

Zdravljenje z matičnimi celicami

Stem cell therapy

Mojca Šimc,¹ Marko Strbad,² Mojca Jež,¹ Primož Rožman¹

¹ Zavod RS za transfuzijsko medicino, Štajmerjeva 6, Ljubljana, 1000 Ljubljana

² Biobanka d.o.o., Prevale 9, OIC Trzin, 1236 Trzin

Korespondenca/

Correspondence:

Mojca Šimc, dr. med.
Zavod RS za transfuzijsko medicino
Štajmerjeva 6,
1000 Ljubljana
tel: +386 1 54 38 100
e-mail: mojca.simc@ztm.si

Ključne besede:

matična celica, celično zdravljenje, diferenciacija, matična celica odraslega

Key words:

stem cell, cell therapy, differentiation, adult stem cell

Citirajte kot/Cite as:

Zdrav Vestn 2012;
81: 634–44

Prispelo: 2. mar. 2011,
Sprejeto: 25. jul. 2011

Izvleček

Kljub napredku medicine na vseh področjih se še vedno srečujemo z boleznimi in s poškodbami, pri katerih z znanjem, zdravili in s podporo tehnologijo, ki so nam na voljo, ne moremo doseči želene kakovosti bolnikovega življenja. Napredek na področju zdravljenja z matičnimi celicami prinaša v prihodnosti upanje za določene bolezni. Predstaviti želimo to hitro razvijajoče se področje. V članku povzemamo lastnosti matičnih celic, različne tipe matičnih celic glede na izvor iz embrionalnih ali iz odraslih tkiv ter razlike v potentnosti. Čeprav trenutno poznamo že številne dejavnike, ki vplivajo na lastnosti matičnih celic, pa moramo še veliko izvedeti o njihovem medsebojnem delovanju. V članku predstavljamo klinična področja, kjer se matične celice že uporabljajo pri zdravljenju, kakor tudi tista, za katera obstaja upravičeno upanje, da bo zdravljenje z njimi v bližnji prihodnosti postala del ustaljenega zdravljenja. Največji potencial matičnih celic je njihova uporaba pri zdravljenju degenerativnih bolezni in travmatskih poškodb, kjer lahko pričakujemo velik učinek na izboljšanje kakovosti bolnikovega življenja. Spoznanja s tega področja pomagajo tudi pri razumevanju rakavih bolezni in s tem odpirajo možnosti za nov pristop k zdravljenju teh bolezni.

Abstract

Despite the progress in medicine, we are nowadays still faced with diseases and injuries, where with the knowledge, drugs and support technology available to us, we cannot achieve the desired quality of patient's life. Progress in stem cell biology may be the hope for certain diseases in the future. The purpose of this article is to present a rapidly advancing field of stem cells. We summarize the properties of stem cells, various types of stem cells according to their origin from the embryonic or adult tissues, and according to their differentiation potential. Although numerous factors that determine the properties of stem cells are currently already known, we still need to know more about their mutual impact. We present the fields of clinical medicine where stem cells are already used for treatment, as well as those, for which there is, a justified hope that stem cell therapy will become part of routine treatment in the near future. The greatest potential of stem cells is probably their use in the treatment of degenerative diseases and traumatic injuries, where we expect a major impact on the patient's quality of life. Similarly, the knowledge of stem cells has also contributed to understanding cancer diseases and thus open up opportunities for new approach to treating these diseases.

Članek je nastal ob pomoči nacionalnega raziskovalnega programa P3―0371 Človeške matične celice-napredno zdravljenje s celicami, ki ga sofinancira ARRS-Javna agencija za raziskovalno dejavnost RS.

Uvod

Odraslo človeško telo je sestavljeno iz več kot 200 različnih tipov celic, ki sestavljajo različna tkiva in organe ter tako zagotavljajo vse potrebne življenjske funkcije. V embrionalnem razvoju se iz matičnih celic (MC) razvije celotni organizem, poleg tega pa imajo MC pomembno vlogo tudi pri odraslem človeku, saj v eni minuti odmre približno 300 milijonov celic, ki jih telo nadomešča le s pomočjo majhnega števila MC.¹ MC so nediferencirane celice zarodka, ploda ali odraslega, ki imajo tri ključne lastnosti. Prva je sposobnost dolgotrajnega deljenja in tvorbe sebi identičnih kopij (t. i. samoobnavljanje). Druga lastnost je sposobnost tvorjenja različnih usmerjenih potomk in s tem diferenciacija v bolj usmerjene tkivne celice (t. i. potentnost).² Glede na slednjo lastnost ločimo totipotentne, pluripotentne, multipotentne in unipotentne MC.³ Tretja lastnost MC je plastičnost – po presaditvi v novo okolje celice pridobijo vse lastnosti tega novega okolja, pa čeprav se to nahaja v drugem kličnem listu (Tabela 1 in Slika 1).

