in vitro*, показали донор-специфическую невосприимчивость, а в образцах биопсии аллотрансплантата, взятых после отмены иммуносупрессивной терапии, были зафиксированы высокие уровни матричной РНК (мРНК) P3 (FOXP3), но не мРНК транзима В.

Позже эти же авторы сообщили о результатах дополнительного исследования еще пяти пациентов, а также уже упомянутых выше первых пяти пациентов. Было показано, что у пациента № 1 трансплантат функционировал хорошо – без признаков отторжения в течение более 10 лет [48]. У пациента № 2 также не было отторжения более 9 лет, однако в терапевтический протокол был добавлен микофенолата мофетил (ММФ) после рецидива его первоначального заболевания – мембранопротрофиеративного гломерулонефрита – спустя 7 лет. Функция почечного трансплантата оставалась стабильной более 7 лет у пациента № 4, но ММФ был также назначен, так как через 5 лет было диагностировано хроническое гуморальное отторжение. У пациента № 5 не было зафиксировано отторжения почки в течение 6 лет, несмотря на появление донор-специфических антител в низком титре после прекращения иммуносупрессии. Последняя биопсия, сделанная в период 6,8 лет после трансплантации, показала незначительную гломерулопатию (C4d-негативная), что может свидетельствовать о начале хронического отторжения. У пациентов № 6, № 7 и № 9 успешно была прекращена иммуносупрессия, состояние оставалось стабильным: без признаков отторжения или донор-специфических антител от 3 до 4 лет. У пациента № 8 возобновили диализ после потери функции пересаженной почки вследствие тромботической микроангиопатии спустя 6 месяцев после трансплантации. У пациента № 10 было зафиксировано отторжение на втором месяце после отмены иммуносупрессии. Авторы отмечают, что долгосрочная стабильная толерантность мо-

жет быть вызвана у значительной части пациентов, несмотря на индукцию только транзientного химеризма посредством комбинированной трансплантации почек и костного мозга.

В 2012 году для индуцирования иммунной толерантности был использован подход на основе биоинженерных иммобилизованных клеточных элементов для обогащения гемопоэтическими стволовыми клетками и толерогенными клетками трансплантата в сочетании с немиелоаблативным кондиционированием. Такой подход привел к приживлению, устойчивому химеризму и индукции толерантности у реципиентов с высокой степенью родственными и неродственными донорами. Восемь реципиентов почек/костного мозга предварительно подвергли кондиционированию флударабином, 200-сГр общего облучение и ЦФ с последующей после трансплантации иммуносупрессией такролимусом и ММФ. Возраст пациентов от 29 до 56 лет. Совпадение по HLA колебалось от пяти из шести локусов для родственных доноров и одного из шести локусов для неродственных доноров. Абсолютное количество нейтрофилов достигало нижней точки примерно через 1 неделю после пересадки с восстановлением до нормального уровня на 2 недели. Мультилинейный химеризм через 1 месяц составлял от 6 до 100%. У двух индивидов с транзientным химеризмом, была использована поддерживающая монотерапия на низких дозах такролимуса. У одного индивида развился вирусный сепсис через 2 месяца после пересадки и тромбоз почечной артерии. У пяти индивидов наблюдался длительный химеризм, иммунокомпетентность и донор-специфическая толерантность, и спустя 1 год после трансплантации была успешно отменена иммуносупрессия. Ни у одного из реципиентов не было выявлено анти-донорских антител или реакции трансплантата против хозяина [61]. Эти результаты показывают, что манипулирование мобилизованными стволовыми клетками и немиелоаблативное кондиционирование представляет собой безопасный, практичный и воспроизводимый путь создания прочного химеризма и доноров-специфической толерантности. Таким образом, химеризм можно достичь путем использования инфузии стволовых клеток донора реципиенту при трансплантации органов от первого второму (Рис. 1).

Периферическая толерантность

Периферические механизмы толерантности реализуют управление зрелыми Т-клетками, которые избежали элиминации в тимусе в период внутриутробного развития и обладают низким, но определенным аутоиммунным потенциалом. Эти механизмы можно разделить на две категории – в зависимости от того, происходит ли гибель клеток в Т-клеточной популяции.

Вето-клетки подавляют активность аутоспецифических CD8⁺ Т-клеток и препятствуют развитию аутоагрессии [80]. Полагают, что эти клетки определяют стабилизацию органоспецифической ауто толерантности, формируемой вне тимуса и не всегда связанной с элиминацией аутореактивного клона Т-клеток. В последнее время допускается, что сами Вето-клетки являются аутоспецифическими (возможно анти-идиотипическими) лимфоцитами. Было показано, что Вето-клетки могут быть получены в больших количествах при культивировании гемопоэтических стволовых клеток, полученных из периферической крови. Предполагается, что трансплантация таких клеток будет способствовать смешанному химеризму, хотя это до сих пор не было продемонстрировано.

Активационно-индуцированная гибель клеток (АИСК) является периферическим механизмом толерантности, направленным на сдерживание неограниченной экспансии Т-клеток за счет антигенной стимуляции во время физиологического иммунного ответа [100, 101]. АИСК может опосредоваться как за счет взаимодействия апоптоз-индуцирующей Fas (CD95) молекулы с ее лигандом FasL на пролиферирующих Т-клетках (Рис. 2), так и за счет IL-2 зависимого апоптоза. Оба механизма более эффективны в поздней фазе иммунного ответа, когда Т-клетки экспрессируют больше Fas молекул, а также имеют повышенную чувствительность к IL-2. Недавние исследования на грызунах показывают, что Т-клеточный апоптоз может быть необходим для индуцирования периферической толерантности. В этих моделях определенные виды иммуносупрессивных агентов ингибировали индукцию толерантности, хотя эти данные не были продублированы на крупных животных или людях. Основная проблема использования АИСК для индукции толерантности при трансплантации состоит в том, что этот механизм не приводит к полному уничтожению всех антиген-специфических Т-клеток.

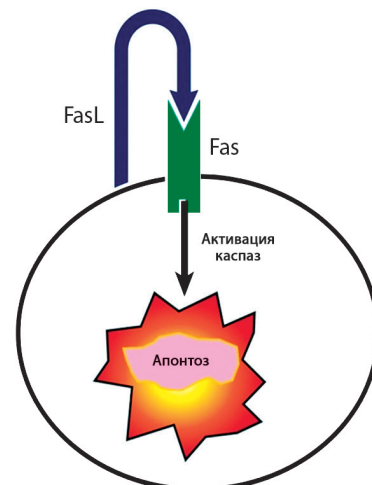


Рис. 2.

Механизмы периферической толерантности могут быть использованы для снижения активности аллореактивных Т-клеток и аллостимуляторных свойств антиген-представляющих клеток (в основном ДК) – двух основных игроков, участвующих в иммунологическом отторжении трансплантата. Т-клетки и ДК также являются инструментами в поддержании ауто толерантности.

Регуляторные Т-клетки

Изучены различные стратегии снижения или устранения аллоспецифического Т-клеточного ответа: инфузия клеток донора, истощение периферических Т-клеток, ингибирование активации Т-клеток путем блокирования или модификации ко-стимуляторных сигналов, которые модулируют функции регуляторных Т-клеток (Т-рег-клетки). [4, 17, 73, 103].

Т-рег-клетки относятся к популяции CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ Т-лимфоцитов, которые обладают высокой супрессорной активностью. Основная функция Т-рег-клеток – контролировать силу и продолжительность иммунного ответа через регуляцию эффекторных Т-клеток (Т-хелперов и Т-цитотоксических клеток). Т-рег-клетки играют основную роль в поддержании собственной толерантности иммунной системы и предотвращения аутоиммунных заболеваний [88, 95]. Они конститутивно экспрессируют маркеры CTLA-4, CD103 и GITR (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor related protein) [80]. Введение аллоантиген-специфических Т-рег-клеток реципиентам является способом индуцировать толерантность в условиях аллотрансплантации.

