

El Residente

REVISIÓN - OPINIÓN

Células troncales mesenquimales: potencial de terapia celular en trasplante de células troncales hematopoyéticas

Marta Elena Castro-Manrreza,* Juan José Montesinos*

RESUMEN. A través del desarrollo de los mamíferos se generan diferentes tipos de células troncales. Cada una de ellas se caracteriza por poseer cierto potencial de diferenciación, siendo el cigoto el de mayor potencial. Una vez formados los tejidos, prácticamente en cada uno de ellos se localizan células troncales somáticas, las cuales tienen un potencial de diferenciación restringido. Ejemplo de ellas son las células troncales mesenquimales, las cuales se localizan en la médula ósea, y debido a sus características biológicas, es prometedor su uso en protocolos de terapia celular. En particular, estas células tienen capacidad de soporte hematopoyético y propiedades inmunosupresoras, y debido a ello, se han empleado para mejorar el trasplante de células troncales hematopoyéticas y el tratamiento de la enfermedad injerto contra hospedero.

Palabras clave: Células troncales mesenquimales, trasplante de células troncales hematopoyéticas, enfermedad injerto contra hospedero, inmunosupresión, terapia celular.

ABSTRACT. Through the development of mammals, distinct types of stem cells are generated. Each stem cell is characterized for its differentiation potential and among them, the zygote has the greatest potential. Once tissues have been formed, almost in all of them are found somatic stem cells which have a restricted differentiation potential. Examples of these cells are mesenchymal stem cells, which are located in bone marrow, and because of their biological characteristics they are potentially applicable in cell therapy protocols. In particular, these cells have the capacity of hematopoietic support and immunosuppressive properties; because of that, they have been used to improve hematopoietic stem cells transplantation and for the treatment of graft-versus-host disease.

Key words: Mesenchymal stem cells, hematopoietic stem cells transplantation, graft-versus-host disease, immunosuppression, cellular therapy.

ABREVIATURAS

MO: Médula ósea.
CD: Célula dendrítica.
CPAs: Células presentadoras de antígenos.
EICH: Enfermedad injerto contra hospedero.
G-CSF: Factor estimulador de colonias de granulocitos.
GM-CSF: Factor estimulador de colonias de macrófagos y granulocitos.
HSCs: Células troncales hematopoyéticas.
ICAM-I: Molécula de adhesión intercelular.

IFN γ : Interferón- γ .
MHC: Complejo mayor de histocompatibilidad.
MSCs: Célula troncal mesenquimal.
NK: Célula asesina natural.
TGF- β : Factor de crecimiento transformante beta.
TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa.
VCAM-I: Molécula de adhesión celular vascular.

* Laboratorio de Células Troncales Mesenquimales. Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Oncológicas. Hospital de Oncología. Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social. México, D.F.

Correspondencia:

Juan José Montesinos

Poniente 17, Lt 14, Mz 31, Colonia San Miguel Xico 3a sección, Valle de Chalco, Solidaridad, Estado de México. E-mail: montesinosster@gmail.com

Recibido: 21 de abril del 2014. Aceptado con modificaciones: 18 de agosto del 2014.

Este artículo puede ser consultado en versión completa en: www.medigraphic.com/elresidente

INTRODUCCIÓN

Durante el desarrollo embrionario, se generan diferentes tejidos y órganos que culminan con la formación de un individuo. Además, durante el crecimiento y en la etapa adulta, los tejidos y órganos del cuerpo humano están en constante regeneración. En ocasiones este proceso es muy rápido, como sucede con la piel o los diferentes componentes celulares de la sangre, los cuales diariamente se están regenerando. Dicho proceso también puede ser lento, como la regeneración en el cerebro. ¿Cómo es posible generar todo un organismo a partir de una sola célula?, ¿qué componentes celulares son los responsables de que el cuerpo humano sea capaz de regenerar sus tejidos, así como mantener o restablecer la función adecuada del organismo? Actualmente sabemos que los responsables de estos procesos son las células troncales. Hoy en día, los dos retos principales a los que se enfrenta la medicina regenerativa son la obtención de células troncales y el mejor conocimiento sobre su biología. Ello permitiría hacer realidad la idea de sustituir aquellos tejidos y órganos dañados por tejidos sanos provenientes de estas células. Así, a partir de la manipulación de las células troncales, sería posible obtener células beta-pancreáticas productoras de insulina, administrarlas al paciente y curar la diabetes tipo I; en los enfermos con osteoartritis, sería posible administrar células troncales con capacidad para regenerar cartílago, mientras que en pacientes con enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer y Parkinson, sería posible la administración de células troncales capaces de regenerar neuronas.