Glede na izvor ločimo MC zarodka, ploda in odraslega. Po klasični definiciji so embrionalne matične celice (EMC) tiste, ki jih najdemo samo v zarodku, MC ploda v plodu in v popkovnični krvi, MC odraslega pa v tkivih odraslega človeka. Pri odrasli osebi poznamo krvotvorne matične celice (KMC), mezenhimske matične celice (MMC) in še nekatere druge vrste MC. V zadnjih letih je postalo jasno, da se v tkivih odraslega človeka in živali lahko nahajajo pravzaprav vse vrste MC, ki skrbijo za regeneracijo. MC so

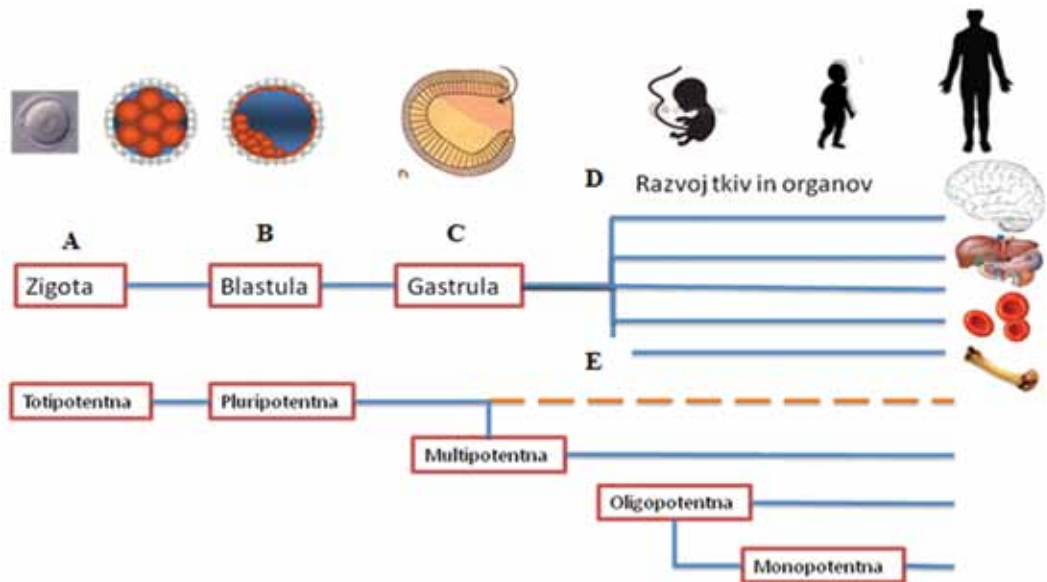
našli v koži, živčnem sistemu, trebušni slinavki, srcu, jetrih, gonadah, maščobnem tkivu, očesu in tudi v drugih tkivih.^{2,4} V preteklosti so MC odraslega opisovali kot multipotentne, sodobne študije pa so pokazale, da so med njimi tudi pluripotentne MC, ki so zelo plastične in so sposobne spremembe v celico drugega kličnega lista ali v odrasle celice drugega tkiva. Številni avtorji ne podpirajo več klasičnega koncepta plastičnosti, saj jo pripisujejo temu, da tkiva vsebujejo heterogeno populacijo MC, med katerimi je tudi zelo majhna skupina MC z embrionalnimi lastnostmi, ki pa je bila dolgo pod mejo zaznave.⁴⁻⁷ Prav te MC bi bile lahko alternativa EMC za uporabo v regenerativni medicini, saj gre za lasten, t. j. avtologni vir celic, katerih pridobivanje ni etično sporno, je pa po drugi strani tehnično zelo zahtevno, saj je teh MC v odraslih tkivih izjemno malo. V študijah se poleg MMC vse bolj uveljavljajo tudi MC iz drugih odraslih tkiv, npr. živčne MC, predvsem pa so zaradi enostavne dostopnosti zanimive tudi MC iz maščobnega tkiva.⁸

