ایمنی زایی سلول‌های بنیادی

لاله خدادادی .M.Sc، حسین بهاروند .Ph.D *

پژوهشکده رویان، گروه سلول‌های بنیادی

* آدرس مکاتبه: تهران، صندوق‌پستی: ۴۶۴۴-۱۹۳۹۵، پژوهشکده رویان، گروه سلول‌های بنیادی

پست الکترونیک: Email: Baharvand50@yahoo.com

چکیده

دریافت مقاله: ۸۵/۹/۲۰

شیوع روزافزون بیماری‌های مزمن از جمله بیماری‌های قلبی- عروقی، دیابت و بیماری‌های استحاله عصبی، چالشی برای یافتن درمان‌های موثرتر ایجاد کرده است. سلول درمانی از درمان‌های نوین در طب ترمیمی است که در آن سلول‌های بنیادی جنینی و بزرگسال ابزارهای درمانی مناسبی به حساب می‌آیند و امکان تحول در این زمینه را فراهم آورده‌اند. اما موانعی در کاربرد بالینی سلول‌های بنیادی وجود دارد. یکی از مهمترین موانع، ایمنی زایی آن‌ها است که منجر به پاسخ ایمنی و متعاقب آن رد پیوند می‌شود. این مقاله مروری بر ایمنی‌زایی سلول‌های بنیادی جنینی انسانی، سلول های بنیادی خون بند ناف و سلول‌های بنیادی بزرگسال (خون ساز و مزانشیمی) و راه‌های کاهش آنها در کاربرد بالینی این سلول‌ها است.

کلیدواژگان: سلول‌های بنیادی جنینی انسانی، سلول‌های بنیادی خون بند ناف، سلول‌های بنیادی خون‌ساز بزرگسالان، سلول‌های بنیادی مزانشیمی، ایمنی‌زایی

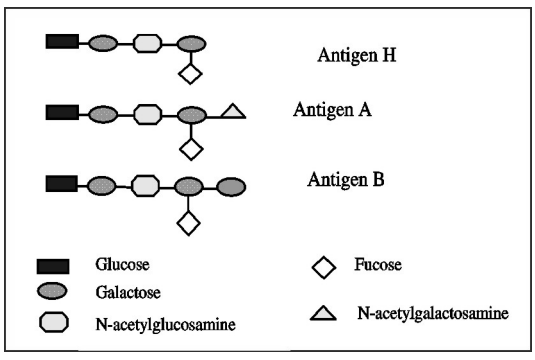
فصلنامه پزشکی یاخته، سال هشتم، شماره ٤، زمستان ۱۳۸۵، صفحات ۳۰۳-۲۷۶

ایمنی‌زایی سلول‌های بنیادی

شیوع روزافزون بیماری‌های مزمن از جمله بیماری‌های قلبی- عروقی، دیابت و بیماری‌های استحاله عصبی، چالشی برای یافتن درمان‌های موثرتر ایجاد کرده است. سلول درمانی از درمان‌های نوین در طب ترمیمی است که در آن سلول‌های بنیادی جنینی و بزرگسال ابزارهای درمانی مناسبی به حساب می‌آیند و امکان تحول در این زمینه را فراهم آورده‌اند (۱-۵). اما مهمترین مساله در کاربرد بالینی سلول‌های بنیادی، ایمنی زایی آن‌ها است که منجر به پاسخ ایمنی و متعاقب آن رد پیوند می‌شود. پاسخ ایمنی علیه آلوآنتی‌ژن‌ها(آنتی‌ژن‌های متغیر بین افراد) که توسط سیستم ایمنی گیرنده به عنوان غیرخودی شناسایی می‌شود، ایجاد می گردد. سه‌کلاس آلو آنتی‌ژن، شامل آنتی‌ژن‌های گروه خونی ABO، آنتی ژن‌های سازگاری نسجی فرعی (minor Histocompatibility Complex: mHC) و آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی اصلی (Major histocompatibility complex: MHC) هستند. این مقاله مروری بر ایمنی زایی سلول‌های بنیادی جنینی انسانی، سلول‌های بنیادی خون بند ناف و سلول‌های بنیادی بزرگسال (خون‌ساز و مزانشیمی) و راه‌های کاهش آنها در کاربرد بالینی این سلول‌ها است.

آنتی‌ژن‌های گروه خونی:ABO

آنتی‌ژن های گروه خونیABO، اولین مانع ایمونولوژیکی است که باید در پیوند در نظر گرفته شود. آنتی‌ژن‌هایABO نتیجه پلی مورفیسم ساختمانی در واحد کربوهیدراتی گلیکوپپتید سطحی سلول است (شکل ۱). این آنتی‌ژن‌ها نه تنها بر روی گلبول‌های قرمز بلکه در اکثر سلول‌های بدن نیز بیان می‌شوند (۶، ۷). افرادی که آلوآنتی‌ژن‌های A یا B را بیان نمی کنند، آنتی‌بادی‌های واکنش گر (ایزوهماگلوتینین) اختصاصی ضد این آنتی‌ژن‌های بیان نشده را در گردش خون خود دارند. این به دلیل مواجهه با پلی ساکاریدهای مشابه این آنتی‌ژن‌ها بر سطح باکتری است که طی دوران نوزادی در روده جایگزین وتکثیر می‌شوند (۸). ناسازگاری ABO یک مشکل جدی برای پیوند بافت‌های رگ‌دار است. زیرا بعد از رگ زایی مجدد در عضو پیوندی، آنتی‌بادی‌های از قبل تشکیل شده علیه آنتی‌ژن‌های A و B موجود در گردش خون میزبان به آنتی‌ژن‌های اختصاصی بیان شده بر اندوتلیوم عروق عضو پیوندی متصل می‌شوند. این امر موجب فعال شدن کمپلمان و در نهایت ترومبوز در رگ‌های بافت پیوندی می‌شودکه با عنوان پدیده رد فوق حاد شناسایی می‌شود (۹، ۱۰). اطمینان از سازگاری گروه خونی ABO در پیوندهای آلوگرافت بافت‌های توپر از جمله جزایر پانکراس (۱۱) و بافت‌های قرنیه (۱۲) برای افزایش بقای پیوند مهم است.



شکل ۱: آنتی‌ژن‌های گروه خونی ABO: آنتی‌ژن‌هایABO از ماده اولیه‌ای به نام آنتی‌ژن H به وجود می‌آیند که خود تحت تاثیر ژن مستقلی به همین نام قرار دارد. این ماده از نظر ساختمانی شباهت زیادی به آنتی‌ژن‌های A و B دارد و پایه و اساس ساختمان آن‌ها را تشکیل می‌دهد. وجه افتراق این سه آنتی‌ژن مربوط به ماده قندی در آنتی‌ژن A و B و فقدان آن در آنتی‌ژن H است. با افزودن گالاکتوز به ماده H که تحت تاثیر ژنB صورت می‌گیرد، آنتی‌ژن B و با افزودن استیل گالاکتوزامین بدان آنتی‌ژن A به دست می‌آید.

آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی فرعی

آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی فرعی، پپتیدهای مشتق از پروتیین‌های پلی‌مورفیک داخل سلولی عضو پیوندی هستند که همراه با آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی اصلی (Human Leukocyte Antigen: HLA) بر روی سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن (Antigen Presenting Cell: APC) میزبان عرضه می‌شوند. از جمله آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی فرعی می‌توان به محصولات ژن H-Y و میتوکندری اشاره کرد. تفاوت آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی فرعی کد شده توسط لکوس‌های اتوزومال و جنسی در گیرنده و دهنده در ایجاد خطر GVHD (Graft- Versus Host Disease) دخالت دارد. سلول‌های +TCD4 و +CD8 در پاسخ ایمنی علیه آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی فرعی نقش دارند. اگرچه آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی فرعی از نظر ایمنی‌زایی کم اهمیت تر از آنتی‌ژن‌های HLA هستند اما نمی‌توان از آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی فرعی کاملا چشم‌پوشی کرد. ناسازگاری بسیاری از این آنتی‌ژن‌ها با همدیگر می‌تواند موجب آغاز پدیده رد آلوگرافت شود. البته لازم به ذکر است علی‌رغم تعدد آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی فرعی، عواملی از جمله فراوانی، ایمنی‌زایی و توزیع بافتی این آنتی‌ژن‌ها در میزان ایجاد خطر برای پیوند توسط هر یک از آن‌ها نقش دارند (۱۳-۱۵). در جدول ۱ تعدادی از آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی فرعی شناخته شده و نحوه توزیع آن‌ها آمده است.

مولکول‌های HLA

ژن‌های کدکننده آنتی‌ژن‌های HLA بر روی بازوی کوتاه کروموزوم۶ قرار دارند و ناحیه‌ای حدود4Mb را اشغال کرده‌اند. این قسمت خود به سه ناحیه تقسیم می‌شود: ۱) ناحیه اول شامل ژن‌هایی است که زنجیره سنگین مولکول‌های کلاسیک کلاس یک (HLA-A, -B, -C) و غیرکلاسیک کلاس یک (HLA-E, -F, -G) را کد می‌کنند و همراه با پروتیین بتا ۲ میکروگلبولین که محصول ژن دیگری بر روی کروموزوم ۱۵ است، بر سطح سلول ظاهر می‌شوند. ۲) ناحیه دوم، ژن‌های کد کننده مولکول‌های HLA کلاس دو (DR, DQ, DP) و ژن‌های دیگر که در پردازش و انتقال پپتیدهای آنتی‌ژنی نقش دارند، در این ناحیه قرار دارند. این ژن‌ها شامل ژن‌های پلی پپتیدی با وزن مولکولی کم LMP2 و LMP7 (Low molecular mass polypeptide genes) و TAP1 و TAP2 (Transporter associated with antigen-processing genes) است. به علاوه، ژن‌های DMA و DMB که مولکول هترودیمر HLA-DM را کد می‌کنند و در جای‌گیری پپتید در مولکول‌های HLA کلاس دو نقش دارند در این ناحیه قرار دارند. ۳) ناحیه سوم، که بین دو ناحیه یک و دو قرار دارد، شامل ژن‌های کدکننده گروه وسیعی از پروتیین‌ها از جمله اجزای کمپلمان C4BF، TNF (Tumour necrosis factor) و HSP (Heat Shock Protein) است (۱۶).

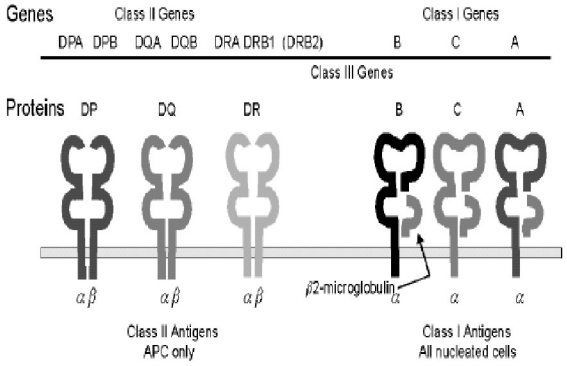
آنتی‌ژن‌های HLA کلاس یک (A, B, C) بر سطح اکثر سلول‌ها و بافت‌ها بیان می‌شوند. البته میزان بیان این آنتی‌ژن‌ها در بافت‌های اندوکرینی، عضله اسکلتی و سلول‌های سیستم عصبی مرکزی کم است. HLA-E و HLA-F هم در سطح اکثر بافت‌ها بیان می‌شوند ولی بیان HLA-G تاکنون بر روی سیتوتروفوبلاست خارج پرزی جفت، فاگوسیت‌های تک هسته‌ای و سلول‌های جنینی مشخص شده است. آنتی‌ژن‌های HLA کلاس دو به طور پیوسته بر روی لنفوسیت‌های B، منوسیت‌ها و سلول‌های دندریتیک بیان می‌شوند و این آنتی‌ژن‌ها در سلول‌های دیگر نظیر لنفوسیت‌های T، گرانولوسیت‌ها، فیبروبلاست‌ها و سلول‌های اندوتلیال در نتیجه اثر سایتوکاین‌هایی مثل IFN-γ، TNF-α و IL-10 بیان می‌شوند (۱۶) (شکل۲). ژن‌های HLA دو مشخصه دارند که در انتقال بافت‌ها بین افراد مشکل ایجاد می‌کنند. ۱) ژن‌های HLA، پلی‌مورف‌ترین ژن‌ها در ژنوم انسانی هستند، به طوری که تعدادی از آن‌ها چند صد الل دارند (۱۷)، ۲) حداقل ۶ الل مختلف MHC به صورت هم غالب و هم‌زمان بیان می‌شوند. بنابراین احتمال سازگاری کامل MHC بین افراد غیر وابسته از نظر ژنتیکی خیلی پایین است، به خصوص در بعضی موارد که ناسازگاری حتی در یک لکوس HLA هم می‌تواند منجر به پاسخ ایمنی شود (۱۸).

جدول ۱. آنتی ژن های سازگاری نسجی فرعی شناخته شده (۱۵)

mHag	Restriction molecules	Tissue distribution	Peptid	Origin (gene/chromosome)
HA-1	HLA-A2	Haematopoietic cells	VLHDDLLEA	KIAA0223/19
HA-2	HLA-A2	Haematopoietic cells	YIGEVLVSV	Myosin related gene
HA-3	HLA-A1	Broad	1	1
HA-4	HLA-A2	Broad	1	1
HA-5	HLA-A2	Haematopoietic cells	1	1
HA-6	HLA-B7	Broad	1	1
HA-7	HLA-B7	Broad	1	1
HA-8	HLA-A2	1	RTLDKVLEV	KIAA0020/9
HY	HLA-A1	Broad	IVDCLTEMY	DFFRY/Y
HY	HLA-A2	Broad	FIDSYICQV	SMCY/Y
HY	HLA-B7	Broad	SPSVDKAREL	SMCY/Y
HY	HLA-B8	Broad	LPHNHTDL	UTY/Y
HY	HLA-B60	Broad	RESEEESVSL	UTY/Y
HY	HLA-DQ5	Broad	HIENSDIDMGE	DBY/Y[2]
HB-1	HLA-B44	B lymphoid lineage	EEKRGSLHVM	HB-1/5q32

۱. اطلاعات موجود نیست.

۲. بعضی از آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی فرعی علاوه بر برانگیختن پاسخ‌های سلول T سیتوتوکسیک، پاسخ‌های سلول B را نیز تحریک می‌کنند که در سرم بعضی از بیماران بعد از پیوند شناسایی شده‌اند (به عنوان مثال DBY/Y)



شکل۲. ژن ها و آنتی ژن های HLA

ایمنی‌زایی سلول‌های بنیادی جنینی انسانی

در سال های اخیر، جداسازی سلول های بنیادی جنینی انسانی (human embryonic stem cell: hESC) پرتوان از توده سلولی داخلی مرحله بلاستوسیت جنین امکان‌پذیر شده است. این مساله، باعث ایجاد امیدواری در جوامع علمی و عمومی برای کاربرد این سلول‌ها در پیوند درمانی شده است. دو دلیل عمده برای ایجاد این توقعات وجود دارد: اول اینکه این سلول‌ها توان نامحدودی برای تکثیر بدون تمایز در شرایط کشت آزمایشگاهی دارند (۱۹-۲۲). به علاوه این سلول‌ها را می‌توان برای تشکیل سه لایه زاینده جنینی تمایز داد. این کار را می‌توان در آزمایشگاه با انتقال سلول‌ها به ظرف کشتی که سلول‌ها به آن نمی‌چسبند، انجام داد. در این حالت، سلول‌ها به طور خودبه‌خودی، ساختارهای تمایز یافته‌ای را تشکیل می‌دهند که اصطلاحا اجسام شبه جنینی (Embryoid bodies: EB) نامیده می‌شوند (۲۳). همچنین با تزریق این سلول‌ها به موش‌های دچار نقص ایمنی شدید (Severe-combined immunodeficiency; SCID) تراتوم تشکیل می‌شود که در واقع تومور سلول زاینده شامل چندین نوع بافت مختلف است (۱۹، ۲۰). با این وجود، سلول‌های به دست آمده برای درمان مناسب نیستند. اولین اقدام برای به کارگیری سلول‌های بنیادی جنینی انسانی، هدایت تمایز آنها و خالص‌سازی انواع سلول‌های ویژه است. با اضافه کردن برخی از فاکتورهای رشد به سلول‌های بنیادی جنینی انسانی، می‌توان آنها را به سلول‌های مورد نظر تمایز داد (۲۴) و شیوه‌های غنی‌سازی نیز برای انواع خاص سلول‌ها از قبیل نورون‌ها (۲۵-۲۹)، تروفوبلاست‌ها (۳۰)، سلول‌های اندوتلیال (۳۱) کاردیومیوسیت‌ها (۳۲-۳۷)، پیش‌های خون‌ساز (۳۸، ۳۹) و سلول‌های مشابه هپاتوسیت (۴۰) ارایه شده است.

مشتقات سلول‌های بنیادی جنینی انسانی نسبت به سلول‌های مشتق از جنین (feutous) و بزرگسالان که در حال حاضر سلول‌های قابل پیوند هستند، مزایای دیگری نیز در کاربرد بالینی دارند. این مزایا شامل به دست آوردن آسان‌تر مقادیر بیشتر این سلول‌ها با کشت آزمایشگاهی و امکان استفاده از تکنیک‌های مختلف در دستکاری ژنتیکی آنها است (۴۱). شیوه‌های حاضر برای دستکاری ژنتیکی سلول‌های بنیادی جنینی انسانی- از قبیل transfection با عوامل شیمیایی (۴۲)، الکتروپوریشین (۴۳) (electroporation) و آلودگی با ناقل‌های ویروسی (۴۴، ۴۵) نقش حیاتی در سلول درمانی و آنالیز کیفیت تشکیل جنین انسانی دارد.

با این وجود، قبل از به کارگیری مشتقات سلول‌های بنیادی جنینی انسانی در درمان، به چند مساله باید توجه کرد. اول این که سلول‌های پیوند شده، سلول‌های تمایز یافته خالص باشند. زیرا سلول‌های بنیادی تمایز نیافته می‌توانند موجب تومورزایی و آثار مضر متعاقب آن شوند و با توجه به این که احتمال انتقال عوامل عفونی رده‌های سلولی با سلول‌های مغذی به بیمار وجود دارد، رده‌های سلولی باید از نظر آلودگی با پاتوژن‌ها بررسی شوند و رشد رده‌های سلولی قبل از پیوند در محیط‌های کشت بدون سلول‌های مغذی انجام شود. به علاوه، موضوع اصلی، احتمال تخریب مشتقات سلول‌های بنیادی جنینی انسانی پیوند شده توسط سیستم ایمنی میزبان به دلیل بیان پروتیین‌های غیرخودی بر روی سلول های پیوند شده است.

در بسیاری از موارد، پیوند بافت یا اعضا بین افراد غیر وابسته منجر به پاسخ ایمنی و رد پیوند می‌شود. پاسخ علیه آلوآنتی‌ژن‌ها، آنتی‌ژن‌های متغیر بین افراد که به عنوان غیرخودی توسط سیستم ایمنی گیرنده شناسایی می‌شوند، صورت می‌گیرد. همان گونه که قبلا ذکر شد، سه کلاس آلوآنتی‌ژن، شامل آنتی‌ژن‌های گروه خونی ABO، آنتی‌ژن‌های کمپلکس سازگاری نسجی فرعی (mHC) (۴۶) و آنتی‌ژن‌های کمپلکس سازگاری نسجی اصلی(MHC) هستند که چگونگی بیان این مولکول‌ها روی سلول‌های بنیادی جنینی انسانی و القا پاسخ ایمنی توسط این آنتی‌ژن‌ها توضیح داده می‌شود.

آنتی‌ژن‌های گروه خونی ABO

اولین مانع ایمونولوژیکی که در پیوند باید در نظر گرفته شود، آنتی‌ژن‌های گروه خونی ABO است. مشخص نیست که آیا سلول‌های بنیادی جنینی انسانی نیز آنتی‌ژن‌های گروه خونی ABO را بیان می‌کنند، اما منطقی است اگر این احتمال در نظر گرفته شود که سلول‌های تمایز یافته از آنها، این آنتی‌ژن‌ها را بیان کنند (۴۷). از آن جا که ناسازگاری این آنتی‌ژن‌های گروه خونی بین دهنده و گیرنده موجب پدیده رد فوق حاد پیوند می‌شود، با جلوگیری از ناسازگاری ABO بافت‌های مشتق از سلول‌های بنیادی جنینی انسانی پیوندی حفظ می‌شوند و از رد آن‌ها جلوگیری می‌شود.

آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی فرعی

بافت‌های مشتق از سلول‌های بنیادی جنینی انسانی بدون شک آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی فرعی را بیان می‌کنند (۴۷). از آن جا که احتمال آغاز رد پیوند آلوگرافت در صورت ناسازگاری تعداد زیادی آنتی‌ژن‌های سازگاری فرعی بین سلول‌های بنیادی جنینی انسانی و گیرنده پیوند وجود دارد، باید تاحد امکان از ناسازگاری این آنتی‌ژن‌ها بین دهنده و گیرنده جلوگیری کرد.