Aunque actualmente ya hay protocolos clínicos encaminados al uso de estas células para el tratamiento de diversos padecimientos, como los anteriormente expuestos, la realidad es que aún desconocemos mucho de su biología, y más grave aún es hacer uso de las mismas sin tener claros sus alcances y consecuencias. En este artículo revisaremos diferentes aspectos de las células troncales mesenquimales (MSC, por sus siglas en inglés), una de las células troncales

que en los últimos años se ha considerado entre las de mayor expectativa para su aplicación en medicina regenerativa.

Antes de describir a las MSC, la primera pregunta a contestar sería: ¿Qué es una célula troncal? Actualmente, las células troncales se definen con base en sus características funcionales. Son células no diferenciadas, con capacidad de autorrenovación, es decir, de producir células idénticas a la inicial —lo cual permite el mantenimiento de la población de células troncales—, pero además, tienen el potencial para generar distintos tipos celulares. Existen diferentes tipos de células troncales, que se generan durante el desarrollo de los mamíferos, y cada una de ellas posee potenciales de diferenciación característicos; con base en este potencial se han clasificado en totipotentes, pluripotentes y multipotentes.¹

Con la fertilización del ovocito se produce un huevo o cigoto, a partir del cual se generan todas las estructuras del embrión y todas las estructuras extraembrionarias; debido a esta capacidad, el huevo o cigoto se considera como una célula troncal *totipotente*; estas células las podemos encontrar hasta el estadio de mórula, en el cual las ocho células que conforman esta estructura son totipotenciales. Continuando con el desarrollo embrionario, en el estadio de blastocisto, las células de la masa interior de la blástula son capaces de formar todos los tipos celulares de un organismo adulto, pero ya no pueden generar las estructuras extraembrionarias; estas células se conocen como células troncales pluripotentes o células troncales embrionarias. Otras células pluripotentes son las células germinales primordiales obtenidas de la cresta gonadal. Las tres capas germinales que se integran durante el desarrollo embrionario se generan a partir de las células troncales pluripotentes: ectodermo (que origina piel y linajes neurales), mesodermo (que da origen a la sangre, tejido adiposo, músculo, hueso y cartílago) y endodermo (que origina tejidos del tracto respiratorio y digestivo). Finalmente, existen células troncales en la mayoría de los tejidos;

estas células, llamadas células troncales multipotentes o somáticas, tienen capacidad de autorrenovación y diferenciación limitadas y son capaces de formar todos los tipos celulares diferenciados del tejido al cual pertenecen; si el tejido del cual provienen está conformado por un solo tipo celular, entonces se denominan unipotentes.¹⁻⁴

De manera interesante, recientemente se ha demostrado que algunas células troncales somáticas provenientes de un tejido en particular, cuando son sometidas a condiciones de laboratorio específicas, también son capaces de generar tipos celulares con características de otros tejidos, a lo cual se ha denominado «plasticidad celular», y esta propiedad genera mucha expectativa sobre su posible uso en protocolos de terapia celular, en los cuales se pretende regenerar células, tejidos u órganos dañados con células troncales derivadas de tejidos sanos.^{1,2,4}

Aunque hoy en día es posible obtener células troncales multipotentes de varios tejidos y órganos adultos, las células troncales provenientes de médula ósea (MO) son las más prometedoras en términos de terapia celular. En este órgano podemos encontrar dos tipos de células troncales: las células troncales he-

matopoyéticas (HSC, por sus siglas en inglés) y las MSC. La mayor parte del conocimiento que actualmente se tiene sobre la biología de las células troncales se basa principalmente en el estudio de las HSC, las cuales son responsables de mantener diariamente la producción de células sanguíneas (hematopoyesis) durante la vida de un individuo. Por su parte, las MSC dan lugar a la formación de algunos componentes celulares del estroma de la MO que participan en la generación de un microambiente apropiado para que se lleve a cabo la hematopoyesis (*Figura 1*).

