

WŁAŚCIWOŚCI REGENERACYJNE I IMMUNOMODULACYJNE MEZENCHYMALNYCH KOMÓREK MACIERZYSTYCH Z TKANKI TŁUSZCZOWEJ

REGENERATIVE AND IMMUNOMODULATORY PROPERTIES OF ADIPOSE-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS

Urszula SKALSKA, Ewa KONTNY

Zakład Patofizjologii i Immunologii Instytutu Reumatologii w Warszawie

Streszczenie: Badania nad medycznym zastosowaniem mezenchymalnych komórek macierzystych z tkanki tłuszczowej są obecnie bardzo intensywne. Wiele nadziei wiąże się z regeneracyjnymi i immunomodulacyjnymi możliwościami tych komórek. Niniejszy artykuł stanowi przegląd literatury na temat komórek mezenchymalnych z tkanki tłuszczowej, ich potencjału do odtwarzania wielu rodzajów tkanek oraz modulowania odpowiedzi odpornościowej organizmu. Krótko opisano również fenotyp, występowanie i warunki izolacji, jednakże główny nacisk położony został na możliwości klinicznego zastosowania tych komórek.

Słowa kluczowe: mezenchymalne komórki macierzyste tkanki tłuszczowej, regeneracja, różnicowanie, immunomodulacja, tkanka tłuszczowa, zastosowanie medyczne.

Summary: Many studies on medical application of adipose-derived mesenchymal stem cells are currently performed. Regenerative and immunomodulatory properties of these cells are very promising. In this paper we review the literature concerning differentiation potential of adipose-derived stem cells and their effects on immune response. We demonstrate the clinical application of these cells and, shortly, their phenotype and isolation methods.

Key words: adipose-derived mesenchymal stem cells, regeneration, differentiation, immunomodulation, adipose tissue, medical application.

WSTĘP

Białą i brunatną tkankę tłuszczową zasiedlają somatyczne komórki macierzyste pochodzenia mezenchymalnego – ADSC (*adipose-derived stem cells*). Mają one zdolność różnicowania się w różne typy komórek, dzięki czemu mogą odtwarzać wiele tkanek, m.in. tkankę kostną, chrzęstną, tłuszczową, mięśniową czy nerwową. Ze względu na te właściwości, tkanka tłuszczowa jest obecnie rozpatrywana jako

istotne źródło komórek macierzystych, które mogą być wykorzystane w medycynie regeneracyjnej [76]. Oprócz tego ADSC wykazują właściwości immunomodulacyjne, co sprawia, że ich potencjalne zastosowanie poszerza się o terapię chorób autoimmunizacyjnych [5,13]. Szczególne zainteresowanie tymi komórkami wynika z faktu ich dużej dostępności oraz relatywnie łatwego i nieinwazyjnego pozyskiwania.

KOMÓRKI MEZENCHYMALNE

Wśród komórek macierzystych, inaczej zwanych komórkami pnia, wyróżnić można embrionalne komórki macierzyste – ESC (*embryonic stem cells*) oraz somatyczne, „dorosłe” komórki macierzyste – ASC (*adult stem cells*) obecne w tkankach dorosłych organizmów. Wśród somatycznych komórek macierzystych można wyodrębnić wiele rodzajów w zależności od miejsca pochodzenia: hematopoetyczne komórki pnia – HSC (*hematopoietic stem cells*), komórki macierzyste szpiku kostnego – BMSC (*bone marrow stem cells*), komórki satelitowe mięśni poprzecznie prążkowanych, nerwowe komórki macierzyste oraz będące tematem niniejszej pracy – komórki mezenchymalne tkanki tłuszczowej (ADSC). Somatyczne komórki macierzyste zazwyczaj uważa się za multipotentne, czyli takie, które mogą się różnicować tylko w komórki pochodzące z jednego, tego samego listka zarodkowego. Jednak ich potencjał różnicowania jest bardzo niejednorodny, np. komórki satelitowe mięśni poprzecznie prążkowanych są unipotentne – mogą przekształcać się tylko w jeden typ komórek, podczas gdy komórki mezenchymalne z tkanki tłuszczowej zdają się być nawet pluripotentne [84].

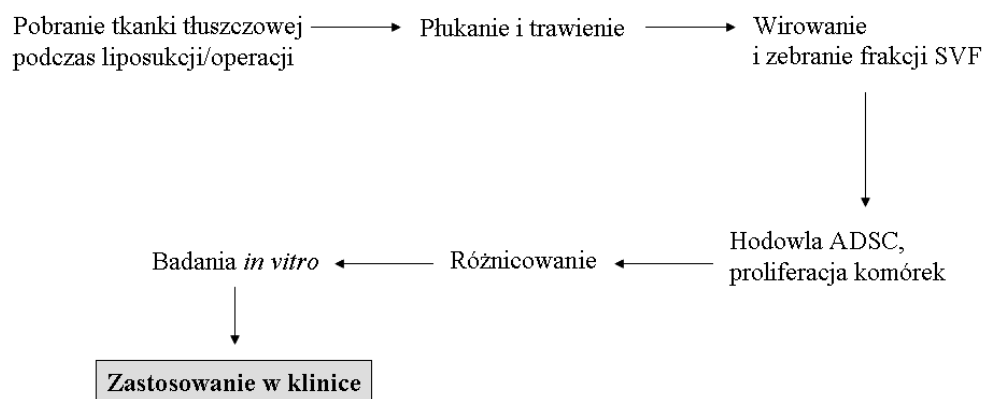
Mezenchymalne komórki macierzyste pochodzące z tkanki tłuszczowej zostały po raz pierwszy opisane przez Zuk i in. w 2001 roku [86] i właściwie od dekady stanowią bardzo „gorący” temat badań eksperymentalnych we wszystkich laboratoriach świata, a ich potencjalne, korzystne działanie badane jest praktycznie w każdej dziedzinie medycyny, od chorób autoimmunizacyjnych począwszy, a na kosmologii skończywszy. Co sprawia, że ADSC cieszą się aż takim zainteresowaniem? Otóż przyczynia się do tego kilka faktów. Po pierwsze, są one bardzo łatwo dostępne i występują w dużych ilościach w ludzkim organizmie. Odsetek ADSC w tkance tłuszczowej przekracza znacznie odsetek komórek macierzystych w szpiku kostnym (5% do 0,01%) [19]. Po drugie, i może najważniejsze, ADSC mają właściwie nieograniczony potencjał różnicowania – nie tylko w kierunku komórek o tym samym, mezodermalnym pochodzeniu, ale również w komórki pochodzenia ektodermalnego i endodermalnego.

WYSTĘPOWANIE I IZOLACJA ADSC

Mezenchymalne komórki macierzyste występują zarówno w białej, jak i w brunatnej tkance tłuszczowej. Jednak biała tkanka tłuszczowa zawiera więcej komórek pnia o wysokiej aktywności proliferacyjnej. Po wyizolowaniu, można je w warunkach *in vitro* szybko namnożyć [66]. Ich potencjał różnicowania jest również wyższy niż komórek

otrzymanych z brunatnej tkanki tłuszczowej [54]. Występują też pewne różnice w fenotypie ADSC w zależności od tkanki, z której pochodzą. Właściwości ADSC z białej tkanki tłuszczowej są także zróżnicowane – komórki tkanki tłuszczowej podskórnej proliferują szybciej, ale różnicują wolniej niż komórki tkanki tłuszczowej trzewnej [51]. Te obserwacje wskazują, że organizm ludzki dysponuje bogatym źródłem komórek macierzystych, które stanowią populację heterogenną pod względem czynnościowym. Ze względu na potencjalne zastosowanie terapeutyczne, głębsze poznanie właściwości ADSC jest sprawą ogromnej wagi.