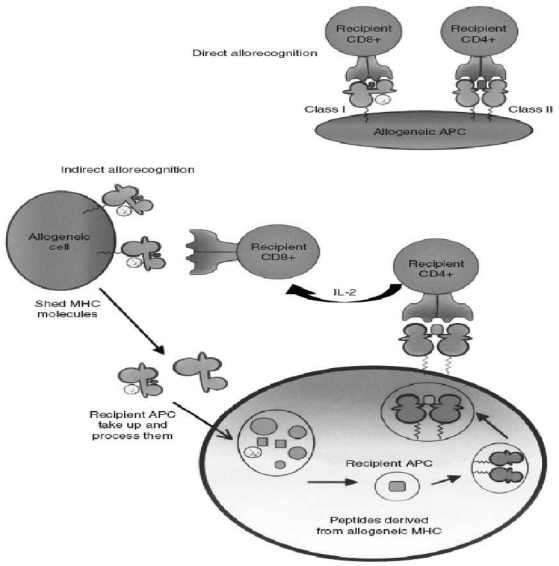
بیان آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی اصلی در مشتقات سلول‌های بنیادی جنینی انسانی

بعد از آنتی‌ژن‌های گروه خونی ABO، تفاوت‌های آنتی‌ژن‌های HLA، مهمترین مانع ایمونولوژیک در پیوند است. اخیرا بیان آنتی‌ژن‌های HLA روی سلول‌های بنیادی جنینی انسانی بررسی شده و مشخص گردیده است که سلول‌های بنیادی جنینی انسانی تمایز نیافته به مقدار کم HLA-I را بیان می‌کنند (۴۸، ۴۹). بیان مولکول‌های HLA بعد از تمایز سلول‌های بنیادی جنینی به اجسام شبه جنینی در محیط آزمایشگاه (*in vitro*) یا به سلول‌های تراتوم در داخل بدن (*in vivo*) به ترتیب ۴ و ۱۰ برابر افزایش می‌یابد. البته همچنان میزان بیان این آنتی‌ژن‌ها در مقایسه با سلول‌های سوماتیک از جلمه سلول‌های Hela پایین‌تر است (۴۹). بیان آنتی‌ژن‌های HLA-II بر روی سلول‌های بنیادی جنینی انسانی و مشتقات آن گزارش نشده است.

جالب توجه است که سلول‌های بنیادی جنینی انسانی گیرنده IFN-γ (نه گیرنده‌های IFN-α و IFN-β) را بر سطح خود بیان می‌کنند و در پاسخ به سیتوکاین IFN-γ به طور قابل توجهی بیان MHC-I را افزایش می‌دهند در حالی که بیان MHC کلاس دو حتی بعد از افزودن IFN-γ افزایش نمی‌یابد (۴۹). با این وجود، به دلیل بیان MHC کلاس دو بر سطح سلول‌های لنفاوی، وقتی سلول‌های بنیادی جنینی به سمت رده خونساز تمایز پیدا می‌کنند، احتمال بیان این مولکول‌ها بر سطح سلول‌ها وجود دارد.

شناسایی و رد ایمنی سلول‌های بنیادی جنینی تمایز یافته

بیان احتمالی MHC بر روی سلول‌های بنیادی جنینی انسانی می‌تواند عامل رد این سلول‌ها توسط سلول‌های T آلوراکتیو بعد از پیوند باشد زیرا ۱۰-۱درصد لنفوسیت‌های T در هر فرد ممکن است، آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی مربوط به فرد دهنده را با مسیر غیرمستقیم شناسایی کنند. در این حالت، این آنتی‌ژن‌ها به صورت آلوپپتیدهای عرضه شده همراه با مولکول‌های HLA کلاس دو سلول‌های دندریتیک گیرنده شناسایی می‌شوند (۵۰). برای انجام شناسایی و شروع پدیده رد ایمنی معمولا علاوه بر بیان MHC، سیگنال‌های کمک تحریکی سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن از جمله سلول‌های دندریتیک نیز مورد نیازند. به عنوان مثال، اگر در جمعیت سلول‌های پیوند زده شده، سلول‌های بیان کننده آنتی‌ژن (Antigen Presenting Cells: APCs) نیز وجود داشته باشند، ممکن است به غده‌های لنفاوی منطقه (regional) مهاجرت کنند و با سلول‌های T خاطره‌ای و دست نخورده آلوراکتیو برخورد کرده و آنها را تحریک کنند. نتیجه این عمل، تشکیل سلول‌های T واکنش‌گر است (۵۱، ۵۲). سپس، سلول‌های T واکنش‌گر (effecter) به گردش خون بر می‌گردند و مستقیما بافت را مورد حمله قرار می‌دهند. از آن جا که مشتقات سلول‌های بنیادی جنینی در صورت عدم تمایز به رده سلول‌های خون‌ساز، عاری از سلول‌های دندریتیک هستند، در پیوند آلوگرافت ایمنی‌زایی کمتری خواهند داشت و در نتیجه پاسخ ایمنی به طور قابل ملاحظه‌ای ضعیف‌تر است (۵۳). همان طور که در شکل ۳ نشان داده شده است، سلول‌های T، آلوآنتی‌ژن‌ها را با دو مسیر مشخص، مسیرهای مستقیم و غیر مستقیم، شناسایی می‌کنند. سیگنال‌های کمکی برای سلول‌های +TCD8 خاطره‌ای می‌تواند توسط سلول‌های +TCD4 تامین شود (۵۴). بنابراین، احتمال دارد که پیوندهای مشتق از سلول‌های بنیادی جنینی انسانی که شاید عاری از سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن هم باشند، توسط سلول‌های +TCD8 آلوراکتیو و به کمک سیگنال‌هایی از سلول‌های +TCD4 رد شوند. گواه قوی برای اهمیت مسیر غیرمستقیم را می‌توان در رد آلوگرافت دید.



شکل ۳: مسیرهای شناسایی مستقیم و غیرمستقیم
مسیر مستقیم: مولکول‌های MHC آلوژنیک دست نخورده توسط سلول‌های T گیرنده شناسایی می‌شوند. سلول‌های +TCD8، مولکول‌های MHC کلاس یک و سلول‌های +TCD4، مولکول‌های MHC کلاس دو را شناسایی می‌کنند. مسیر غیرمستقیم: مولکول‌های MHC آلوژنیک از سطح سلول‌های پیوندی جدا شده و توسط سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن (APC)، برداشت، پردازش و در سطح سلول به صورت پپتیدهایی همراه با MHC خودی عرضه می‌شوند. سلول‌های+CD4 T گیرنده می‌توانند به طور غیرمستقیم با ترشح سایتوکاین IL-2، به شناسایی مستقیم سلول‌های +CD8 T کمک کنند (۵۵).

مکانیسم‌های احتمالی دیگر برای رد بافت که منجر به حذف سلول‌های بنیادی جنینی انسانی تمایز یافته می‌شود، تولید آلوآنتی‌بادی‌ها و پاسخ ازدیاد حساسیت از نوع تاخیری (Delayed-type hypersensitivity: DTH) هستند (شکل ۴). تولید آلوآنتی‌بادی‌ها با برداشت آنتی‌ژن‌های پلی‌مورفیک بافت توسط سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن میزبان و عرضه آنها به سلول‌های T همراه با MHC خودی آغاز می شود (۵۱). حال اگر آنتی‌ژن‌های مشتق از سلول‌های بنیادی جنینی انسانی به سلول‌های T و B میزبان متصل شود، آنتی‌بادی‌های ترشح شده به آلوآنتی‌ژن‌های سطح بافت متصل شده، منجر به تخریب آن‌ها توسط کمپلمان می‌شود (۵۶). در حالت دیگر سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن میزبان نزدیک محل پیوند، آنتی‌ژن‌های

بافت را پردازش و به سلول‌های T کمکی نوع ۱ عرضه می‌کنند که این عمل موجب ترشح گروهی از سایتوکاین‌ها توسط سلول‌های Th1 می‌شود که فاگوسیت‌ها و پلاسما سل‌ها را به محل پیوند می‌کشاند و این عمل منجر به تخریب بافت می‌شود (۵۷). بنابراین، ممکن است پیوند مشتقات سلول‌های بنیادی جنینی انسانی در اثر پاسخ ازدیاد حساسیت از نوع تاخیری صدمه ببینند. با این وجود، یک زیر گروه خاص از لنفوسیت‌ها به نام سلول‌های T تنظیم کننده (Treg)، می‌توانند پاسخ ایمنی به آلوآنتی‌ژن‌های بافت را تنظیم کند. اگر چه استفاده از این سلول‌ها برای القای تحمل به بافت در مدل‌های حیوانی و انسان امیدوار کننده به نظر می رسد (۵۸) اما امکان کاربرد این سلول‌های T تنظیمی همراه با مشتقات سلول‌های بنیادی جنینی انسانی قابل پیوند نامعلوم است.

از آن جا که بیان MHC-I اثر مهاری روی سلول‌های NK دارد، پس، بیان کم این مولکول‌ها روی سلول‌های بنیادی جنینی انسانی ممکن است بر رد آن‌ها توسط سلول‌های NK تاثیر بگذارد (۴۸، ۴۹). اما دراکر و همکاران دریافتند که صرف نظر از وضعیت تمایز سلول‌ها و میزان بیان MHC در محیط آزمایشگاه، سلول‌های بنیادی جنینی انسانی توسط سلول‌های NK کشته نمی‌شوند (۴۹).

برای اطمینان از اینکه سلول‌های NK توسط سیگنال‌های مهاری بیان شده روی سلول‌های بنیادی جنینی انسانی سرکوب می‌شوند، بیان مولکول‌های MHC-I غیر کلاسیک، HLA-G، در سطح این سلول‌ها بررسی شد (۴۹) HLA-G تقریبا فقط روی سلول‌های تروفوبلاست (Cytotrofeblast) در حد فاصل مادر–جنین (fetomaternal) جفت بیان می‌شود و جنین را از سلول‌های کشنده طبیعی مادری محافظت می‌کند (۵۹). محققان دریافتند که قبل و بعد از تمایز و همچنین بعد از تحریک با اینترفرون، سلول‌های بنیادی جنینی انسانی HLA-G را بیان نمی‌کنند (۴۹).

کاهش رد مشتقات سلول‌های بنیادی جنینی انسانی

بررسی مولکول‌های دخیل در ایمنی زایی مشتقات سلول‌های بنیادی جنینی انسانی مشخص کرد که ممکن است این سلول‌ها توسط سلول‌های T آلوراکتیو به عنوان بیگانه شناسایی و در نهایت موجب رد پیوند شوند. با این وجود، این سلول‌ها احتمالا مولکول‌های MHC کلاس دو و کمک تحریکی را بیان نمی‌کنند، در نتیجه قابلیت کمتری برای فعال کردن پاسخ ایمنی خواهند داشت. صرف نظر از شدت پاسخ ایمنی علیه مشتقات سلول‌های بنیادی جنینی انسانی، چند راه حل برای کاهش ایمنی‌زایی آنها (شکل ۵) وجود دارد.

۱. پیوند مشتقات سلول‌های بنیادی جنینی انسانی به مناطق محافظت شده از نظر ایمنی

۲. ایجاد بانک رده‌های سلول‌های بنیادی جنینی انسانی با MHC متفاوت

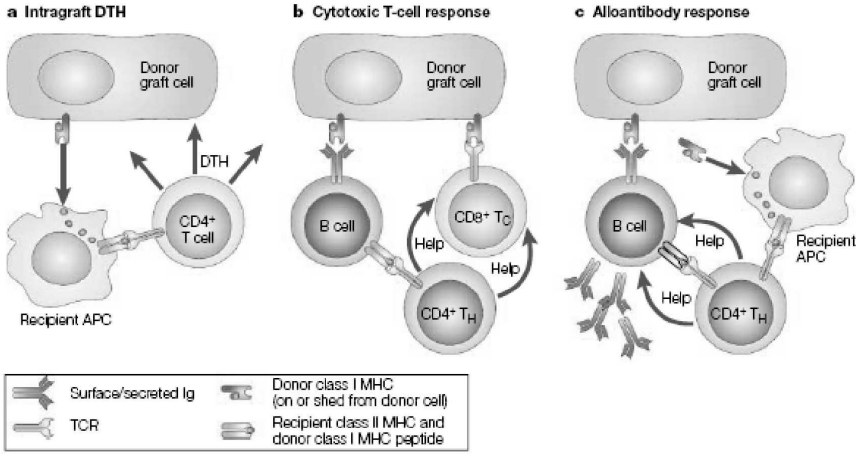
۳. تولید رده‌های سلول‌های بنیادی جنینی انسانی یکسان(isogenic) با انتقال هسته

۴. القای تحمل ایمنی

۵. تولید سلول فراگیر (حذف لوکوس‌های ژن MHC کلاس I و II)

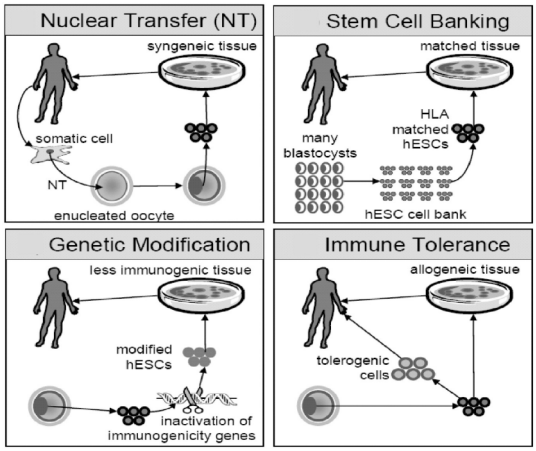
۶. استفاده از روش‌های استاندارد به کارگیری مواد سرکوب‌گر ایمنی

۷. ساخت پوشش با مواد خنثی از نظر ایمنی برای سلول‌های بنیادی جنینی انسانی پیوندی



شکل ۴: مکانیسم‌های موثر در رد آلوگرافت‌های مشتق از سلول‌های بنیادی جنینی انسانی عاری از سلول‌های دندریتیک. مسیرهای سه مکانیسم موثر اصلی دخیل در رد آلوگرافت نشان داده شده است (a). ازدیاد حساسیت نوع تاخیری(DTH) . سلول‌های +CD4 T گیرنده احتمالا آلوآنتی ژن‌های جدا شده از سطح سلول‌ها را که توسط سلول‌های عرضه کننده آنتی ژن گیرنده در پیوند، پردازش و بیان شده‌اند را شناسایی می‌کند. سلول های+CD4 T فعال شده ممکن است با ترشح سایتوکاین‌های پیش التهابی و یا جمع‌آوری و فعال کردن ماکروفاژها و دیگر سلول‌های موثر غیر اختصاصی موجب تخریب بافت شوند. (b) سلول‌های T سیتوتوکسیک. اگرچه سلول‌های T +CD4 آلوراکتیو، قادر نیستند آنتی‌ژن‌های دست نخورده روی سلول‌های هدف را شناسایی کنند، اما احتمالا در ایجاد سلول‌های +CD8 سیتوتوکسیک ضدمولکول‌های HLA-I دست نخورده روی سطح سلول‌های دهنده پیوند دخالت می‌کنند. همکاری موثر بین سلول‌های T کمکی (Th) و سیتوتوکسیک (Tc) که ویژگی‌های آنتی‌ژنی متفاوت دارند، پدیده‌ای است که به خوبی در آزمایشگاه توصیف شده و احتمالا به نظر می‌رسد در داخل بدن نیز اتفاق می‌افتد، این مکانیسم، راهی برای واکنش متقابل و افزایش مسیرهای شناسایی مستقیم و غیرمستقیم را فراهم می کند. (c) آلوآنتی بادی. سلول‌های +TCD4 که با شناسایی غیرمستقیم تحریک شده‌اند، برای تولید آلوآنتی‌بادی‌ها به سلول B کمک می‌کند. آلوآنتی‌بادی‌ها ممکن است با مکانیسم‌های مختلف مثل تخریب وابسته به کمپلمان باعث تخریب بافت شوند. برگرفته از منبع (۴۷).

DTH, delayed-type hypersensitivity; hES, human embryonic stem cell; Ig, immunoglobulin; Tc, T cytotoxic; Th, T helper



شکل ۵: برخی از راه‌های کاهش ایمنی‌زایی مشتقات سلول‌های بنیادی جنینی انسانی (۶۰)

۱. پیوند به مناطق محافظت شده از نظر ایمنی

سرعت رد آلوگرافت نه تنها به سازگاری MHC بلکه به محل پیوند هم بستگی دارد. در موجودات مختلف، پاسخ ایمنی نسبت به پیوندهایی که در قسمت جلوی چشم، مغز یا بیضه انجام شده‌اند، به طور قابل توجهی کم بوده است (۶۱). از این رو، این مناطق را مکان‌های محافظت شده ایمنی نامیده‌اند. حداقل ۳ مکانیسم در محافظت ایمنی این مکان‌ها دخالت دارند (۱) این مکان‌ها زهکشی لنفاتیک غیرمعمول دارند و از بقیه بدن با موانع فیزیکی ویژه‌ای، از قبیل سد خونی- مغزی جدا می‌شوند؛ (۲) مناطق محافظت شده، سیتوکاین‌های سرکوب‌گر ایمنی نظیر (Transforming growth factor) TGF-α تولید می‌کنند. (۳) در این مناطق Fas ligand (FasL, CD95L) بیان می‌شود که باعث القای آپوپتوز در لنفوسیت‌های حامل Fas (CD95) می‌شود (۶۲).

حال باید دید که آیا این مناطق برای کاهش رد بافت‌های به دست آمده از سلول‌های بنیادی جنینی انسانی ناسازگار از نظر MHC قابل استفاده است؟ در پاسخ باید گفت با توجه به اطلاعات مرتبط با پیوند نورون‌های دوپامینرژیک مشتق از جنین با MHC ناسازگار به بیماران مبتلا به پارکینسون، به نظر می‌رسد این پیوندها برای سال‌ها پایدار می‌مانند و ممکن است علایم را، حتی بدون استفاده از مواد سرکوب‌گر ایمنی بهبود دهند (۶۳). بنابراین، منطقی است که بقای پیوند سلول‌های بنیادی جنینی انسانی تمایز یافته داخل مناطق محافظت شده بهتر باشد.

۲. ایجاد بانک رده‌های سلول‌های بنیادی جنینی انسانی با MHC متفاوت

به علت این که آلوآنتی ژن‌های MHC، هدف اولیه تخریب توسط لنفوسیت‌های T میزبان است، تلاش‌های زیادی برای سازگاری ایزوتیپ‌های HLA قبل از پیوند بافت‌ها انجام شده است. در تئوری، منطق مشابهی می‌تواند برای سازگاری ایزوتیپ‌های بیمار و رده‌های سلولی بنیادی جنینی انسانی به کار رود. بنابراین، بانک خیلی بزرگی از رده‌های سلول‌های بنیادی جنینی انسانی ایمنو تایپ شده برای سازگار کردن جمعیت لازم خواهد بود. تعداد ترکیب الل سه ژن MHC-I به تنهایی می‌تواند بیش از ۱۰ میلیون هاپلوتیپ HLA باشد که بیش از بیلیون ترکیب دیپلوئید ایجاد می کند (۶۴). اگرچه ایجاد چنین بانک بزرگی تقریبا غیرممکن است، اما با توجه به دخالت کم بعضی از الل‌ها در رد پیوند و در نظر نگرفتن آنها، امکان ایجاد بانک نسبتا متوسطی وجود دارد (۶۵). همچنین انتخاب رده‌های سلولی هموزیگوت HLA نیز اندازه بانک را کاهش می‌دهد. یک منبع رده‌های سلولی هموزیگوت HLA را می‌توان با بکرزایی (Parthenogenesis) که توضیح داده خواهد شد، به دست آورد. به علاوه، اندازه بانک می‌تواند به دلیل این که سلول‌ها وقتی به رده‌های غیرخون‌ساز تمایز می‌یابند، MHC-II را بیان نمی‌کنند بیشتر کاهش یابد (۴۹).

۳. تولید رده‌های سلول‌های بنیادی جنینی انسانی همسان (isogenic) با انتقال هسته

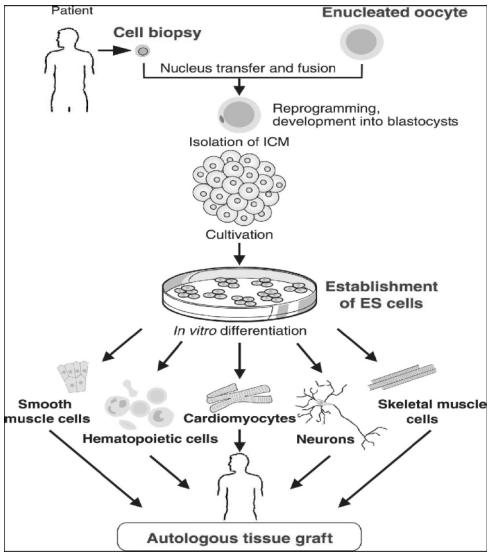
احتمالا تولید رده‌های اختصاصی سلول‌های بنیادی جنینی انسانی همسان برای هر بیمار، مشکل رد پیوند را حل خواهد کرد. این امر با انتقال هسته سوماتیک (Nuclear transfer: NT) به اووسیت بدون هسته انجام می‌شود و رده سلول‌های بنیادی جنینی انسانی بعد از مرحله بلاستوسیت به دست می‌آید (شکل ۶). در این روش رده‌های سلولی که از نظر ژنتیکی با سلول دهنده هسته (به استثناء DNA میتوکندری که متعلق به اووسیت است) یکسان است، تولید می‌شود. تا به حال، جداسازی رده‌های سلول‌های بنیادی جنینی از جنین NT در موش (۶۶-۶۸) و گاو (Cattle) (۶۹) موفق بوده است. اگر چه تلاش‌های مشابه با اووسیت انسان موفق نبوده است.

شاید بتوان رده‌های سلولی همسان را با انتقال هسته به اووسیت‌های بدون هسته یا تلفیق سلول سوماتیک (علی‌رغم مشکلات تکنیکی زیاد) به دست آورد اما این احتمال وجود دارد که اختلافات آنتی‌ژنی‌های سازگاری نسجی فرعی بین دهنده هسته و اووسیت موجب رد پیوند شوند، این اختلافات ناشی از آنتی‌ژن‌های مشتق از میتوکندری اووسیت است. اخیرا لانزا و همکاران (۷۰) نشان دادند که این تفاوت‌ها در گاو (Cattle) منجر به رد پیوند نمی‌شود. پس، احتمال دارد که این نتایج در انسان هم مشاهده شود و حتی اگر رد پیوند علیه آنتی‌ژن‌های میتوکندریایی آغاز شود، احتمالا شدت کمتری نسبت به رد در پاسخ به ناسازگاری آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی اصلی خواهد داشت.