Las MSC poseen diferentes propiedades biológicas que las hacen buenas candidatas para ser empleadas en la terapia celular: a) amplio potencial de diferenciación (plasticidad), b) secretan factores tróficos que favorecen la remodelación de tejidos, c) capacidad de soporte hematopoyético, y d) tienen capacidad inmunosupresora. Debido a estas propiedades, actualmente las MSC ya se aplican en algunos protocolos de terapia celular, mientras que su uso potencial en otras patologías podría ser viable en el futuro (*Figura 2*). En particular, debido a su capacidad de soporte hematopoyético e inmunosupresión, las MSC ya se han

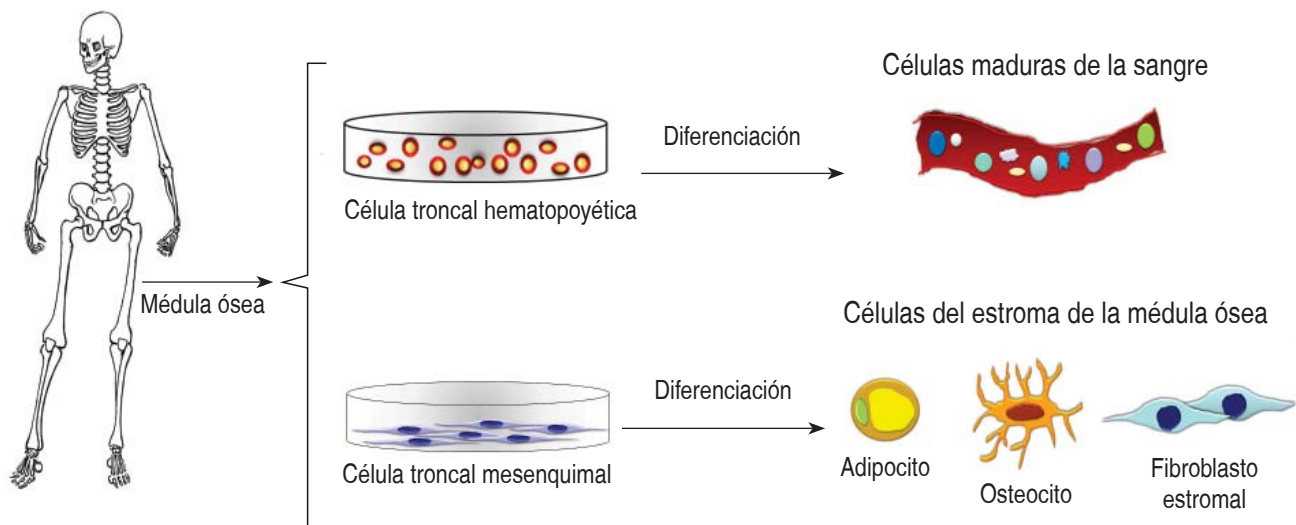


Figura 1. Células troncales de la médula ósea. En la médula ósea se encuentran las células troncales hematopoyéticas y las células troncales mesenquimales. De las primeras se originan todos los tipos celulares de la sangre y de las segundas se generan algunos de los componentes del estroma medular.