Za zdravljenje bi bile zaradi svojih izjemnih regenerativnih sposobnosti idealne EMC, ki jih *in vitro* namnožimo v velikih količinah in nato diferenciramo v kateri koli tip celic. Poleg tega, da je njihovo pridobivanje etično sporno, da je možna zavrnitev presajenih celic tujega izvora, pa ima zdravljenje z njimi tudi možne stranske učinke, od katerih je najbolj nevaren nastanek teratomov.⁹ Nova tehnologija, s katero reprogramiramo odrasle celice v stanje podobno EMC, ponuja možnost pridobivanja lastnih celic s pluripotentnimi lastnostmi in z ve-

Tabela 1: Potentnost matičnih celic.³

Matične celice	Lastnosti	Umeščenost
totipotentne	tvorijo lahko celotni organizem, tudi trofoblast	zigota in blastomere do stadija blastociste
pluripotentne	diferencirajo se v vse telesne celice vključno spolne, ne pa več v trofoblast	embrionalne MC, izolirane iz notranje celične mase blastociste
multipotentne	sposobne diferenciacije samo v tkiva tistega kličnega lista, iz katerega izhajajo	tkivno specifične MC iz odraslih tkiv, npr. krvotvorne in mezenhimske MC
unipotentne ali celice prednice	sposobne diferenciacije le v eno celično vrsto, še vedno pa imajo sposobnost samoobnavljanja	progenitorske celice v koži, mišicah in drugih tkivih

Slika 1: Matične celice v različnih življenjskih obdobjih. V različnih razvojnih stopnjah v razvoju osebkov se nahajajo MC z različnim razvojnim potencialom. Po trenutno prevladujoči teoriji se s staranjem osebkov zmanjšuje potentnost MC. A Zigota je totipotentna. B Notranjo celično maso blastociste sestavljajo pluripotentne celice, zunanja plast celic pa tvori trofoblast. C V gastrulaciji pride do oblikovanja treh embrionalnih plasti, katerih MC so multipotentne. D V odraslem človeku se nahajajo različne multipotentne, oligopotentne in monopotentne MC, ki skrbijo za obnavljanje tkiv. E V zadnjem času poročajo o odkritju populacije MC s široko potentnostjo tudi v tkivih odraslega človeka.



likim diferencijskim potencialom. Z njo lahko v odrasle somatske celice s transfekcijo prenesemo embrionalne gene, ki se značilno močno izražajo v pluripotentnih EMC.⁹ Celice, pridobljene s to tehnologijo, imenujemo inducirane pluripotentne MC (iPS).⁹ Pri klinični uporabi teh celic pa zaenkrat naletimo na isto oviro kot v primeru EMC, to je nevarnost tvorbe teratomov.⁹

Uporaba matičnih celic v kliniki

Glavni cilj zdravljenja s celicami je nadomestitev poškodovane celice, kar lahko storimo s spodbujanjem bolnikovih lastnih MC ali z vnosom MC drugega izvora,^{10,11} pri čemer lahko poleg celic uporabljamo tudi biomateriale.¹² MC ponavadi najprej osamimo, nato jih *in vitro* diferenciramo v funkcionalne celice in te presadimo na prizadeto mesto ali tja presadimo nediferencirane MC, za katere pričakujemo, da se bodo zaradi signalov v okolju diferencirale v ustrezen celični tip.¹³

Pri vsej medijski pozornosti, ki jo namenjajo EMC in celicam iPS, pogosto pozabimo, da so MC že desetletja v klinični uporabi. Presaditev KMC že leta uporabljajo za zdravljenje določenih krvnih bolezni ter različnih vrst raka,¹⁴ stanj hude imunske pomanjkljivosti¹⁵ in prirojenih presnovnih motenj.¹⁶ V zadnjih letih MC uporabljajo tudi za gojenje avtolognega epidermisa in očesnih tkiv,^{17,18} nedavno pa so španski zdravniki uspeli pri bolniku obnoviti tudi

sapnik, kar je bila senzacija v tkivnem inženirstvu.¹² O posameznih uspešnih primerih celične terapije z MC poročajo tudi na področju zdravljenja bolezni živčevja, srca in ožilja ter genskih bolezni.^{10,19,20} Uporaba lastnih celic pri novih načinih zdravljenja z MC je v večini primerov prav gotovo zaželeno, vsekakor pa ni nujna, saj je tudi presaditev tujih MC dandanes že ustaljen postopek, pri katerem z iskanjem najbolj skladnih darovalcev in imunosupresivnim zdravljenjem preprečimo ali vsaj zmanjšamo zavrnitvene reakcije in bolezen presadka proti gostitelju (GVHD).¹⁴ Spisek bolezni, pri katerih si obetajo uspešno zdravljenje z MC, je prav zato postal zelo obširen (Tabela 2).