علاوه بر انتقال هسته سوماتیک می‌توان از بکرزایی نیز برای تولید رده‌های همسان سلول‌های بنیادی جنینی انسانی استفاده کرد. بکرزایی، فرآیندی است که در آن اووسیت نابارور، فعال شده و شروع به تقسیم می کند. اخیرا، جداسازی سلول‌های بنیادی پرتوان حاصل از بکرزایی اووسیت اولیه نوعی پریمات (Macaca Fascicularis) امیدهایی را در به‌کارگیری این روش برای اووسیت‌های انسانی به همراه داشته است. از نظر ایمنی شناختی، این سلول‌ها می‌توانند بسیار مفید باشند زیرا کاملا با اووسیت دهنده سازگار هستند. در نتیجه سلول‌های بنیادی پرتوان

حاصل از بکرزایی در بیماران مونث، می‌توانند بدون خطر رد، پیوند زده شوند. به علاوه، به دلیل آن که اکثر لوکوس‌ها هموزیگوت هستند (بسته به میزان کراس آور)، این سلول‌ها می‌توانند دهنده‌های خوبی برای بانک‌های HLA به حساب آیند. به دلیل سازگاری بیشتر با بیماران رده‌های سلولی حاصل از بکرزایی ممکن است برای درمان اعضای خانواده نیز مفید باشند. زیرا ژن‌های HLA در ناحیه خاصی روی کروموزوم ۶ قرار دارد. بنابراین اگر طی میوز، نوترکیبی داخل ناحیه HLA اتفاق نیفتد، نیمی از رده‌های سلولی مشتق از بیمار به لحاظ HLA با خواهر یا برادرش سازگار خواهند بود که همچنان ۵۰درصد اختلاف در لوکوس MHC باقی می‌ماند.

پس دو راه نهایی برای مقابله با رد سلول‌های بنیادی جنینی انسانی تمایز یافته، تولید رده‌های سلولی یکسان با روش انتقال هسته سوماتیک یا فعال کردن اووسیت‌ها و القای فرآیند بکرزایی است. با این وجود، تکنولوژی انتقال هسته، به خصوص در پریمایت‌ها (۷۲) بازده کمی دارد (۷۳) و از نقطه نظر اخلاقی نیز جنجال برانگیز است. در مقایسه، فعال کردن بکرزایی زیرا تکوین طبیعی جنین‌ها و بارداری کمتر مشکل ساز است صورت می‌گیرد (۷۱). اما وضعیت تمایز سلول‌های بنیادی جنینی انسانی حاصل از بکرزایی نیز نا مشخص است.



شکل ۶: جایگزینی ژنوم (انتقال هسته سلول سوماتیک) به عنوان راهی برای سازگاری بافت‌های مشتق از سلول‌های بنیادی با گیرنده پیوند. در نتیجه جایگزینی ژنوم یک اووسیت با ژنوم سلول سوماتیک، سلولی به وجود می‌آید که با دهنده ژنوم سلول سوماتیک تقریبا به طور کامل سازگار خواهد بود. برای این منظور، با استفاده از میکروپیپت، هسته اووسیت برداشته و هسته سلول سوماتیک از دهنده مورد نظر جایگزین آن می‌شود. سیتوپلاسم اووسیت، نقش حمایتی از ژنوم دهنده برای تکوین جنین دارد. فرآیند آن که به نام برنامه‌ریزی مجدد شناخته شده است، دقیقا معلوم نیست. جنین به وجود آمده بدین روش تا مرحله بلاستوسیت که سلول‌های جنینی از آن به دست می‌آیند، کشت داده می‌شوند. این سلول‌ها متعاقبا به سلول‌های مورد نظر تمایز می‌یابد و به صورت بافت اتوگرافت برای پیوند به کار می‌رود. البته باید یادآور شد که به خاطر آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی فرعی که توسط DNA میتوکندری اووسیت کد می‌شوند، پیوند بافت‌های حاصله از سلول‌های بنیادی NT کاملا با گیرنده پیوند یکسان نیستند (۷۴).

۴. القای تحمل با ایجاد کایمریسم خون ساز

گاهی ممکن است به سازگاری ایزوتیپ‌های MHC نیازی نباشد یک مثال حضور چند رده اختصاصی خون ساز فرد دهنده پیوند در بدن گیرنده است که اصطلاحا کایمریسم مخلوط خون ساز نامیده می شود (۷۵). این فرآیند با تزریق سلول‌های مغز استخوان فرد دهنده پیوند به بیمار انجام می‌شود و منجربه حضور هم‌زمان سلول‌های خون‌ساز دهنده و گیرنده در بدن میزبان می‌شود. بنابراین، سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن تیموس فرد دهنده پیوند در انتخاب منفی سلول‌های T شناساگر خودی دخالت می‌کنند و خطر رد پیوند کاهش می‌یابد (شکل ۷).

این روش می‌تواند با کاربرد بالینی مشتقات سلول‌های بنیادی جنینی انسانی ارتباط خاصی داشته باشد. زیرا از آن جا که امکان تولید سلول‌های خون ساز (۳۸، ۳۹) و دیگر انواع سلول‌ها از سلول‌های بنیادی جنینی انسانی وجود دارد با پیوند سلولی انواع سلول‌های تمایز یافته ممکن است القای تحمل نیز به صورت هم‌زمان صورت گیرد. به علاوه، پیش‌سازهای خونساز مشتق از سلول‌های بنیادی جنینی نباید حاوی سلول‌های T بالغ باشند زیرا باعث القای GVHD می‌شوند (۷۶). اما با توجه به کاربرد وسیع روش حذف خونسازی (myeloablation) با استفاده از پرتوتابی یا داروهای سیتوتوکسیک (۷۶) القای کایمریسم خونساز در بیماران تحت درمان با این روش‌ها بسیار مناسب خواهد بود.

اخیرا فاندریخ و همکاران در مطالعه‌ای نشان داده‌اند که سلول‌های بنیادی جنینی حاصل از جنین‌های پیش از لانه گزینی نیز مانند سلول‌های مغز استخوان، قدرت القای تحمل نسبت به عضو پیوندی را دارا هستند (۷۷). این محققان نشان داده‌اند که تزریق سلول‌های تمایز نیافته رده شبه سلول بنیادی جنینی رت به سیاهرگ باب رت‌های کاملا ناسازگار از نظر MHC، بدون آماده سازی (Conditioning) قبلی، می‌تواند باعث القای کایمریسم خونساز پایا گردد. نکته جالب توجه در این مطالعه آن بوده است که سلول‌ها به منوسیت و سلول‌های B تمایز یافته بودند و پیوند قلب از همان نژاد رت دهنده و نه از نژادهای متفاوت دیگر، پذیرفته می‌شد. اما نظر برخی محققان این است که سلول‌ها بلافاصله بعد از تزریق رد نمی‌شوند. زیرا آنها MHC-II و مولکول‌های کمک تحریکی بیان نمی‌کنند. در نتیجه سلول‌های T علیه آنها فعال نمی‌شوند و سلول‌ها ممکن است به دلیل عدم بیان FasL در مقابل لنفوسیت‌های میزبان حفاظت شوند.

حال این سوال مطرح می‌شود که آیا می‌توان سلول‌های بنیادی جنینی انسانی را با روش مشابه برای ایجاد تحمل به کار برد؟ به نظر می‌رسد که تزریق سلول‌های بنیادی جنینی انسانی تمایز نیافته خطرناک باشد زیرا احتمال تشکیل تراتوم متعاقب تزریق آن وجود دارد. بنابراین، قابلیت سلول‌های بنیادی جنینی انسانی در این ارتباط اثبات نشده است.

۵. تولید رده سلولی فراگیر

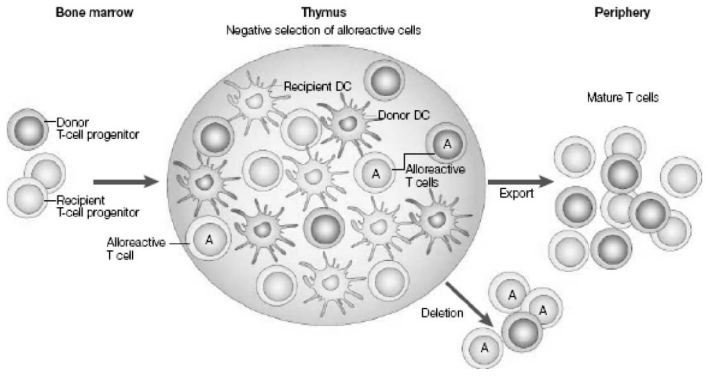
تولید رده سلولی دهنده فراگیر که برای همه افراد قابل پیوند باشد، یکی از اهداف اولیه طب ترمیمی است. یک راه برای ایجاد این سلول‌ها، کاهش بیان مولکول‌های MHC است. به عنوان مثال با از کار انداختن

ژن β_2 میکروگلوبولین که برای بیان MHC-I لازم است، می‌توان این کار را انجام داد (۷۸). با توجه به این که سلول‌های بنیادی جنینی انسانی تنها در صورتی که به سلول‌های خون‌ساز تمایز یابند،MHC-II را بیان می‌کنند، این نوع رده‌های سلولی تقریبا فاقد بیان MHC خواهند بود و در نتیجه ایمنی‌زایی کمتری برای سلول‌های T آلوراکتیو خواهند داشت. با این وجود، رد آلوگرافت در موش‌هایی که ژن‌های MHC-II و MHC-I در آن‌ها از کار افتاده نیز مشاهده شده است که احتمالا از طریق مکانسیم‌های وابسته به سلول T صورت می‌گیرد (۷۹، ۸۰). ظاهرا، بیان MHC باقی‌مانده در این موارد برای القای تکثیر سلول T آلوراکتیو کافی بوده است. به علاوه، بیان کم MHC می‌تواند باعث القای سیتوتوکسیسیتی سلول‌های NK نیز بشود (۸۱). از آنجا که سلول‌های بنیادی جنینی انسانی تمایز یافته، لیگاندهای NK را بیان نمی‌کنند (۴۹)، به نظر می‌رسد که به دنبال از کار انداختن ژن β_2 میکروگلبولین، سلول‌ها به سیتوتوکسیسیتی NK حساس نباشند. با این وجود، پاسخ سلول‌T علیه سلول‌های بنیادی جنینی انسانی تمایز یافته هنوز ناشناخته است.

راه دیگر برای تولید رده سلول‌های بنیادی جنینی انسانی فراگیر، استفاده از مکانیسم‌های طبیعی مکان‌های محافظت شده از نظر ایمنی است. یکی از مشخصات مکان‌های محافظت شده از نظر ایمنی بیان FasL است که باعث القای آپوپتوز سلول T دارای گیرنده آن (Fas)می‌شود (۸۲). نتایج مطالعات مختلف برای حفاظت بافت با استفاده از بیان FasL نابجا (ectopic)، متناقض بوده است. به عنوان مثال، بیان FasL ترانس ژنیک در پیوند بافت‌های پانکراس و قلب منجر به رد تسهیل شده یا تخریب بافتی شده است که احتمالا به دلیل بیان Fas در این پیوندها بوده است. اما بیان FasL در کبد، کلیه، ریه، عروق خونی و تیرویید با کاهش پاسخ ایمنی نسبت به اعضا پیوندی همراه بوده است (۶۲). بنابراین بیان FasL ممکن است برای جلوگیری از رد سلول‌های بنیادی جنینی انسانی تمایز یافته موثر باشد. اما باید این نکته را در نظر داشت که پیوند سلول‌های بیان کننده Fas به ناحیه‌ای که FasL دارند، برای سلول‌ها مخرب است و بالعکس، پیوند سلول‌های بیان کننده‌FasL نیز در بافت‌هایی که Fas را بیان می‌کنند، می‌تواند مشکل‌ساز شود.

۶. درمان با عوامل سرکوب‌گر ایمنی

اگرچه می‌توان در بسیاری از موارد ناسازگاری HLA را کاهش داد اما تولید بافت‌های مشتق از سلول‌های بنیادی جنینی انسانی که از نظر HLA با گیرنده پیوند کاملا یکسان باشند، ساده نیست. حال باید دید که آیا ناسازگاری HLA مانع ایمونولوژیکی مهمی برای استفاده از بافت‌های مشتق از سلول‌های بنیادی است؟ با توجه به موفقیت‌هایی که در زمینه پیوند بافت و اعضا با استفاده از عوامل سرکوب‌گر ایمنی به دست آمده جواب منفی است. به هر حال، تعداد عوامل سرکوب‌گر ایمنی نیز رو به افزایش است (۸۳) (جدول۲). عوامل جدیدی در حال تولید هستند که به احتمال زیاد ، تعدادی از آنها تا زمانی که بافت‌های مشتق از سلول‌های بنیادی جنینی انسانی به طور گسترده برای پیوند در دسترس قرار گیرند، کاربرد بالینی معمول پیدا خواهند کرد. با توجه به استفاده از داروهای سرکوب‌گر ایمنی موثر توسط متخصصان پیوند، موفقیت پیوند اعضا در دو دهه گذشته افزایش یافته است. مراکز پیوند، میزان بقای یک‌ساله بافت‌های توپر را ۸۵درصد، و بقای ۵ ساله پیوند را بیش از ۷۰درصد گزارش کردند. پدیده رد حاد، علت اصلی از دست دادن بافت است، در حالی که رد حاد غیر قابل برگشت تقریبا رایج نیست. اکنون چالش بر سر بدست آوردن سطحی موثر از سرکوب ایمنی است که با حداقل عوارض جانبی از رد جلوگیری کند. همه عوامل سرکوب ایمنی در دسترس، موجب تضعیف غیراختصاصی پاسخ ایمنی گیرنده می‌شود که خطر عفونت‌های فرصت طلب (۸۴) و انواع خاصی از بدخیمی‌ها، به خصوص اختلال لنفوپرولیفراتی و بعد از پیوند و کارسینومای سلول فلس‌دار پوست (squamous-cell carcinoma of skin) (۸۵) را افزایش می‌دهند. اکثر عواملی که در حال حاضر مورد استفاده قرار می‌گیرند، عوارض جانبی دارند. به عنوان مثال، بلوکرهای کلسی نورین، موجب افزایش فشار خون، دیابت، صدمه به کلیه و اختلال در سطح لیپیدهای خون می‌شوند (۸۶) .



شکل ۷: کایمریسم خون‌ساز مختلط. بعد از ایجاد کایمریسم خون‌ساز مختلط، سلول‌های عرضه‌کننده آنتی‌ژن دهنده و گیرنده، هر دو، در تیموس فرد گیرنده وجود خواهند داشت. آنها همراه با سلول‌های مشتق از مغز استخوان، در انتخاب تیموسیت‌های در حال تکوین (سلول‌های T نابالغ) شرکت می‌کنند. سلول‌های پیش‌ساز T از مغز استخوان وارد تیموس می‌شوند. طی بلوغ در تیموس، تیموسیت‌های مشتق از دهنده و گیرنده با آنتی‌ژن‌های دهنده و گیرنده بر سطح سلول‌های دندریتیک تیموسی مواجه می‌شوند. تیموسیت‌هایی که واکنش قوی دارند، در روند انتخاب منفی حذف می‌شوند. در نتیجه، سلول‌های T آلوراکتیو که با آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی دهنده یا گیرنده واکنش می‌دهند، از تیموس خارج نمی‌شوند، در غیر این صورت، موجب رد پیوند یاGVHD می‌شوند. احتمالا مکانیسم‌های تنظیمی یا حذفی در خارج از تیموس، سلول‌های T دارای صلاحیت ایمنی واکنش‌گر با دهنده را که از حذف داخل تیموس فرار کرده‌اند، کنترل می‌کنند. اگرچه کایمریسم برای القای تحمل پیوند ضروری است، تداوم کایمریسم بعد از پیوند نباید کاملا ضروری باشد و حضور بافت آلوگرافت به تنهایی برای حفظ تحمل کافی است.

با این وجود، درمان با عوامل سرکوب‌گر ایمنی علی‌رغم تمام معایب، سالانه موجب بقای پیوند عضو در ده‌ها هزار بیمار شده و طول و کیفیت زندگیشان را افزایش می‌دهد.

جدول ۲: عوامل سرکوب‌گر ایمنی و نحوه عملکرد آنها

Pharmacological agents
- Azathioprine (anti-proliferative)
- Mycophenolate mofetil (anti-proliferative)
- Corticosteroids (anti-inflammatory)
- Tacrolimus (calcineurin blockade)
- Cycolsporin (calcineurin blockade)
- Sirolimus (prevention of T-cell proliferation)

Biological agents
- Anti-lymphocyte globulin/serum (lymphocyte depletion and blockade)
- Anti-CD3 monoclonal antibody (T-cell depletion and blockade)
- Anti-CD25 monoclonal antibody (blockade of activated T cells)
- Anti-CD52 monoclonal antibody (lymphocyte depletion)

Emerging agents
- Leflunomide derivatives (anti-proliferative)
- FTY720 (interferes with lymphocyte homing)
- Monoclonal antibodies specific for lymphocyte cell-surface molecules-for example, αβTCR, CD4 and CD2 (lymphocyte depletion and blockade)
- Monoclonal antibodies specific for adhesion molecules-for example, intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and leukocyte function-associated antigen-1 (LFA-1) (blockade of cell-cell interactions)
- Monoclonal antibodies and fusion proteins specific for co-stimulatory molecules-for example, CD80/86-CD28 and CD40-CD154 (blockade of T-cell co-stimulation)

تمام عوامل ذکر شده در این جدول به طور غیراختصاصی سیستم ایمنی را سرکوب می‌کنند. بنابراین، احتمال خطر عفونت‌های فرصت طلب و بدخیمی‌ها در گیرنده افزایش می‌یابد. رژیم‌های موثر سرکوب ایمنی بر اساس استفاده ترکیبی از این عوامل تنظیم می‌شود، تا بتوان با کمترین عوارض جانبی به سرکوب مناسب سیستم ایمنی رسید. بلوکرهای کلسی‌نورین (سیکلوسپرین یا تاکرولیموس) در اکثر رژیم‌ها استفاده می‌شوند. بیشترین سرکوب ایمنی در مرحله اول بعد از پیوند مورد نیاز است و می‌توان به تدریج مقدار آنها را کاهش داد اما نمی‌توان به دلیل خطر از دست دادن پیوند، استفاده از آنها را کاملا متوقف کرد.

۷. ساخت پوشش با مواد خنثی از نظر ایمنی برای سلول‌های بنیادی جنینی انسانی پیوندی

با قرار دادن سلول‌های بنیادی جنینی انسانی درون پوشش‌هایی از جنس مواد خنثی می‌توان از دسترسی سیستم ایمنی به آن جلوگیری کرد. البته با وجود تحقیقاتی که در سال‌های اخیر در این زمینه انجام شده است، همچنان مشکل فیبروز شدن این پوشش‌ها در طولانی مدت حل نشده است (۸۷، ۸۸). در مطالعه‌ای که اخیرا در حال انجام است، از پوشش پلی‌اتیلن گلیکول (Polyethylene glycol: PEG) برای پیوند جزایر انسانی به بیماران دیابتی استفاده شده است (Novocell; http://www.clinicaltrials.gov/ct/show/NCT00260234).

در کل می‌توان گفت که در مقایسه با روش قدیمی پیوند بافت که به بافت‌های موجود وابسته است، سلول‌های بنیادی جنینی انسانی، منبع نامحدودی برای طب ترمیمی به شمار می‌آیند. اما برای استفاده از این قابلیت، بررسی پاسخ‌های ایمنی علیه این سلول‌ها بعد از پیوند به بیماران ناسازگار ضروری است.

مهمترین مولکول‌های فعال‌کننده پدیده رد پیوند مولکول‌های MHC هستند که مولکول‌های MHC-I به مقدار کم روی HESCها بیان می‌شوند و طی تمایز و القا با اینترفرون افزایش پیدا می‌کنند. بنابراین، رد مشتقات سلول‌های بنیادی جنینی انسانی به علت شناسایی آلوآنتی‌ژن‌ها توسط سیستم ایمنی ممکن است تهدیدی برای کاربرد بالینی این سلول‌ها باشد. برای جلوگیری از رد پیوند باید تدابیری اندیشیده شود. به عنوان مثال، سلول‌ها به مناطق محافظت شده از نظر ایمنی، جایی که پاسخ‌های ایمنی تا حدودی محدود شده‌اند، پیوند شوند یا بانک‌های رده‌های سلول‌های بنیادی جنینی انسانی همسان شده از نظر HLA تشکیل شوند. راه دیگر، تولید رده‌های سلول همسان با روش‌های انتقال هسته سوماتیک و یا بکرزایی است که به نظر می‌رسد راه حل خوبی باشد اما قبل از اینکه به طور وسیع کاربردی شوند باید مشکلات اخلاقی و تکنیکی در این زمینه برطرف شوند. روش‌های دیگر شامل القای تحمل علیه پیوند با استفاده از پیش سازهای خونساز و دستکاری ژنتیکی برای تولید رده سلولی فراگیر و استفاده از مواد سرکوب‌گر ایمنی و غیره هستند.

ایمنی‌زایی سلول‌های بنیادی خون بندناف

برای نخستین بار در سال ۱۹۷۴ ناتزون با مشاهده سلول‌های تشکیل دهنده کلنی، خون بند ناف را منبعی از سلول‌های بنیادی خون‌ساز برای پیوند معرفی کرد (۸۹). البته در سال ۱۹۷۲ گزارشی توسط اندی مبنی بر مشاهده «تغییر» گروه خونی بعد از تزریق خون بندناف منتشر شده بود. گیرنده خون، مرد جوان تحت درمان به علت لوکمی بود که بعد از تزریق خون بند ناف، به طور گذرا، گروه خونی یکی از دهندگان خون بند ناف را نشان داده بود (۹۰).