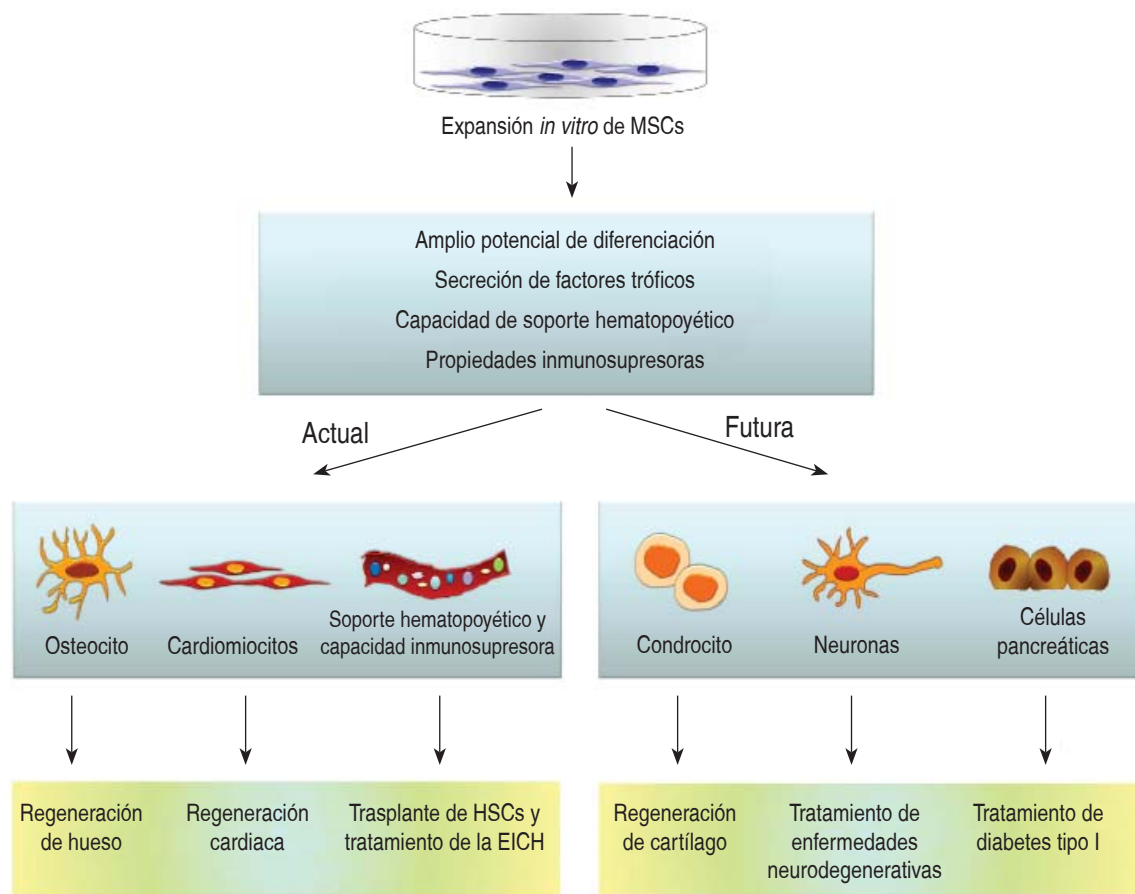


Figura 2. Células troncales mesenquimales y terapia celular. Debido a sus propiedades biológicas, las MSCs ya se aplican en el tratamiento de algunas patologías y en el futuro podrían emplearse en el tratamiento de otros padecimiento (modificado de Montesinos y Castro, 2011).

empleado para mejorar el trasplante de HSC, por una parte para la recuperación rápida de células hematopoyéticas postrasplante, así como para tratar una de sus principales complicaciones, la enfermedad injerto contra hospedero (EICH) (Figura 3).⁵

TERAPIA CELULAR CON CÉLULAS TRONCALES MESENQUIMALES EN TRASPLANTE DE CÉLULAS TRONCALES HEMATOPOYÉTICAS

Células troncales mesenquimales y capacidad de soporte hematopoyético

Para entender mejor la participación de las MSC en el trasplante de HSC, mencionaremos algu-

nos aspectos relacionados con la hematopoyesis. La hematopoyesis es el proceso a través del cual se forman todas las células de la sangre, y tras el nacimiento se lleva a cabo en la MO, donde hay un microambiente apropiado que permite este proceso. El estroma de la MO está conformado por diferentes tipos de células que proporcionan las moléculas y señales indispensables para que se lleve a cabo la hematopoyesis. Como ya mencionamos, hoy en día sabemos que a partir de la MSC se forman algunos de los componentes del estroma de la MO; es decir, las MSC tienen la capacidad para generar la mayoría de las células que constituyen dicho tejido de sostén sobre el cual las HSC proliferan y se diferencian.⁶

El trasplante de HSC es el único tratamiento con fines curativos para muchas neoplasias hema-