Kingsley C.I. и соавт. впервые описал генерацию Т-рег-клеток у мышей за счет донор-специфических трансфузий с анти-CD4 антителами для предотвращения отторжения кожного трансплантата. Наряду с этим было показано, что инфузия донорскими мононуклеарными клетками периферической крови до трансплантации индуцируют долгосрочное приживание почек аллотрансплантата у крыс в зависимости от конкретных аллоантигенов Т-рег-клеток [50]. В последнее время показано, что инфузии МСК индуцируют толерантность к полуалогенному сердечному трансплантату у мышей через генерацию Т-рег-клеток [15].

Несколько исследований показало, что существует ряд механизмов, с помощью которого Т-рег-клетки предотвращают иммунные реакции. Т-рег-клеткам необходим клеточный контакт с клетками-мишенями, и они теряют свою активность, когда отделяются от клеток-мишеней с помощью мембран [96]. Т-рег-клетки экспрессируют гранзим В и имеют цитолитическую активность, так как они уничтожают клетки-мишени непосредственно через гранзим/перфорин-зависимый цитолиз [113]. CTLA-4 в Т-рег-клетках выполня-

ет определенную роль в их функционировании. Действительно, *in vitro* дефицит CTLA-4 супрессирует Т-рег-клетки, в частности, за счет снижения экспрессии молекул CD80 и CD86 на ДК, которое опосредуется Т-рег-клетками [107]. Недавнее исследование документально подтвердило, что эктоферменты CD39 и CD73, которые экспрессируются на Т-рег-клетках, катализируют генерацию аденозина из внеклеточного нуклеотида аденозинтрифосфата или аденозиндифосфата. Аденозин может связываться с рецептором A2A, который экспрессируется на эффекторных Т-клетках, тем самым подавляя ответ [23]. Кроме того, было высказано предположение, что несколько членов галектинового семейства участвуют в функционировании Т-рег-клеток [35]. Кроме того, недавно было предложено, что, помимо известного интерлейкина-10 (IL-10) и трансформирующего фактора роста-β (TGF-β), другой цитокин IL-35 несет ответственность за супрессию Т-рег-клеток [19].

Исследования на экспериментальных моделях четко указывают, что баланс между эффекторными Т-клетками и Т-рег-клетками определяет результат иммунной реакции. В идеале, если потенциал эффекторных клеток истощается без существенного повреждения органа, то регулирование преобладает. Тем не менее, эти результаты противоречат друг другу.

Индукционные протоколы с истощением Т-клеток были использованы в клинике, чтобы индуцировать периферическую толерантность и сократить иммуносупрессию [52]. В одном из таких исследований авторы пытались индуцировать толерантность за счет истощения лимфоцитов с помощью алемтузумаба – антинеопластического средства, содержащего моноклональные гуманизированные антитела (Campath-1H) на основе рекомбинантной ДНК, специфически связывающиеся с поверхностным гликопротеином CD52. Алемтузумаб обуславливает лизис лимфоцитов посредством фиксации комплемента и антитело-опосредованной клеточной цитотоксичности [53]. Препарат использовался также совместно с деоксиспергуалином, который оказывает ингибирующее действие на моноциты и макрофаги. Тем не менее, у всех пациентов развилось острое отторжение трансплантата в течение первого послеоперационного месяца [54]. В проспективном рандомизированном клиническом исследовании было показано, что алемтузумаб способствует появлению популяции CD4⁺ CD25^{high} FOXP3⁺ Т-клеток с регулирующей активностью при условии, что иммуносупрессия поддерживается сиролимусом, но не ингибитором кальциневрина – циклоспорином, а низкими дозами микофенолата мофетила, без стероидной поддержки [78]. Однако авторы также обнаружили, что, несмотря на экспансию Т-рег-клеток, низкая доза сиролимуса заметно не предотвращала развитие и прогрессирование

хронических повреждений и дисфункцию трансплантата [87].

В нескольких исследованиях изучалась значимость Т-рег-клеток в трансплантации. Авторы анализировали присутствие Т-рег-клеток в биопсиях пациентов после трансплантации. Высокие уровни мРНК FOXP3 и FOXP3⁺ клеток были обнаружены в биопсиях, взятых в ходе острого отторжения после пересадки почки, также более высокие уровни мРНК FOXP3 наблюдались в моче у этих пациентов по сравнению с пациентами с нормальными результатами биопсии [39, 67, 75, 76, 102]. Следует отметить, что высокий уровень FOXP3 был связан с успешным лечением острого отторжения [54]. Недавний анализ 83 почечных биопсий показал, что экспрессия FOXP3 независимо коррелирует с отторжением, возрастом донора и длительностью времени после трансплантации, но не предсказывает результаты трансплантации [11].

Хотя последние данные свидетельствуют о том, что, возможно, FOXP3 не всегда связан с функцией Т-рег-клеток. Приведенные выше исследования показали, что увеличение Т-рег-клеток в биопсии аллотрансплантата является показателем активного аллоиммунного ответа, а не защитного процесса трансплантата. Таким образом, несмотря на первоначальный энтузиазм по поводу возможной роли в развитии индукции толерантности у людей Т-рег-клетками, прогресс в клинике уступал предсказаниям, и некоторые аспекты биологии Т-рег-клеток еще предстоит полностью выяснить.

Толерогенные дендритные клетки

Дендритные клетки (ДК) – специализированные антиген-презентирующие клетки. По мере созревания ДК изменяются функции клеток (захват, фиксация и переработка антигена на антигенпрезентацию). В конечном итоге они превращают антиген в иммуногенную форму, экспрессируют ко-стимуляторные молекулы и, таким образом, инициируют развитие специфического приобретенного иммунитета. После активации они созревают и мигрируют в лимфатические ткани, где взаимодействуют с Т- и В-клетками для возникновения и организации приобретённого иммунного ответа. Зрелые дендритные клетки активируют Т-хелперы и Т-киллеры. Показано, что ДК индуцируют антиген-специфическую невосприимчивость или толерантность в центральных лимфоидных органах и на периферии. В тимусе ДК индуцируют толерантность за счет удаления самореактивных Т-клеток [72].

Поэтому исследования индукции трансплантационной толерантности в этой области направлены на развитие незрелых ДК, так как они запускают толерантность к собственным клеткам и тканям. Существуют несколько стратегий генерировать незрелые,

вызывающие иммунологическую толерантность (толерогенные) ДК *in vitro*, с использованием ДК реципиента и донора, в том числе фармакологические манипуляции (с рапамицином, дексаметазоном, витамином D₃), лечение с IL-10 и TGF-β, а также культивированием с малыми дозами ростовых факторов [66]. Внутривенные инфузии (за 7 дней до трансплантации) донорских незрелых ДК, существенно (но не бесконечно) продлевают выживание аллотрансплантата сердца. При трансплантации одним из потенциальных препятствий, связанных с применением незрелых ДК, является то, что в контексте воспаления вызванного ишемией, хирургическим вмешательством или инфекцией, введенные ДК могут созреть и ускорить отторжение или, по крайней мере, не снизить аллогенный иммунный ответ. Возможным решением является получение *in vitro* ДК полностью устойчивых к созреванию, которое индуцировано воспалением.