Ponieważ odsetek ludzi otyłych w populacji światowej stale wzrasta, można powiedzieć, że dostępność ADSC właściwie ciągle się zwiększa. Co więcej, ADSC są komórkami macierzystymi najłatwiejszymi do otrzymania. Do izolacji tych komórek tkanka tłuszczowa pobierana jest metodą liposukcji. Liposukcja jest metodą relatywnie mało inwazyjną i ludzie poddają się jej dobrowolnie ze względów czysto estetycznych. Tak więc bez problemu można ją wykonywać również dla celów medycznych, czyli pobierać ADSC do przeszczepów autologicznych. Tłuszcz pobrany podczas liposukcji płucze się w odpowiednich buforach, po czym trawi w roztworze kolagenazy I. Po odpowiednich wirowaniach (optymalne jest wirowanie przy 1200g) [38] otrzymuje się górną frakcję adipocytów oraz sedymentującą frakcję komórek zrębowych – SVF (*stromal vascular fraction*), w której znajdują się m.in. ADSC. Frakcja SVF jest jednak bardzo heterogenna i poza ADSC może zawierać komórki endotelialne (dojrzałe i progenitorowe), komórki mięśniówki gładkiej, perycyty, fibroblasty oraz komórki hematopoetyczne [42] (ryc. 1). Dlatego w następnym etapie zmierza się do otrzymania populacji komórek wzbogaconej w ADSC. W tym celu stosuje się dwie metody. Najczęściej wykorzystuje się zdolność ADSC do adhezji i hoduje się komórki frakcji SVF w plastikowych butelkach hodowlanych w podłożu DMEM lub DMEM/F12 z 10% surowicą. W miarę trwania hodowli przeżywają głównie przylegające do podłoża ADSC, a inne komórki giną. Zwykle po kilku



RYCINA 1. Schemat izolacji komórek ADSC: SVF – frakcja komórek zrębowych, ADSC – komórki mezenchymalne z tkanki tłuszczowej
 FIGURE 1. Schematic illustration of ADSC isolation: SVF – stromal-vascular fraction, ADSC – adipose-derived stem cells

pasażach hodowla zawiera właściwie wyłącznie ADSC. Inny sposób otrzymania wysoko oczyszczonej populacji ADSC polega na usunięciu komórek endotelialnych i hematopoetycznych, które znakuje się przeciwciałami rozpoznającymi charakterystyczne dla tych linii markery powierzchniowe (CD45 i CD31) [42]. Bardziej szczegółowe informacje na temat izolacji i wpływu warunków hodowli na właściwości ADSC można znaleźć w pracy przeglądowej, która ukazała się w *Postęпах Biologii Komórki* w 2008 roku [49].

FENOTYP ADSC

Doniesienia dotyczące zdefiniowania markerów powierzchniowych występujących swoiście na ADSC są niespójne. Z wielu wynika, iż charakterystycznymi cząsteczkami powierzchniowymi tych komórek są CD90 i CD105, jednak dane na temat poziomu ekspresji tych cząsteczek na ADSC często się różnią [42,44,83]. Z kolei informacje dotyczące szeregu innych markerów powierzchniowych nie zawsze są potwierdzane. Pomimo to Międzynarodowe Towarzystwo Terapii Komórkowych (*The International Society for Cellular Therapy*) określiło jasne kryteria dotyczące definiowania komórek mezenchymalnych, w tym i komórek mezenchymalnych pochodzących z tkanki tłuszczowej (tab. 1). W tych kryteriach wymienione są trzy główne warunki: przyleganie do podłoża, zdolność do różnicowania *in vitro* oraz

TABELA 1. Minimalne kryteria definiowania komórek mezenchymalnych (wg zaleceń *The International Society for Cellular Therapy*)

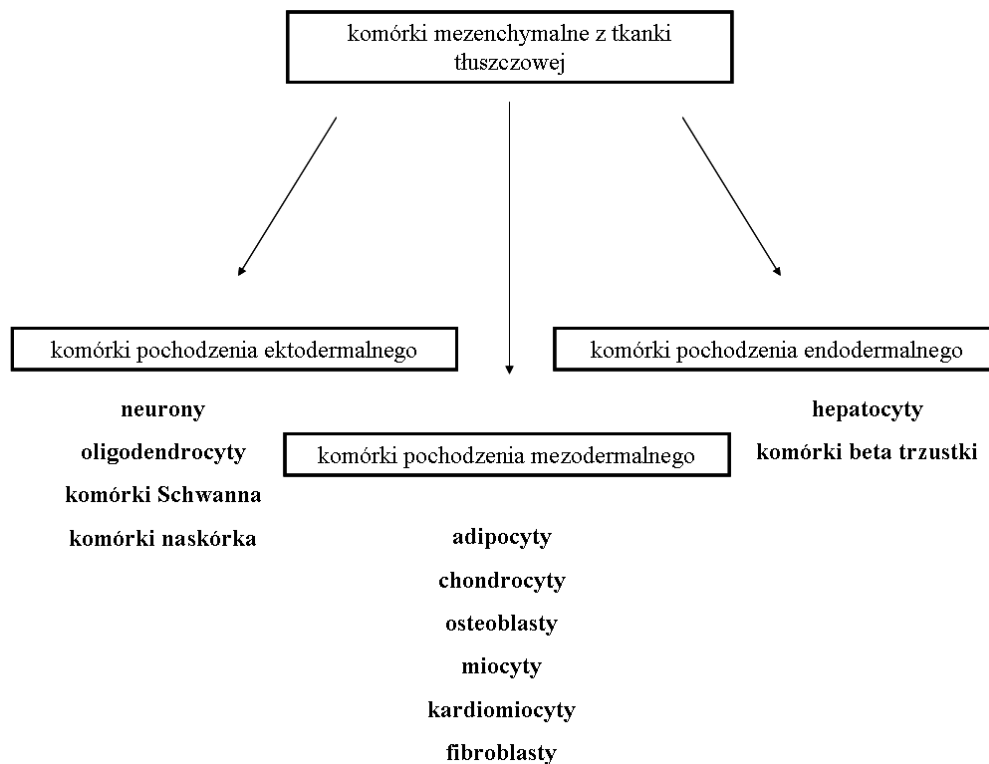
TABLE 1. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stem cells (*The International Society for Cellular Therapy statement*)

1	Przyleganie do plastiku
2	Ekspresja (95%) CD105, CD90, CD73
3	Brak ekspresji (poniżej 2%) CD45, CD34, CD11b/CD14, D79 α /CD19, HLA-DR
4	Różnicowanie <i>in vitro</i> w kierunku osteoblastów, chondrocytów i adipocytów

ekspresja następujących cząsteczek powierzchniowych: CD90 (Thy-1), CD105 (endoglina) oraz CD73 (ekto-5'-nukleotydata). Aby uznać, że komórki są pochodzenia mezenchymalnego, poziom ekspresji tych cząsteczek powinien być większy bądź równy 95%, a ekspresja markerów nieswoistych dla tej linii, tj. CD45, CD34, CD11b lub CD14, CD79 α lub CD19 oraz HLA-DR, musi być niższa niż 2% [14]. Wśród cząsteczek „wykluczających”: CD45 jest markerem leukocytów, CD34 komórek progenitorowych hematopoezy oraz komórek endotelialnych, CD11 oraz CD14 ulegają ekspresji na makrofagach i monocytach, CD79 α i CD19 to markery limfocytów B, zaś HLA-DR występuje na komórkach mezenchymalnych tylko po stymulacji IFN- γ . Inne markery występujące na powierzchni ADSC, co do których doniesienia literaturowe są dość spójne, to HLA-ABC, CD29, CD49e, CD51 [31].