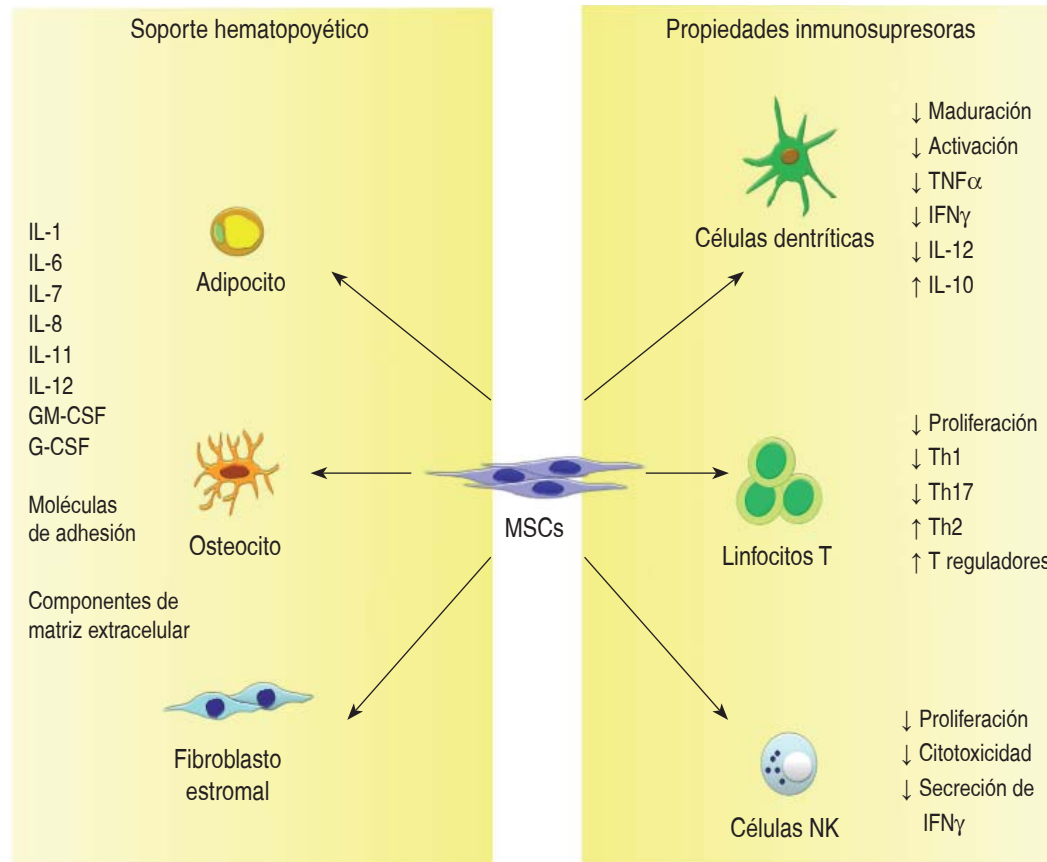


Figura 3.

Capacidad de soporte hematopoyético y propiedades inmunosupresoras de las células troncales mesenquimales. A partir de las MSCs se generan algunos componentes de la médula ósea que a través de la secreción y expresión de ciertas moléculas, son capaces de soportar la hematopoyesis. Las MSC tienen propiedades inmunosupresoras y son capaces de regular la función de diferentes células del sistema inmune.

tológicas. Durante un trasplante de HSC, se pretende sustituir a las células sanguíneas anormales por células sanas; para lograr esto, el paciente primero es sometido a un régimen de condicionamiento con quimio y/o radioterapia, el cual pretende eliminar las células malignas. Posteriormente, se administran por vía intravenosa las HSC, las cuales pueden provenir de la MO, sangre periférica movilizada o sangre de cordón umbilical. Durante el trasplante de HSC se pueden presentar varias complicaciones: a) rechazo del injerto, b) recuperación hematopoyética lenta, y c) desarrollo de EICH. Se ha demostrado que las MSC son capaces de favorecer la aceptación del injerto y una recuperación hematopoyética rápida.⁴

La primera evidencia de la participación de las MSC en mantener la hematopoyesis fue descrita por Friedenstein en 1974;⁷ empleando un modelo de ratón, demostró que el trasplante de células estromales de MO bajo la cápsula del riñón resultó en la generación de estructuras de-

nominadas «oscículos», los cuales presentaban características histológicas similares a las de la MO, ya que bajo el microscopio se podía reconocer tanto la formación de estroma como de células hematopoyéticas. Es importante resaltar que los investigadores observaron que las células hematopoyéticas provenían del receptor, mientras que el estroma provenía del donador. Posteriormente, en el mismo modelo, otros investigadores demostraron que la inyección simultánea de MSC y HSC acelera la recuperación de la hematopoyesis después de la irradiación letal de los animales receptores.⁸ Con base en estos resultados, se comenzó a plantear la posibilidad de trasplantar a las MSC en procedimientos clínicos, para evaluar su eficacia en el favorecimiento de la hematopoyesis en pacientes sometidos a un trasplante de HSC; además, diferentes grupos de investigación comenzaron a estudiar los mecanismos involucrados en la capacidad de soporte hematopoyético por las MSC.⁹