Поскольку созревание ДК опосредовано активностью транскрипционного фактора NF-κB, дендритные клетки, полученные из костного мозга донора, могут быть изменены за счет блокировки NF-κB либо путем трансфекции их доминантной отрицательной формой IKK2 (dnIKK2-ДК) [98], либо выключением si-RNA RelB гена [62]. Введение таких незрелых ДК предотвращало острое отторжение трансплантата и индуцировало выживание аллотрансплантата у грызунов [39, 67]. Следует отметить, что индукция толерантности RelB-ДК связана с образованием *in vivo* Т-рег-клеток. Кроме того, dnIKK2-ДК способны также генерировать Т-рег-клетки. Действительно, когда dnIKK2-ДК культивировали с наивными аллогенными Т-клетками, в культуре появлялись Т-рег-клетки, которые были способны индуцировать долгосрочную выживаемость трансплантата у крысы в модели аллотрансплантации почки [2]. Что касается косвенных путей, ДК реципиента становились толерантными при воздействии рапамицина и бесклеточных лизатов донорских спленоцитов, при этом пролонгированное выживание сердечного трансплантата наблюдалась у 40% мышей реципиентов [94].

В последнее время предполагается, что введение аутологичных TLR-ДК (TLR, Toll-подобный рецептор) может существенно продлить выживаемость трансплантата. Аутологичные TLR-ДК являются более эффективными, чем аллогенные в продлении выживания аллотрансплантата [38]. Несмотря на то, что причина этого различия пока остается неясной, это указывает на практические преимущества аутологичных TLR-ДК в качестве лечебного средства в клинической практике.

Мезенхимальные стволовые клетки

Потенциальными кандидатами среди клеточных элементов, которые обладают иммуномодулирую-

щими свойствами, помимо Т-рег-клеток и ДК, являются стволовые клетки. Среди стволовых мезенхимальные стволовые клетки (МСК) являются одним из наиболее перспективных кандидатов, так как они способны модулировать иммунный ответ через ряд прямых и косвенных взаимодействий с различными типами клеток.

МСК относятся к классу соматических стволовых клеток, которые характеризуются способностью к самоподдержанию и дифференцировке в клетки тканей мезодермального происхождения [13]. Впервые МСК были выделены из костного мозга и идентифицированы А.Я. Фриденштейном как адгезивная популяция фибробласт-подобных клеток, способная дифференцироваться в остеобласты [33]. Дальнейшие исследования показали, что МСК могут давать начало не только остеобластам, но и адипоцитам, хондроцитам и теноцитам [57, 82]. Кроме того, была показана способность МСК дифференцироваться в специализированные клетки экто- и эндодермального происхождения (например, нервные, мышечные и эпителиальные клетки), что предполагает наличие у МСК потенциала плюрипотентных стволовых клеток [20]. Несмотря на то, что изначально МСК были выделены из костного мозга, такие клетки также можно обнаружить и в других тканях и органах человека и животных, такие как жировая ткань, печень, скелетные мышцы, синовиальная оболочка, амниотическая жидкость, пуповинная кровь и плацента [82, 8, 42, 22, 12].

Для унификации характерных свойств этих клеток в 2006 году Комитетом по стволовым клеткам Международного общества клеточной терапии были определены «минимальные» критерии, специфичные для МСК, выделенные из разных тканевых источников: 1) адгезия к пластику и фибробласт-подобная морфология, 2) характерный иммунофенотип (экспрессия CD73, CD90, CD105 и отсутствие экспрессии CD34, CD45, CD14, CD11b, CD79a, HLA-DR) и 3) способность дифференцироваться в остеобласты, адипоциты и хондроциты [26].

Одной из важных биологических свойств МСК является их низкая иммуногенность, способность мигрировать в очаг повреждения или воспаления, иммуномодулирующая активность, что позволяет рассматривать их как потенциально активных регуляторов регенеративных процессов [1, 56, 97]. Более того, недавно было показано, что МСК могут играть определенную роль в поддержании периферической и трансплантационной толерантности, что имеет большее значение при пересадке органов или тканей [31].

Действительно, недавние исследования показали, что МСК выступают в качестве плеiotропных регуляторов, подавляющих иммунные процессы за счет секреции цитокинов и/или прямого клеточного контакта с клетками иммунной системы, включая Т-клетки, ДК, В-клетки, естественные киллеры (ЕК),

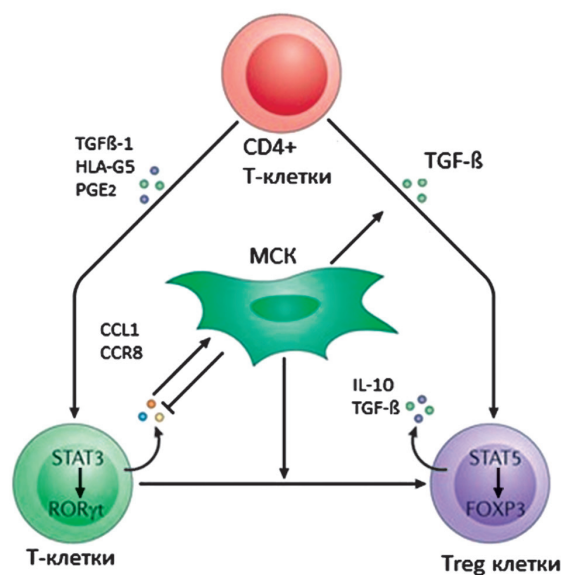


Рис. 3.

а также клетками врожденного иммунитета. В частности, их способность модулировать активность Т-клеток и ДК, основных иммунологических игроков, участвующих в отторжении трансплантата или толерантности, делает МСК перспективным инструментом для иммуномодуляции при трансплантации органов [3].

Механизм(ы) МСК-опосредованного ингибирования функциональной активности Т-клеток остается еще до конца не изученным [1, 69, 90]. Документально подтверждено, что МСК вызывают изменения фенотипа Т-клеток и способствуют появлению Т-рег-клеток. МСК генерируют $CD4^+CD25^{high}FOXP3^+$ Т-рег-клетки при культивировании с мононуклеарными клетками периферической крови человека, механизм частично опосредуется взаимодействием МСК С-С хемокинового лиганда-1 (CCL1) с его рецепторами на Т-клетки, рецепторы – С-С-8 хемокином (CCR8) [7]. Также показано, что для индукции Т-рег-клеток, МСК требуется клеточный контакт, PGE2 и TGFβ-1 или HLA-G5, высвобождаемый из МСК (Рис. 3) [32, 86].

Выше уже отмечалось, что ДК играют важную роль в инициации первичного иммунного ответа и толерантности, в зависимости от их активации и стадии созревания [5]. Незрелые ДК характеризуются высокоэффективным поглощением и процессингом в периферической крови, а также низкой способностью стимулировать Т-клетки. Воспалительные цитокины способствуют созреванию ДК от процессинга до презентующей стадии. Зрелые ДК способны регулировать МНС класса II и ко-стимулирующих молекул, выработку ИЛ-12 и миграцию в лимфоидных тканях [70]. Зрелые ДК индуцируют иммуногенный Т-клеточный ответ, в то время как толерантность наблюдается, когда антигены представляются незрелыми или полужрелыми ДК [29]. Последние данные показывают, что МСК

нарушают три основные функции, которые характеризуют переход ДК от незрелой к зрелой стадии, а именно – регуляцию презентации антигена/экспрессию ко-стимулирующих молекул, способность презентовать антигены и способность мигрировать в лимфоидные ткани [30]. Снижение секреции IL-12 дендритными клетками также наблюдалось после совместного культивирования с МСК. МСК контролируют дифференцировку и созревание как моноциты, так и CD34⁺ ДК, способствует высвобождению про-воспалительных цитокинов [45, 25, 77, 63]. МСК также могут влиять на зрелые ДК [111], преобразуя их в регуляторную популяцию ДК, способные ингибировать пролиферацию лимфоцитов через Jagged-2-зависимый механизм [112] и генерируя аллоантиген-специфических T-рег-клетки, которые играют немаловажную роль в иммунологической толерантности [104].