از آن جا که گزارش سال ۱۹۷۲ در یک ماهنامه غیر تخصصی پزشکی منتشر شده بود، نادیده گرفته شد. اما بعد از انتشار کار ناتزون، تعداد اندکی از محققان شروع به فعالیت در این زمینه کردند (۹۱، ۹۲، ۹۳)، تا این که اولین پیوند موفق خون بند ناف در سال ۱۹۸۹ در فرانسه به یک بیمار دچار کم خونی فانکونی انجام شد (۹۴). امروزه جداسازی، تکثیر و نگهداری سلول‌های بنیادی خون بند ناف با توجه به مزایای آن در پیوند آلوژنیک سلول‌های بنیادی (جدول۳) (۹۵)، بیشتر مورد توجه قرار گرفته است.

جدول ۳: مزایا و معایب پیوند خون بند ناف به عنوان منبعی برای پیوند آلوژنیک سلول‌های بنیادی (۹۵)

مزایا	معایب
تهیه آسان و ایمن	ذخیره کم
دسترسی سریع	هزینه بالا برای تکوین
کاهش انتقال عوامل ویروسی	تعداد محدود سلول
غنی از سلول‌های پیش ساز خون (HPC)	انتقال عوامل عفونی/ژنتیکی
عدم بلوغ سیستم ایمنی	تاخیر در بهبود خون‌ساز
کاهش GVHD حادشدید	طولانی شدن تجدید ایمنی
کاهش GVHD مزمن	فقدان سلول در دسترس برای ایمونوتراپی سلولی اکتسابی (ACI)

ACI, adoptive cellular immunotherapy; GVHD, graft-versus host disease; HPC, hematopoietic progenitor cells

ساز گاری HLA

از مزایای پیوند خون بند ناف، عدم ضرورت سازگاری کامل آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی اصلی (Human leukocuyte antigen: HLA) و همچنین کاهش وقوع (Graft-versus-host-disease: GVHD) است که به دلیل ایمنی‌زایی کمتر سلول‌های خون بند ناف در مقایسه با سلول‌های خون مغز استخوان است (۹۵).

ضرورت سازگاری کامل HLA برای پیوند خون بند ناف در مقایسه با سلول‌های بنیادی مغز استخوان کمتر است (۹۶–۹۸). سازگاری ۴ الل از ۶ الل (HLA-A, -B, DRB1) برای پیوند خون بند ناف قابل قبول است. در حالی که در پیوند مغز استخوان از یک فرد غیروابسته، ناسازگاری یک الل به روش سرولوژیکی یا چندین الل به روش مولکولی با دقت بالا به عنوان عوامل خطر در نظر گرفته می‌شوند (۹۹). علت عدم نیاز به سازگاری کامل HLA در پیوند خون بند ناف، به علت تحمل ایمنی است که در این منبع سلولی وجود دارد. تحمل ایمنی مشاهده شده ممکن است به دلیل عدم بلوغ سیستم ایمنی و تفاوت‌هایی باشد که از نظر فنوتیپ، عملکرد و مقدار (جدول ۴) با سلول‌های خون محیطی دارند (۱۰۰). از تفاوت‌های مهم سیستم ایمنی خون بندناف با خون محیطی بزرگسالان می‌توان به موارد ذیل اشاره کرد:

۱. تفاوت بارزی در مقدار سایتوکاین‌ها در منابع سلولی بند ناف و خون محیطی وجود دارد.

جدول ۴: ایمنی خون بند ناف در مقایسه با خون محیطی

TNF-α, IFN-γ	Decreased
G-CSF, GM-CSF, M-CSF	Decreased
IL-4, IL-8, IL-12, IL-15, IL-18	Decreased
IL-1, SCF, thrombopoietin	Increasec
T-cell numbers ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$)	Decreased
CD45RA+Tcells	Increased
CD45RO+Tcells	Decreased
Primary T-cell proliferation	Normal
Secndary T-cell alloatigen proliferation	Decreased
Alloavtigen cytotoxicity	Decreased
B cell number	Normal
B cell function	Immature phenotype
NK cell number	Normal
NK cell activity	Decreased
DC immunophenotype	Normal
DC cell function	Decreased

CD45RA نشان‌گری است که بر روی سلول‌های T در حال استراحت بیان می‌شود. در حالی که سلول‌های T خاطره‌ای، نشان‌گر CD45RO را بیان می‌کند.

DC, dendritic cell; G-CSF, granulocyte colony stimulating factor, GM-CSF, granulocyte macrophage-colony-stimulating factor; IL, interleukin; M-CSF, macrophage stimulating factor; NK, natural killer Cell

در مطالعاتی که کایرو و همکاران و دیگران انجام دادند، بیانmRNA و تولید پروتیین G-CSF (Granulocyte colony stimulating factor)، اینترلوکین-۳ (Interleukin-3: IL-3)، (Macrophage colony MQ-CSF stimulating factor، TGF-α1 (Transforming Growth Factor-α1) و پروتیین مهاری ماکروفاژ ۱-a (Macrophage inhibitory protein-1a) در سلول‌های تک هسته‌ای فعال شده خون بند ناف در مقایسه با سلول‌های تک هسته‌ای بزرگسالان به وضوح کمتر بود (۱۰۶–۱۰۱). همچنین این گروه گزارش کردند که در خون بند ناف میزان بیان پروتیین و mRNA IL-12،15-IL و IL-18 در مقایسه با سلول‌های فعال شده خون محیطی بزرگسالان بسیار کمتر است (۹۵، ۱۰۷). اما بیان و تولید پروتیین IL-11، (Stem Cell Factor: SCF) و ترومبوپوییتین به طور مشخصی در خون بند ناف در مقایسه با فیبرو بلاست‌ها و سلول‌های اندوتلیال بیشتر است (۱۰۵، ۱۰۸).

۲. سلول‌های خون بند ناف در پاسخ به محرک‌های میتوژنی پاسخ‌های سیتوتوکسیک طبیعی وابسته به سلول‌های T کمکی نوع ۱ (T-helper Type1: Th1) ضعیف‌تری ایجاد می‌کنند.

سایتوکاین‌های مترشحه از سلول‌های Th1 در ایمنی سلولی نقش دارند و پاسخ‌های سیتوتوکسیک ضعیف از نوع Th1 در سلول‌های خون بند ناف احتمالا به دلیل تولید کم IL-2 و IFN-γ (Interferon-γ)، دو لنفوکاین تنظیمی مهم ایمنی سلولی، است. اما سنتز سایتوکاین‌هایTh2، بسته به محرک آنتی‌ژنی، می‌تواند متغیر باشد (۱۰۷، ۱۰۹، ۱۱۰).

۳. فنوتیپ سلول‌های B خون بند ناف نابالغ‌تر از بزرگسالان طبیعی است.

مطالعات فنوتیپی نشان داده است که تعداد کل لنفوسیت‌های B خون بندناف با بزرگسالان قابل مقایسه هستند اما فنوتیپ نابالغ (CD5+/CD19+) دارند (۱۱۱).

۴. تعداد کمتری از سلول‌های CD4+/CD45+ در خون بند ناف وجود دارد و فعالیت کمتری دارند.

خون بندناف انسانی شامل تعداد کمتری از سلول‌های CD8+، CD4+، TCD3+ هستند و نسبت CD4+/CD8+ بالاتری نسبت به سلول‌های خون محیطی بزرگسالان دارند (۱۱۱–۱۱۵). همچنین نسبت سلول‌های T CD4+/CD45+ در خون بندناف پایین‌تر است و در مقایسه با سلول‌های خون محیطی پاسخ کمتری نسبت به محرک نشان می‌دهند (۱۱۶). کاهش در بلوغ و فعال شدن سلول‌های T همچنین منجر به کاهش ترشح IFN-γ و فعال‌سازی TNF-α می‌شود (۱۰۷، ۱۱۱).

۵. فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی خون بند ناف نسبتا کم است تعداد کلی سلول‌های کشنده طبیعی(Natural killer: NK) در خون بند ناف با سلول‌های خون محیطی قابل مقایسه است (۱۱۷). اما فعالیت سلول‌های NK خون بندناف در مقایسه با خون محیطی بزرگسالان کمتر است (۱۱۸). سلول‌های $NK\ CD56^{dim}$ خون محیطی از سلول‌هایNK

$CD56^{bright}$ علیه هدف‌های حساس به NK (سلول‌هایی که MHC بیان نمی‌کنند) فعالیت سیتوتوکسیک قوی‌تری را از خود نشان می‌دهند (۱۱۹). فعالیت سلول‌های $CD56^{dim}$ NK در خون بندناف به طور مشخصی کمتر از سلول‌های خون محیطی است. احتمالا بیان کمتر مولکول‌های چسبنده CD2، CD11a،CD16،CD57 در سلول‌های کشنده طبیعی $CD56^{dim}$ خون بند ناف در مقایسه با سلول‌های خون محیطی بزرگسالان در این مورد دخیل است (۱۱۸).

۶. اکثر سلول‌های دندریتیک خون بند ناف فنوتیپ نابالغ و لنفوییدی دارند.

سلول‌های دندریتیک (Dendritic cell: DC)، سلول‌های بیان کننده آنتی‌ژنی هستند که برای آغاز پاسخ ایمنی ضروری هستند (۱۲۰). سه نوع سلول دندریتیک توصیف شده است: ۱) DC1 (سلول دندریتیک میلوید، $CD11c^{+}$ $CD123^{high+}$)، ۲) DC2 (سلول‌های دندریتیک لنفوید، $CD11c^{-}$ $CD123^{high+}$) و ۳) iDC (سلول‌های دندریتیک کمتر تمایز یافته $CD11c^{-}$ $CD123^{dm}$) (۱۲۱). سلول‌های دندریتیک ۱ و ۲ به ترتیب در تکوین سلول‌های موثر Th1 و Th2 نقش بازی می‌کنند (۱۲۲، ۱۲۳). سلول‌های دندریتیک نقش تنظیم ایمنی مهمی در عملکرد سلول‌ها دارند. جمعیت اصلی سلول‌های دندریتیک در گردش خون بند ناف، فنوتیپ نابالغ و لنفوییدی دارد (۱۲۱، ۱۲۴، ۱۲۵). بردلی و همکاران و دیگران نشان داده‌اند که سلول‌های دندریتیک مشتق از سلول‌های تک هسته‌ای خون بندناف در نوزادان ، ظرفیت کمی برای تولید IL-12 دارند (۱۲۶). سلول‌های دندریتیک با تولید L-12 در پاسخ‌های نوع Th1 نقش مهمی دارند (۱۲۶، ۱۲۷). تولید کم IL-12 و ناتوانی سلول‌های دندریتیک خون بند ناف در فعال کردن سلول‌های +CD4 T دست نخورده برای تولید IFN-γ ممکن است موجب ناتوانی آنها در ایجاد پاسخ ایمنی Th1 شود. پاسخ‌های خون بندناف به آلوآنتی‌ژن‌ها در واکنش‌های لنفوسیت مختلط تحریک شده کمتر از آن است که با لنفوسیت‌های خون محیطی بزرگسالان دیده می‌شود (۱۲۸). با این توصیف، این خصوصیات سلول‌های دندریتیک ممکن است توضیحی برای پاسخ ایمنی ناقص نوزاد تازه متولد شده و کاهش وقوع GVHD در پیوند خون بندناف آلوژنیک باشد.

سازگاری آنتی‌ژن‌های نسجی فرعی

تفاوت بین آنتی‌ژن‌های نسجی فرعی دهنده و گیرنده، نقش مهمی در واکنش‌های GVL (Graft-versus-leukemia) و GVHD دارند (چارچوب ۱). تفاوت‌های زیاد بین آنتی‌ژن‌های نسجی فرعی بین دهنده و گیرنده موجب GVHD می‌شود. از آن جا که در دوران بارداری، سلول‌های مادری وارد بدن جنین می‌شوند، سلول‌های به اصطلاح دست نخورده بند ناف می‌توانند موجب پاسخ T سیتوتوکسیک علیه آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی فرعی مادر (به عنوان مثال، HA-1) شوند و در واکنش GVL بعد از پیوند شرکت کنند. به علاوه، از آن جا که جنین نمی‌تواند علیه آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی فرعی کد شده توسط کروموزوم Y واکنش دهد، خون بند ناف منبع خوبی از سلول‌های بنیادی برای بیماران مرد است (۱۲۹). این خصوصیات فیزیولوژیکی و ایمونولوژیکی خون بند ناف موجب کاهش وقوع GVHD و مشاهده واکنش GVL شده است.

چارچوب ۱: اصطلاحات GVHD و GVL (۷۶، ۱۳۰)

GVHD حاد(Acute GVHD: aGVHD) : به سندروم مشخصی از درماتیت، هپاتیت و التهاب روده که در عرض ۱۰۰ روز بعد از پیوند تظاهر می‌یابد، اطلاق می‌گردد. از نظر ایمونولوژی، GVHD حاد واکنش پیچیده‌ای با چندین مرحله شامل مراحل شروع (afferent)، تکثیر و عملکرد(efferent) است که در هر کدام از این مراحل، سلول‌ها و سیتوکاین‌های مختلفی نقش دارند. مرحله اول GVHD با شناسایی مستقیم آلوآنتی‌ژن‌های گیرنده توسط سلول‌های دهنده آغاز می‌شود و با فعال شدن و ازدیاد سلول‌های T و ترشح سیتوکاین‌هایی از قبیل IL-2، TNF-α و IFN-γ دنبال می‌شود. مرحله عملکردی با واسطه سلول‌های سیتوتوکسیک T و سیتوکاین‌ها اعمال می‌شود. این عوامل به طور مستقیم و غیرمستقیم از طریق فعال کردن دیگر سلول‌های موثر از جمله ماکروفاژها یا سلول‌های کشنده طبیعی موجب صدمه به بافت میزبان می‌شوند.

GVHD مزمن (Chronic GVHD: cGVHD) : سندروم پیچیده‌تری است که بعد از گذشت ۱۰۰ روز از انجام پیوند تظاهر می‌یابد. مکانیسم‌های ایمنولوژیک درگیر در GVHDمزمن به خوبی مشخص نشده‌اند. ولی به دلیل ارتباط نزدیک آن با GVHD حاد به نظر می‌رسد که سلول‌های آلوراکتیو با شناسایی از طریق مسیری غیرمستقیم در آن دخیل باشند. به هر حال، گمان می‌رود که GVHD مزمن خصوصیات ایمونولوژیکی مشابه اختلالات خود ایمنی داشته باشد چرا که تشابه زیادی با بیماری‌های خود ایمنی از قبیل سندروم Sjögrens دارد و اتوآنتی‌بادی‌های زیادی در این بیماران دیده می‌شود.

GVL: شواهد بالینی حاکی از اثر ضد لوکمی سلول‌های بنیادی پیوندی است. مشخص شده است افزایش GVHD به دلیل ناسازگاریHLA باعث می‌شود بیماری کمتر عود کند که احتمالا به دلیل پاسخGVL همراه با پاسخ GVHD است. به علاوه، استفاده از مغز استخوان عاری از سلول T به طور موفقیت‌آمیزی وقوع GVHD را کاهش می‌دهد. اما در نتیجه آن عود لوکمی افزایش می‌یابد. به نظر می‌رسد سلول‌های T بالغ موجود در نمونه مغز استخوان که مسئول GVHD هستند، در حذف سلول‌های لوکمی باقی‌مانده نیز نقش دارند اما هنوز معلوم نیست که آیا همان مکانیسم‌های موثر در پاسخ GVL در GVHD نیز نقش دارند یا نه. لازم به ذکر است اگرچه واکنش GVL در بسیاری از موارد با واکنش GVHD همراه است، اما در نبود GVHD هم مشاهده می‌شود. در حال حاضر چند راه حل برای افتراق این دو واکنش در حال بررسی است. اکثر فعالیت‌ها بر روی تشخیص آنتی‌ژن‌های تومور و آنتی‌ژن‌های اختصاصیGVHD متمرکز شده است تا بتوان سلول‌های T واکنش گر با آنتی ژن‌های میزبان را شناسایی و حذف کرد و سپس با هدف سلول درمانی، رده سلول‌های T واکنش‌گر با سلول‌های توموری را زیاد کرد.

ایمنی‌زایی سلول‌های خونساز بزرگسالان

سلول‌های خونی بالغ از پیش‌سازهای کم تمایز یافته‌تر که آ نها نیز از سلول‌های پیش‌ساز اولیه و سلول‌های بنیادی خونساز منشا می گیرند، به طور مداوم تولید می‌شوند. سلول‌های بنیادی خونساز، توانایی منحصر به فردی در تولید سلول‌های دختر با خصوصیات سلول‌های بنیادی (خود نوزایی و تمایز) دارند. در واقع آنها نه تنها تمایز می‌یابند بلکه توانایی خودنوزایی را نیز حفظ می کنند و در تمام طول عمر منبع سلول‌های خونی هستند. در حقیقت یک سلول بنیادی می‌تواند تمام انواع سلول‌های سیستم لنفوهماتوپوییتیک یک حیوان پرتو داده شده با دوز کشنده را ترمیم کند (۱۳۱).

مغز استخوان اولین منبع شناخته شده برای سلول‌های بنیادی خونساز بزرگسالان است. بعد از پی بردن به جدا شدن مداوم سلول‌های بنیادی خونساز از مغزاستخوان و ورود آنها به گردش خون و برگشت مجدد به مغزاستخوان، خون محیطی نیز به عنوان منبعی از سلول‌های بنیادی خونساز در نظر گرفته می‌شود. امروزه با استفاده از سایتوکاین (Granulocyte-colony stimulating factor) G-CSF می‌توان ورود این سلول‌ها به خون محیطی را افزایش داد (۱۳۲، ۱۳۳). برای شناسایی و جداسازی سلول‌های بنیادی خون‌ساز از آنتی‌بادی‌های منوکلونال علیه آنتی‌ژن‌های سطحی این سلول‌ها از +CD34 و یا +AC133 استفاده می‌شود (۱۳۴، ۱۳۵).

پیوند آلوگرافت خون‌ساز در اوایل دهه ۱۹۶۰ بعد از شناسایی و تعیین آنتی‌ژن‌های لکوسیت انسانی (HLA) ممکن شد. اولین پیوندها در سال ۱۹۶۸ برای دو کودک با نقص ایمنی ژنتیکی از خواهر یا برادر تنی خود با HLA مشابه انجام گرفت که نتیجه این پیوندها با توجه به رد نشدن پیوند آلوگرافت، موفقیت‌آمیز بود (۱۳۳). پیوند سلول‌های خون‌ساز ابتدا برای درمان سرطان‌های لنفوییدی و خونی به کار می‌رفته است اما امروزه در درمان خیلی از اختلالات دیگر نیز کاربرد دارد (جدول ۵) (۱۳۲).

اما از مشکلاتی که در زمینه پیوند سلول‌های خون‌ساز آلوژنیک وجود دارد، واکنش ایمنی پیوند علیه میزبان (GVHD) و نارسایی پیوند است که در پاسخ به آلوآنتی‌ژن‌ها به وجود می‌آید و به دو صورت حاد و مزمن تظاهر می‌یابد (چارچوب ۱) (۱۶) . عوامل اصلی در ایجاد واکنش GVHD را می‌توان به سه گروه تقسیم کرد: آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی اصلی (HLA) و آنتی‌ژن‌ها ی سازگاری نسجی فرعی (mHA) و سایتوکاین‌ها.

۱. آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی اصلی (HLA)

مولکول‌های HLA از شاخص‌های مهم در موفقیت‌آمیز بودن پیوند سلول‌های بنیادی خون ساز آلوژنیک هستند (۱۳۶). مولکول‌های HLA به مقدار فراوان بر روی سلول‌های بنیادی خون ساز بیان می‌شوند و سازگاری این مولکول‌ها در نتیجه پیوند نقش بسیار مهمی دارد (۱۳۶). شدیدترین واکنش ایمنی زمانی صورت می گیرد که دهنده و گیرنده از نظر HLA ناسازگار باشند. شناسایی آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی اصلی توسط سلول‌های T به دو روش مستقیم و غیرمستقیم صورت می گیرد (شکل ۳) (۵۵).

استفاده از روش‌های مولکولی برای تعیین دقیق پلی‌مورفیسم HLA، امکان تطبیق سازگاری بیشتر HLA بیماران و دهنده‌های غیر وابسته را فراهم آورده است که موجب کاهش وقوع GVHD می‌شود.

جدول ۵: بیماری‌هایی که عموما با پیوند سلول بنیادی خون‌ساز درمان می‌شوند (۱۳۲).