Se ha demostrado que las MSC son capaces de regular la producción de células sanguíneas, debido en parte a su capacidad de secretar citocinas responsables de la proliferación y diferenciación de las células troncales y progenitoras hematopoyéticas, entre ellas la interleucina 1 (IL-1), IL-6, IL-7, IL-8, IL-11, IL-12, IL-14 e IL-15. Además, cuando las MSC se cultivan en presencia de IL-1 α , producen factores de crecimiento como el factor estimulador de colonias de macrófagos y granulocitos (GM-CSF, por sus siglas en inglés) y el factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF, por sus siglas en inglés), los cuales participan en la maduración de monocitos y granulocitos.¹⁰ Además, las MSC también son capaces de regular la hematopoyesis mediante mecanismos dependientes del contacto celular, ya que expresan diferentes moléculas de adhesión, como ICAM-1, ICAM-2, VACAM-1, L-selectina, CD44 (receptor de hialuronato) e integrinas- β 1 (CD29),^{10,11} que en conjunto permiten la interacción célula-célula entre las MSC y las HSC. Aunado a lo anterior, en la regulación de la hematopoyesis también son importantes los componentes de la matriz extracelular, y se ha visto que las MSC son capaces de secretar algunos de sus componentes, entre ellos, colágena tipos I, III, IV y VI, fibronectina, laminina, osteopontina y proteoglicanos, moléculas importantes en el mantenimiento de las HSC más primitivas.¹²

Actualmente, las MSC de MO se expanden a gran escala para obtener un número suficiente y coadministrarlas o administrarlas a los pacientes que han recibido un trasplante de HSC. Se ha visto que la administración de MSC en pacientes pediátricos o adultos que recibieron un trasplante de HSC es segura y no se observan efectos adversos o tóxicos; además, hay una recuperación más rápida de neutrófilos y plaquetas. Los mecanismos a través de los cuales las MSC ejercen este efecto benéfico *in vivo* son poco conocidos, ya que se ha demostrado que las MSC son capaces de injertar en la MO, pero en bajo porcentaje, aunque debido a su potencial de proliferación y diferenciación podrían ser suficientes para restablecer el estroma medular responsable de la formación hematopoyética.⁴

Propiedades inmunosupresoras de las MSC y tratamiento de la enfermedad injerto contra hospedero

Como ya mencionamos, durante el trasplante de HSC se pueden presentar varias complicaciones, y una de ellas es el desarrollo de la EICH; esta patología se presenta cuando los linfocitos T del donador reconocen como extrañas a las células del receptor y montan una respuesta inmune en contra de ellas. El daño en los tejidos y órganos del paciente puede ser tan extenso que incluso puede provocar la muerte.¹³⁻¹⁶ Dependiendo del tiempo de aparición, la EICH se clasifica en dos tipos. La EICH aguda (EICH-a) ocurre en los primeros 100 días después del trasplante, mientras que la EICH crónica (EICH-c) ocurre después de este tiempo. No se conoce con exactitud la patofisiología de la EICH; sin embargo, la EICH-a ha sido mejor descrita que la EICH-c; por tal razón, se describirán los mecanismos inmunológicos involucrados en la primera.¹⁷ Se han propuesto tres fases que inducen la aparición de esta enfermedad: 1) activación de las células presentadoras de antígenos (CPA) del hospedero debido al régimen de acondicionamiento para el trasplante; 2) activación de los linfocitos T, los cuales proliferan y se diferencian en respuesta a los antígenos histoincompatibles presentados por las CPA, y 3) fase efectora celular e inflamatoria, en la cual diferentes componentes celulares del sistema inmune (linfocitos T citotóxicos y células NK) y citocinas inflamatorias (IFN γ , TNF α , IL-1, etcétera) actúan en conjunto, promoviendo la inflamación y daño tisular en diferentes órganos del paciente.¹³⁻¹⁶ A continuación describiremos de qué forma las MSC participan en la regulación negativa de cada una de estas fases y, de esta manera, contribuyen a resolver la EICH.

Diversos estudios han demostrado que las MSC son capaces de regular la función de diferentes componentes del sistema inmune innato (células NK) y adaptativo (células dendríticas, los linfocitos T y linfocitos B). Como ya se dijo, durante el desarrollo de la EICH, la primera etapa consiste en la activa-

ción de las células dendríticas debido al régimen de condicionamiento al cual es sometido el paciente y que provoca un ambiente inflamatorio en el organismo debido al daño de los tejidos. Las células dendríticas (CD) son las células presentadoras de antígenos más importantes del cuerpo, y se encargan del procesamiento y presentación de antígenos a los linfocitos T. Cuando un linfocito T virgen o de memoria reconoce a su antígeno en la superficie de una CD en el contexto MHC-I o MHC-II, se induce su activación, proliferación y diferenciación, lo cual culmina con la función efectora del linfocito T. Una CD debe madurar para ser capaz de activar a los linfocitos T; durante su maduración, estas células aumentan la expresión de MHC-I y MHC-II y moléculas coestimuladoras de linfocitos T (CD80 y CD86). Se ha demostrado que una CD inmadura, además de no activar a los linfocitos T, es capaz de inducir tolerancia. Diversas evidencias experimentales sugieren que las MSC son capaces de afectar la función de las CD en tres niveles: a) inhiben la diferenciación de monocitos hacia CD, b) mantienen el estado inmaduro de las CD, y c) son capaces de revertir a una CD madura hacia un estado inmaduro. Todo ello disminuye su capacidad para activar linfocitos T.^{18,19}