В связи с этим, учитывая все функциональные особенности МСК в иммунорегуляции клеточного ответа, в котором участвуют клетки врожденного иммунитета, был проведен целый ряд экспериментальных работ на животных, доказывающих возможность длительного выживания трансплантированных островков поджелудочной железы, почек [108, 49], печени [105], сердца [18, 83, 28, 37] и почек [36, 16, 112] после инфузии только МСК или совместно с низкими дозами иммуносупрессивных препаратов. Недавно было показано, что одним из основных факторов, влияющих на экспансию T-рег-клеток и длительное выживание пересаженного органа, являются сроки инфузии МСК [36, 16]. Например, МСК введенные экспериментальным мышам до трансплантации почки локализовались преимущественно в лимфоидных органах и индуцировали пролиферацию T-рег-клеток, что в свою очередь приводило к иммунологической толерантности в отношении аллогенного трансплантата почки [36]. С другой стороны, МСК, введенные мышам после трансплантации, локализовались в трансплантированной почке [17]. Локализация МСК в трансплантате ассоциировалась с очень низкой экспансией T-рег-клеток, накоплением С3 белков комплемента, острой дисфункцией и слабой выживаемостью пересаженной почки [17]. Эти результаты указывают на то, что миграция МСК в лимфоидные органы реципиентов является очень важной для того, чтобы МСК оказали существенный иммуномодулирующий эффект при аллотрансплантации органов или тканей. Тем самым, эти данные поддерживают концепцию о необходимости взаимодействия МСК с клетками иммунной системы в индуктивных и эффекторных участках, где происходит праймирование антиген-специфических T-клеток, синтез антител В-лимфоцитами, продуцирование цитокинов T-лимфоцитами – естественными клетками и макрофагами.

Большинство доклинических исследований по применению МСК в трансплантации органов были проведены без использования каких-либо иммуносупрессивных фармакологических препаратов. Тем не менее, для того, чтобы осуществить трансляцию клеточной терапии в клиническую практику трансплантации органов, важно оценить возможные негативные последствия иммуносупрессивных препаратов на МСК индуцированную пролиферацию T-рег-клеток, функции и выживаемость аллотрансплантатов. В связи с этим были проведены многочисленные исследования по изучению эффектов циклоспорина на МСК-индуцированную иммунорегуляцию при пересадке органов. Однако результаты этих исследований оказались противоречивыми [28, 112, 43, 65]: с одной стороны, имеются экспериментальные и клинические данные о том, что ингибиторы кальциневрина блокируют экспрессию IL-2 в T-клетках и тем самым приостанавливают гомеостаз и рост T-рег-клеток, хотя при низких дозах этих препаратов наблюдалась пролиферация T-рег-клеток, как в лимфоидных органах, так и в аллотрансплантатах [109, 106]. Также было продемонстрировано, что применение циклоспорина ингибировало МСК-опосредованную супрессию пролиферации CD4⁺ T-клеток в условиях *in vivo* [37], тогда как *in vitro* исследования показали, что циклоспорин не оказывает существенного эффекта на МСК-опосредованную функциональную активность T-лимфоцитов [32]. Сочетание МСК и субтерапевтических доз циклоспорина оказывало синергетический иммуносупрессивный эффект, который приводил к долгосрочному приживлению аллотрансплантата, как это было показано на крысах [49]. В данной экспериментальной модели комбинированное применение МСК и низких доз циклоспорина индуцировало раннюю экспансию IL-10 продуцирующих CD11b⁺ клеток, которые опосредовали T-клеточную гиперчувствительность и позволили Foxp3⁺ T-рег-клеткам пролиферировать длительное время, как в лимфатических узлах, так и в трансплантате [49].

С другой стороны, применение ингибиторов рапамицина показало, что они способны поддерживать экспансию T-рег-клеток, как в условиях *in vitro*, так *in vivo* [6]. Например, в экспериментальной модели на животных с пересаженным сердцем рапамицин взаимодействовал с МСК в индукции трансплантационной толерантности, опосредованной T-рег-клетками. Аналогичные результаты были получены при использовании комбинации микофенолата с донорскими МСК, которая вызывала долгосрочное приживление трансплантата [37].

Таким образом, все эти данные показывают, что в экспериментальных инфузионных моделях при низких дозах иммуносупрессивных препаратов, МСК индуцировали длительную выживаемость трансплантатов, тем самым указывая на то, что при-

менение МСК позволяет снизить использование иммуносупрессивной терапии при трансплантации органов и тканей. Эти доклинические исследования также доказывают, что МСК могут быть использованы в качестве альтернативного терапевтического инструмента, способного предотвратить отторжение пересаженных донорских органов и тканей.

Первые работы по клиническому применению МСК в трансплантации органов и тканей начали появляться относительно недавно. Так, в 2008 году Le Blanc K. и соавт. впервые сообщили об успешном клиническом ответе на гаплоидентичные МСК при тяжелом резистентном состоянии «трансплантат против хозяина» кишечника и печени [58]. Мультицентровое исследование (фаза 2) для стероид-резистентных тяжелых острых состояний «трансплантат против хозяина» подтвердили это наблюдение, при этом негативных последствий обнаружено не было. В период с октября 2001 года и январь 2007 года под наблюдением находились 55 пациентов. Средняя дозировка МСК была $1,4 \times 10^6$ клеток на кг массы тела. 27 пациентов получили одну дозу, 22 получили две дозы, а также шесть 3-5 дозы клеток, полученных от HLA-идентичных доноров ($n=5$), гаплоидентичных доноров ($n=18$), а также HLA-несоответствующих доноров ($n=69$). 30 пациентов имели полный ответ, а у девяти наступило улучшение. Ни у одного из пациентов не было побочных эффектов во время или сразу после инфузии МСК.

Пилотное исследование с участием 2 пациентов показало отсутствие неблагоприятных последствий и отрицательного влияния после введения аутологичных МСК у пациентов спустя года после пересадки почки [81]. Пациенты получали индукционную терапию препаратом Симулект для истощения Т-клеток, поддержание иммуносупрессии осуществлялось с помощью циклоспорина и микофенолата мофетила. На 7-й день после трансплантации вводили аутологичные МСК внутривенно. Главной целью авторов было выявление безопасности и клинических возможностей использования МСК при трансплантации почек. Предполагается, что инфузия аутологичных МСК может быть полезным дополнением для иммунологической толерантности при лимфоаблативной терапии за счет активации Т-рег-клеток и ограничения экспансии Т-клеток памяти [46, 55].

Авторы обнаружили, что у пациентов, получавших МСК, доля $CD8^+$ Т-клеток памяти в общей $CD8^+$ Т-клеточной популяции заметно снизилась после трансплантации. Изменения $CD8^+$ Т-клеток памяти в периферической крови пациентов, получавших МСК, было связано со значительным сокращением $CD8^+$ Т-клеток. Эти эффекты были менее выражены у реципиентов почечного трансплантата, находящегося на той же индукционной терапии, но без МСК. Кроме того, у пациентов, получавших МСК, наблюдалось прогрессивное увеличение

Т-рег-клеток после трансплантации. Соотношение Т-рег-клетки: $CD8^+$ Т-клетки памяти изменилось в пользу регуляторных Т-клеток и, соответственно, протолерогенной среды [14]. Тем не менее, клеточная терапия с использованием МСК не обошлась без проблем. У пациентов, получивших инъекцию МСК, развилась почечная недостаточность через несколько дней после инфузии клеток. У первого пациента биопсия трансплантата не выполнена из-за удлинения времени кровотечения. У второго пациента была выполнена биопсия после роста креатинина для исключения острого отторжения. У этого пациента был выявлен фокальный воспалительный инфильтрат преимущественно из гранулоцитов. Оба пациента получали пульс-терапию преднизолоном и функция трансплантата несколько улучшилась. Авторы предполагают, что, несмотря на известные противовоспалительные свойства МСК [99], различные растворимые факторы МСК также включают провоспалительные медиаторы, которые вносят свой вклад в ухудшение функции почек [9, 21, 41].