Od obetov do kliničnih rezultatov novih oblik zdravljenja pa je ponavadi zelo dolga pot. Najbolj zanesljiv podatek o dejansko izvedenih, trenutno potekajočih in načrtovanih kliničnih študijah novih oblik zdravljenja z matičnimi celicami je dostopen na spletni strani ustanove NIH iz ZDA. Ta navaja, da je bilo v svetu dosedaj izvedenih ali pričtetih 3687 uradno registriranih in potrjenih študij, od tega 2339 v ZDA in 822 v Evropi. Klinične študije so izvedli na fantastičnem številu kar 1317 različnih bolezenskih diagnoz! Trenutno (na dan 30.08.2011) še vedno sprejemajo bolnike v 1648 odprtih kliničnih študij, od tega v 677 študij na otrocih do 17. leta starosti. Trenutno poteka več kot 400 kliničnih študij z avtolognimi matičnimi celicami.²¹ Skupno lahko trdimo, da

to izjemno število priča o velikem pričakovanju strokovne javnosti do te vrste zdravljenja.

Krvne bolezni in bolezni imunskega sistema

S presaditvijo krvotvornih MC iz kostnega mozga, periferne krvi in popkovnične krvi zdravimo razne oblike rakavih bolezni, določene dedne in imunske bolezni, lahko pa jih uporabimo tudi za zdravljenje avtoimunskih bolezni. Za zdravljenje večinoma uporabljamo alogenske KMC zdravih dajalcev, pri določenih boleznih pa tudi avtologne KMC bolnika. V zadnjih dveh desetletjih pa se vse bolj uveljavlja presaditev KMC iz popkovnične krvi, ki jo je od leta 2008 mogoče shraniti tudi v okviru javne banke na Zavodu RS za transfuzijsko medicino.^{22,23}

Bolj ali manj uspešni začetki presaditev KMC segajo v drugo polovico prejšnjega stoletja. Leta 1957 je namreč kasnejši Nobelov nagrajenec E. D. Thomas opravil prve presaditve pri bolnikih z akutno levkemijo, l. 1959 pa mu je sledil Mathe pri poškodovancih, ki so prejeli kritični odmerek sevanja. Skupina pod vodstvom E. D. Thomasa je nato v Seattlu l.1969 uspešno začela s presaditvami kostnega mozga sorodnih skladnih dajalcev pri bolnikih z levkemijo in aplastično anemijo.²⁴ Presaditve KMC so dobro opisane tudi v slovenski literaturi, vsako leto jih v svetu opravijo pri več kot 20. 000 bolnikih. Alogenska presaditev KMC je uveljavljeni način zdravljenja pri akutni mieloični in akutni limfatični levkemiji, določenih oblikah kronične mieloične levkemije, nekaterih neHodginovih limfomih, mielodisplastičnih sindromih, talasemiji, anemiji srpastih celic, aplastičnih anemijah in anemijah Blackfan-

Tabela 2: Bolezni, pri katerih si obetamo uspešnost zdravljenja z MC. Prirejeno po Mimeaultu, 2006.²

AVTOIMUNSKÉ BOLEZNI ankilozirajoči spondilitis avtoimunska hemolitična anemija avtoimunska trombocitopenična purpura sladkorna bolezen (tip I) Goodpasturjev sindrom Gravesova bolezen Hashimotov tiroiditis miastenija gravis pemfigus vulgaris perniciozna anemija revmatska vročica spontana neplodnost krioglobulinemija revmatoidni artritis sistemski eritematozni lupus multipla skleroza	SOLIDNI TUMORJI nevroblastom rak dojke tumorji spolnih celic možganski tumorji sarkom mehkih tkiv Ewinov sarkom rak jajčnikov rak pljuč Wilmsov tumor osteosarkom rak ledvic retinoblastom	KRVNE IN IMUNSKÉ BOLEZNI mielodisplastični sindromi mieloproliferativne bolezni defekti KMC fagocitne bolezni histiocitne bolezni dedne bolezni trombocitov dedne bolezni eritrocitov dedne okvare metabolizma dedne bolezni imunskega sistema levkemije limfoproliferativne bolezni bolezni plazmatk
JETRNE BOLEZNI ciroza	BOLEZNI ŽIVČEVJA Alzheimerjeva bolezen Parkinsonova bolezen Huntingtonova bolezen bolezni motoričnega nevrona bolezni perifernega živca možganska kap poškodbe hrbtenjače	POŠKODBE opekline celjenje ran, mehkih in opornih tkiv slabo celjeni zlomi kosti
BOLEZNI PLJUČ KOPB emfizem pljučna fibroza bronhopulmonalna displazija pljučna hipertenzija	PLEŠAVOST	BOLEZNI KOSTI prirojene bolezni kosti
NEPLODNOST motena spermatogeneza in oogeneza	SRČNO-ŽILNE BOLEZNI akutni miokardni infarkt kardiomiopatija	OČESNE BOLEZNI bolezni mrežnice makularna degeneracija kemične opekline
MIŠIČNE BOLEZNI mišične distrofije metabolne bolezni mišic	GENSKÉ BOLEZNI cistična fibroza bulozna epidermoliza	