Continuando con la fisiopatología de la EICH, después de la activación de las células dendríticas, viene la activación, proliferación y diferenciación de los linfocitos T en respuesta a los antígenos histo-incompatibles presentados por las CPA. Las células MSC son capaces de secretar moléculas inmunosupresoras como IL-10, prostaglandina E2, indol-amina-2, 3-dioxigenasa, TGFβ, etcétera. Todas ellas disminuyen la proliferación de linfocitos T y su capacidad de secretar citocinas proinflamatorias como el IFNγ y TNFα, contribuyendo así a la generación de un ambiente antiinflamatorio. Aunado a lo anterior, las MSC son capaces de inhibir la

diferenciación de poblaciones de linfocito T proinflamatorias tipos Th1 y Th17, y favorecen la diferenciación de poblaciones tipos Th2 y T reguladores; este tipo de linfocitos se encarga de regular la respuesta inmune para evitar daño en los tejidos causado por una inflamación exacerbada.²⁰⁻²⁴

Otras células involucradas en el daño a los tejidos durante la EICH-a son las células NK; éstas participan en la defensa del cuerpo contra infecciones y cáncer, ya que tienen efecto citotóxico sobre las células infectadas o tumorales. Se ha visto que las MSC son capaces de afectar la proliferación de las células NK activadas, así como su actividad citotóxica.²⁵

Debido a las propiedades inmunosupresoras anteriormente descritas, las MSC han demostrado su eficacia en el tratamiento de la EICH grados III-IV refractaria a esteroides, tanto en niños como en adultos. En todos estos casos, se ha observado reducción en la incidencia y severidad de la EICH, incremento significativo de la supervivencia, y no se observaron efectos tóxicos después de la administración de las MSC.²⁶⁻³⁰