В 2012 году в журнале JAMA были опубликованы данные проспективного рандомизированного исследования, в котором проводилось сравнение протоколов индукционной терапии с использованием аутологичных МСК и антител к рецептору IL-2 при трансплантации почки. В исследовании участвовало 159 пациентов, которым проводилась трансплантация совместимой по ABO и анти-HLA антителам почки от родственного донора [93]. Все участники были распределены на три группы, в которых применялись разные протоколы индукционной терапии: 1) 53 пациента получали МСК и стандартные дозы ингибиторов кальциневрина (ИК), 2) 52 пациента получали МСК и низкие дозы ИК (80% от стандартной) и 3) 52 пациента в контрольной группе получали антитела к рецептору IL-2 и стандартные дозы ИК. В результате было выявлено, что реципиенты аутологичных МСК характеризовались более низкой частотой острого отторжения, подтвержденных биопсией в первые 6 месяцев, чем контрольная группа: 7,5%, 7,7% и 21,6%, соответственно. Ни у одного из реципиентов аутологичных МСК не было острого отторжения, в то время как в контрольной группе было 7,8%. Важно отметить, что в случаях острого отторжения менее тяжелое поражение трансплантата наблюдалось у пациентов, получивших аутологичные МСК, чем у пациентов в контрольной группе. В течение первого месяца после трансплантации скорость клубочковой фильтрации была статистически значимо выше у пациентов из группы МСК+стандартные дозы ИК в сравнении с контрольной группой: 77,0 против 52,6 мл/мин/1,73 м² на 7-й день, 84,9 против 69,6 мл/мин/1,71 м² на 14-й и 91,1 против 79,0 мл/мин/1,73 м² через месяц. На второй месяц после трансплантации эти различия уменьшались и теряли статистическую значимость.

В группе МСК+низкие дозы ИК статистически значимые различия с контрольной группой в скорости клубочковой фильтрации наблюдались только на 7-й день: 74,9 против 52,6 мл/мин/1,73 м².

Таким образом, в сравнении с антителами к рецептору IL-2 использование МСК в данном клиническом исследовании обладало целым рядом преимуществ: более низкая частота эпизодов острого отторжения трансплантата, снижение риска возникновения оппортунистических инфекций и более быстрое восстановление функции пересаженных почек.

Lee H с коллегами [60] при проведении трансплантации почки 7 пациентам от живого донора провели инъекции донорских МСК. Осложнений или побочных эффектов, таких как гиперчувствительность во время или после инъекции донорских МСК выявлено не было. Кроме того отторжение трансплантата наблюдалось только у 3 реципиентов, но в течение последующего периода регулировалось стероидной терапией. Смешанный химеризм не был обнаружен в периферической крови реципиентов в течение 1 и 8 недель после трансплантации. Исходя из вышеперечисленного, можно сделать предварительный вывод о том, что инъекции донорских МСК во время трансплантации могут быть безопасны. Дальнейшие исследования в данной области будут осуществляться для оценки эффективности инъекций МСК для индукции химеризма и последующей иммунной толерантности при трансплантации почек.

Заключение

Использование клеточных технологий в трансплантации почки является оправданным подходом. Наиболее перспективным является использование аутологичных МСК для быстрого восстановления функции трансплантата в течение первого месяца после операции. Таким образом, аутологичные МСК могут заменить антитела к IL-2 рецепторам и позволить использование более низких доз иммуносупрессивных препаратов без ущерба для безопасности пациента. Следует отметить, что в настоящее время уже появляются препараты на основе стволовых клеток. Так, в начале 2012 года препарат Prochymal стал первым одобренным FDA продуктом на основе стволовых клеток для лечения желудочно-кишечной формы острой болезни «трансплантат против хозяина». Препарат Prochymal (Osiris Therapeutics) представляет собой МСК, полученные из костного мозга здоровых добровольцев возрастом 18-32 года. Клетки выращивали и размножали в культуре, так что потомство единственной донорской клетки позволяет получить достаточно материала для лечения тысяч больных. Несмотря на то, что клетки получены от неродственных доноров, они не вызывают у пациентов реакции иммунного отторжения.

Однако при использовании МСК в трансплантологии следует учитывать различные риски. Например, возникновение хромосомных aberrаций, неопластической трансформации, повышения теломеразной активности МСК при их длительном культивировании. Необходимо использовать только МСК только на ранних пассажах (3-4), которые имеют нормальный кариотип. Другой гипотетический риск, если аутологичные МСК улучшают иммуносупрессию, то не исключены связанные с этим неблагоприятные побочные эффекты (например, de novo или реактивация вирусных инфекций, лимфопролиферативные заболевания или мультифокальная лейкоэнцефалопатия). Тщательная оценка долгосрочной безопасности аутологичных МСК в трансплантации имеет первостепенное значение, особенно у хронически иммунонекомпетентных лиц, которые являются более чувствительными к развитию опухолей и инфекций.

Авторы не имеют конкурирующих интересов.

Литература

1. Aggarwal S., Pittenger M.F. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses // *Blood*. 2005. Vol. 105. P. 1815–1822.
2. Aiello S., Cassis P., Cassis L. et al. DnIKK2-transfected dendritic cells induce a novel population of inducible nitric oxide synthase-expressing CD4+CD25- cells with tolerogenic properties // *Transplantation*. 2007. Vol. 83. P. 474-484.
3. Atoni R., Chiu R.C. Concise review: immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells in cellular transplantation: update, controversies, and unknowns // *Stem Cells Transl. Med.* 2012. Vol. 1. P. 200-205.
4. Bach J.F. Induction of immunological tolerance using monoclonal antibodies: applications to organ transplantation and autoimmune disease // *C. R. Biol.* 2006. Vol. 329. P. 260-262.
5. Bancheau J., Steinman R.M. Dendritic cells and the control of immunity // *Nature*. 1998. Vol. 392. P. 245–252.
6. Battaglia M., Stabili A., Roncarolo M.G. et al. Rapamycin selectively expands CD4+CD25+FoxP3+ regulatory T cells // *Blood*. 2005. Vol. 105. P. 4743–4748.
7. Batten P., Sarathchandra P., Antoniv J.W. et al. Human mesenchymal stem cells induce T cell anergy and downregulate T cell allo-responses via the TH2 pathway: relevance to tissue engineering human heart valves // *Tissue Eng.* 2006. Vol. 12. P. 2263–2273.
8. Bieback K., Kern S., Klüter H., et al. Critical parameters for the isolation of mesenchymal stem cells from umbilical cord blood // *Stem Cells*. 2004. Vol. 22. P. 625–634.
9. Bischoff D.S., Zhu J.H., Makbiji N.S. et al. Acidic pH stimulates the production of the angiogenic CXC chemokine, CXCL8 (interleukin-8), in human adult mesenchymal stem cells via the extracellular signal-regulated kinase, p38 mitogen-activated protein kinase, and NF-kappaB pathways // *J. Cell. Biochem.* 2008. Vol. 104. P. 1378–1392.
10. Briggs J.D. Causes of death after renal transplantation //

Nephrol. Dial. Transplant. 2001. Vol.16. P.1545–1549.

11. *Bunnag S., Allanach K., Jhangri G.S. et al.* FOXP3 expression in human kidney transplant biopsies is associated with rejection and time post transplant but not with favorable outcomes // *Am. J. Transplant.* 2008. Vol. 8. P. 1423-1433.

12. *Campagnoli C., Roberts L.A., Kumar S. et al.* Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow // *Blood.* 2001. Vol. 98. P. 2396–2402.

13. *Caplan A.I.* Mesenchymal stem cells // *J. Orthop. Res.* 1991. Vol. 9. P. 641–650.

14. *Casiraghi F., Todeschini M., Remuzzi G.* Mesenchymal stromal cells to promote solid organ transplantation tolerance // *European. Nephrology.* 2011. Vol. 5. P. 61–67.