POTENCJAŁ RÓŻNICOWANIA

Tkanka tłuszczowa pochodzi ze środkowego listka zarodkowego i, podobnie jak szpik kostny, zawiera frakcję komórek mezenchymalnych zdolnych do różnicowania i samoodnawiania [46]. Mezenchymalne komórki macierzyste tkanki tłuszczowej, zgodnie ze swoim pochodzeniem, wykazują *in vitro* zdolność do tzw. transdyferencjacji, czyli do różnicowania w inne komórki pochodzenia mezodermalnego, a więc w: chondrocyty, osteoblasty, adipocyty, miocyty [86] oraz kardiomiocyty [78]. Jednakże, co jest szczególnie interesujące, mogą się różnicować również w komórki pochodzenia ektodermalnego, np. neurony [30], oligodendrocyty [59], komórki Schwanna [34,79], komórki naskórka [70], oraz endodermalnego, jak hepatocyty czy komórki wysepek trzustkowych [63,68]. W świetle tych danych wydaje się więc, iż ADSC mogą być, podobnie jak ESC, komórkami pluripotentnymi, a nie multipotentnymi [84]. Kierunki różnicowania ADSC przedstawiono na rycinie 2.



RYCINA 2. Kierunki różnicowania komórek mezenchymalnych z tkanki tłuszczowej
 FIGURE 2. Differentiation capacity of adipose-derived stem cells

Adipogeneza

Wiele obserwacji wskazuje, że ADSC mogą być wykorzystane do regeneracji tkanek miękkich. Ubytki w tkankach miękkich są ogromnym problemem natury estetycznej odbijającym się szeroko na zdrowiu psychicznym pacjentów, a co za tym idzie, na stanie całego organizmu [8]. Jak dotąd brak jest implantów nadających się do efektywnej korekcji uszkodzeń tkanek miękkich następujących np. po wycięciu guza czy w efekcie głębokich oparzeń. Tę lukę mogą wypełnić preadipocyty i ADSC, które ze względu na swoje właściwości wydają się być dobrym materiałem do autologicznych przeszczepów korekcyjnych. W przeciwieństwie do adipocytów dojrzałych preadipocyty nie zawierają dużych kropli tłuszczu, co sprawia, że przeszczep łatwiej ulega rewaskularyzacji. Zużywają również mniej tlenu, dzięki czemu mają większe szanse na przeżycie, zanim nastąpi waskularyzacja przeszczepu. Natomiast dojrzałe adipocyty mają znacznie większe zapotrzebowanie na tlen i z tego powodu po przeszczepie są w stanie przeżyć zaledwie 4 dni [73]. Co więcej, przeszczepy dojrzałych adipocytów często powodują powstawanie blizn oraz cyst olejowych. Tych nieprawidłowości nie obserwuje się po przeszczepach ADSC, które różnicują się w prawidłową tkankę tłuszczową [61].

Adipogeneza jest zależna przede wszystkim od receptora sterydowego – PPAR γ (*peroxisome proliferator-activated receptor γ*), który występuje w jądrze komórkowym, należy do rodziny receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksy-somów i pełni funkcje czynnika transkrypcyjnego. O kluczowej roli PPAR γ w adipogenezie świadczy fakt, że w konsekwencji indukowanej doświadczalnie nadekspresji tego czynnika w fibroblastach czy miocytach, komórki te przekształcają się w adipocyty [61]. W warunkach *in vitro*, podczas różnicowania ADSC w kierunku adipocytów, dochodzi do aktywacji PPAR γ i powstania komórek, które wykazują cechy normalnych, dojrzałych adipocytów – zdolność do lipolizy po stymulacji katecholaminami oraz sekrecji typowych adipokin, takich jak: adiponektyna czy leptyna. Dzięki temu, że ADSC zachowują potencjał adipogeniczny nawet po wielu pasażach [11], można z nich tworzyć banki komórek do odtwarzania tkanki tłuszczowej.

Chondrogeneza

W warunkach *in vitro* ADSC przekształcają się w chondrocyty w hodowli peletkowej (*pellet culture*), a także wówczas gdy są hodowane na różnorodnych rusztowaniach (np. agarozowych, żelatynowych, alginowych [4]). W podłożu chondrogenicznym, zawierającym TGF- β , deksametazon, insulinę oraz askorbinian, różnicujące się ADSC wykazują ekspresję typowych markerów chondrogenyzy – Sox9, agrekanu, kolagenu 2 oraz wytwarzają glikozaminoglikany macierzy zewnątrzkomórkowej (GAG). Na ten proces wpływają również morfogeniczne białka kości – BMP (*bone morphogenic proteins*) – BMP-6 oraz BMP-7. ADSC stymulowane białkiem BMP-7 wykazują zwiększoną ekspresję agrekanu [36], zaś BMP-6 zwiększa ekspresję zarówno agrekanu, jak i kolagenu II [17].

Zdolność ADSC do chondrogenyzy potwierdzono również *in vivo*, w badaniach z użyciem zwierząt doświadczalnych. Wykazano, że przeszczepione królikom ADSC wytwarzają

agrekan, kolagenu II, GAG i tworzą nową chrząstkę [15]. Jak dotąd, niestety, nie udało się jeszcze wyhodować z ADSC chrząstki mającej fizjologiczne właściwości biomechaniczne. W wielu pracach porównywano potencjał chondrogeniczny ADSC z innymi typami komórek macierzystych. Wyniki tych prac dokumentują, że jest on niższy niż potencjał chondrogeniczny komórek macierzystych ze szpiku kostnego [77]. Z drugiej jednak strony, inni badacze udowodnili, że w porównaniu z chondrocytami, powstającymi z komórek macierzystych pepowinowej tkanki łącznej (tzw. galarety Whartona), różnicujące się ADSC wytwarzają macierz zewnątrzkomórkową bardziej zbliżoną do tej produkowanej przez dojrzałe, prawidłowe chondrocyty [27]. Te obserwacje wskazują, że ADSC mogą być wykorzystane do regeneracji chrząstki, ale konieczne są dalsze badania zmierzające do opracowania takich warunków chondrogenyzy, aby otrzymać tkankę jak najbardziej zbliżoną do fizjologicznej.

Jeśli te problemy zostaną rozwiązane, to dzięki właściwościom chondrogenicznym ADSC mogą znaleźć zastosowanie przede wszystkim do odtwarzania zniszczonej chrząstki stawowej w chorobach reumatycznych, takich jak: choroba zwyrodnieniowa stawów (ChZS) oraz reumatoidalne zapalenie stawów (RZS). Obie choroby są nie tylko poważnym problemem medycznym, ale także społecznym i ekonomicznym. Ocenia się, że w Polsce na przewlekłą ChZS cierpi aż 17% populacji osób dorosłych i jest ona najczęstszą przyczyną orzeczeń rentowych z powodu nieurazowych chorób układu ruchu [64]. Z kolei na RZS choruje w Polsce około 400 tys. osób, a niepełnosprawność lub kalectwo dotyka większość chorych [65]. Jest więc oczywiste, że w leczeniu tych chorób istotnym celem jest nie tylko dążenie do ograniczania procesów destrukcji struktur stawów, ale także przywracanie prawidłowych procesów naprawczych.

Osteoblastogeneza

Różnicowanie ADSC w osteoblasty zachodzi *in vitro* podczas hodowli w podłożu osteogenicznym, zawierającym deksametazon, 1,25-hydroksyvitaminę D₃, glicerofosforan i askorbinian. Po około 2–4 tygodniach hodowli w komórkach ulegają ekspresji geny charakterystyczne dla osteoblastów, kodujące Runx-2, Osterix, BMP-2, osteopontynę, osteoklacynę. Stwierdza się również aktywność fosfatazy alkalicznej oraz odkładanie fosforanu wapnia. Tak zróżnicowane komórki dobrze przylegają do różnych rodzajów podłoży i rusztowań. Zachowują również zdolności osteogeniczne zarówno w warunkach *in vitro*, jak i *in vivo*. Podobnie do dojrzałych osteoblastów są one wrażliwe na nacisk mechaniczny, który indukuje w nich ekspresję genów kodujących kolagen I α 1 oraz cyklooksygenazę 2 (COX-2) [35]. Wydaje się, iż potencjał osteogeniczny ADSC jest podobny do potencjału komórek macierzystych szpiku kostnego [25], jednakże doniesienia na ten temat nie są jednoznaczne [26]. Z praktycznego punktu widzenia interesujące jest, że ADSC z tkanki tłuszczowej trzewnej odznaczają się większą zdolnością do różnicowania w osteoblasty niż ADSC z tłuszczu podskórnego [51].