CONCLUSIONES

Como hemos descrito a lo largo de esta revisión, las MSC representan una herramienta biológica con un adecuado potencial para ser utilizadas en procedimientos de terapia celular relacionados con la regeneración de células de diferentes tejidos, y más aún, son una realidad en procedimientos clínicos encaminados a mejorar la calidad en el trasplante de HSC y en la disminución de la EICH en aquellos pacientes que la desarrollan. Sin embargo, aún quedan muchos retos por enfrentar en el conocimiento de la biología de las MSC, para que en un futuro se puedan utilizar en aquellas patologías en las que se ha evidenciado pueden ser aplicadas, así como mejorar su aplicación clínica en aquellas en donde ya se han utilizado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lemoli RM, Bertolini F, Cancedda R, De Luca M, Del Santo A, Ferrari G et al. Stem cell plasticity: time for a reappraisal? *Haematologica*. 2005; 90: 360-381.
2. Herzog EL, Chai L, Krause DS. Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood*. 2003; 15: 3483-3493.
3. Watt FM, Driskell RR. The therapeutic potential of stem cells. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2010; 12: 155-163.
4. Salem HK, Thiemermann C. Mesenchymal stromal cells: current understanding and clinical status. *Stem Cells*. 2010; 28: 585-596.
5. Montesinos JJ, Castro ME. Células troncales mesenquimales. En: Pelayo R, Santana-Olalla J, Velasco I, eds. *Células troncales y medicina regenerativa*. México: Buena Onda; 2011. pp. 119-138.
6. Dazzi F, Ramasamy R, Glennie S, Jones SP, Roberts I. The role of mesenchymal stem cells in haemopoiesis. *Blood Rev*. 2006; 20 (3): 161-171.
7. Friedenstein AJ, Deriglasova UF, Kulagina NN, Panasuk AF, Rudakowa SF, Luriá EA et al. Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the *in vitro* colony assay method. *Exp Hematol*. 1974; 2: 83-92.
8. Zhang Y, Adachi Y, Suzuki Y et al. Simultaneous injection of bone marrow cells and stromal cells into bone marrow accelerates hematopoiesis *in vivo*. *Stem Cells*. 2004; 22: 1256-1262.
9. Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B et al. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *The Lancet*. 2004; 363: 1439-1441.
10. Deans RJ, Moseley AB. Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. *Exp Hematol*. 2000; 28: 875-884.
11. Wagner W, Roderburg C, Wein F et al. Molecular and secretory profiles of human mesenchymal stromal cells and their abilities to maintain primitive hematopoietic progenitors. *Stem Cells*. 2007; 25: 2638-2647.
12. Gottschling S, Saffrich R, Seckinger A, Krause U, Horsch K, Miesala K et al. Human mesenchymal stromal cells regulate initial self-renewing divisions of hematopoietic progenitor cells by a beta1-integrin-dependent mechanism. *Stem Cells*. 2007; 25 (3): 798-806.
13. Goker H, Haznedaroglu IC, Chao NJ. Acute graft-versus-host disease: pathobiology and management. *Exp Hematol*. 2001; 29: 259-277.
14. Rezvani AR, Storb RF. Separation of graft-versus-tumor effects from graft-versus-host disease in allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J Autoimmun*. 2008; 30: 172-179.
15. Martin PJ. Biology of chronic graft-versus-host disease: implications for a future therapeutic approach. *Keio J Med*. 2008; 57: 177-183.
16. Reddy P, Arora M, Guimond M, Mackall CL. GVHD: a continuing barrier to the safety of allogeneic transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009; 15: 162-168.
17. Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *Lancet*. 2009; 2: 1550-1561.
18. Jiang XX, Zhang Y, Liu B, Zhang SX, Wu Y, Yu XD et al. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. *Blood*. 2005; 105: 4120-4126.
19. Beyth S, Borovsky Z, Mevorach D, Liebergall M, Gazit Z, Aslan H et al. Human mesenchymal stem cells alter antigen-presenting cell maturation and induce T-cell unresponsiveness. *Blood*. 2005; 105: 2214-2219.
20. Meisel R, Zibert A, Laryea M, Gobel U, Daubener W, Dilloo D. Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation. *Blood*. 2004; 103: 4619-4621.
21. Maccario R, Podestà M, Moretta A, Cometa A, Comoli P, Montagna D et al. Interaction of human mesenchymal stem cells with cells involved in alloantigen-specific immune response favors the differentiation of CD4+ T-cell subsets expressing a regulatory/suppressive phenotype. *Haematologica*. 2005; 90: 516-525.
22. Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood*. 2005; 105: 1815-1822.
23. Krampera M, Cosmi L, Angeli R, Pasini A, Liotta F, Andreini A et al. Role for interferon-gamma in the immunomodulatory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells*. 2006; 24: 386-398.
24. Prevosto C, Zancolli M, Canevali P, Zocchi MR, Poggi A. Generation of CD4+ or CD8+ regulatory T cells upon mesenchymal stem cell-lymphocyte interaction. *Haematologica*. 2007; 92: 881-888.
25. Spaggiari GM, Capobianco A, Abdelrazik H, Becchetti F, Mingari MC, Moretta L. Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2,3-dioxygenase and prostaglandin E2. *Blood*. 2008; 111: 1327-1333.
26. Ringden O, Uzunel M, Rasmusson I, Remberger M, Sundberg B, Lonnies H et al. Mesenchymal stem cells for treatment of therapy-resistant graft-versus-host disease. *Transplantation*. 2006; 81: 1390-1397.
27. Introna M, Lucchini G, Dander E, Galimberti S, Rovelli A, Balduzzi A et al. Treatment of graft versus host disease with mesenchymal stromal cells: a phase I study on 40 adult and pediatric patients. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013 Dec 6 [Epub ahead of print].
28. Resnick IB, Barkats C, Shapira MY, Stepsky P, Bloom AI, Shimon A et al. Treatment of severe steroid resistant acute GVHD with mesenchymal stromal cells (MSC). *Am J Blood Res*. 2013; 19: 225-238.
29. Muroi K, Miyamura K, Ohashi K, Murata M, Eto T, Kobayashi N et al. Unrelated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells for steroid-refractory acute graft-versus-host disease: a phase I/II study. *Int J Hematol*. 2013; 98: 206-213.
30. Ball LM, Bernardo ME, Roelofs H, van Tol MJ, Contoli B, Zwaginga JJ et al. Multiple infusions of mesenchymal stromal cells induce sustained remission in children with steroid-refractory, grade III-IV acute graft-versus-host disease. *Br J Haematol*. 2013; 163: 501-509.