15. *Casiraghi F., Azziolini N., Casalis P. et al.* Pre-transplant infusion of mesenchymal stem cells prolongs the survival of a semi-allogeneic heart transplant through the generation of regulatory T cells // *J. Immunol.* 2008. Vol. 81. P. 3933-3946.

16. *Casiraghi F., Azziolini N., Todeschini M. et al.* Localization of mesenchymal stromal cells dictates their immune or proinflammatory effects in kidney transplantation // *Am. J. Transplant.* 2012. Vol. 12. P. 2373–2383.

17. *Cavinato R.A., Casiraghi F., Azziolini N. et al.* Pretransplant donor peripheral blood mononuclear cells infusion induces transplantation tolerance by generating regulatory T cells // *Transplantation.* 2005. Vol. 79. P. 1034-1039.

18. *Chabannes D., Hill M., Merieau E. et al.* A role for heme oxygenase-1 in the immunosuppressive effect of adult rat and human mesenchymal stem cells // *Blood.* 2007. Vol. 110. P. 3691–3694.

19. *Collison L.W., Workman C.J., Kuo T.T. et al.* The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function // *Nature.* 2007. Vol. 450. № 7169. P. 566-569.

20. *Crisan M., Yap S., Casteilla L. et al.* A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs // *Cell. Stem Cell.* 2008. Vol. 3. P. 301–313.

21. *Dahl S.R., Kleiveland C.R., Kassem M. et al.* Determination of thromboxanes, leukotrienes and lipoxins using high-temperature capillary liquid chromatography-tandem mass spectrometry and on-line sample preparation // *J Chromatogr. A.* 2009. Vol. 1216. P. 4648–4654.

22. *De Bari C., Dell'Accio F., Tylzanowski P. et al.* Multipotent mesenchymal stem cells from adult human synovial membrane // *Arthritis. Rheum.* 2001. Vol. 44. P. 1928-1942.

23. *Deaglio S., Dwyer K.M., Gao W. et al.* Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression // *J. Exp. Med.* 2007. Vol. 204. P. 1257-1265.

24. *Diethelm A.G., Deierhoj M.H., Hudson S.L. et al.* Progress in renal transplantation. A single center study of 3359 patients over 25 years // *Ann. Surg.* 1995. Vol. 221. P. 446–457.

25. *Djouad F., Charbonnier L.M., Bouffi C. et al.* Mesenchymal stem cells inhibit the differentiation of dendritic cells through an interleukin-6-dependent mechanism // *Stem Cells.* 2007. Vol. 25. P. 2025–2032.

26. *Dominici M., Le Blanc K., Mueller I. et al.* Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement // *Cy-*

tototherapy. 2006. Vol. 8. P. 315–317.

27. *Durrbach A., Francois H., Beaudreuil S. et al.* Advances in immunosuppression for renal transplantation // *Nat. Rev. Nephrol.* 2010. Vol. 6. P. 160–167.

28. *Eggenhofer E., Renner P., Soeder Y. et al.* Features of synergism between mesenchymal stem cells and immunosuppressive drugs in a murine heart transplantation model // *Transpl Immunol.* 2011. Vol. 25. P. 141–147.

29. *English K., Barry F.P., Field-Corbett C.P. et al.* IFN-gamma and TNF-alpha differentially regulate immunomodulation by murine mesenchymal stem cells // *Immunol. Lett.* 2007. Vol. 110. P. 91–100.

30. *English K., Barry F.P., Mabon B.P.* Murine mesenchymal stem cells suppress dendritic cell migration, maturation and antigen presentation // *Immunol. Lett.* 2008. Vol. 115. P. 50–58.

31. *English K., French A., Wood K.J.* Mesenchymal stromal cells: facilitators of successful transplantation? // *Cell Stem Cell.* 2010. Vol. 7. P. 431–442.

32. *English K., Ryan J.M., Tobin L. et al.* Cell contact, prostaglandin E(2) and transforming growth factor beta 1 play non-redundant roles in human mesenchymal stem cell induction of CD4+CD25(High) Foxp3+ regulatory T cells // *Clin. Exp. Immunol.* 2009. Vol. 156. P. 149–160.

33. *Friedenstein A.J., Gorskaja J.F., Kulagina N.N.* Fibroblast precursors in normal and irradiated mouse hematopoietic organs // *Exp Hematol.* 1976. Vol. 4. P. 267-274.

34. *Fudaba Y., Spitzer T.R., Shaffer J. et al.* Myeloma responses and tolerance following combined kidney and nonmyeloablative marrow transplantation: in vivo and in vitro analyses // *Am. J. Transplant.* 2006. Vol. 6. P. 2121-2133.

35. *Garin M.I., Chu C.C., Golshayan D. et al.* Galectin-1: a key effector of regulation mediated by CD4+CD25+ T cells // *Blood.* 2007. Vol. 109. P. 2058-2065.

36. *Ge W., Jiang J., Arp J. et al.* Regulatory T-cell generation and kidney allograft tolerance induced by mesenchymal stem cells associated with indoleamine 2,3-dioxygenase expression // *Transplantation.* 2010. Vol. 90. P. 1312–1320.

37. *Ge W., Jiang J., Baroja M.L. et al.* Infusion of mesenchymal stem cells and rapamycin synergize to attenuate alloimmune responses and promote cardiac allograft tolerance // *Am. J. Transplant.* 2009. Vol. 9. P. 1760–1772.

38. *Golshayan D., Jiang S., Tsang J. et al.* In vitro-expanded donor alloantigen-specific CD4+CD25+ regulatory T cells promote experimental transplantation tolerance // *Blood.* 2007. Vol. 109. P. 827-835.

39. *Grimbert P., Mansour H., Desvieux D. et al.* The regulatory/cytotoxic graft-infiltrating T cells differentiate renal allograft borderline change from acute rejection // *Transplantation.* 2007. Vol. 83. P. 341-346.

40. *Howard R.J., Patton, P.R., Reed A.I. et al.* The changing causes of graft loss and death after kidney transplantation // *Transplantation.* 2002. Vol. 73. P. 1923–1928.

41. *Huang H., Kim H.J., Chang E.J. et al.* IL-17 stimulates the proliferation and differentiation of human mesenchymal stem cells: implications for bone remodeling // *Cell Death Differ.* 2009. Vol. 16. P. 1332–1343.

42. *In't Anker P.S., Scherjon S.A., Kleijburg-van der Keur C. et al.* Isolation of mesenchymal stem cells of fetal or maternal origin