-Diamond ter prirojenih stanjih hude imunske pomanjkljivosti.¹⁴ Za otroke s stanjem hude imunske pomanjkljivosti je presaditev alogenskih KMC edino upanje za preživetje. Presaditev ima tudi do 95-odstotno uspešnost, če jo opravimo v prvih 28. dneh po rojstvu.¹⁵ Avtologno presaditev KMC priporočajo tudi pri nekaterih oblikah akutne mieloične levkemije, Hodgkinovi bolezni, neHodgkinovih limfomih (predvsem pri plazmocitomu) in primarni amiloidozi tipa AL.¹⁴ Zanimivo je, da pri bolnikih s sistemsko sklerozo opažajo stabiliziranje ali izboljšanje pljučne funkcije in dramatično izboljšanje kožne fibroze celo 8 let po presaditvi avtolognih KMC.²⁵

Bolezni živčevja

Dolgo je veljalo, da se centralni živčni sistem po poškodbi ne more obnoviti, danes pa vemo, da vsebuje tudi majhno populacijo živčnih MC, ki so jih že uspešno osamili in namnožili *in vitro*.²⁶ Določene nevrološke bolezni so posledica odmiranja nevronov ali opornih celic glije. Pri Parkinsonovi bolezni nadomeščanje odmrlih celic z novimi dopaminergičnimi nevroni, nastalimi iz MC, predstavlja logični način zdravljenja bolezni.^{26,27} Večina poskusov še vedno poteka na živalih. Mišje ali humane EMC danes že lahko diferenciramo in namnožimo v številne dopaminergične nevrone, če pa jih presadimo v možgane, kažejo dobro preživetje.²⁸ Če so živčne MC presadili v poškodovane možgane podgan, se je njihova zmožnost učenja in pomnenja značilno povečala, kar pomeni, da je prišlo do regeneracije okvarjenih nevronov.²⁹ Obetavni so tudi poskusi usmerjenega gojenja človeških MC v mielin-producirajoče celice,²⁷ hkrati pa se kot način zdravljenja multiple skleroze že uveljavlja tudi avtologna presaditev KMC, ki kaže pozitiven učinek pri zmanjšanju vnetnih parametrov in napredovanju bolezni (predvsem pri hitro napredujočih oblikah multiple skleroze).³⁰ Obstajajo tudi klinična poročila o presaditvi MC iz popkovnične krvi v poškodovano hrbtenjačo, ki je omogočila, da je 37-letna bolnica shodila z oporo, pred tem pa je bila priklenjena na invalidski voziček.¹⁰ Tudi pri 26 od 39 bolnikov s kronično

poškodbo hrbtenjače je prišlo do izboljšanja izzvanih somatosenzoričnih potencialov po zdravljenju z lastnimi KMC iz periferne krvi v obdobju opazovanja 2,5 let.³¹ Leta 2009 je podjetje Geron dobilo dovoljenje za izvedbo prve klinične študije z EMC, ki so jih *in vitro* diferencirali v celice glije in s katerimi nameravajo zdraviti poškodbe hrbtenjače. Zaradi razvoja cist na živalskem modelu so klinično študijo začasno prekinili, vendar jo od avgusta 2010 zopet nadaljujejo.^{21,32,33} Precej pozornosti so zbudile tudi začetne klinične študije zdravljenja otroške paralize z avtolognimi MC iz popkovnične krvi. Kaže, da bo potrebno še precej poskusov, preden bo ta način zdravljenja dosegel zadovoljivo raven.³⁴