Wobec tego, że ADSC mają potwierdzone właściwości osteogeniczne, mogą one znaleźć szerokie zastosowanie terapeutyczne, np. w chorobach przebiegających z destrukcją kości (np. RZS), przeszczepach kości, w celu uzupełniania ubytków kostnych po złamaniach, czy w przypadku korekcji nieprawidłowych zrostów kości. Badania na

zwierzętach dostarczają bardzo zachęcających wyników, potwierdzających te możliwości. Po pierwsze Cowan i wsp. jako pierwsi wykazali, że ADSC zachowują zdolność do osteoblastogenezy *in vivo* [10]. Z kolei badania Petersona i wsp. udowodniły, że ADSC transfekowane genem *BMP-2* i wszczepione myszom docierały do miejsca uszkodzenia kości i skutecznie ją regenerowały [52]. Co więcej, są już przykłady zastosowania takiej terapii u ludzi, aczkolwiek jak na razie mało liczne [40].

Miogeneza i kardiomiogeneza

W odpowiednich warunkach *in vitro*, ADSC mogą różnicować się też w miocyty i kardiomiocyty. Różnicowanie w miocyty (miogeneza) następuje podczas hodowli ADSC w podłożu zawierającym 5% surowicę końską i kortykosteroidy (hydrokortyzon lub/i deksametazon). W takich hodowlach różnicujące się komórki ulegają fuzji i tworzą wielojądrowe tubule mięśniowe (miotuby), wykazują również ekspresję markerów miogenezy [42]. Jednak potencjał ADSC do miogenezy nie jest tak duży jak innych komórek mezenchymalnych [67]. Pomimo to, stosując ADSC przeprowadzono pomyślne doświadczenia na mysim modelu dystrofii mięśniowej Duchenne'a. Do mięśniowe podanie tych komórek chorym myszom doprowadziło po 6 miesiącach do pojawienia się genu dystrofiny aż w 90% miofibrylli [57], co przemawia za możliwością terapeutycznego wykorzystania ADSC w tej chorobie.

Także zdolność ADSC do różnicowania w kardiomiocyty została potwierdzona w warunkach *in vitro* i *in vivo*. Spontaniczne różnicowanie ludzkich ADSC w kardiomiocyty obserwowano hodując je w podłożu DMEM/F12 z 10% surowicą. Za tym, że ADSC ulegały kardiomiogenezie przemawiało nabywanie przez te komórki ekspresji genów charakterystycznych dla miocytów (troponiny I, troponiny T, tropomiozyny i lekkiego łańcucha miozyny II), kardiomiocytów (MEF2c, GATA4, Nkx2.5, ANP, β -MHC, MLC2v, MLC2a) oraz kanału wapniowego typu L [50]. W takich hodowlach obserwowano również rytmicznie kurczące się kardiomiocyty [53]. W różnicowaniu ADSC w kardiomiocyty ważną rolę odgrywa wydzielany przez nie naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu – VEGF (*vascular-endothelial growth factor*), działający autokrynnie i parakrynnie na komórki [78]. Przeszczep ADSC do uszkodzonego miokardium myszy powodował różnicowanie komórek w kardiomiocyty, stymulował angiogenezę i w konsekwencji polepszał czynność serca [45]. Także inne badania, przeprowadzone na różnych zwierzęcych modelach zawału mięśnia sercowego, potwierdzają zdolność ADSC do naprawy obszarów serca objętych zawałem. U zwierząt, którym przeszczepiono ADSC, stwierdzano zwiększoną liczbę kardiomiocytów i nasiloną angiogenezę, oraz ograniczoną apoptozę kardiomiocytów i zmniejszanie bądź eliminację włóknienia tkanki mięśniowej [50]. To korzystne działanie ADSC jest spowodowane również tym, że mają one zdolność do różnicowania w komórki śródbłonka i właściwości proangiogenne. Poza wspomnianym już VEGF, komórki ADSC wydzielają też inne, związane z angiogenezą czynniki: czynnik wzrostu hepatocytów (HGF), łożyskowy czynnik wzrostu (PGF), czynnik wzrostu fibroblastów 2 (FGF-2), czynnik transformujący β (TGF- β) i angiopoetynę-1 [61].

Neurogeneza

Komórki ADSC hodowane w dużej gęstości i w obecności surowicy mogą spontanicznie formować zbite skupiska (kolonie), zwane „neurosferami”, złożone z mniejszych, okrągłych komórek. Neurosfery rosną słabo przytwierdzone na powierzchni komórek adherentnych lub luźno pływają. Po zebraniu i dalszej hodowli w odpowiednim medium, różnicują w komórki neuronopodobne [82]. W doniesieniach opisywane są różne kompozycje podłoży neurogenicznych, ale najważniejszymi składnikami są: surowica i czynniki wzrostu – neuronalny czynnik wzrostu – NGF (*nerve growth factor*) i/lub neurotropowy czynnik pochodzenia mózgowego – BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*) [3,21,69]. W tym procesie różnicowania powstają komórki wykazujące ekspresję markerów neurogenezy, m.in. MBP (*myelin basic protein*), nestyny, kwaśnego białka włóknikowego (GFAP), tubuliny β III. Badania przeprowadzone na zwierzętach dokumentują, że wszczepienie ADSC uprzednio poddanych neurogenezie powoduje regenerację danych uszkodzeń układu nerwowego oraz poprawienie jego funkcji [6,30,32,37]. Ostatnio Wei i wsp. udowodnili, że terapeutyczne efekty podawania ADSC wynikają z parakrynnego działania wydzielanych przez nie czynników wzrostu [75]. Na podstawie wyników tych badań podkreśla się, że ADSC mogą mieć potencjalne zastosowanie terapeutyczne w przypadku uszkodzenia rdzenia kręgowego, uszkodzenia i udaru mózgu.

Hepatogeneza

W podłożu hodowlanym wzbogaconym w HGF i zawierającym onkostatynę M oraz sulfotlenek dimetylu (DMSO), ADSC przekształcają się w komórki podobne do hepatocytów – wytwarzają albuminę, α -fetoproteinę (wczesny marker hepatogenezy), mocznik oraz są zdolne do pobierania lipoproteiny o niskiej gęstości – LDL (*low density lipoproteins*) [63]. Podane dożylnie myszom ADSC migrują do wątroby, a migracja tych komórek nasila się po częściowej hepatektomii [61]. Wiele grup badawczych potwierdziło już, że hepatocyty wyhodowane z komórek ADSC uczestniczą w regeneracji wątroby [58]. Obecnie bada się molekularne mechanizmy różnicowania ADSC w hepatocyty [60], a także opracowuje sposoby hodowli ADSC na określonych rusztowaniach, aby uzyskać optymalne implanty do przeszczepów [74].

Inne kierunki różnicowania komórek ADSC

Opracowano także metody uzyskiwania z ADSC komórek wysepek trzustkowych. W roku 2006 Timper i wsp. opublikowali wyniki doświadczeń, w których otrzymali z ADSC komórki wykazujące ekspresję markerów charakterystycznych dla komórek trzustki (Isl-1, Ipf-1 i Ngn3) oraz produkujące insulinę, glukagon i somatostatynę [68]. Także ADSC transfekowane genem Pdx1 (czynnik transkrypcyjny odgrywający istotną rolę w różnicowaniu komórek beta trzustki) różnicowały w komórki produkujące insulinę i obniżały glikemię *in vivo* [28].