- from human placenta // *Stem Cells*. 2004. Vol. 22. P. 1338–1345.
43. Inoue S., Popp F.C., Koehl G.E. et al. Immunomodulatory effects of mesenchymal stem cells in a rat organ transplant model // *Transplantation*. 2006. Vol. 81. P. 1589–1595.
44. Jevnikar A.M., Mannon R.B. Late kidney allograft loss: what we know about it, and what we can do about it // *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2008. Vol. 3 (Suppl. 2). P. S56–67.
45. Jiang X.X., Zhang Y., Liu B. et al. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells // *Blood*. 2005. Vol. 105. P. 4120–4126.
46. Karlsson H., Samarasinghe S., Ball L.M. et al. Mesenchymal stem cells exert differential effects on alloantigen and virus-specific T-cell responses // *Blood*. 2008. Vol. 112. P. 532–541.
47. Kawai T., Cosimi A.B., Spitzer T.R. et al. HLA-mismatched renal transplantation without maintenance immunosuppression // *N. Engl. J. Med.* 2008. Vol. 358. P. 353–361.
48. Kawai T., Sachs D.H., Sykes M. et al. HLA-mismatched renal transplantation without maintenance immunosuppression // *N. Engl. J. Med.* 2013. Vol. 368. P. 1850–1852.
49. Kim Y.H., Wee Y.M., Choi M.Y. et al. Interleukin (IL)-10 induced by CD11b(+) cells and IL-10-activated regulatory T cells play a role in immune modulation of mesenchymal stem cells in rat islet allografts // *Mol. Med.* 2011. Vol. 17. P. 697–708.
50. Kingsley C.I., Karim M., Busbell A.R. et al. CD25+CD4+ regulatory T cells prevent graft rejection: CTLA-4- and IL-10-dependent immunoregulation of alloresponses // *J. Immunol.* 2002. Vol. 168. P. 1080–1086.
51. Kingsley C.I., Nadig S.N., Wood K.J. Transplantation tolerance: lessons from experimental rodent models // *Transpl. Int.* 2007. Vol. 20. P. 828–841.
52. Kirk A.D. Induction immunosuppression // *Transplantation*. 2006. Vol. 82. P. 593–602.
53. Kirk A.D., Hale D.A., Mannon R.B. et al. Results from a human renal allograft tolerance trial evaluating the humanized CD52-specific monoclonal antibody alemtuzumab (CAMPATH-1H) // *Transplantation*. 2003. Vol. 76. P. 120–129.
54. Kirk A.D., Mannon R.B., Kleiner D.E. et al. Results from a human renal allograft tolerance trial evaluating T-cell depletion with alemtuzumab combined with deoxyspergualin // *Transplantation*. 2005. Vol. 80. P. 1051–1059.
55. Krampner M., Glennie S., Dyson J. et al. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide // *Blood*. 2003. Vol. 101. P. 3722–3729.
56. Krampner M., Glennie S., Dyson J. et al. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide // *Blood*. 2003. Vol. 101. P. 3722–3729.
57. Kuo Y.R., Wang C.T., Cheng J.T. et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells enhanced diabetic wound healing through recruitment of tissue regeneration in a rat model of streptozotocin-induced diabetes // *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2011. Vol. 128. P. 872–880.
58. Le Blanc K., Frasson F., Ball L. et al. Mesenchymal stem cells for treatment of steroid-resistant, severe, acute graft-versus-host disease: a phase II study // *Lancet*. 2008. Vol. 371. P. 1579–1586.
59. Lechler R.I., Garden O.A., Turka L.A. The complementary roles of deletion and regulation in transplantation tolerance // *Nat. Rev. Immunol.* 2003. Vol. 3. P. 147–158.
60. Lee H., Park J.B., Lee S. et al. Intra-osseous injection of donor mesenchymal stem cell (MSC) into the bone marrow in living donor kidney transplantation: a pilot study // *J. Transl. Med.* 2013. Vol. 11. P. 96–104.
61. Leventhal J., Abecassis M., Miller J. et al. Chimerism and tolerance without GVHD or engraftment syndrome in HLA-mismatched combined kidney and hematopoietic stem cell transplantation // *Sci. Transl. Med.* 2012. Vol. 4. P. 124–128.
62. Li M., Zhang X., Zheng X. et al. Immune modulation and tolerance induction by RelB-silenced dendritic cells through RNA interference // *J. Immunol.* 2007. Vol. 178. P. 5480–5487.
63. Li Y.P., Paczesny S., Lauret E. et al. Human mesenchymal stem cells license adult CD34+ hemopoietic progenitor cells to differentiate into regulatory dendritic cells through activation of the Notch pathway // *J. Immunol.* 2008. Vol. 180. P. 1598–608.
64. Liu C., Zhu P., Saito T. et al. Non-myeloablative conditioning is sufficient to induce mixed chimerism and subsequent acceptance of donor specific cardiac and skin grafts // *Int. Immunopharmacol.* 2013. Vol. 16. P. 392–398.
65. Longoni B., Szilagyi E., Puviani L. et al. Mesenchymal stem cell-based immunomodulation in allogeneic heterotopic heart-lung transplantation // *J. Transplant. Technol. Res.* 2012. Vol. 2. P. 107.
66. Lutz M.B., Suri R.M., Niimi M. et al. Immature dendritic cells generated with low doses of GM-CSF in the absence of IL-4 are maturation resistant and prolong allograft survival in vivo // *Eur. J. Immunol.* 2000. Vol. 30. P. 1813–1822.
67. Martin L., Funes de la Vega M., Boerje O. et al. Detection of Foxp3+ cells on biopsies of kidney transplants with early acute rejection // *Transplant. Proc.* 2007. Vol. 39. P. 2586–2588.
68. Meier-Kriesche H.U., Schold J.D., Srinivas T.R. et al. Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era // *Am. J. Transplant.* 2004. Vol. 4. P. 378–383.
69. Meisel R., Zibert A., Laryea M. et al. Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation // *Blood*. 2004. Vol. 103. P. 4619–4621.
70. Mellman I., Steinman R.M. Dendritic cells: specialized and regulated antigen processing machines // *Cell*. 2001. Vol. 106. P. 255–258.
71. Millan M.T., Shizuru J.A., Hoffmann P. et al. Mixed chimerism and immunosuppressive drug withdrawal after HLA-mismatched kidney and hematopoietic progenitor transplantation // *Transplantation*. 2002. Vol. 73. P. 1386–1391.
72. Morelli A.E., Thomson A.W. Tolerogenic dendritic cells and the quest for transplant tolerance // *Nat. Rev. Immunol.* 2007. Vol. 7. P. 610–621.
73. Morita H., Sugiyama K., Inaba M. et al. A strategy for organ allografts without using immunosuppressants or irradiation // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 1998. Vol. 95. P. 6947–52.
74. Murray J.E., Merrill J.P., Harrison J.H. Kidney transplantation between seven pairs of identical twins // *Ann Surg.* 1958. Vol. 148. P. 343–459.
75. Muthukumar T., Dadbania D., Ding R. et al. Messenger RNA for FOXP3 in the urine of renal-allograft recipients // *N.*

Engl. J. Med. 2005. Vol. 353. P. 2342-2351.

76. *Naka E.L., Ponciano V.C., Rangel E.B. et al.* FOXP3-positive regulatory cells inside the allograft and the correlation with rejection // *Transplant. Proc.* 2006. Vol. 38. P. 3202-3204.

77. *Nauta A.J., Kruijselbrink A.B., Lurvink E. et al.* Mesenchymal stem cells inhibit generation and function of both CD34+-derived and monocyte-derived dendritic cells // *J. Immunol.* 2006. Vol. 177. P. 2080-2087.

78. *Noris M., Casiraghi F., Todeschini M. et al.* Regulatory T cells and T cell depletion: role of immunosuppressive drugs // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007. Vol. 18. P. 1007-1018.

79. *Ojo A.O., Hanson J.A., Wolfe R.A. et al.* Long-term survival in renal transplant recipients with graft function // *Kidney Int.* 2000. Vol. 57. P. 307-313.

80. *Ophir E., Reisner Y.* The use of donor-derived veto cells in hematopoietic stem cell transplantation // *Front. Immunol.* 2012. Vol. 3. P. 93.

81. *Perico N., Casiraghi F., Inrona M. et al.* Autologous mesenchymal stromal cells and kidney transplantation: a pilot study of safety and clinical feasibility // *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011. Vol. 6. P. 412-422.

82. *Pittenger M.F., Mackay A.M., Beck S.C. et al.* Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells // *Science.* 1999. Vol. 284. P. 143-147.

83. *Popp F.C., Eggenhofer E., Renner P. et al.* Mesenchymal stem cells can induce long-term acceptance of solid organ allografts in synergy with low-dose mycophenolate // *Transpl Immunol.* 2008. Vol. 20. P. 55-60.

84. *Prommool S., Jhangri G.S., Cockfield S.M. et al.* Time dependency of factors affecting renal allograft survival // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2000. Vol. 11. P. 565-573.