Bolezni srca in ožilja

Okvara srčne mišice je običajno posledica odmiranja kardiomiocitov. Srce sicer vsebuje lastne MC, vendar pa je njihovo število premajhno, da bi lahko nadomestile manjkajoče celice. Klinične študije na tem področju potekajo v različnih državah (Finska, Poljska, Brazilija, Kanada, Nemčija itd.), saj so bili rezultati kliničnih študij faze I in II zelo obetavni.³² Uporabljajo dva pristopa – prvi je spodbujanje endogenih srčnih MC s specifičnimi dejavniki, npr. z G-CSF,¹¹ drugi pa uporaba MC drugega izvora.³⁵ Dosedaj so uporabljali predvsem bolnikove lastne MC iz kostnega mozga ali stimulirane periferne krvi. Metaanaliza o učinkovitosti zdravljenja z MC po akutnem miokardnem infarktu je pokazala, da je prišlo do izboljšanja krčljivosti levega ventrikla, vendar pa hkrati ugotavljajo, da zdravljenje z MC ni imelo vpliva na remodeliranje levega ventrikla.¹⁹ V Sloveniji se je v l. 2010 končala klinična študija faze II, ki je pokazala, da bi intrakoronarna presaditev lastnih CD34+ MC pri bolnikih z dilatativno kardiomiopatijo lahko izboljšala ventrikularno remodeliranje, lahko bi vodila do boljše fizične tolerace in potencialno izboljšanja preživetja pri omenjenih bolnikih.³⁵

Bolezni in poškodbe kože

MC v kombinaciji z biomateriali in ravnimi faktorji uporabljajo pri zdravljenju

opeklin in velikih ran ter tudi nekaterih genetskih bolezni kože. Za gojenje kože oz. za izdelavo gojenega avtolognega epidermisa uporabljajo MMC. Enostavni kožni nadomestki iz gojenih fibroblastov so cenejši in enostavnejši za pridobivanje, vendar MC omogočajo še neoangiogenezo, zmanjšujejo vnetje ter tako pospešijo rehabilitacijo bolnika.¹⁷ Presaditev alogenskih KMC je dosegla vidno izboljšanje pri 6 pediatričnih bolnikih s hudo obliko gensko pogojene bulozne epidermolize, pri kateri so celice začele tvoriti prej manjkajoči kolagen.³⁶ Smo tudi korak bliže zdravljenju plešavosti, kar je posledica spoznanja, da priželjc vsebuje celice, ki se v ustreznem mikrookolju razvijejo v funkcionalne celice kože in multipotentne celice lasnih mešičkov.³⁷

Bolezni in poškodbe kosti ter hrustanca

Mezenhimske MC omogočajo zdravljenje poškodb kosti in hrustanca ter boljše prijemanje presadkov v dentalni medicini.³⁸ Že vrsto let uporabljamo metodo zdravljenja slabo celjenih ali nezaceljenih zlomov in drugih poškodb dolgih kosti z MC iz kostnega mozga, s kostno maso in trombocitnim gelom tudi v Sloveniji.³⁹ Spodbudni so tudi rezultati zdravljenja prirojene bolezni kosti *osteogenesis imperfecta* s presaditvijo MC iz kostnega mozga.³⁸

Bolezni in poškodbe skeletnih mišic

Regeneracija skeletnih mišic je v primeru poškodb ali degenerativnih bolezni, kot je mišična distrofija, odvisna od satelitnih ali miogenih progenitornih celic. Pri zdravljenju mišične distrofije z intramuskularnimi injekcijami teh celic se še vedno srečujejo s številnimi težavami.⁴⁰ Mioblasti predstavljajo zanimiv pristop tudi k zdravljenju stresne urinske inkontinence. Rezultati sicer nerandomiziranih študij so obetavni, saj kažejo na izboljšanje pri večini zdravljenih bolnikov. Predvsem zaradi enostavne dostopnosti pa potekajo številne študije uporabe mioblastov tudi pri srčnem popuščanju.⁴⁰

Sladkorna bolezen

Vzrok sladkorne bolezni je napaka v produkciji ali aktivnosti hormona inzulina, ki uravnava raven glukoze. Kljub zdravljenju se pri bolnikih s sladkorno boleznijo pojavljajo številni z boleznijo povezani zapleti, ki močno zmanjšajo kakovost življenja. V več študijah so pokazali, da lahko MC *in vitro* diferenciramo v celice, ki proizvajajo inzulin. Različnim protokolom, ki jih uporabljajo pri diferenciaciji v β -celice *in vitro*, je skupna omejena funkcija in nizek odstotek inzulins-producirajočih celic.³² V kliničnih študijah uporabljajo predvsem avtologne odrasle MC kostnega mozga. Potencial za zdravljenje bolezni pa so pokazale tudi MC iz maščobe in popkovnične krvi. MC vbrizgajo neposredno v gastroduodenalno arterijo. Drugi pristop pa temelji na spodbujanju preživelih MC trebušne slinavke, ki naj bi se diferencirale v funkcionalne inzulins-producirajoče β -celice.^{2,21,41} Končni rezultati teh postopkov so zaenkrat še nezadovoljivi.