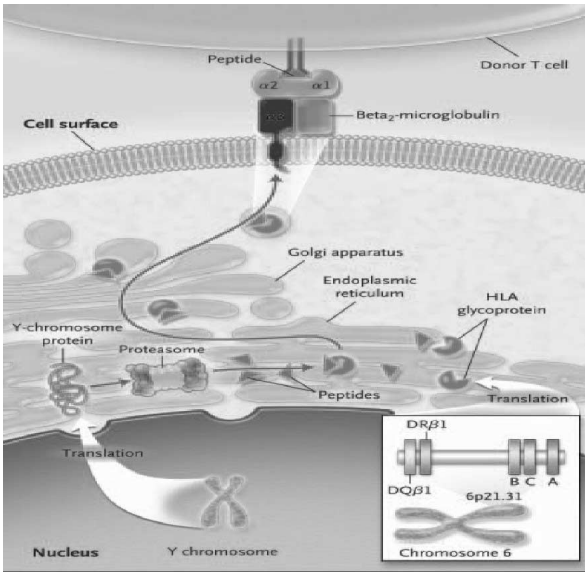
Autologous transplantation
Cancers
Multiple myeloma
Non-Hodgkin' s lymphoma
Hodgkin' s disease
Acute myeloid leukemia
Neuroblastoma
Ovarian cancer
Germ-cell tumors
Other diseases
Autoimmune disorders
Amyloidosis
Allogenic transplantation
Cancers
Acute myeloid leukemia
Acute lymphoblastic leukemia
Chronic myeloid leukemia
Myelodysplastic syndromes
Myeloproliferative disorders
Non-Hodgkin' s lymphoma
Hodgkin' s disease
Chronic lymphocytic leukemia
Multiple myeloma
Juvenile chronic myeloid leukemia
Other diseases
Aplastic anemia
Paroxymal nocturnal hemoglobinuria
Fanconi' s anemia
Blackfan-Diamond anemia
Thalassemia major
Sickle cell anemia
Sever combined immunodeficiency
Wiskott-Aldrich syndrome
Inborn errors of metabolism

۲. آنتی‌ژن ها ی سازگاری نسجی فرعی (mHA)

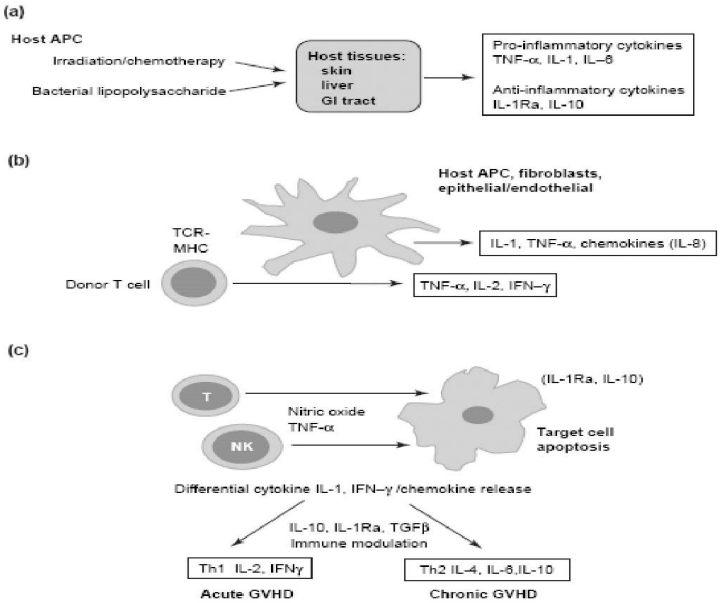
در حدود ۲۰ تا ۳۰درصد از پیوندهای سلول‌های بنیادی خونساز بین خواهر و برادرهای با HLA مشابه، علی‌رغم اطمینان از سازگاری ژن‌های کلاسیک HLA، واکنش GVHD حاد اتفاق می‌افتد. این امر احتمالا به دلیل شناسایی غیرمستقیم آلوآنتی‌ژن‌های بررسی نشده HLA ، مثل آنتی‌ژن‌های DP و یا آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی فرعی توسط سلول‌های T دهنده است. به علاوه، احتمال وقوع GVHD در بیمارانی که از دهنده غیر وابسته با HLA یکسان پیوند دریافت می کنند در

مقایسه با افرادی که از خواهر و یا برادر با HLA مشابه خود پیوند می‌گیرند، بیشتر است که این خود تاییدی بر این امر است. به عنوان مثال، در گیرندگان مرد پیوند مغز استخوان، آنتی‌ژن‌های فرعی کدشده توسط کروموزوم Y، در وقوع بیشتر GVHD و میزان کمتر عود بیماری در گروه دریافت کننده پیوند از زنان در مقایسه با گروهی که از مردان پیوند دریافت کرده‌اند، دخیل هستند.

با سازگاری آنتی‌ژن‌ها ی سازگاری نسجی فرعی همراه با سازگاری آنتی‌ژن‌های سازگاری اصلی می‌توان از وقوع GVHD جلوگیری کرد. ولی با سازگاری این آنتی‌ژن‌ها، واکنش GVL که یک پاسخ درمانی و مفید در حذف سلول‌های توموری باقی مانده در بدن است (شکل ۸) نیز کاهش می‌یابد که در صورت مشخص شدن آنتی‌ژن‌های اختصاصی موثر در واکنش‌های GVL و GVHD می‌توان از آنها بهره جست.



شکل ۸: اثر GVL آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی فرعی. پروتیین کد شده توسط ژن کروموزوم Y در گیرنده پیوند مرد، داخل پروتئوزوم شکسته می‌شود. سپس پپتید مشتق از پروتیین پلی‌مورفیک به داخل رتیکولوم اندوپلاسمیک منتقل می‌شود، در این محل به یک گلیکوپروتیین HLA بیان شده توسط یکی از ژن‌های کمپلکس HLA روی کروموزوم ۶ متصل می‌شود (لکوس‌های مهم در سازگاری نشان داده شده اند). گلیکوپروتیین HLA (اینجا، کلاس یک) و پپتید متصل به آن از طریق دستگاه گلژی به سطح سلول حرکت می‌کند. ژن کلاس یک، زنجیره پلی‌پپتید α را کد می‌کنند که شامل دامنه‌های متصل شونده به پپتید α1 و α2 و دامنه مشابه ایمونوگلبولین α3، ناحیه درون غشایی و دم سیتوپلاسمی است. β۲ میکروگلبولین توسط ژنی روی کروموزوم ۱۵ کد می‌شود (نشان داده نشده است). آنتی‌ژن‌های سازگاری نسجی فرعی بر روی سلول‌های بنیادی خون‌ساز به طور انتخابی موجب اثر GVL و نه GVHD می‌شوند. آنتی‌ژن‌های بیان شده بر روی سلول‌های هماتوپوییتیک و سلول‌های اندوتلیال هر دو واکنش را موجب می شوند (۱۳۲).



شکل ۹: طوفان سایتوکاینی (a) مرحله اول: آماده‌سازی بیمار منجر به فعال شدن بافت‌های میزبان برای تولید سایتوکاین‌های پیش و ضد التهابی می‌شوند، که تحت تاثیر ژنوتیپ افراد است. (b) مرحله دوم: فعال شدن سلول‌های T متاثر از ژنوتیپ دهنده موجب ترشح بیشتر سایتوکاین و افزایش تعدیلی مولکول‌های چسبنده وHLA کلاس دو بر بافت هدف می‌شود.(c) مرحله سوم: ژنوتیپ سایتوکاینی دهنده و گیرنده می‌توانند ترشح سایتوکاین‌ها و وخامت یا کاهش شدت GVHDرا تحت تاثیر قرار دهند (۱۵).

APC, antigen-presenting cell

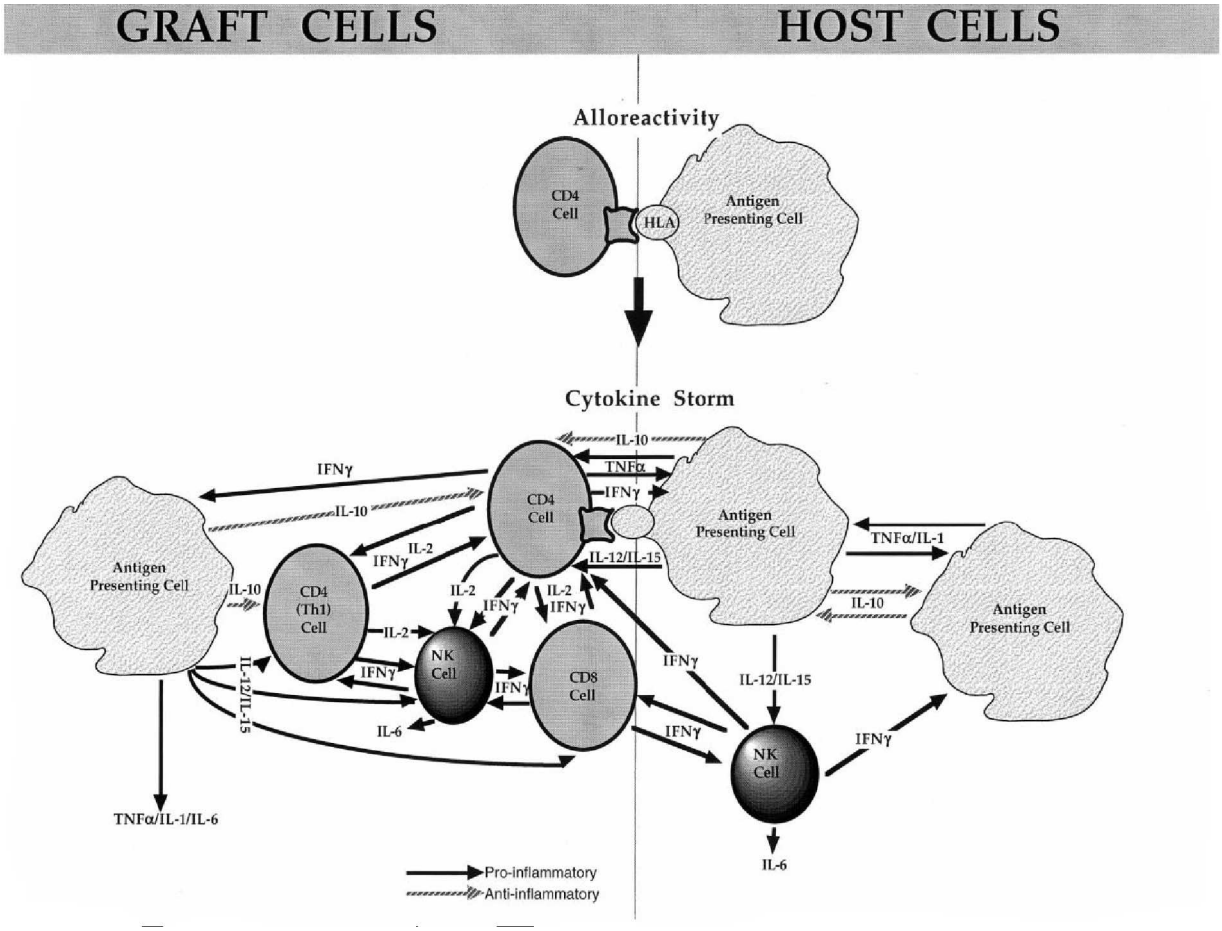
۳. سایتوکاین‌ها

سایتوکاین‌ها در آغاز و ادامه GVHD نقش مرکزی را بر عهده دارند. عقیده بر این است که به محض ورود سلول‌های T دهنده به خون میزبان ناسازگار، این سلول‌ها توسط آلوآنتی‌ژن‌ها تحریک شده و طیف گسترده‌ای از سایتوکاین‌هایی که سلول‌ها را فعال کرده و موجب تکثیر سلولی می‌شوند، تولید می‌کنند (طوفان سایتوکاینی) (شکل ۹). اعمال آماده‌سازی قبل از پیوند ممکن است این اثر را افزایش دهد، به عنوان مثال، پرتوتابی ویا عوامل شیمی درمانی ممکن است موجب صدمه به سلول میزبان شود، متعاقب آن موجب رهاسازی سایتوکاین‌های پیش‌التهابی از جمله TNF-α، IL-1 و IL-6 شود (۱۳۷، ۱۳۸). این سایتوکاین‌ها موجب می‌شوند که سلول‌های میزبان فعال و مولکول‌های HLAبیشتری را بیان کنند.

در نتیجه، شناسایی آلوآنتی ژنی سلول‌های میزبان توسط سلول‌های دهنده افزایش می‌یابد. در سلول‌های T نیز تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی از نوع Th1 از جمله IL-2 و IFN-γ به سرعت افزایش می‌یابد. سایتوکاین‌های Th1 خود موجب تکثیر بیشتر سلول‌های T دهنده پیوند و فعال‌سازی سلول‌های کشنده طبیعی و ماکروفاژها می‌شوند (۱۳۹، ۱۴۰). سلول‌های کشنده طبیعی، بعد از فعال شدن توسط IL-2 یا IFN-γ، خود مقدار زیادی IFN-γ تولید می‌کنند که آن هم بر فعال شدن ماکروفاژها اثر دارد.

تولید سایتوکاین‌ها (طوفان سایتوکاینی) که موجب فعال شدن سلول‌های T، ماکروفاژها و سلول‌های کشنده طبیعی در GVHD حاد (aGVHD) می‌شود، ممکن است در پیوند مغز استخوان آلوژنیک به حدی برسد که منجر به مرگ به دلیل شوک سپتیک شود. با این وجود، طوفان سایتوکاینی، (معمولا به طور مستقیم و غیرمستقیم) در صدمه به اعضا هدف GVHD از جمله پوست، روده و کبد دخیل است.

مطالعات اخیر نشان داده است که پلی‌مورفیسم‌های ژن‌های سایتوکاین‌های IL-1، IL-6، IL-10 ، IFN-γ و TNF-α میزبان در نتیجه پیوند مغز استخوان موثر است. این نتایج برای اولین بار مساله استعداد ژنتیکی به GVHD را مطرح می‌کنند (۱۵). در نتیجه، توانایی سلول‌های میزبان برای تولید سایتوکاین، به اندازه طوفان سایتوکاینی تولید شده توسط سلول‌های دهنده اهمیت دارد (شکل ۱۰).



شکل ۱۰: طوفان سایتوکاینی در بیماری پیوند علیه میزبان. (GVHD) آغاز و حفظ پاسخ التهابی در GVHD با شبکه‌های سایتوکاینی اتوکرین و پاراکرین مرتبط است. این شکل پیچیدگی طوفان سایتوکاینی را با نشان دادن تعدادی از واکنش‌های متقابل سایتوکاینی سلولی به تصویر کشیده است. در اینجا شناسایی HLA بیگانه (میزبان) توسط سلول‌های دهنده +T CD4، نشان داده شده است. آلوآنتی ژن‌های میزبان توسط سلول‌های +T CD8 دهنده نیز شناسایی می‌شوند (۱۴۱).

ایمنی‌زایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی

سلول‌های بنیادی مزانشیمی را می‌توان از مغز استخوان (Bone marrow: BM)، بافت چربی(۱۴۲)، جفت (۱۴۳)، بافت استخوان (scalp) (۱۴۴) و همچنین از بافت‌های مختلف جنین (۱۴۵، ۱۴۶) جدا کرد. اگرچه نشان‌گر مشخصی برای شناسایی این سلول‌ها وجود ندارد ولی در بررسی‌های فلوسیتومتری مشخص شده است که سلول‌های بنیادی مزانشیمی نشان‌گرهای Stro-1، SH2-4، CD29، CD44، CD71 را بیان می‌کنند اما نشان‌گرهای خونساز شامل CD14، CD34 و CD45 را ظاهر نمی‌سازند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی توانایی تمایز به سلول‌های استخوان، غضروف و چربی را دارند (۱۴۷، ۱۴۸). همچنین مطالعات آزمایشگاهی نشان داده است که سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌توانند سلول‌های عضلانی (۱۴۹-۱۵۲)، هپاتوسیت (۱۵۳)، اندوتلیوم (۱۵۴)، سلول‌های سیستم عصبی مرکزی (۱۵۵-۱۵۷) را تولید کنند. اگرچه قابلیت پلاستیسیتی (plasticity) سلول‌های بنیادی مزانشیمی هنوز تحت مطالعه است اما امید زیادی برای کاربرد این سلول‌ها در سلول درمانی ترمیم قلب، اختلالات استخوان و بیماری‌های متابولیک وجود دارد. یکی از خصوصیات جالب سلول‌های بنیادی مزانشیمی، فرار این سلول‌ها از شناسایی و مهار پاسخ ایمنی است که به دلیل خواص فنوتیپی و عملکردی آن‌ها است (جدول ۶).

بیان آلوآنتی‌ژن‌ها بر روی سلول‌های بنیادی مزانشیمی

در مورد بیان آلوآنتی‌ژن‌های MHC بر سطح سلول‌های بنیادی مزانشیمی اختلاف نظر وجود دارد. اما علی‌رغم شواهد متناقض موجود، نتایج اکثر مطالعات حاکی از بیان کم آنتی‌ژن‌های MHC کلاس یک و عدم بیان آنتی‌ژن‌های MHC کلاس دو بر سطح سلول‌های بنیادی مزانشیمی است. اطلاعات متناقض ممکن است به دلیل رده‌های متفاوت سلول‌های بنیادی یا تفاوت در مراحل مختلف تمایزی باشد که در مطالعات اخیر نیز به آن اشاره شده است (۱۵۹-۱۶۱).

نحوه بیان مولکول‌های MHC کلاس یک توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی بسیار مهم است. زیرا بیان این مولکول‌ها در سلول‌های بنیادی مزانشیمی، این سلول‌ها را در مقابل سلول‌های کشنده طبیعی محافظت می‌کند. عملکرد اصلی سلول‌های کشنده طبیعی (Natural killer; NK) و سلول‌های مشابه کشنده طبیعی، از بین بردن سلول‌های توموری است که مولکول‌های MHC بر سطح آنها کاهش یافته است (۱۶۲). HLA-G، پروتیین مشابه MHC است و در گروه غیر کلاسیک MHC کلاس یک طبقه‌بندی می‌شود. بیان آن، از جنین در مقابل رد وابسته به سلول‌های کشنده طبیعی محافظت می‌کند (۱۶۳، ۱۶۴). این پروتیین به دو گیرنده اصلی مهاری سلول کشنده طبیعی KIR1 و KIR2 متصل شده و از صدمه سلول‌های NK جلوگیری می‌کند (۱۶۵-۱۶۷). با این وجود، تا به حال در هیچ مطالعه‌ای بیان HLA-G در سلول‌های بنیادی مزانشیمی نشان داده نشده است.

از آن جا که پروتیین‌های MHC کلاس دو، آلوآنتی ژن‌هایی قوی هستند، بیان این پروتیین‌ها توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی مساله مهمی به شمار می‌آید.

جدول ۶: خصوصیات فنوتیپی و عملکردی سلول‌های بنیادی مزانشیمی (۱۵۸)

Adhesion molecules	VCAM
	ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3
	HCAM
	ALCAM
	NCAM
	L-selectin
	LFA-1, LFA-3
	Integrins: VLA-α1, VLA-α2 +/-, VLA-α3 +/-, VLA-α5, VLA-α6 +/-, VLA-β1, VLA-β2 +/-, VLA-β3, VLA-β4 +/-
	Vironectin R β-chain
Cytokine and growth factor receptors	IL-1, IL-3, IL-4, IL-6, IL-7R
	IFN-γ R
	TNF-α-I/IIR
	TGF-β-I/IIR
	FGFR
	EGFR
	PDGFR
	Transferrin receptor
	Growth factors
	IL-1, IL-6, IL-7, IL-8, IL-11, IL-12, IL-14, IL-15*
	LIF
	SDF-1
	OSM
	BMP-4
	Flt-3 ligand
	SCF
	G-CSF
	M-CSF
	GM-CSF
Extracellular matrix proteins	Collagen type I, III, IV, V, VI
	Fibronectin
	Hyaluronan
	Laminin
	Vimentin
	Proteoglycans

*Under stimulation of IL-1.
ALCAM, activated leukocyte cell adhesion molecule; BMP-4, bone morphogenetic protein 4; EGFR, epidermal growth factor receptor; FGFR, fibroblast growth factor receptor; FL, Flt-3 ligand,; G-CSF, granulocyte-colony stimulating factor; HCAM, the homing-associated cell adhesion molecule; ICAM, intercellular adhesion molecule; IL-R, interleukin receptor; LFA, lymphocyte function associated antigen; LIF, leukemia inhibitory factor; M-CSF, macrophage-colony stimulating factor; NCAM, the neural cell adhesion molecule; OSM, oncostatin M; PDGFR, platelet-derived growth factor receptor; SCF, stem cell factor; SDF-1, stem cell-derived growth factor receptor; VCAM, vascular cell adhesion molecule; VLA, very late antigen.

در مورد بیان این آلوآنتی‌ژن‌ها نیز اختلاف نظر وجود دارد. عدم بیان مولکول‌های MHC کلاس دو، این امکان را به وجود می‌آورد که سلول‌های بنیادی مزانشیمی از شناسایی سلول‌های آلوراکتیو +TCD4 فرار کنند. سلول‌های بنیادی مزانشیمی علاوه بر نداشتن مولکول‌های MHC کلاس دو، مولکول‌های کمک تحریکی از جمله CD80 (B7.1)، CD86(B7.2)، CD40 و CD40L را نیز بیان نمی‌کنند. این مولکول‌ها برای القا پاسخ سلول‌های T عملکردی لازم هستند. فقدان مولکول‌های کمک تحریکی موجب تحریک جزیی گیرنده سلول T (T cell receptor; TCR) در سلول‌های T کمکی می‌شود که این مساله هم به نوبه خود موجب کم پاسخی (انرژی) سلول‌های T می‌شود

و بدین شکل بر تحمل سلول‌های T نسبت به سلول‌های بنیادی مزاشیمی تاثیر می‌گذارد. البته از آن جا که اکثر یافته‌ها نتیجه مطالعات آزمایشگاهی (*in vitro*) هستند، نمی‌توان از فرار آلوراکتیویتی سلول‌های بنیادی مزانشیمی اطمینان کامل حاصل کرد. نتایج هم کشتی (co-culture) آلوژنیک یا واکنش مختلط لنفوسیتی (Mixed lymphocyte reaction; MLR) نشان داده است (چارچوب ۲) تماس بین سلول‌ها و مواد محلول در تنظیم عملکرد سلول‌های بنیادی مزانشیمی شرکت می‌کنند (۱۶۸-۱۷۱). سلول‌های بنیادی مزانشیمی تحت تاثیر عوامل ریزمحیطی قرار می‌گیرند و به بعضی از سایتوکاین‌های التهابی از جمله IL-1β (۱۷۲)، IL-17 (۱۷۳) و (از همه مهمتر) IFN-γ پاسخ داده و عملکرد آنها به طور چشم‌گیری تحت تاثیر قرار می‌گیرد. نکته جالب توجه آن است که در بعضی شرایط IFN-γ، فعالیت سرکوب ایمنی سلول‌های بنیادی مزانشیمی انسانی را افزایش می‌دهد (۱۷۴) اما در موارد دیگری می‌تواند باعث شود سلول‌های بنیادی مزانشیمی به عنوان سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن (non-conventional) عمل کنند (۱۷۵، ۱۷۶). این اطلاعات در کاربرد بالینی سلول‌های بنیادی مزانشیمی اهمیت زیادی دارد. در مجموع، رفتار سلول‌های بنیادی مزانشیمی برآیند عملکرد عوامل محلول و مکانیسم‌های وابسته به تماس سلول‌ها است.

سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سلول‌های T

از سال ۱۹۸۴ گمان می‌رفت که سلول‌های بنیادی مشتق از مغز استخوان ناسازگار می‌توانند در گیرنده پیوندهای زنوگرافت و آلوژنیک القا تحمل کنند (۱۷۷). در سال ۲۰۰۲ مشخص شد سلول‌های بنیادی مزانشیمی انسان می‌توانند تکثیر سلول‌های T در واکنش مختلط لنفوسیتی (MLR) و تحریک شده با فعال کننده‌های پلی‌کلونال را مهار کنند (۱۷۱) و پس از تزریق به داخل بدن، بقای پیوند پوست را در پریمات‌های غیرانسانی افزایش دهند (۱۷۸). کرامپرا و همکارانش نشان دادند که فعالیت ضدتکثیری سلول‌های بنیادی مزانشیمی موشی روی پاسخ‌های اختصاصی ضدآنتی‌ژن نیز اثر می‌گذارد (۱۶۹).

سرکوب تکثیر سلول‌های T به محدودیت MHC نیاز ندارد اما می‌تواند با واسطه سلول‌های بنیادی مزانشیمی انجام شود (۱۶۹، ۱۷۹). گزارش مربوط به خواص سرکوب ایمنی سلول‌های بنیادی مزانشیمی در داخل بدن توسط دجواد و همکارانش ارایه شد. آنها نشان دادند زمانی که ملانومای آلوژنیک به رده سلول‌های بنیادی مزانشیمی موشی C3H10T1/2 پیوند می‌شوند رشد آن‌ها به طور چشم‌گیری افزایش می‌یابد (۱۶۸). علی‌رغم توافق عمومی در مورد توانایی سلول‌های بنیادی مزانشیمی در مهار تکثیر لنفوسیت‌های T، مکانیسم مسئول این اثر به خوبی شناخته نشده است. اما به نظر نمی‌رسد به القای آپوپتوز سلول‌های تکثیر شونده مرتبط باشد (۱۷۱، ۱۷۴، ۱۸۰). یک توضیح احتمالی برای این امر می‌تواند مهار تقسیم سلولی باشد. زیرا تجمع سلول‌ها در فاز G0 چرخه سلول مشخص شده است (۱۸۱).

به علاوه، سرکوب تکثیر سلول T القا شده توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی انسانی، حداقل تا حدودی به ارتباط متقابل بین دو جمعیت سلولی مرتبط است که منجر به تولید سایتوکاین‌های التهابی از جمله (IFN-γ) (۱۷۴) و (IL-1β) (۱۷۲) توسط سلول‌های ایمنی می‌شود. ممانعت از تکثیر سلول T نتیجه تولید کم سایتوکاین‌های Th1 (۱۶۹، ۱۸۰، ۱۸۲) است. به هر حال، بیان نشان‌گرهای فعالیت در سلول‌های T که با سلول‌های بنیادی مزانشیمی کشت داده می‌شوند، همچنان مورد بحث باقی می‌ماند (۱۷۴، ۱۷۹، ۱۸۱، ۱۸۳).

در مجموع، به نظر می‌رسد مهار ازدیاد سلول‌های T توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی به دلیل کنش بین سلول‌ها و ترشح عوامل محلول باشد. احتمالا دلیل یافته‌های متفاوت گزارش شده در مقالات نیز اختلاف در شرایط آزمایش‌های به کار رفته است (۱۷۱، ۱۸۰، ۱۸۴، ۱۸۶). احتمالا مولکول‌های مشتق از سلول‌های بنیادی مزانشیمی نظیر TGF-β1 و HGF (Hepatocyte growth factor) (۱۷۱)، ایندول آمین ۲ و ۳- دی اکسیژناز (Indoleamine 2, 3-dioxygenase: IDO) (۱۸۷) و پروستاگلاندین E2 (Prostaglandine 2: PGE-2) (۱۸۲) در فعالیت تعدیل ایمنی پاسخ‌های سلول T نقش دارند. با این وجود، اکثر این نتایج نیازمند تایید است.

چارچوب۲: واکنش مختلط لنفوسیتی(MLR)

واکنش مختلط لنفوسیتی (Mixed Lymphocyte Reaction: MLR)، مدل آزمایشگاهی شناسایی محصولات ژنی MHC بیگانه توسط سلول‌های T است و به عنوان آزمون پیش بینی دفع پیوند قلمداد می‌شود. MLR، کشت هم‌زمان گلبول‌های سفید تک هسته‌ای (شامل سلول‌های T، B، سلول‌های NK، فاگوسیت‌های تک هسته‌ای و سلول‌های دندریتیک) یک فرد یا نژاد هم خون همراه با گلبول‌های سفید فرد یا نژاد دیگر است. در انسان، این سلول‌ها از خون محیطی به دست می‌آیند. اگر الل‌های ژن‌های MHC دو فرد با هم اختلاف داشته باشند تعداد زیادی از سلول‌های تک هسته‌ای در طول مدتی بین ۴ تا ۷ روز تکثیر می‌یابند. این پاسخ تکثیری را معمولا با میزان جذب تیمیدین H3 به داخل DNA سلول در حال تکثیر اندازه‌گیری می‌کنند. در این قبیل آزمایشات، تکثیر سلول‌های هر دو فرد در مقابل آنتی‌ژن‌های دیگری را MLR دوطرفه می‌گویند. برای آسان نمودن بررسی، با استفاده از تابش گاما یا میتومایسین C (داروی ضد میتوزی) یکی از جمعیت‌های گلبول‌های سفید تک هسته‌ای را قبل از کشت دادن غیرفعال می‌سازند. به این حالت، MLR یک طرفه می‌گویند و سلول‌های غیرفعال شده را محرک و سلول‌های مقابل را پاسخ دهنده می‌نامند.

طی MLR آلوژنیک دو گروه سلول T تحریک می‌شوند و هر گروه محصولات ژنی خاصی از MHC را شناسایی می‌کنند. گروه اول، سلول‌های +CD8 T هستند که به عنوان سلول‌های T سیتوتوکسیک عمل کرده و مولکول‌های MHC-I پیوند (HLA-A, -B, -C) را شناسایی می‌کنند. گروه دوم سلول‌های +CD4 T هستند که مولکول‌های MHC-II (HLA-DR, -DP, -DQ) را شناسایی می‌کنند. سلول‌های +CD4 T تنها توسط سلول‌هایی که MHC-II متصل به پپتیدهای اختصاصی را عرضه می‌کنند، تحریک می‌شوند.

شاید مولکول‌های کلیدی از طریق ارزیابی ترانسکریپتوم یا پروتیوم سلول‌های بنیادی مزانشیمی مشخص شوند.

تجربیات آزمایشگاهی نشان داده‌اند که سلول‌های بنیادی مزانشیمی انسان می‌تواند باعث القای تولید زیر مجموعه سلول‌های +CD4 T با فنوتیپ تنظیمی(T regulatory: T reg) شوند (۱۸۲، ۱۸۳). اما تولید سلول‌های T reg با استفاده از پیوند سلول‌های بنیادی مزانشیمی انسانی باید تایید شود (۱۶۹، ۱۸۰).

باید یادآور شد که سلول‌های بنیادی مزانشیمی انسانی و موشی، علی‌رغم اثر سرکوب‌گری آنها روی تکثیر سلول T، می‌توانند موجب بقای سلول‌های T نیز بشوند. این اثر را می‌توان نتیجه بیش تحریکی TCR، تحمل مرگ سلولی القا شده از فعالیت یا آپوپتوز وابسته به Fas/FasL دانست. یک توضیح برای این تفاوت آشکار می‌تواند تاثیر عوامل محیطی (احتمالا مرتبط با تقسیم سلولی و ضد مرگ سلولی) بر عملکرد سلول‌های بنیادی مزانشیمی باشد (۱۸۸).

سلول‌های B و سلول‌های بنیادی مزانشیمی

مطالعات کمی به بررسی اثر سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر عملکرد لنفوسیت B پرداخته‌اند. در تجربه‌هایی لنفوسیت‌های B بدست آمده از سوسپانسیون طحال موش‌های آزمایشگاهی را با استفاده از محرک وابسته به سلول T فعال کردند. در یک مطالعه، گلینه و همکاران برای این منظور از آنتی‌بادی منوکلونال علیه CD40 و IL-4 (۱۸۱) استفاده کردند. در حالی که اوگلو و همکاران سلول‌های B طحالی را با استفاده از میتوژن Pokweed تحریک کردند (۱۸۶). هر دو نشان دادند که این سلول‌های بنیادی مزانشیمی، تکثیر سلول‌های B را مهار می‌کنند. مهار سلول B بخشی به خاطر تماس فیزیکی بین سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سلول‌های B و بخشی دیگر به خاطر عوامل محلول ترشح شده از سلول‌های بنیادی مزانشیمی در محیط کشت است. بررسی این جزئیات راهی برای درک مکانیسم‌های مولکولی دخیل در فرآیندهای بین سلولی است.

دنگ و همکارانش اثر سلول‌های بنیادی مزانشیمی موشی آلوژنیک را روی سلول‌های B و T موش‌های BXSB بررسی کردند. موش‌های BXSB مدل آزمایشگاهی بیماری لوپوس اریتماتوز سیستمیک (Systemic lupus erythematous: SLE) هستند (۱۸۹). این محققان نشان دادند که سلول‌های بنیادی مزانشیمی آلوژنیک، فعالیت سلول B و تکثیر و ترشح IgG را مهار کردند. به علاوه، سلول‌های بنیادی مزانشیمی بیان CD40،CD40L نابجا را روی سلول‌های B مشتق از موش‌های BXSB، افزایش دادند (۱۸۹).

نتایج متفاوت حاصل از مطالعات مربوط به اثر سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر عملکرد لنفوسیت‌های B تا حدی به دلیل شرایط متفاوت آزمایشگاه‌ها است. کرامپرا و همکاران مطالعات گسترده‌ای را بر روی اثر سلول‌های بنیادی مزانشیمی انسانی مشتق از مغز استخوان بر عملکرد سلول‌های B، NK و T انجام داده‌اند. آنها نشان داده‌اند که سلول‌های بنیادی مزانشیمی در حضور سلول‌های آلوژنیک تک هسته‌ای عاری از سلول T قادر به مهار تکثیر سلول‌های B تحریک شده با الیگونوکلئوتیدهای دارای توالی CpG نیستند (الیگونوکلئوتیدهای دارای CpG هدف TLR9 هستند). بنابراین، افزودن IFN-γ به محیط کشت به طور چشم‌گیری باعث کاهش جذب H3 تیمیدین سلولB، از طریق القای IDO سرکوب‌گر در سلول‌های بنیادی مزانشیمی می‌شود (۱۷۴).

کورسیون و همکاران نیز روی سلول B مطالعه‌ای انجام دادند. آنها لنفوسیت‌های B را با آنتی‌بادی‌های ضدایمنوگلبولین، لیگاند محلول CD40 و سایتوکاین‌های IL-2 ,Il-4 تحریک کردند. تکثیر سلول‌های B فعال شده (که IFN-γ را تحت این شرایط کشت تولید کردند) با سلول‌های بنیادی مزانشیمی انسانی مهار شدند. دیگر عملکردهای سلول B از جمله تمایز سلول‌های B به سلول‌های ترشح کننده آنتی‌بادی و کموتاکسی در پاسخ به CXCL12، CXCL13 دو کموکاین که در جای‌گیری سلول B در اعضای لنفوییدی ثانویه نقش اصلی را بر عهده دارند) توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی انسانی تضعیف شد. ممانعت از عملکرد سلول B به دلیل عوامل محلول مشتق از سلول‌های بنیادی مزانشیمی زمانی مشخص شد که عوامل مترشحه بعد از کنش متقابل این سلول با سلول‌های B ترشح می‌شدند (۱۹۰).

در مجموع، شواهد موجود بیانگر این مطلب هستند که امکان مهار عملکرد لنفوسیت‌های B انسانی متعاقب تحریک وابسته و غیروابسته به سلول T وجود دارد. طبیعت مکانیسم‌های درگیر در این پدیده تا کنون به خوبی شناخته نشده است. اگرچه، احتمال دارد مکانیسم‌هایی غیر از القای آپوپتوز سلول B در آن دخیل باشند.

سلول کشنده طبیعی و سلول‌های بنیادی مزانشیمی

سلول‌های کشنده طبیعی، عوامل اصلی ایمنی ذاتی هستند که در حذف سلول‌های بدخیم و آلوده به ویروس نقش کلیدی دارند (۱۹۱-۱۹۳). سلول‌های T، B و پیش‌سازهای سلول‌های کشنده طبیعی از مغز استخوان منشا می‌گیرند که در آن جا با سلول‌های استرومای مزانشیمی، بر هم کنش نزدیک دارند. نتیجه بررسی واکنش متقابل بین سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سلول‌های کشنده طبیعی در چندین مطالعه بیانگر این مطلب بوده است که تکثیر سلول‌های کشنده طبیعی بر اثر IL-2 یا IL-15، توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی مهار می‌شود. اثر سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر روی سیتوتوکسیسیتی وابسته به سلول‌های کشنده طبیعی جای بحث دارد که احتمالا به دلیل اختلاف در روش‌های آزمایشگاهی است. در بررسی پاسخ آلوژنیک سلول‌های کشنده طبیعی تازه جدا شده در برابر اهداف با HLA کلاس یک در حضور سلول‌های بنیادی مزانشیمی، هیچ مهاری در لیز وابسته به NK مشاهده نشده است (۱۹۴). از سوی دیگر، سلول‌های کشنده طبیعی که به مدت چهار تا پنج روز با IL-2 در حضور سلول‌های بنیادی مزانشیمی کشت داده شده بودند، در مقایسه با سلول‌های NK که با سلول‌های بنیادی مزانشیمی مجاور نشده بودند کارآیی کمتری در کشتن سلول‌های k562 (سلول‌های هدف برای سلول‌های NK) داشتند (۱۷۴). در نهایت، لیز

سلول‌های هدف فاقد HLA کلاس یک توسط سلول‌های کشنده طبیعی که با IL-2 فعال شده و به مدت کوتاهی در مجاورت سلول‌های بنیادی مزانشیمی قرار گرفته بوند، تغییر نکرده بود در حالی که سیتوتوکسیسیتی سلول‌های NK در همین شرایط علیه سلول‌های توموری دارای HLA کلاس یک به طور چشم‌گیری کاهش یافت (۱۹۴). بنابراین بر اساس این نتایج می‌توان گفت که اثر مهاری سلول‌های بنیادی مزانشیمی روی سیتوتوکسیسیتی سلول‌های کشنده طبیعی تنها علیه سلول‌های هدف دارای HLA کلاس یک اعمال می‌شود که خود به لیز سلول‌های NK کمتر از سلول‌های فاقد HLA کلاس یک حساس هستند (۱۹۵).

اثر سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر تولید سایتوکاین توسط سلول‌های کشنده طبیعی در سه مطالعه مجزا بررسی شده است. سوتیروپولو و همکاران گزارش کرده‌اند که سلول‌های کشنده طبیعی فعال شده با IL-2، بعد از کشت با سلول‌های بنیادی مزانشیمی مقادیر خیلی کمی از سایتوکاین‌های القایی IL-15 (IFN-γ و به مقادیر کمتر IL-10 و TNF-α) را تولید می‌کنند (۱۹۴). اسپاگیاری و همکاران نشان داده‌اند که سلول‌های کشنده طبیعی فعال شده با IL-2، بعد از مجاورت کوتاه مدت با سلول‌های بنیادی مزانشیمی، IFN-γ تولید می‌کنند (۱۹۶). در مطالعه‌ای پوگی و همکارانش نشان داده‌اند که سلول‌های کشنده طبیعی تازه جدا شده، نشانگر فعالیت CD69 را بیان و بعد از مجاورت با سلول‌های بنیادی مزانشیمی IFN-γ و TNF-α را ترشح می‌کنند. واکنش متقابل بین ICAM-1 روی سلول‌های بنیادی مزانشیمی و LFA-1 روی سلول‌های کشنده طبیعی برای تولید سایتوکاین ضروری است. به علاوه، آنها دریافتند که گیرنده سیتوتوکسیسیتی طبیعی NKp30 از طریق اتصال به سلول‌های بنیادی مزانشیمی در شروع فعالیت سیتوتوکسیک سلول کشنده طبیعی یا تولید سایتوکاین دخالت دارد (۱۹۶، ۱۹۷).

با توجه به بیان کم آنتی‌ژن‌های HLA کلاس یک بر سطح سلول‌های بنیادی مزانشیمی، این سلول‌ها به لیز توسط سلول‌های کشنده طبیعی فعال شده با IL-2 حساس هستند. این امر در پیوند اتولوگ و پیوند آلوژنیک، هر دو، مصداق دارد (۵۸-۶۰). گیرنده‌های سلول کشنده NKp30، NKG2D و DNAM-1 نقش اصلی را در سیتوتوکسیسیتی وابسته به سلول‌های کشنده علیه سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر عهده دارند که به نوبه خود به لیگاندهای مربوط به این گیرنده‌ها، یعنی ULBP، PVR و nectin-2 متصل می‌شوند (۱۹۸). مجاورت سلول‌های بنیادی مزانشیمی با IFN-γ، موجب افزایش مولکول‌های HLA کلاس یک بر سطح این سلول‌ها و محافظت آن‌ها از انهدام توسط سلول‌های کشنده طبیعی می‌شوند (۱۹۶). به نظر می‌رسد مانند آن چه که در مورد سلول‌های T مشاهده شد، عوامل محلول از جمله TGF-β1 و PGE2 در سرکوب تکثیر سلول کشنده طبیعی توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی نقش داشته باشند (۱۹۴).

در مجموع، نتیجه نهایی واکنش بین سلول‌های بنیادی مزانشیمی و انواع دیگر سلول‌ها در محیط بدن اساسا توسط ریزمحیط آنها دیکته می‌شود. به عنوان مثال، در حالی که سلول‌های کشنده طبیعی می‌توانند در شرایط معمول، سلول‌های بنیادی مزانشیمی را لیز کنند، این احتمال وجود دارد که تولید IFN-γ توسط سلول‌های کشنده طبیعی با افزایش بیان HLA کلاس یک در سلول‌های بنیادی مزانشیمی، در داخل بدن، از آن در مقابل سلول کشنده طبیعی محافظت کند (۱۹۵).

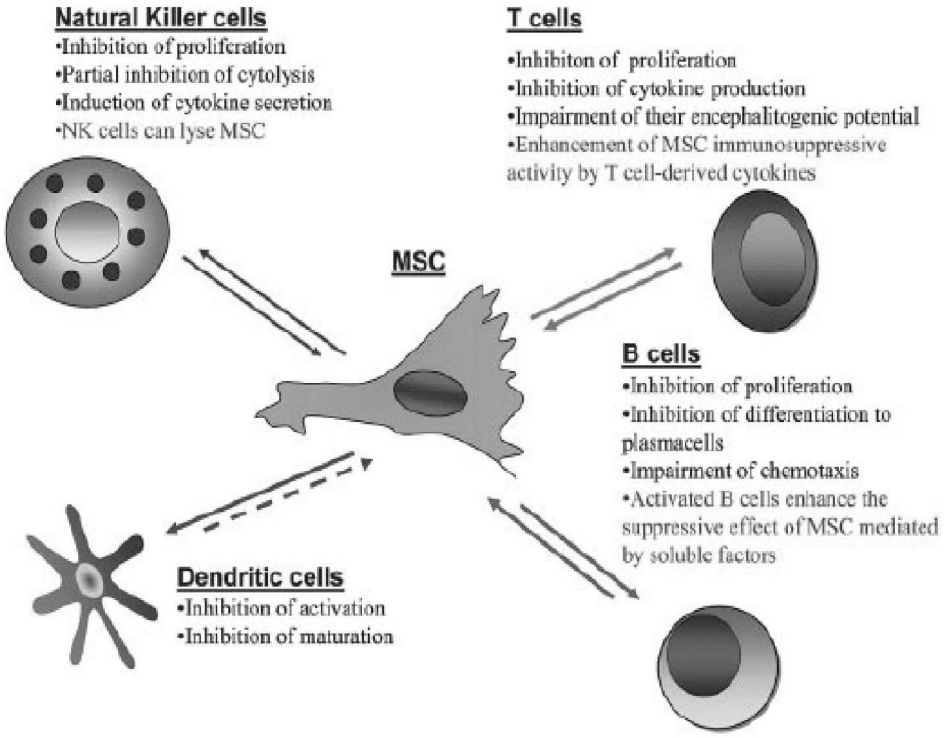
گذشته از نتیجه برآورد واکنش متقابل فیزیولوژیک بین سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سلول‌های کشنده طبیعی، آثار دوطرفه اعمال شده توسط هر دو نوع سلول، به خصوص توانایی سلول‌های کشنده طبیعی در از بین بردن سلول‌های بنیادی مزانشیمی باید به دقت در شیوه‌های جدید ایمونوتراپی اکتسابی همراه با پیوند مغزاستخوان در نظر گرفته شوند.