Podjęto już pierwsze kliniczne próby wykorzystania tych komórek. W 2010 roku u chorych na cukrzycę insulinozależną przeprowadzono badanie polegające na poda-

waniu komórek ADSC produkujących insulinę razem z hematopoetycznymi komórkami macierzystymi. Wyniki tych badań wskazują na niewątpliwą korzyść terapeutyczną – u chorych stwierdzono m.in. zmniejszone zapotrzebowanie na egzogenną insulinę oraz spadek stężenia glikozylowanej hemoglobiny [72].

Udokumentowano również, że ADSC podtrzymują regenerację i różnicowanie naskórka. Trottier i wsp. w 2008 roku wyhodowali *in vitro* ludzką skórę, stosując ADSC jako komórki zrębowe. Powstała warstwa epidermalna miała wszystkie histologiczne cechy normalnego naskórka. Utworzyła się także cienka warstwa rogowa złożona z korneocytów [70]. Z kolei Du i wsp. w zeszłorocznej pracy dostarczają dowodów na to, że ADSC można *in vitro* różnicować w kierunku keratocytów, czyli fibroblastów rogówki (*corneal keratocytes*) [16].

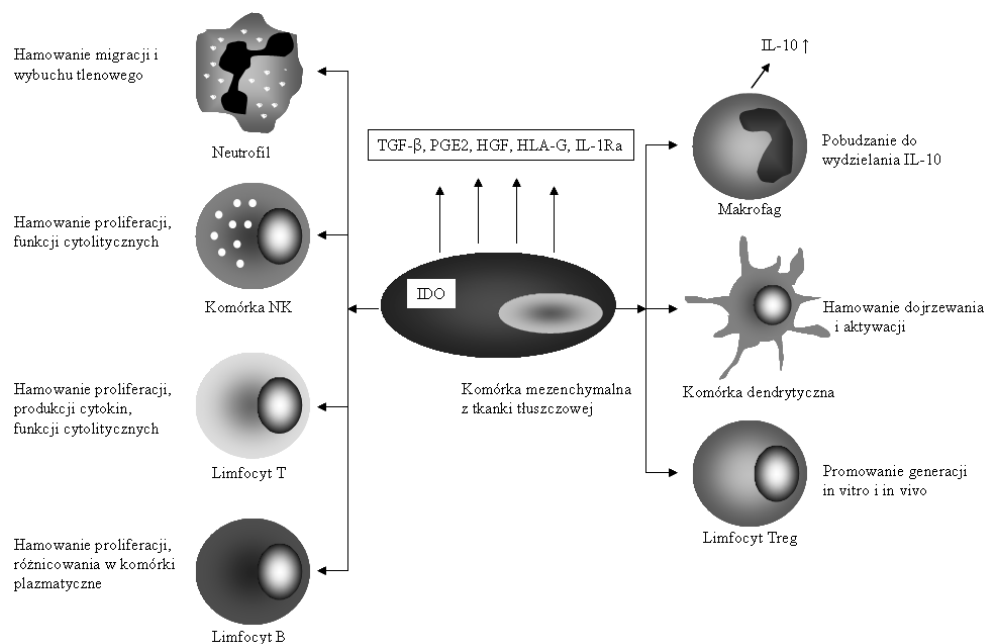
Te doniesienia wskazują, że ADSC mogą znaleźć szerokie zastosowanie w medycynie, a pierwsze terapeutyczne próby z użyciem tych komórek są zachęcające.

WŁAŚCIWOŚCI IMMUNOMODULACYJNE

Oprócz właściwości regeneracyjnych komórki mezenchymalne, a więc także ADSC, mają działanie immunomodulacyjne. Przede wszystkim hamują proliferację limfocytów T i ograniczają ich zdolność do podtrzymywania odpowiedzi immunologiczno-zapalnej. W ko-hodowlach *in vitro* MSC zatrzymują limfocyty T w fazie G0-G1 cyklu komórkowego [22]. Ten efekt może być jednak przelamany przez IL-2 [81]. MSC wpływają także na profil cytokin wytwarzanych przez limfocyty T, zmniejszając wydzielanie IL-2, IFN- γ , TNF- α , a zwiększają wytwarzanie IL-4 [13]. Ograniczają również czynność cytotoksycznych limfocytów T – CTLs (*cytotoxic T lymphocytes*), jednakże nie są w stanie bezpośrednio hamować funkcji aktywowanych CTLs [56]. Możliwe, iż MSC blokują raczej proliferację CTLs, a nie ich funkcje cytolityczne. Podobne, przeciwproliferacyjne działanie MSC obserwowano w odniesieniu do innych komórek układu immunologicznego. Wykazano, że hamują one proliferację aktywowanych komórek NK oraz wytwarzanie IFN- γ [1], a także proliferację limfocytów B, co może być częściowo efektem pośrednim, gdyż aktywacja limfocytów B w odpowiedzi na większość antygenów jest zależna od limfocytów T [9]. Co bardzo istotne, MSC mogą zapobiegać rozwojowi odpowiedzi immunologicznej, ograniczać jej przebieg i ułatwiać jej wygaszenie. Immunosupresyjne działanie MSC jest konsekwencją tego, że: (i) zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* podtrzymują one powstawanie funkcjonalnych regulatorowych limfocytów T (Treg) o fenotypie CD4⁺CD25⁺ oraz CD8⁺CD25⁺ [62], [43], (ii) bezpośrednio oddziałują na komórki dendrytyczne powodując, iż zachowują one niedojrzały, tolerogenny fenotyp charakteryzujący się zmniejszoną ekspresją cząsteczek MHC klasy II, cząsteczek kostymulujących CD40, CD80, CD86 i obniżoną sekrecją IL-12 [12]. Co więcej, MSC zwiększają także wydzielanie przeciwzapalnej IL-10 przez makrofagi, przyczyniając się do ograniczenia migracji neutrofilów i powodowanego stresem oksydacyjnym zniszczenia tkanek [47]. Mezenchymalne komórki

pnia moduluja odpowiedz immunologiczna zarowno przez bezposredni kontakt komorka-komorka, jak rowniez przez wytwarzane czynniki. Między innymi syntezuja dioksygenaze indoleaminy (IDO) – enzym rozkladajacy tryptofan do kynurenin, TGF- β 1, prostaglandyne E₂ (PGE₂), HGF, antagonistę receptora dla IL-1 (IL-1Ra), czasteczki HLA-G [74]. Wplyw komorek mezenchymalnych na komorki immunokompetentne przedstawiono schematycznie na rycinie 3.

Badania oceniajace czynnosc ADSC potwierdzaja, ze rowniez te mezenchymalne komorki macierzyste maja istotne wlasciwosci immunosupresyjne. Wykazano, ze *in vitro* hamuja one proliferacje allogenicznym, aktywowanym limfocytom [48,55]. W



RYCINA 3. Wplyw komorek mezenchymalnych tkanki tluszczowej na komorki ukkladu odpornosciowego, na podstawie [13]. ADSC hamuja proliferacje i czynnosc efektorowe limfocytow T, B, komorek NK; hamuja dojrzewanie komorek dendrytycznych, ktore w stanie niedojrzalym promuja generacje limfocytow Treg; pobudzaja makrofagi do wydzielania przeciwwzapalnej IL-10, ktora przyczynia sie do hamowania migracji neutrofilow i ograniczenia wybuchu tlenowego. Efekty te sa spowodowane wydzielanymi przez ADSC czynnikiemami, takimi jak: TGF- β , PGE₂, HGF, HLA-G, IL-1Ra oraz aktywacja IDO, ktora rozklada tryptofan do kynurenin: IDO – dioksygenaza indoleaminy; PGE₂ – prostaglandyna 2; HGF – czynnik wzrostu hepatocytow; IL-1Ra – antagonist receptoru dla IL-1; TGF- β – transformujacy czynnik wzrostu β ; HLA-G – antygen zgodnoscii tkankowej G; limfocyt Treg – limfocyt T regulatorowy