85. *Remuzzi G., Perico N., Carpenter C.B. et al.* The thymic way to transplantation tolerance // *J. Am. Soc. Nephrol.* 1995. Vol. 5. P. 1639-1646.

86. *Ren G., Su J., Zhang L. et al.* Species variation in the mechanisms of mesenchymal stem cell-mediated immunosuppression // *Stem Cells.* 2009. Vol. 27. P. 1954-1962.

87. *Ruggenti P., Perico N., Gotti E. et al.* Sirolimus versus cyclosporine therapy increases circulating regulatory T cells, but does not protect renal transplant patients given alemtuzumab induction from chronic allograft injury // *Transplantation.* 2007. Vol. 84. P. 956-964.

88. *Sakaguchi S.* Regulatory T cells in the past and for the future // *Eur. J. Immunol.* 2008. Vol. 38. P. 901-937.

89. *Salama A.D., Remuzzi G., Harmon W.E. et al.* Challenges to achieving clinical transplantation tolerance // *J. Clin. Invest.* 2001. Vol. 108. P. 943-948.

90. *Sato K., Ozaki K., Oh I. et al.* Nitric oxide plays a critical role in suppression of T-cell proliferation by mesenchymal stem cells // *Blood.* 2007. Vol. 109. P. 228-234.

91. *Sayegh M.H., Remuzzi G.* Clinical update: immunosuppression minimisation // *Lancet.* 2007. Vol. 369. P. 1676-1678.

92. *Schweitzer E.J., Matas A.J., Gillingham K.J. et al.* Causes of renal allograft loss. Progress in the 1980s, challenges for the 1990s // *Ann. Surg.* 1991. Vol. 214. P. 679-688.

93. *Tan J., Wu W., Xu X. et al.* Induction therapy with autologous mesenchymal stem cells in living-related kidney transplants: a randomized controlled trial // *JAMA.* 2012. Vol. 307. P. 1169-

1177.

94. *Taner T., Hackstein H., Wang Z. et al.* Rapamycin-treated, alloantigen-pulsed host dendritic cells induce ag-specific T cell regulation and prolong graft survival // *Am. J. Transplant.* 2005. Vol. 5. P. 228-236.

95. *Tang Q., Bluestone J.A.* The Foxp3+ regulatory T cell: a jack of all trades, master of regulation // *Nat. Immunol.* 2008. Vol. 9. P. 239-244.

96. *Thornton A.M., Shevach E.M.* CD4+CD25+ immunoregulatory T cells suppress polyclonal T cell activation in vitro by inhibiting interleukin 2 production // *J. Exp. Med.* 1998. Vol. 188. P. 287-296.

97. *Tolar J., Le Blanc K., Keating A. et al.* Concise review: hitting the right spot with mesenchymal stromal cells // *Stem Cells.* 2010. Vol. 28. P. 1446-1455.

98. *Tomasoni S., Aiello S., Cassis L. et al.* Dendritic cells genetically engineered with adenoviral vector encoding dnIKK2 induce the formation of potent CD4+ T-regulatory cells // *Transplantation.* 2005. Vol. 79. P. 1056-1061.

99. *Uccelli A., Moretta L., Pistoia V.* Mesenchymal stem cells in health and disease // *Nat. Rev. Immunol.* 2008. Vol. 8. P. 726-736.

100. *Van Parijs L., Abbas A.K.* Homeostasis and self-tolerance in the immune system: turning lymphocytes off // *Science.* 1998. Vol. 280. P. 243-248.

101. *Van Parijs L., Perez V.L., Abbas A.K.* Mechanisms of peripheral T cell tolerance // *Novartis. Found. Symp.* 1998. Vol. 215. P. 5-14.

102. *Veronese F., Rotman S., Smith R.N. et al.* Pathological and clinical correlates of FOXP3+ cells in renal allografts during acute rejection // *Am. J. Transplant.* 2007. Vol. 7. P. 914-922.

103. *Waldmann H., Adams E., Fairchild P. et al.* Regulation and privilege in transplantation tolerance // *J. Clin. Immunol.* 2008. Vol. 28. P. 716-725.

104. *Wang Q., Sun B., Wang D. et al.* Murine bone marrow mesenchymal stem cells cause mature dendritic cells to promote T-cell tolerance // *Scand. J. Immunol.* 2008. Vol. 68. P. 607-615.

105. *Wang Y., Zhang A., Ye Z. et al.* Bone marrow-derived mesenchymal stem cells inhibit acute rejection of rat liver allografts in association with regulatory T-cell expansion // *Transplant. Proc.* 2009. Vol. 41. P. 4352-4356.

106. *Wang Z., Shi B., Jin H. et al.* Low-dose of tacrolimus favors the induction of functional CD4(+)CD25(+)FoxP3(+) regulatory T cells in solid-organ transplantation // *Int. Immunopharmacol.* 2009. Vol. 9. P. 564-569.

107. *Wing K., Onishi Y., Prieto-Martin P. et al.* CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function // *Science.* 2008. Vol. 322. P. 271-275.

108. *Xu D.M., Yu X.F., Zhang D. et al.* Mesenchymal stem cells differentially mediate regulatory T cells and conventional effector T cells to protect fully allogeneic islet grafts in mice // *Diabetologia.* 2012. Vol. 55. P. 1091-1102.

109. *Zeiser R., Nguyen V.H., Beilback A. et al.* Inhibition of CD4+CD25+ regulatory T-cell function by calcineurin-dependent interleukin-2 production // *Blood.* 2006. Vol. 108. P. 390-399.

110. *Zhang B., Liu R., Shi D. et al.* Mesenchymal stem cells induce mature dendritic cells into a novel Jagged-2-dependent

regulatory dendritic cell population // *Blood*. 2009. Vol. 113. P. 46–57.

111. *Zhang W., Ge W., Li C. et al.* Effects of mesenchymal stem cells on differentiation, maturation, and function of human monocyte-derived dendritic cells // *Stem Cells Dev*. 2004. Vol. 13. P. 263–271.

112. *Zhang W., Qin C., Zhou Z.M.* Mesenchymal stem cells modulate immune responses combined with cyclosporine in a rat

renal transplantation model // *Transplant. Proc.* 2007. Vol. 39. P. 3404–3408.

113. *Zhao D.M., Thornton A.M., Di Paolo R.J. et al.* Activated CD4+CD25+ T cells selectively kill B lymphocytes // *Blood*. 2006. Vol. 107. P. 3925–3932.

Дата получения статьи: 9.04.2014

Дата принятия к печати: 10.07.2014

Комментарий редакции

Использование клеточных технологий при трансплантации почки действительно является перспективным подходом. Однако, на наш взгляд, пока рано говорить об оправданности применения аутологичных мезенхимальных стволовых клеток (МСК) в широкой клинической практике для улучшения результатов трансплантации почки или о возможности абсолютно успешной замены антител к IL-2 рецепторам введением МСК с безопасным снижением базисной иммуносупрессии. Число пациентов, у которых была использована данная методика еще очень невелико, отдаленных результатов наблюдения предстоит дожидаться. Но даже в ранние сроки после трансплантации почки у части больных наблюдалось острое отторжение, требовавшее усиления иммуносупрессивной терапии. Что касается препарата Prochymal (Osiris Therapeutics), упомянутого в обзоре, одобренного для лечения тяжелой формы болезни «трансплантат против хозяина», считаем необходимым уточнить, что данное осложнение часто встречается при трансплантации костного мозга и стволовых клеток и крайне редко наблюдается у реципиентов солидных органов. Авторы обзора справедливо указывают на ряд специфических рисков, связанных с использованием МСК, например повышение риска хромосомных aberrаций и т.д. Таким образом, в настоящее время попытки использования клеточных технологий в трансплантации почки и анализ полученных данных остаются прерогативой крупных исследовательских центров, а внедрение вышеуказанных методик в клиническую практику станет возможным после получения результатов дополнительных исследований.