در این حالت سلول‌های بنیادی مزانشیمی برای بهبود پیوند و یا سرکوب GVHD تزریق می‌شوند. سلول‌های کشنده طبیعی می‌توانند به خوبی سلول‌های لوکمیک را حذف کنند. اما برای پرهیز از حذف ناخواسته سلول‌های بنیادی مزانشیمی، سلول‌های کشنده طبیعی را نباید هم‌زمان یا با فاصله کم از تزریق سلول‌های بنیادی مزانشیمی تزریق کرد، بلکه با ایجاد فاصله زمانی متناسب فرصت کافی به سلول‌های بنیادی مزانشیمی داده می‌شود تا آنتی‌ژن‌های HLA کلاس یک را بیان کرده و به سلول‌های استرومای مغز استخوان و دیگر بافت‌ها تمایز یابند.

سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سلول‌های دندریتیک

اثر تعدیلی سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر پاسخ‌های ایمنی می‌تواند به توانایی تغییر عملکرد سلول‌های دندریتیک که منجر به تولید سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن تحمل‌زا می‌شود، مربوط باشد. در حقیقت، مشخص شده است سلول‌های بنیادی مزانشیمی از بلوغ سلول‌های دندریتیک میلویید مشتق از منوسیت ممانعت به عمل می‌آورند که این عمل را با کاهش بیان MHC، CD83،CD11c کلاس دو و مولکول‌های کمک تحریکی سطحی و تولید IL-12 بعد از فعال شدن سلول‌های دندریتیک وابسته به TLR (Toll-like receptor) انجام می‌دهند (۱۷۰، ۱۸۳، ۱۹۹، ۲۰۰). سلول‌های دندریتیک میلویید بعد از واکنش متقابل با سلول‌های بنیادی مزانشیمی، مقادیر کمی TNF-α تولید می‌کنند در حالی که سلول‌های دندریتیک لنفویید به تولید IL-15 متمایل می‌شوند (۲۰۰). این اثر به نوبه خود منجر به کاهش تولید IFN-γ در سلول‌های Th1، افزایش ترشح IL-4 از سلول‌های Th2 و افزایش تعداد سلول‌های T تنظیم می‌شود (۱۸۲، ۱۸۳).

به نظر می‌رسد مکانیسم مهار عملکرد و تمایز سلول‌های دندریتیک توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی وابسته به مولکول‌های محلول از جمله PGE-2 رها شده بعد از تماس سلول‌ها باشد (۱۸۲، ۱۹۹). مشابه آنچه در سلول‌های T مشاهده شده بود، دازی و همکاران گزارش کردند که بعد از کنش متقابل با سلول‌های بنیادی مزانشیمی، چرخه سلولی در سلول‌های دندریتیک در مرحله G0/G1 متوقف می‌شود. پس، ممانعت از ازدیاد سلول‌های T توسط سلول‌های بنیادی مزانشیمی تنها نتیجه اثر سرکوب مستقیم روی سلول‌های T نیست و می‌تواند به اثر مهاری در بلوغ، فعالیت و عرضه آنتی‌ژن سلول‌های دندریتیک وابسته باشد.



شکل ۱۱: تعدیل پاسخ ایمنی با تاثیر سلول‌های مزانشیمی بر سلول‌های ایمنی. کنش متقابل بین سلول‌های مزانشیمی، سلول‌های T، B و NK نشان داده شده است. اما تا کنون تاثیر سلول‌های DC بر روی سلول‌های مزانشیمی اثبات نشده است (۱۹۵).

شکل ۱۱ به صورت شماتیک اطلاعات موجود در زمینه ایمنی‌زایی کم سلول‌های بنیادی مزانشیمی در برابر سلول‌های ایمنی را نشان می‌دهد. در حال حاضر امیدهای تازه‌ای برای کاربرد این سلول‌ها در درمان اختلالات ایمنی از جمله کنترلGVHD، همچنین خودایمنی و پیوند اعضا به وجود آمده است.

نتیجه‌گیری

قابلیت بالینی سلول‌های بنیادی، اساس طب پیوند است و در آینده منبع سلولی خوبی را برای پیوند فراهم خواهد کرد. اما قبل از کاربرد بالینی سلول‌های بنیادی اعم از جنینی و بزرگسالان، لازم است تاثیر ایمنی ذاتی و اکتسابی بر آنها بررسی شود. از آن جا که اجزای ذاتی و اکتسابی سیستم ایمنی قادر به شناسایی و آسیب به سلول‌های بنیادی و مشتقات آنها هستند، شناسایی دقیق عوامل ایمنی‌زایی سلول‌های بنیادی و پاسخ‌های ایجاد شده علیه آنها، سبب توسعه راهبردهای درمانی برای مهار یا کنترل آسیب سلولی می‌شود. همچنین در دراز مدت زمینه عملکرد مناسب مشتقات سلول‌های بنیادی در گیرنده پیوند را فراهم می‌کند.

تقدیر و تشکر

بدین وسیله نویسندگان مقاله، مراتب تقدیر و تشکر خود را از سرکار خانم دکتر پروانه فرزانه که با پیشنهادات خود ما را در نگارش این مقاله یاری کردند، اعلام می‌دارند.

References

1. Vats A, Bielby RC, Tolley NS, Nerem R, Polak JM. Stem cells. Lancet 2005;366:592-602

2. Hussain MA, Theise ND. Stem-cell therapy for diabetes mellitus. Lancet 2004; 364:203-205

3. Rice CM, Scolding NJ. Adult stem cells--reprogramming neurological repair? Lancet 2004; 364: 193-199

4. Hoffman LM, Carpenter MK. Characterization and culture of human embryonic stem cells. Nat Biotechnol 2005; 23: 699-708

5. Khodadadi L, Jafari H, Farrokhi A, Pirouz M, Baharvand H. From Pancreatic Development to Diabetes Treatment. Yakhteh Medical J, Summer 2006; 8

6. Ito N, Hirota T. Histochemical and cytochemical localization of blood group antigens. Prog Histochem Cytochem 1992; 25: 1-85

7. Clausen H, Hakomori S. ABH and related histo-blood group antigens; immunochemical differences in carrier isotypes and their distribution. Vox Sang 1989;

56: 1-20
8. Springer GF, Horton RE. Blood group isoantibody stimulation in man by feeding blood group-active bacteria. J Clin Invest 1969; 48: 1280-1291
9. Paul LC, Baldwin WM, 3rd. Humoral rejection mechanisms and ABO incompatibility in renal transplantation. Transplant Proc 1987; 19: 4463-4467
10. Cooper DK. Clinical survey of heart transplantation between ABO blood group-incompatible recipients and donors. J Heart Transplant 1990; 9: 376-381
11. Clayton HA, Swift SM, James RF, Horsburgh T, London NJ. Human islet transplantation--is blood group compatibility important? Transplantation 1993; 56: 1538-1540
12. Borderie VM, Lopez M, Vedie F, Laroche L. ABO antigen blood-group compatibility in corneal transplantation. Cornea 1997; 16: 1-6
13. Goulmy E. Human minor histocompatibility antigens. Curr Opin Immunol 1996; 8: 75-81
14. Simpson E, Scott D, James E, Lombardi G, Cwynarski K, Dazzi F, et al. Minor H antigens: genes and peptides. Transpl Immunol 2002; 10: 115-123
15. Dickinson AM, Charron D. Non-HLA immunogenetics in hematopoietic stem cell transplantation. Curr Opin Immunol 2005; 17: 517-525
16. Navarrete CV. Immunity and transplantation. Vox Sang 2004; 87 Suppl1: 39-42
17. Schreuder GM, Hurley CK, Marsh SG, Lau M, Maiers M, Kollman C, et al. The HLA Dictionary 2001: a summary of HLA-A, -B, -C, -DRB1/3/4/5, -DQB1 alleles and their association with serologically defined HLA-A, -B, -C, -DR and -DQ antigens. Tissue Antigens 2001; 109: 140-158
18. Fleischhauer K, Kernan NA, O'Reilly RJ, Dupont B, Yang SY. Bone marrow-allograft rejection by T lymphocytes recognizing a single amino acid difference in HLA-B44. N Engl J Med 1990; 323: 1818-1822
19. Reubinoff BE, Pera MF, Fong CY, Trounson A, Bongso A. Embryonic stem cell lines from human blastocysts: somatic differentiation in vitro. Nat Biotechnol 2000; 18: 399-404
20. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, Waknitz MA, Swiergiel JJ, Marshall VS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. Science 1998; 282: 1145-1147
21. Baharvand H, Kazemi Ashtiani S. Embryonic stem Cells: Concepts and Potentials. Yakhteh Medical Journal Autumn 2005; 7: 178-193
22. Baharvand H. Generation, maintenance, and characterization of human embryonic stem cells. J of Iranian Anatomical Sciences In press 2006
23. Itskovitz-Eldor J, Schuldiner M, Karsenti D, Eden A, Yanuka O, Amit M, et al. Differentiation of human embryonic stem cells into embryoid bodies compromising the three embryonic germ layers. Mol Med 2000; 6: 88-95
24. Schuldiner M, Yanuka O, Itskovitz-Eldor J, Melton DA, Benvenisty N. Effects of eight growth factors on the differentiation of cells derived from human embryonic stem cells. Proc Natl Acad Sci U SA 2000; 97: 11307-11312
25. Reubinoff BE, Itsykson P, Turetsky T, Pera MF, Reinhartz E, Itzik A, et al. Neural progenitors from human embryonic stem cells. Nat Biotechnol 2001; 19: 1134-1140
26. Zhang SC, Wernig M, Duncan ID, Brustle O, Thomson JA. In vitro differentiation of transplantable neural precursors from human embryonic stem cells. Nat Biotechnol 2001; 19: 1129-1133
27. Schuldiner M, Eiges R, Eden A, Yanuka O, Itskovitz-Eldor J, Goldstein RS, et al. Induced neuronal differentiation of human embryonic stem cells. Brain Res 2001; 913: 201-205
28. Carpenter MK, Inokuma MS, Denham J, Mujtaba T, Chiu CP, Rao MS. Enrichment of neurons and neural precursors from human embryonic stem cells. Exp Neurol 2001; 172: 383-397
29. Baharvand H, Power JM, Ozsarac N, Matthaei KI. Differentiation of embryonic stem cells into functional neurons in vitro. Neuroscience Research Communications 2004; 35: 130-138
30. Xu RH, Chen X, Li DS, Li R, Addicks GC, Glennon C, et al. BMP4 initiates human embryonic stem cell differentiation to trophoblast. Nat Biotechnol 2002; 20: 1261-1264
31. Levenberg S, Golub JS, Amit M, Itskovitz-Eldor J, Langer R. Endothelial cells derived from human embryonic stem cells. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99: 4391-4396
32. Mummery C, Ward-van Oostwaard D, Doevendans P, Spijker R, van den Brink S, Hassink

R, et al. Differentiation of human embryonic stem cells to cardiomyocytes: role of coculture with visceral endoderm-like cells. Circulation 2003; 107: 2733-2740
33. Mummery C, Ward D, van den Brink CE, Bird SD, Doevendans PA, Opthof T, et al. Cardiomyocyte differentiation of mouse and human embryonic stem cells. J Anat 2002; 200: 233-242
34. Kehat I, Kenyagin-Karsenti D, Snir M, Segev H, Amit M, Gepstein A, et al. Human embryonic stem cells can differentiate into myocytes with structural and functional properties of cardiomyocytes. J Clin Invest 2001; 108: 407-414
35. Xu C, Police S, Rao N, Carpenter MK. Characterization and enrichment of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells. Circ Res 2002; 91: 501-508
36. Kehat I, Gepstein A, Spira A, Itskovitz-Eldor J, Gepstein L. High-resolution electrophysiological assessment of human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes: a novel in vitro model for the study of conduction. Circ Res 2002; 91: 659-661
37. He JQ, Ma Y, Lee Y, Thomson JA, Kamp TJ. Human embryonic stem cells develop into multiple types of cardiac myocytes: action potential characterization. Circ Res 2003; 93: 32-39
38. Kaufman DS, Hanson ET, Lewis RL, Auerbach R, Thomson JA. Hematopoietic colony-forming cells derived from human embryonic stem cells. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98: 10716-10721
39. Chadwick K, Wang L, Li L, Menendez P, Murdoch B, Rouleau A, et al. Cytokines and BMP-4 promote hematopoietic differentiation of human embryonic stem cells. Blood 2003; 102: 906-915
40. Rambhatla L, Chiu CP, Kundu P, Peng Y, Carpenter MK. Generation of hepatocyte-like cells from human embryonic stem cells. Cell Transplant 2003; 12: 1-11
41. Capecchi MR. Generating mice with targeted mutations. Nat Med 2001; 7: 1086-1090
42. Eiges R, Schuldiner M, Drukker M, Yanuka O, Itskovitz-Eldor J, Benvenisty N. Establishment of human embryonic stem cell-transfected clones carrying a marker for undifferentiated cells. Curr Biol 2001; 11: 514-518
43. Zwaka TP, Thomson JA. Homologous recombination in human embryonic stem cells. Nat Biotechnol 2003; 21: 319-321
44. Pfeifer A, Ikawa M, Dayn Y, Verma IM. Transgenesis by lentiviral vectors: lack of gene silencing in mammalian embryonic stem cells and preimplantation embryos. Proc Natl Acad Sci USA 2002; 99: 2140-2145
45. Ma Y, Ramezani A, Lewis R, Hawley RG, Thomson JA. High-level sustained transgene expression in human embryonic stem cells using lentiviral vectors. Stem Cells 2003; 21: 111-117
46. Roopenian D, Choi EY, Brown A. The immunogenomics of minor histocompatibility antigens. Immunol Rev 2002; 190: 86-94
47. Bradley JA, Bolton EM, Pedersen RA. Stem cell medicine encounters the immune system. Nat Rev Immunol 2002; 2: 859-871
48. Draper JS, Pigott C, Thomson JA, Andrews PW. Surface antigens of human embryonic stem cells: changes upon differentiation in culture. J Anat 2002; 200: 249-258
49. Drukker M, Katz G, Urbach A, Schuldiner M, Markel G, Itskovitz-Eldor J, et al. Characterization of the expression of MHC proteins in human embryonic stem cells. Proc Natl Acad Sci USA 2002; 99: 9864-9869
50. Zavazava N, Kabelitz D. Alloreactivity and apoptosis in graft rejection and transplantation tolerance. J Leukoc Biol 2000; 68: 167-174
51. Gould DS, Auchincloss H, Jr. Direct and indirect recognition: the role of MHC antigens in graft rejection. Immunol Today 1999; 20: 77-82
52. Rogers NJ, Lechler RI. Allorecognition. Am J Transplant 2001; 1: 97-102
53. Iwai H, Kuma S, Inaba MM, Good RA, Yamashita T, Kumazawa T, et al. Acceptance of murine thyroid allografts by pretreatment of anti-Ia antibody or anti-dendritic cell antibody in vitro. Transplantation 1989; 47: 45-49
54. Kaech SM, Ahmed R. Immunology. CD8 T cells remember with a little help. Science 2003; 300: 263-265
55. Hernandez-Fuentes MP, Warrens AN, Lechler RI. Immunologic monitoring. Immunol Rev 2003; 196: 247-264
56. Boisgerault F, Anosova NG, Tam RC, Illigens BM, Fedoseyeva EV, Benichou G. Induction of T-cell response to cryptic MHC determinants during

allograft rejection. Hum Immunol 2000; 61: 1352-1362
57. Sirak J, Orosz CG, Wakely E, VanBuskirk AM. Alloreactive delayed-type hypersensitivity in graft recipients: complexity of responses and divergence from acute rejection. Transplantation 1997; 63: 1300-1307
58. Wood KJ, Sakaguchi S. Regulatory T cells in transplantation tolerance. Nat Rev Immunol 2003; 3: 199-210
59. Kovats S, Main EK, Librach C, Stubblebine M, Fisher SJ, DeMars R. A class I antigen, HLA-G, expressed in human trophoblasts. Science 1990; 248: 220-223
60. Priddle H, Jones DR, Burridge PW, Patient R. Hematopoiesis from human embryonic stem cells: overcoming the immune barrier in stem cell therapies. Stem Cells 2006; 24: 815-824
61. Ferguson TA, Green DR, Griffith TS. Cell death and immune privilege. Int Rev Immunol 2002; 21: 153-172
62. Green DR, Ferguson TA. The role of Fas ligand in immune privilege. Nat Rev Mol Cell Biol 2001; 2: 917-924
63. Freed CR, Greene PE, Breeze RE, Tsai WY, DuMouchel W, Kao R, et al. Transplantation of embryonic dopamine neurons for severe Parkinson's disease. N Engl J Med 2001; 344: 710-719
64. Rubinstein P. HLA matching for bone marrow transplantation--how much is enough? N Engl J Med 2001; 345: 1842-1844
65. Petersdorf EW, Hansen JA, Martin PJ, Woolfrey A, Malkki M, Gooley T, et al. Major-histocompatibility-complex class I alleles and antigens in hematopoietic-cell transplantation. N Engl J Med 2001; 345: 1794-1800
66. Kawase E, Yamazaki Y, Yagi T, Yanagimachi R, Pedersen RA. Mouse embryonic stem (ES) cell lines established from neuronal cell-derived cloned blastocysts. Genesis 2000; 28: 156-163
67. Munsie MJ, Michalska AE, O'Brien CM, Trounson AO, Pera MF, Mountford PS. Isolation of pluripotent embryonic stem cells from reprogrammed adult mouse somatic cell nuclei. Curr Biol 2000; 10: 989-992
68. Wakayama T, Tabar V, Rodriguez I, Perry AC, Studer L, Mombaerts P. Differentiation of embryonic stem cell lines generated from adult somatic cells by nuclear transfer. Science 2001; 292: 740-743
69. Cibelli JB, Stice SL, Golueke PJ, Kane JJ, Jerry J, Blackwell C, et al. Transgenic bovine chimeric offspring produced from somatic cell-derived stem-like cells. Nat Biotechnol 1998; 16: 642-646
70. Lanza RP, Chung HY, Yoo JJ, Wettstein PJ, Blackwell C, Borson N, et al. Generation of histocompatible tissues using nuclear transplantation. Nat Biotechnol 2002; 20: 689-696
71. Cibelli JB, Grant KA, Chapman KB, Cunniff K, Worst T, Green HL, et al. Parthenogenetic stem cells in nonhuman primates. Science 2002; 295: 819
72. Simerly C, Dominko T, Navara C, Payne C, Capuano S, Gosman G, et al. Molecular correlates of primate nuclear transfer failures. Science 2003; 300: 297
73. Hochedlinger K, Jaenisch R. Nuclear transplantation, embryonic stem cells, and the potential for cell therapy. N Engl J Med 2003; 349: 275-286
74. Lanza RP, Cibelli JB, West MD. Human therapeutic cloning. Nat Med 1999; 5: 975-977
75. Sykes M. Mixed chimerism and transplant tolerance. Immunity 2001; 14: 417-424
76. Van den Brink MR, Burakoff SJ. Cytolytic pathways in haematopoietic stem-cell transplantation. Nat Rev Immunol 2002; 2: 273-281
77. Fandrich F, Lin X, Chai GX, Schulze M, Ganten D, Bader M, et al. Preimplantation-stage stem cells induce long-term allogeneic graft acceptance without supplementary host conditioning. Nat Med 2002; 8: 171-178
78. Zijlstra M, Bix M, Simister NE, Loring JM, Raulet DH, Jaenisch R. Beta 2-microglobulin deficient mice lack CD4-8+ cytolytic T cells. Nature 1990; 344: 742-746
79. Grusby MJ, Auchincloss H, Jr., Lee R, Johnson RS, Spencer JP, Zijlstra M, et al. Mice lacking major histocompatibility complex class I and class II molecules. Proc Natl Acad Sci USA 1993; 90: 3913-3917
80. Dierich A, Chan SH, Benoist C, Mathis D. Graft rejection by T cells not restricted by conventional major histocompatibility complex molecules. Eur J Immunol 1993; 23: 2725-2728
81. Bix M, Liao NS, Zijlstra M, Loring J, Jaenisch R,