FIGURE 3. ADSC influence on immune cells. ADSC inhibit proliferation and effector function of T, B, NK cells; inhibit DCs maturation thus promoting Treg cells generation; induce macrophages to IL-10 secretion contributing to neutrophils migration inhibition and oxidative stress limitation. These effects are mediated by several factors: TGF- β , PGE₂, HGF, HLA-G, IL-1Ra and IDO activation, which metabolizes tryptophan to kynurenine: IDO – indoleamine dioxygenase; PGE₂ – prostaglandin 2; HGF – hepatocyte growth factor; IL-1Ra – IL-1 receptor antagonist; TGF- β – transforming growth factor β ; HLA-G – human leukocyte antigen G; Treg – T regulatory cell

badaniach klinicznych udowodniono, że podanie ADSC pacjentom z ostrą, oporną na terapię sterydami, chorobą przeszczep przeciwko gospodarzowi – GvHD (*graft versus host disease*), powodowało cofnięcie choroby u 4 z 6 chorych [18]. Dobroczynny wpływ komórek ADSC obserwowano również w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów (RZS). Gonzalez-Rey i wsp. w badaniach *in vitro* wykazali, że ADSC ograniczały odpowiedź zapalną reumatoidalnych limfocytów T oraz indukowały limfocyty Treg [24]. Ta sama grupa opublikowała wyniki badań na mysim modelu RZS dokumentując, iż podanie ludzkich komórek ADSC zwiększało wytwarzanie i aktywację limfocytów Treg CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ i równocześnie hamowało ekspansję limfocytów Th1 i Th17 o działaniu patogennym [23].

ZASTOSOWANIE ADSC W MEDYCYNIE I PERSPEKTYWY

Ze względu na zdolność ADSC do odnowy różnych tkanek i właściwości immunomodulacyjne, potencjalne wykorzystania tych komórek macierzystych w medycynie zdaje się być nieograniczone. Poza oczywistym użyciem ADSC do regeneracji tkanek pochodzenia mezodermalnego, czyli kości, chrząstki, mięśni i tkanki tłuszczowej, działanie tych komórek okazuje się korzystne w wielu innych chorobach i stanach patologicznych – zawale serca, cukrzycy, udarze mózgu, uszkodzeniach rdzenia kręgowego i wątroby. Prowadzone są liczne badania oceniające skuteczność terapeutyczną ADSC w różnych indukowanych doświadczalnie chorobach u zwierząt, m.in. w mysim modelu choroby Huntingtona [39]. Niektóre z tych prac wskazują, że ADSC mogą znaleźć zastosowanie nawet w kosmologii (niwelują powstawanie zmarszczek) [33], czy seksuologii (przywracają upośledzoną erekcję) [2,41].

Niezwykle ważną dziedziną medycyny, w której mogą być wykorzystane immunomodulacyjne właściwości ADSC, są choroby o podłożu immunologicznym, stanowiące obecnie ogromny problem zdrowotny. Prowadzone są już badania oceniające wpływ ADSC na przebieg chorób alergicznych [7] i autoimmunizacyjnych [20,23].

Jak dotąd opisano już kilka prób zastosowania ADSC w praktyce klinicznej. Pierwsze nastąpiło w roku 2004, kiedy użyto ADSC wraz z przeszczepem kości u kilkuletniej dziewczynki z uszkodzeniami czaszki i twarzy [40]. Ostatnio opublikowano zachęcające wyniki badań klinicznych II fazy, w których oceniano skuteczność terapeutyczną podawania ADSC w leczeniu przetok okołoodbytniczych w chorobie Leśniowskiego-Crohna [20]. Inne badania kliniczne dotyczą nietrzymania moczu [80], choroby GvHD [18] oraz cukrzycy typu I [72].

Przegląd najnowszych doniesień wskazuje, że komórki mezenchymalne z tkanki tłuszczowej stały się obecnie jednym z najszerzej i najdogłębniej badanych tematów. Czy faktycznie ich zastosowanie obejmie tak wiele dziedzin, jak mogłoby się dziś wydawać – czas pokaże. Tym niemniej już teraz możemy mówić o pewnym przełomie w stosowaniu komórek macierzystych. Albowiem mamy do dyspozycji ADSC – „dorosłe” komórki o szerokim potencjale różnicowania, a ich użycie, w

przeciwieństwie do embrionalnych komórek macierzystych, nie stwarza rozterek etycznych. Dodawszy fakt łatwej dostępności ADSC oraz stale wzrastającego odsetka ludzi otyłych, rozporządzamy praktycznie nieograniczonym źródłem samoodnawiających się komórek, które mogą zregenerować bardzo wiele typów tkanek oraz łagodzić przebieg ciężkich chorób.

PIŚMIENNICTWO

- [1] AGGARWAL S, PITTENGER M. Human mesenchymal stem cells modulate allogenic immune cell responses. *Blood* 2007; **109**: 228–234.
- [2] ALBERSEN M, FANDEL T, LIN G et al. Injections of adipose tissue-derived stem cells and stem cell lysate improve recovery of erectile function in a rat model of cavernous nerve injury. *J Sex Med* 2010; **7**: 3331–3340.
- [3] ANGHILERI E, MARCONI S, PIGNATELLI A et al. Neuronal differentiation potential of human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Stem Cells Dev* 2008; **17**: 909–916.
- [4] AWAD H, WICKHAM M, LEDDY H et al. Chondrogenic differentiation of adipose-derived adult stem cells in agarose, alginate and gelatin scaffolds. *Biomaterials* 2004; **25**: 3211–3222.
- [5] BOUFFI C, DJOUAD F, MATHIEU M et al. Multipotent mesenchymal stromal cells nad rheumatoid arthritis: risk or benefit? *Rheumatology* 2009; **10**: 1185–1189.
- [6] CHI G, KIM M, KIM D et al. Schwann cells differentiated from spheroid-forming cells of rat subcutaneous fat tissue myelinate axons in the spinal cord injury. *Exp Neurol* 2010; **222**: 304–317.
- [7] CHO K, PARK H, PARK H et al. IFATS Collection: Immunomodulatory effects of adipose tissue-derived stem cells in an allergic rhinitis mouse model. *Stem Cells* 2009; **27**: 259–265.
- [8] CHOI J, GIMBLE J, KYONGBUM L et al. Adipose tissue engineering for soft tissue regeneration. *Tissue Eng* 2010; **16**: 413–426.
- [9] CORCIONE A, BENVENUTO F, FERRETTI E et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell function. *Blood* 2006; **107**: 367–372.
- [10] COWAN C, SHI Y, AALAMI O et al. Adipose-derived adult stromal cells heal critical-size mouse calvarial defects. *Nat Biotechnol* 2004; **22**: 560–567.
- [11] DICKERA, LE BLANC K, ASTROM G et al. Functional studies of mesenchymal stem cells derived from adult human adipose tissue. *Exp Cell Res* 2005; **308**: 221–228.
- [12] DJOUAD F, CHARBONNIER L, BOUFFI C et al. Mesenchymal stem cells inhibit the differentiation of dendritic cells through an interleukin-6-dependent mechanism. *Stem Cells* 2007; **25**: 2025–2032.
- [13] DJOUAD F, BOUFFI C, GHANNAM S et al. Mesenchymal stem cells: innovative therapeutic tool for rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol* 2009; **5**: 392–399.
- [14] DOMINICI M, LE BLANC K, MUELLER I. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy statement. *Cytotherapy* 2006; **8**: 315–317.
- [15] DRAGOO J, CARLSON G, MCCORMICK F et al. Healing full-thickness cartilage defects using adipose-derived stem cells. *Tissue Eng* 2007; **13**: 1615–1621.
- [16] DU Y, ROH D, FUNDERBURGH M. Adipose-derived stem cells differentiate to keratocytes *in vitro*. *Molecular Vision* 2010; **16**: 2680–2689.
- [17] ESTES B, WU A, GUILAK F. Potent induction of chondrocytic differentiation of human adipose-derived adult stem cells by bone morphogenetic protein 6. *Arthr Rheum* 2006; **54**: 843–853.
- [18] FANG B, SONG Y, LIAO L et al. Favorable response to human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells in steroid-refractory acute graft-versus-host disease. *Transplant Proc* 2007; **39**: 3358–3362.
- [19] FRASER J, WULUR I, ALFONSO Z et al. Fat tissue: an underappreciated source of stem cells for biotechnology. *Trends Biotechnol* 2006; **24**: 150–154.
- [20] GARCIA-OLMO D, HERREROS D, PASCUALI. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula: a phase II clinical trial. *Dis Colon Rectum* 2009; **52**: 79–86.
- [21] GINGRAS M, CHAMPIGNY M, BERTHOD F. Differentiation of human adult skin-derived neuronal precursors into mature neurons. *J Cell Physiol* 2007; **210**: 498–506.