Bolezni jeter

Funkcijo cirotičnih jeter je mogoče izboljšati s presaditvijo avtolognih MC.⁴²⁻⁴⁴ Pri zdravljenju uporabljajo različne populacije KMC, med katerimi je obetavna subpopulacija MC CD133+ in CD34+, ki jo dobimo tako iz aspiratov kostnega mozga kot tudi iz stimulirane periferne krvi s citaferozo.^{42,43} V nekaterih primerih so MC *in vitro* še dodatno namnožili in delno diferencirali.⁴⁴ KMC lahko vračamo z infuzijo v periferno veno, vbrizganjem v hepaticno arterijo ali v portalno veno, po čemer poročajo o značilnem izboljšanju jetrne funkcije, ki je nastopilo že hitro in je vztrajalo vsaj 12 mesecev.^{42-44,45} Največja klinična raziskava je zajela 48 bolnikov.⁴⁴ Izboljšanje jetrne funkcije, sicer manjše kot pri uporabi MC, pa opažajo tudi pri stimulaciji z G-CSF.⁴⁵

Bolezni in okvare pljuč

Do nedavnega so določene poškodbe pljučnega tkiva veljale za nepopravljive, vendar tudi v pljučih MC do neke mere zavirajo degeneracijo.⁴⁶ Ko ne morejo več vzdrževati homeostaze tkiva, prihaja do akutnih in

kroničnih boleznih, ki jih navadno spremljata fibroza in odmiranje pljučnega epitela. Od leta 2009 do jeseni 2010 je v ZDA potekala klinična študija II faze, v kateri so testirali pripravek *Prochymal* (intravenska infuzija alogenskih MMC) za zdravljenje kronične obstruktivne pljučne bolezni (KOPB).^{21,32} Pokazalo se je, da je *Prochymal* varen pripravek, da sicer zmanjšuje vnetje, vendar se pljučna funkcija bolnikov ni značilno izboljšala.²¹ Z MC bi lahko morda zdravili tudi emfizem, pljučno fibrozo, akutno poškodbo pljuč, pljučno hipertenzijo, akutni sindrom dihalne stiske in bronhopulmonarno displazijo pri otrocih.⁴⁶ Pri živalih so ugotovili, da vbizganje MMC sproži imunomodulacijo in angiogenezo, kar pomaga pri zdravljenju akutnih poškodb in hudi astmi, kljub temu, da ne pride do prijemanja celic na mesto poškodbe.⁴⁷ MMC, epitelne progenitorske celice in KMC pa preizkušajo tudi kot vektor vnašanja antitumorskih in proapoptotških spojin.⁴⁶ Odmeven primer uspešnega tkivnega inženirstva v zadnjem času je bila uspešna *in vitro* konstrukcija sapnice iz darovane decelularizirane sapnice, poseljene s celicami, pridobljenimi iz MMC bolnice.¹²

Očesne bolezni

Matične celice različnega izvora (EMC, MC mrežnice, živčne MC, MC iz KM) imajo potencial za obnovo uničenega površinskega očesnega tkiva, veliko pa si obetajo tudi pri njihovi uporabi za namen zdravljenja različnih degenerativnih boleznih mrežnice.^{48,49} Med letoma 1998 in 2006 je skupina pod vodstvom Graziella Pellegrinija uspešno osamila MC iz limbusa zdravega očesa, jih gojila *in vitro* in presadila nazaj 112 bolnikom s poškodbami roženice, pri katerih so med večletnim spremljanjem v 76 % potrdili popolno ali delno izboljšanje vida.⁴⁹ Upajo, da bodo za zdravljenje lahko uporabili tudi MC iz drugih virov.⁴⁹ Trenutno poteka več kliničnih študij z uporabo MC iz KM za zdravljenje sprememb Bechetove bolezni, pigmentnega retinitisa, bolezni mrežnice in avtoimunske retinopatije.²¹

Družba Advanced Cell Technology ima dovoljenje za uporabo pigmentnih epitelnih progenitornih celic v 2 kliničnih študijah faze I/II, in sicer pri zdravljenju Stargardove makularne distrofije in suhe (s starostjo povezane) makularne degeneracije.⁸