Raulet D. Rejection of class I MHC-deficient haemopoietic cells by irradiated MHC-matched mice. Nature 1991; 349: 329-331
82. Griffith TS, Brunner T, Fletcher SM, Green DR, Ferguson TA. Fas ligand-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. Science 1995; 270: 1189-1192
83. Gourishankar S, Turner P, Halloran P. New developments in immunosuppressive therapy in renal transplantation. Expert Opin Biol Ther 2002; 2: 483-501
84. Simon DM, Levin S. Infectious complications of solid organ transplantations. Infect Dis Clin North Am 2001; 15: 521-549
85. Penn I. Post-transplant malignancy: the role of immunosuppression. Drug Saf 2000; 23: 101-113
86. Mayer AD, Dmitrewski J, Squifflet JP, Besse T, Grabensee B, Klein B, et al. Multicenter randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in the prevention of renal allograft rejection: a report of the European Tacrolimus Multicenter Renal Study Group. Transplantation 1997; 64: 436-443
87. Dufrane D, Goebbels RM, Saliez A, Guiot Y, Gianello P. Six-month survival of microencapsulated pig islets and alginate biocompatibility in primates: proof of concept. Transplantation 2006; 81: 1345-1353
88. Rafael E, Wu GS, Hultenby K, Tibell A, Wernerson A. Improved survival of macroencapsulated islets of Langerhans by preimplantation of the immunoisolating device: a morphometric study. Cell Transplant 2003; 12: 407-412
89. Knudtzon S. In vitro growth of granulocytic colonies from circulating cells in human cord blood. Blood 1974; 43: 357-361
90. Ende M, Ende N. Hematopoietic transplantation by means of fetal (cord) blood. A new method. Va Med Mon (1918) 1972; 99: 276-280
91. Prindull G, Prindull B, Meulen N. Haematopoietic stem cells (CFUc) in human cord blood. Acta Paediatr Scand 1978; 67: 413-416
92. Fauser AA, Messner HA. Granuloerythropoietic colonies in human bone marrow, peripheral blood, and cord blood. Blood 1978; 52: 1243-1248
93. Hassan MW, Lutton JD, Levere RD, Rieder RF, Cederqvist LL. In vitro culture of erythroid colonies from human fetal liver and umbilical cord blood. Br J Haematol 1979; 41: 477-484
94. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, Friedman HS, Douglas GW, Devergie A, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. N Engl J Med 1989; 321: 1174-1178
95. Bradley MB, Cairo MS. Cord blood immunology and stem cell transplantation. Hum Immunol 2005; 66:431-446
96. Gluckman E, Rocha V, Arcese W, Michel G, Sanz G, Chan KW, et al. Factors associated with outcomes of unrelated cord blood transplant: guidelines for donor choice. Exp Hematol 2004; 32: 397-407
97. Gluckman E, Koegler G, Rocha V. Human leukocyte antigen matching in cord blood transplantation. Semin Hematol 2005; 42: 85-90
98. Rubinstein P, Carrier C, Scaradavou A, Kurtzberg J, Adamson J, Migliaccio AR, et al. Outcomes among 562 recipients of placental-blood transplants from unrelated donors. N Engl J Med 1998; 339: 1565-1577
99. Kogler G, Enczmann J, Rocha V, Gluckman E, Wernet P. High-resolution HLA typing by sequencing for HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ in 122 unrelated cord blood/patient pair transplants hardly improves long-term clinical outcome. Bone Marrow Transplant 2005; 36: 10: 1033-1041
100. Kovarik J, Siegrist CA. Immunity in early life. Immunol Today 1998; 19: 150-152
101. Cairo MS, Suen Y, Knoppel E, van de Ven C, Nguyen A, Sender L. Decreased stimulated GM-CSF production and GM-CSF gene expression but normal numbers of GM-CSF receptors in human term newborns compared with adults. Pediatr Res 1991; 30: 362-367
102. Cairo MS, Suen Y, Knoppel E, Dana R, Park L, Clark S, et al. Decreased G-CSF and IL-3 production and gene expression from mononuclear cells of newborn infants. Pediatr Res 1992; 31: 574-578
103. Cairo MS. Therapeutic implications of dysregulated colony-stimulating factor expression in neonates. Blood 1993; 82: 2269-2272
104. Suen Y, Lee SM, Schreurs J, Knoppel E, Cairo MS. Decreased macrophage colony-stimulating factor mRNA expression from activated cord versus adult

mononuclear cells: altered posttranscriptional stability. Blood 1994; 84: 4269-4277
105. Suen Y, Chang M, Lee SM, Buzby JS, Cairo MS. Regulation of interleukin-11 protein and mRNA expression in neonatal and adult fibroblasts and endothelial cells. Blood 1994; 84: 4125-4134
106. Chang M, Suen Y, Lee SM, Baly D, Buzby JS, Knoppel E, et al. Transforming growth factor-beta 1, macrophage inflammatory protein-1 alpha, and interleukin-8 gene expression is lower in stimulated human neonatal compared with adult mononuclear cells. Blood 1994; 84: 118-124
107. Lee SM, Suen Y, Chang L, Bruner V, Qian J, Indes J, et al. Decreased interleukin-12 (IL-12) from activated cord versus adult peripheral blood mononuclear cells and upregulation of interferon-gamma, natural killer, and lymphokine-activated killer activity by IL-12 in cord blood mononuclear cells. Blood 1996; 88: 945-954
108. Buzby JS, Knoppel EM, Cairo MS. Coordinate regulation of Steel factor, its receptor (Kit), and cytoadhesion molecule (ICAM-1 and ELAM-1) mRNA expression in human vascular endothelial cells of differing origins. Exp Hematol 1994; 22: 122-129
109. Wilson CB, Westall J, Johnston L, Lewis DB, Dower SK, Alpert AR. Decreased production of interferon-gamma by human neonatal cells. Intrinsic and regulatory deficiencies. J Clin Invest 1986; 77: 860-867
110. Bertotto A, Gerli R, Lanfrancone L, Crupi S, Arcangeli C, Cernetti C, et al. Activation of cord T lymphocytes. II. Cellular and molecular analysis of the defective response induced by anti-CD3 monoclonal antibody. Cell Immunol 1990; 127: 247-259
111. Harris DT, Schumacher MJ, Locascio J, Besencon FJ, Olson GB, DeLuca D, et al. Phenotypic and functional immaturity of human umbilical cord blood T lymphocytes. Proc Natl Acad Sci USA 1992; 89: 10006-10010
112. Foa R, Giubellino MC, Fierro MT, Lusso P, Ferrando ML. Immature T lymphocytes in human cord blood identified by monoclonal antibodies: a model for the study of the differentiation pathway of T cells in humans. Cell Immunol 1984; 89: 194-201
113. Griffiths-Chu S, Patterson JA, Berger CL, Edelson RL, Chu AC. Characterization of immature T cell subpopulations in neonatal blood. Blood 1984; 64: 296-300
114. Maccario R, Nespoli L, Mingrat G, Vitiello A, Ugazio AG, Burgio GR. Lymphocyte subpopulations in the neonate: identification of an immature subset of OKT8-positive, OKT3-negative cells. J Immunol 1983; 130: 1129-1131
115. Clement LT, Vink PE, Bradley GE. Novel immunoregulatory functions of phenotypically distinct subpopulations of CD4+ cells in the human neonate. J Immunol 1990; 145: 102-108
116. Hassan J, Reen DJ. Cord blood CD4+ CD45RA+ T cells achieve a lower magnitude of activation when compared with their adult counterparts. Immunology 1997; 90: 397-401
117. Cairo MS, Wagner JE. Placental and/or umbilical cord blood: an alternative source of hematopoietic stem cells for transplantation. Blood 1997; 90: 4665-4678
118. Tanaka H, Kai S, Yamaguchi M, Misawa M, Fujimori Y, Yamamoto M, et al. Analysis of natural killer (NK) cell activity and adhesion molecules on NK cells from umbilical cord blood. Eur J Haematol 2003; 71: 29-38
119. Nagler A, Lanier LL, Cwirla S, Phillips JH. Comparative studies of human FcRIII-positive and negative natural killer cells. J Immunol 1989; 143: 3183-3191
120. Langrish CL, Buddle JC, Thrasher AJ, Goldblatt D. Neonatal dendritic cells are intrinsically biased against Th-1 immune responses. Clin Exp Immunol 2002; 128: 118-123
121. Hagendorens MM, Ebo DG, Schuerwegh AJ, Huybrechs A, Van Bever HP, Bridts CH, et al. Differences in circulating dendritic cell subtypes in cord blood and peripheral blood of healthy and allergic children. Clin Exp Allergy 2003; 33: 633-639
122. Rissoan MC, Soumelis V, Kadowaki N, Grouard G, Briere F, de Waal Malefyt R, et al. Reciprocal control of T helper cell and dendritic cell differentiation. Science 1999; 283: 1183-1186
123. Moser M, Murphy KM. Dendritic cell regulation of TH1-TH2 development. Nat Immunol 2000; 1: 199-205
124. Borras FE, Matthews NC, Lowdell MW, Navarrete CV. Identification of both myeloid CD11c+ and lymphoid CD11c- dendritic cell subsets in cord blood. Br J Haematol 2001; 113: 925-931

125. Sorg RV, Kogler G, Wernet P. Identification of cord blood dendritic cells as an immature CD11c-population. Blood 1999; 93: 2302-2307
126. Goriely S, Vincart B, Stordeur P, Vekemans J, Willems F, Goldman M, et al. Deficient IL-12(p35) gene expression by dendritic cells derived from neonatal monocytes. J Immunol 2001; 166: 2141-2146
127. Trinchieri G. Interleukin-12: a proinflammatory cytokine with immunoregulatory functions that bridge innate resistance and antigen-specific adaptive immunity. Annu Rev Immunol 1995; 13: 251-276
128. Noh LM, Khan MM, Melmon KL. Suppressive characteristics of the cultured umbilical cord blood lymphocytes: enhanced suppression of non specific MLR by short term cultured peripheral blood and rosetted lymphocytes. Dev Comp Immunol 1988; 12: 177-187
129. Mommaas B, Stegehuis-Kamp JA, van Halteren AG, Kester M, Enczmann J, Wernet P, et al. Cord blood comprises antigen-experienced T cells specific for maternal minor histocompatibility antigen HA-1. Blood 2005; 105: 1823-1827
130. Navarrete CV, Gomez J, Borras FE. Cord blood dendritic cells: subsets, functional characteristics and in vitro generation. Leuk Lymphoma 2003; 44: 923-928
131. Osawa M, Hanada K, Hamada H, Nakauchi H. Long-term lymphohematopoietic reconstitution by a single CD34-low/negative hematopoietic stem cell. Science 1996; 273: 242-245
132. Copelan EA. Hematopoietic stem-cell transplantation. N Engl J Med 2006; 354: 1813-1826
133. Ruggeri L, Aversa F, Martelli MF, Velardi A. Allogeneic hematopoietic transplantation and natural killer cell recognition of missing self. Immunol Rev 2006; 214: 202-218
134. Ahmadi H, Baharvand H, Kazemi Ashtiani S, Soleimani M, Sadeghian H, Madjd Ardekani J, et al. Safety of Local Transplantation of Autologus CD133+ Enriched Bone Marrow Cells after Recent Myocardial Infarction. In Press 2007
135. Matsumoto K, Yasui K, Yamashita N, Horie Y, Yamada T, Tani Y, et al. In vitro proliferation potential of AC133 positive cells in peripheral blood. Stem Cells 2000; 18: 196-203
136. Huang Y, Rezzoug F, Chilton PM, Grimes HL, Cramer DE, Ildstad ST. Matching at the MHC class I K locus is essential for long-term engraftment of purified hematopoietic stem cells: a role for host NK cells in regulating HSC engraftment. Blood 2004; 104: 8873-8880
137. Antin JH, Ferrara JL. Cytokine dysregulation and acute graft-versus-host disease. Blood 1992; 80: 2964-2968
138. Ferrara JL. Cytokine dysregulation as a mechanism of graft versus host disease. Curr Opin Immunol 1993; 5: 794-799
139. Via CS, Finkelman FD. Critical role of interleukin-2 in the development of acute graft-versus-host disease. Int Immunol 1993; 5: 565-572
14. Fowler DH, Kurasawa K, Smith R, Eckhaus MA, Gress RE. Donor CD4-enriched cells of Th2 cytokine phenotype regulate graft-versus-host disease without impairing allogeneic engraftment in sublethally irradiated mice. Blood 1994; 84: 3540-3549
141. Cohen SB, Wang XN, Dickinson A. Can cord blood cells support the cytokine storm in GvHD? Cytokine Growth Factor Rev 2000; 11: 185-197
142. Dicker A, Le Blanc K, Astrom G, van Harmelen V, Gotherstrom C, Blomqvist L, et al. Functional studies of mesenchymal stem cells derived from adult human adipose tissue. Exp Cell Res 2005; 308: 283-290
143. In 't Anker PS, Scherjon SA, Kleijburg-van der Keur C, de Groot-Swings GM, Claas FH, Fibbe WE, et al. Isolation of mesenchymal stem cells of fetal or maternal origin from human placenta. Stem Cells 2004; 22: 1338-1345
144. Shih DT, Lee DC, Chen SC, Tsai RY, Huang CT, Tsai CC, et al. Isolation and characterization of neurogenic mesenchymal stem cells in human scalp tissue. Stem Cells 2005; 23: 1012-1020
145. Gotherstrom C, Ringden O, Westgren M, Tammik C, Le Blanc K. Immunomodulatory effects of human foetal liver-derived mesenchymal stem cells. Bone Marrow Transplant 2003; 32: 265-272
146. Campagnoli C, Roberts IA, Kumar S, Bennett PR, Bellantuono I, Fisk NM. Identification of mesenchymal stem/progenitor cells in human first-trimester fetal blood, liver, and bone marrow. Blood 2001; 98: 2396-2402
147. Pittenger MF, Mosca JD, McIntosh KR. Human mesenchymal stem cells: progenitor cells for

cartilage, bone, fat and stroma. Curr Top Microbiol Immunol 2000; 251: 3-11
148. Le Blanc K, Tammik C, Rosendahl K, Zetterberg E, Ringden O. HLA expression and immunologic properties of differentiated and undifferentiated mesenchymal stem cells. Exp Hematol 2003; 31: 890-896
149. Dezawa M, Ishikawa H, Itokazu Y, Yoshihara T, Hoshino M, Takeda S, et al. Bone marrow stromal cells generate muscle cells and repair muscle degeneration. Science 2005; 309: 314-317
150. Gang EJ, Jeong JA, Hong SH, Hwang SH, Kim SW, Yang IH, et al. Skeletal myogenic differentiation of mesenchymal stem cells isolated from human umbilical cord blood. Stem Cells 2004; 22: 617-624
151. Xu W, Zhang X, Qian H, Zhu W, Sun X, Hu J, et al. Mesenchymal stem cells from adult human bone marrow differentiate into a cardiomyocyte phenotype in vitro. Exp Biol Med (Maywood) 2004; 229: 623-631
152. Rangappa S, Entwistle JW, Wechsler AS, Kresh JY. Cardiomyocyte-mediated contact programs human mesenchymal stem cells to express cardiogenic phenotype. J Thorac Cardiovasc Surg 2003; 126: 124-132
153. Hong SH, Gang EJ, Jeong JA, Ahn C, Hwang SH, Yang IH, et al. In vitro differentiation of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells. Biochem Biophys Res Commun 2005; 330: 1153-1161
154. Oswald J, Boxberger S, Jorgensen B, Feldmann S, Ehninger G, Bornhauser M, et al. Mesenchymal stem cells can be differentiated into endothelial cells in vitro. Stem Cells 2004; 22: 377-384
155. Jeong JA, Gang EJ, Hong SH, Hwang SH, Kim SW, Yang IH, et al. Rapid neural differentiation of human cord blood-derived mesenchymal stem cells. Neuroreport 2004; 15: 1731-1734
156. Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, Black IB. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. J Neurosci Res 2000; 61: 364-370
157. Sanchez-Ramos J, Song S, Cardozo-Pelaez F, Hazzi C, Stedeford T, Willing A, et al. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells in vitro. Exp Neurol 2000; 164: 247-256
158. Chen X, Armstrong MA, Li G. Mesenchymal stem cells in immunoregulation. Immunol Cell Biol 2006; 84: 413-421
159. Vanherberghen B, Andersson K, Carlin LM, Nolte-'t Hoen EN, Williams GS, Hoglund P, et al. Human and murine inhibitory natural killer cell receptors transfer from natural killer cells to target cells. Proc Natl Acad Sci USA 2004; 101: 16873-16878
160. Onfelt B, Nedvetzki S, Yanagi K, Davis DM. Cutting edge: Membrane nanotubes connect immune cells. J Immunol 2004; 173: 1511-1513
161. Carlin LM, Eleme K, McCann FE, Davis DM. Intercellular transfer and supramolecular organization of human leukocyte antigen C at inhibitory natural killer cell immune synapses. J Exp Med 2001; 194: 1507-1517
162. Ruggeri L, Capanni M, Martelli MF, Velardi A. Cellular therapy: exploiting NK cell alloreactivity in transplantation. Curr Opin Hematol 2001; 8: 355-359
163. Ristich V, Liang S, Zhang W, Wu J, Horuzsko A. Tolerization of dendritic cells by HLA-G. Eur J Immunol 2005; 35: 1133-1142
164. Hunt JS, Petroff MG, Morales P, Sedlmayr P, Geraghty DE, Ober C. HLA-G in reproduction: studies on the maternal-fetal interface. Hum Immunol 2000; 61: 1113-1117
165. Gomez-Lozano N, de Pablo R, Puente S, Vilches C. Recognition of HLA-G by the NK cell receptor KIR2DL4 is not essential for human reproduction. Eur J Immunol 2003; 33: 639-644
166. Parham P. Killer cell immunoglobulin-like receptor diversity: balancing signals in the natural killer cell response. Immunol Lett 2004; 92: 11-13
167. Moretta L, Moretta A. Killer immunoglobulin-like receptors. Curr Opin Immunol 2004; 16: 626-633
168. Djouad F, Plence P, Bony C, Tropel P, Apparailly F, Sany J, et al. Immunosuppressive effect of mesenchymal stem cells favors tumor growth in allogeneic animals. Blood 2003; 102: 3837-3844
169. Krampera M, Glennie S, Dyson J, Scott D, Laylor R, Simpson E, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide. Blood 2003; 101: 3722-3729
170. 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
171. Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magni M, Milanesi M, Longoni PD, Matteucci P, et al. Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. Blood 2002; 99: 3838-3843
172. Groh ME, Maitra B, Szekely E, Koc ON. Human mesenchymal stem cells require monocyte-mediated activation to suppress alloreactive T cells. Exp Hematol 2005; 33: 928-934
173. Huang W, La Russa V, Alzoubi A, Schwarzenberger P. Interleukin-17A: a T-cell-derived growth factor for murine and human mesenchymal stem cells. Stem Cells 2006; 24: 1512-1518
174. 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
175. Stagg J, Pommey S, Eliopoulos N, Galipeau J. Interferon-gamma-stimulated marrow stromal cells: a new type of nonhematopoietic antigen-presenting cell. Blood 2006; 107: 2570-2577
176. Chan JL, Tang KC, Patel AP, Bonilla LM, Pierobon N, Ponzio NM, et al. Antigen-presenting property of mesenchymal stem cells occurs during a narrow window at low levels of interferon-gamma. Blood 2006; 107: 4817-4824
177. Ildstad ST, Sachs DH. Reconstitution with syngeneic plus allogeneic or xenogeneic bone marrow leads to specific acceptance of allografts or xenografts. Nature 1984; 307: 168-170
178. Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, Ferrer K, McIntosh K, Patil S, et al. Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. Exp Hematol 2002; 30: 42-48
179. Le Blanc K, Tammik L, Sundberg B, Haynesworth SE, Ringden O. Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex. Scand J Immunol 2003; 57: 11-20
180. Zappia E, Casazza S, Pedemonte E, Benvenuto F, Bonanni I, Gerdoni E, et al. Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. Blood 2005; 106: 1755-1761
181. Glennie S, Soeiro I, Dyson PJ, Lam EW, Dazzi F. Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest anergy of activated T cells. Blood 2005; 105: 2821-2827
182. Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. Blood 2005; 105: 1815-1822
183. Maccario R, Podesta 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
184. Rasmusson I, Ringden O, Sundberg B, Le Blanc K. 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
185. Tse WT, Pendleton JD, Beyer WM, Egalka MC, Guinan EC. Suppression of allogeneic T-cell proliferation by human marrow stromal cells: implications in transplantation. Transplantation 2003; 75: 389-397
186. Augello A, Tasso R, Negrini SM, Amateis A, Indiveri F, Cancedda R, et al. Bone marrow mesenchymal progenitor cells inhibit lymphocyte proliferation by activation of the programmed death 1 pathway. Eur J Immunol 2005; 35: 1482-1490
187. 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
188. Gregory CA, Ylostalo J, Prockop DJ. Adult bone marrow stem/progenitor cells (MSCs) are preconditioned by microenvironmental "niches" in culture: a two-stage hypothesis for regulation of MSC fate. Sci STKE 2005; 2005: pe37
189. Deng W, Han Q, Liao L, You S, Deng H, Zhao RC. Effects of allogenic bone marrow -derived mesenchymal stem cells on T and B lymphocytesfrom BXSB mice. DNA Cell Biol 2005; 24: 458-463
190. Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, Giunti D, Cappiello V, Cazzanti F, et al. Human mesenchymal

stem cells modulate B-cell functions. Blood 2006; 107: 367-372
191. Moretta L, Ciccone E, Mingari MC, Biassoni R, Moretta A. Human natural killer cells: origin, clonality, specificity, and receptors. Adv Immunol 1994; 55: 341-380
192. Moretta A, Bottino C, Vitale M, Pende D, Biassoni R, Mingari MC, et al. Receptors for HLA class-I molecules in human natural killer cells. Annu Rev Immunol 1996; 14: 619-648
193. Trinchieri G. Biology of natural killer cells. Adv Immunol 1989; 47: 187-376
194. Sotiropoulou PA, Perez SA, Gritzapis AD, Baxevanis CN, Papamichail M. Interactions between human mesenchymal stem cells and natural killer cells. Stem Cells 2006; 24: 74-85
195. Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Immunoregulatory function of mesenchymal stem cells. Eur J Immunol 2006; 36: 2566-2573
196. Spaggiari GM, Capobianco A, Becchetti S, Mingari MC, Moretta L. Mesenchymal stem cell-natural killer cell interactions: evidence that activated NK cells are capable of killing MSCs, whereas MSCs can inhibit IL-2-induced NK-cell proliferation. Blood 2006: 1484: 107-1490
197. Poggi A, Prevosto C, Massaro AM, Negrini S, Urbani S, Pierri I, et al. Interaction between human NK cells and bone marrow stromal cells induces NK cell triggering: role of NKp30 and NKG2D receptors. J Immunol 2005; 175: 6352-6360
198. Moretta A, Bottino C, Vitale M, Pende D, Cantoni C, Mingari MC, et al. Activating receptors and coreceptors involved in human natural killer cell-mediated cytolysis. Annu Rev Immunol 2001; 19: 197-223
199. 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
200. Zhang W, Ge W, Li C, You S, Liao L, Han Q, et al. Effects of mesenchymal stem cells on differentiation, maturation, and function of human monocyte-derived dendritic cells. Stem Cells Dev 2004; 13: 263-271