- [22] GLENNIE S, SOEIRO I, DYSON P et al. Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest anergy of activated T cells. *Blood* 2005; **105**: 2821–2827.
- [23] GONZALEZ M, GONZALEZ-REY E, RICO L. et al. Treatment of experimental arthritis by inducing immune tolerance with human adipose-derived mesenchymal stem cells. *Arth Rheum* 2009; **60**: 1006–1019.
- [24] GONZALEZ-REY E, GONZALEZ M, O'VALLE F. et al. Human adipose-derived mesenchymal stem cells reduce inflammatory and T-cell responses and induce regulatory T cells *in vitro* in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2009; **69**: 241–248.
- [25] HATTORI H, MASUOKA K, SATO M. et al. Bone formation using human adipose tissue-derived stromal cells and a biodegradable scaffold. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2006; **76**: 230–239.
- [26] HAYASHI O, KATSUBE Y, HIROSE M. et al. Comparison of osteogenic ability of rat mesenchymal stem cells from bone marrow, periosteum and adipose tissue. *Calcif Tissue Int* 2008; **82**: 238–247.
- [27] HILDNER F, WOLBANK S, REDL H. et al. How chondrogenic are human umbilical cord matrix cells? A comparison to adipose-derived stem cells. *J Tissue Eng Regen Med* 2010; **4**: 242–245.
- [28] KAJIYAMA H, HAMAZAKI T, TOKUHARA M. et al. Pdx1-transfected adipose tissue-derived stem cells differentiate into insulin-producing cells *in vivo* and reduce hyperglycemia in diabetic mice. *Int Dev Biol* 2010; **54**: 699–705.
- [29] KANG S, PUTNAM L, YLOSTALO L. et al. Neurogenesis of *Rhesus adipose* stromal cells. *J Cell Sci* 2004; **117**: 4289–4299.
- [30] KANG S, SHIN M, JUNG J. et al. Autologous adipose tissue-derived stromal cells for treatment of spinal cord injury. *Stem Cells Dev* 2006; **15**: 583–594.
- [31] KATZ A, THOLPADY A, THOLPADY S. et al. Cell surface and transcriptional characterization of human adipose-derived adherent stromal (hADAS) cells. *Stem Cells* 2005; **23**: 412–423.
- [32] KIM J, LEE S, CHU K. et al. Systemic transplantation of human adipose stem cells attenuated cerebral inflammation and degeneration in a hemorrhagic stroke model. *Brain Res* 2007; **1183**: 43–50.
- [33] KIM W, PARK B, KIM J. Protective role of adipose-derived stem cells and their soluble factors in photoaging. *Arch Dermatol Res* 2009; **301**: 329–336.
- [34] KINGHAM P, KALBERMATTEN D, MAHAY D. et al. Adipose derived stem cells differentiate into a Schwann cell phenotype and promote neurite outgrowth *in vitro*. *Exp Neurol* 2007; **207**: 267–274.
- [35] KNIPPENBERG M, HELDER M, DOULABI B. et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells acquire bone cell-like responsiveness to fluid shear stress on osteogenic stimulation. *Tissue Eng* 2005; **11**: 1780–1788.
- [36] KNIPPENBERG M, HELDER M, DOULABI B. et al. Osteogenesis versus chondrogenesis by BMP-2 and BMP-7 in adipose stem cells. *Biochem Biophys Res Comm* 2006; **342**: 902–908.
- [37] KULIKOVA, STEPANOVA M, STVOLINSKY S. et al. Application of multipotent mesenchymal stromal cells from human adipose tissue for compensation of neurological deficiency induced by 3-nitropropionic acid in rats. *Bull Exp Biol Med* 2008; **145**: 514–519.
- [38] KURITA M, MATSUMOTO D, SHIGEURA T. et al. Influences of centrifugation on cells and tissues in liposuction aspirates: optimized centrifugation for lipotransfer and cell isolation. *Plast Reconstr Surg* 2008; **121**: 1033–1041.
- [39] LEE S, CHU K, JUNG K. et al. Slowed progression in models of Huntington disease by adipose stem cell transplantation. *Ann Neurol* 2009; **66**: 671–681.
- [40] LENDECKEL S, JODICKE A, CHRISTOPHIS P et al. Autologous stem cells (adipose) nad fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects: case report. *J Craniomaxillofac Surg* 2004; **32**: 370–373.
- [41] LIN G, BANIE L, LIN H. et al. Potential of adipose-derived stem cells for treatment of erectile dysfunction. *J Sex Med* 2009; **6** (Suppl 3): 320–327.
- [42] LOCKE M, WINDSOR J, DUNBAR P. Human adipose-derived stem cells: isolation, characterization and applications in surgery. *ANZ J Surg* 2009; **79**: 235–244.
- [43] MACCARIO R, PODESTA M, MORETTA A. et al. Interaction of human mesenchymal stem cells with cells involved in alloantigen-specific immune response favors the differentiation of CD4⁺ T-cell subset expressing a regulatory/suppressive phenotype. *Haematologica* 2005; **90**: 516–525.
- [44] MITCHELL J, MCINTOSH K, ZVONIC S. Immunophenotype of human adipose-derived stem cells: temporal changes in stromal-associated stem cell-associated markers. *Stem Cells* 2006; **24**: 376–385.
- [45] MIYAHARA Y, NAGAYA N, KATAOKA M. Monolayered mesenchymal stem cells repair scarred myocardium after myocardial infarction. *Nat Med* 2006; **12**: 459–465.
- [46] MIZUNO H. Adipose derived stem cells for tissue repair and regeneration: ten years of research and a literature review. *J Nippon Med Sch* 2009; **76**: 56–66.

- [47] NEMETH K, LEELAHAVANICHKULA, YUEN P. Et al. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E₂-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. *Nat Med* 2009; **15**: 42–49.
- [48] NIEMEYER P, KORNACKER M, MEHLHORN A. et al. Comparison of immunological properties of bone marrow stromal cells and adipose tissue-derived stem cells before and after osteogenic differentiation *in vitro*. *Tissue Eng* 2007; **13**: 111–121.
- [49] OLKOWSKA-TRUCHANOWICZ J. Izolacja i charakterystyka komórek progenitorowych tkanki tłuszczowej. *Post Biol Kom* 2008; **35**: 517–526.
- [50] PALPANT N, METZGER J. Aesthetic cardiology: adipose-derived stem cells for myocardial repair. *Curr Stem Cell Res Ther* 2010; **5**: 145–152.
- [51] PEPTAN A, HONG L, MAO J. Comparison of osteogenic potentials of visceral and subcutaneous adipose-derived cells of rabbits. *Plast Reconstr Surg* 2006; **117**: 1462–1470.
- [52] PETERSON B, ZHANG J, IGLESIAS R. et al. Healing of critically sized femoral defects, using genetically modified mesenchymal stem cells from human adipose tissue. *Tissue Eng* 2005; **11**: 120–129.
- [53] PLANAT-BENARD V, MENARD C, ANDRE M. et al. Spontaneous cardiomyocyte differentiation from adipose tissue stroma cells. *Circ Res* 2004; **94**: 223–229.
- [54] PRUNET-MARCASSUS B, COUSIN B, CATON D. et al. From heterogeneity to plasticity in adipose tissues: site-specific differences. *Exp Cell Res* 2006; **312**: 727–736.
- [55] PUISSANT B, BARREAU C, BOURIN P. et al. Immunomodulatory effect of human adipose tissue-derived adult stem cells: comparison with bone marrow mesenchymal stem cells. *Br J Haematol* 2005; **129**: 118–129.
- [56] RASMUSSEN I, RINGDEN O, SUNDBERG B. et al. Mesenchymal stem cells inhibit the formation of cytotoxic T lymphocytes, but not activated cytotoxic T lymphocytes or natural killer cells. *Transplantation* 2003; **76**: 1208–1213.
- [57] RODRIGUEZ A, PISANI D, DECESNE C. et al. Transplantation of a multipotent cell population from human adipose tissue induces dystrophin expression in the immunocompetent mdx mouse. *J Exp Med* 2005; **201**: 1397–1405.
- [58] RUIZ, J, LUDLOW J, SHERWOOD S. et al. Differentiated human adipose-derived stem cells exhibit hepatogenic capability *in vitro* and *in vivo*. *J Cel Physiol* 2010; **225**: 429–436.
- [59] SAFFORD K, SAFFORD S, GIMBLE J. et al. Characterization of neuronal/glial differentiation of murine and human adipose-derived stromal cells. *Exp Neurol* 2004; **187**: 319–328.
- [60] SAULNIER N, PISCAGLIA M, PUGLISI M. Molecular mechanisms underlying human adipose tissue-derived stromal cells differentiation into a hepatocyte-like phenotype. *Dig Liver Dis* 2010; **42**: 895–901.
- [61] SCHÄFFLER A, BÜCHLER Ch. Concise review: adipose tissue-derived stromal cells-basic and clinical implications for novel cell-based therapies. *Stem Cells* 2007; **25**: 818–827.
- [62] SELMANI Z, NAJIA, ZIDI I. et al. Human leukocyte antigen-G5 secretion by human mesenchymal cells is required to suppress T lymphocyte and natural killer function and to induce CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ regulatory T cells. *Stem Cells* 2008; **26**: 212–222.
- [63] SEO M, SUH S, BAE Y. et al. Differentiation of human adipose stromal cells into hepatic lineage *in vitro* and *in vivo*. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; **328**: 258–264.
- [64] STANISŁAWSKA-BIERNAT E, FILIPOWICZ-SOSNOWSKA A. Leczenie choroby zwyrodnieniowej stawów. *Przeg Lek* 2004; **11**: 62–70.
- [65] Stanowisko Zespołu Ekspertów ds. Diagnostyki i Terapii Chorób Reumatycznych – sierpień 2006. *Przeg Reumatol* 2006; **4**: 3–5.
- [66] TCHKONIA T, GIORGADZE N, PIRTSKHALAVA T. et al. Fat depot-specific characteristics are retained in strains derived from single human preadipocytes. *Diabetes* 2006; **55**: 2571–2578.
- [67] THOLPADY S, LLULL R, OGLE R. Adipose tissue: stem cells and beyond. *Clin Plast Surg* 2006; **33**: 55–62.
- [68] TIMPER K, SEBOEK D, EBERHARDT M. Human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells differentiate into insulin, somatostatin, and glucagon expressing cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; **341**: 1135–1140.
- [69] TOMA J, MCKENZIE I, BAGLI D. et al. Isolation and characterization of multipotent skin-derived precursors from human skin. *Stem Cells* 2005; **23**: 727–737.
- [70] TROTTIER V, MARECEAU-FORTIER G, GERMAIN L. IFATS Collection: Using human adipose-derived stem/stromal cells for the production of new skin substitutes. *Stem Cells* 2008; **26**: 2713–2723.
- [71] TYNDALL A, VAN LAAR J. Stem cells in the treatment of inflammatory arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2010; **24**: 565–574.

- [72] VANIKAR A, DAVE S, THAKKAR U. Cotransplantation of adipose tissue-derived insulin-secreting mesenchymal stem cells and hematopoietic stem cells: a novel therapy for insulin-dependent diabetes mellitus. *Stem Cells Internat* 2010; **20**: online 10.4061/2010/582382.
- [73] VON HEIMBURG D, HEMMRICH K, ZACHARIAH S. et al. Oxygen consumption in undifferentiated versus differentiated adipogenic mesenchymal precursor cells. *Respir Physiol Neurobiol* 2005; **146**: 107–116.
- [74] WANG M, PEI H, ZHANG L. et al. Hepatogenesis of adipose-derived stem cells on poly-lactide-co-glycolide scaffolds: *in vitro* and *in vivo* studies. *Tissue Eng Part C Methods* 2010; **16**: 1041–1050.
- [75] WEI X, ZHAO L, ZHONG J. et al. Adipose stromal cells-secreted neuroprotective media against neuronal apoptosis. *Neurosci Lett* 2009; **462**: 76–79.
- [76] WILSON A, BUTLER P, SEIFALIAN A. Adipose-derived stem cells for clinical application: a review. *Cell Prolif* 2010; **44**: 86–98.
- [77] WINTER A, BREIT S, PARSCH D. et al. Cartilage-like gene expression in differentiated human stem cell spheroids: a comparison of bone marrow-derived and adipose tissue-derived stromal cells. *Arth Rheum* 2003; **48**: 418–429.
- [78] XIAOWEN B, ECKHARD A. Myocardial regeneration potential of adipose tissue-derived stem cells. *Biochem Biophys Res Comm* 2010; **401**: 321–326.
- [79] XU Y, LIU L, LI Y. et al. Myelin-forming ability of Schwann cell-like cells induced from rat adipose-derived stem cells *in vitro*. *Brain Res* 2009; **1239**: 49–55.
- [80] YAMAMOTO T, GOTOH M, HATTORI R. et al. Periurethral injection of autologous adipose-derived stem cells for the treatment of stress urinary incontinence in patients undergoing radical prostatectomy: report of two initial cases. *Int J Urol* 2010; **17**: 75–82.
- [81] ZAPPIA E, CASAZZA S, PEDEMONTE E. et al. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. *Blood* 2005; **106**: 1755–1761.
- [82] ZAVAN B, VINDIGNI V, GARDIN Ch. et al. Neural potential of adipose-derived stem cells. *Discov Med* 2010; **10**: 37–43.
- [83] ZIMMERLIN L, DONNERBERG V, PFEIFER M. Stromal vascular progenitors in adult human adipose tissue. *Cytometry Part A* 2010; **77**: 22–30.
- [84] ZUK P. The adipose-derived stem cell: looking back and looking ahead. *Mol Biol Cell* 2010; **21**: 178317–178387.
- [85] ZUK P, ZHU M, ASHIJAN P. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell* 2002; **13**: 4279–4295.
- [86] ZUK P, ZHU M, MIZUNO H. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell-based therapies. *Tissue Eng* 2001; **7**: 211–228.

Redaktor prowadzący – Jerzy Kawiak

Otrzymano: 21.05. 2011 r.

Przyjęto: 25.05. 2011 r.

Urszula Skalska,

Zakład Patofizjologii i Immunologii Instytutu Reumatologii

ul.Spartańska 1, 02-637 Warszawa

e-mail: urszula.skalska@ir.ids.pl