Imunomodulacija z matičnimi celicami

Zaradi izločanja rastnih faktorjev in citokinov delujejo MMC tudi imunomodulatorno – v mešanih limfocitnih kulturah zavirajo rast limfocitov T, omogočajo dolgotrajno prijetje kožnih nadomestkov, pri presaditvah tujih KMC zmanjšajo resnost bolezni GVHD ter pospešujejo prijetje KMC v prejemniku. Njihova prihodnost je zato obetavna tudi pri zdravljenju avtoimunskih vnetij.⁵⁰ Od leta 2005 potekajo tudi študije različnih faz s celičnim pripravkom *Prochymal*, ki naj bi bil uporaben še za nekaj indikacij, kot so npr. Crohnova bolezen, diabetes tipa I, srčni infarkt in KOPB. *Prochymal* naj bi zmanjševal vnetje in na celični ravni pomagal pri regeneraciji poškodovanega tkiva,³² vendar so l. 2009 objavili, da ni učinkovitejši od placeba.^{21,51} Da je presaditev MMC (apliciranih intratekalno in intravensko) pri bolnikih z multiplo sklerozo in amiotrofično lateralno sklerozo klinično izvedljiv in relativno varen postopek, ki inducira takojšni imunomodularni učinek, je pokazala tudi klinična študija pri 34 bolnikih.⁵²

Zdravljenje rakavih boleznih

Poleg zdravljenja hematoloških boleznih že desetletja poznamo tudi zdravljenje drugih vrst raka s presaditvijo KMC v kombinaciji z obsevanjem ali s kemoterapijo, zaradi česar krvotvorno tkivo bolnika propade, nato pa ga nadomestimo s presaditvijo lastnih ali tujih KMC. Te prerastejo bolnikov kostni mozeg in obnovijo vse ustrezne krvotvorne celične linije, kar vzpostavi tako hematopoezo kot ustrezne imunske funkcije.¹⁴ V novejših študijah različnih vrst raka, npr. raka dojke, možganskih tumorjev in še posebej levkemij, so pri bolnikih odkrili majhno skupino mutiranih celic, t. i. rakave MC, ki so v mnogih lastnostih podobne normal-

nim MC s potencialom samoobnavljanja, kar daje tumorju sposobnost rasti in širjenja po telesu. Čeprav vloga tumorskih MC še ni popolnoma jasna, na podlagi teh spoznanj postaja jasno, da je za učinkovito zdravljenje raka potrebno izkoreniniti prav rakave MC, kar predstavlja nov pristop protirakavih načinov zdravljenja.⁵³

Zdravljenje neplodnosti

Zdravljenje neplodnosti z MC postaja alternativa oploditvi *in vitro*, saj je znano, da se spolne celice razvijejo iz EMC. Tudi odrasle MC se *in vitro* lahko diferencirajo v germinalne celice.⁵⁴ V slovenski raziskavi so avtorji pokazali, da so v površinskem epitelu jajčnika žensk, ki niso imele naravno prisotnih foliklov in jajčnih celic, prisotne MC, ki se v pogojih *in vitro* lahko razvijejo v jajčnim celicam podobne celice in druge tipe celic.⁷ Oblike neplodnosti, pri katerih bolniki nimajo lastnih spolnih celic ali pa so te nerazvite, bi lahko zdravili z uporabo spolnih celic, razvitih iz bolnikovih MC *in vitro*, vendar pa moramo prej premagati še mnoge genetske in epigenetske ovire. Nekateri dvomijo o funkcionalnosti tako pridobljenih zrelih gamet, kljub temu, da so se pri miših iz njih že razvili zdravi potomci.⁵⁵ Res pa je, da pri človeških celicah poskusi zaenkrat še niso bili tako uspešni.

Prirojene presnovne motnje

Skupina prirojenih presnovnih motenj je zelo obširna, skupna pa jim je genetska pogojenost, bodisi da gre za mutacije genov, ki kodirajo nek encim, bodisi za mutacije genov za beljakovino, potrebno za prenos presnovkov. Posledice kopičenja nepretvorjenega substrata, stranskih presnovnih poti ali/in pomankanja produkta vodijo do pojava simptomov, običajno že v zgodnjem otroštvu, in nezdravljene okvarijo otrokov psihomotorni razvoj. Alogenska presaditev KMC je že standardni način zdravljenja prirojenih presnovnih motenj, vendar samo za določene bolezni iz te skupine, kot so npr. Hurlerjev sindrom, na kromosom X-vezana adrenolevkodistrofija, metakromatska levkodistrofija in globoidna celična levkodistrofija. Pri tem uporabljajo MC iz KM,

popkovnične ali periferne krvi.¹⁶ Uspešnost presaditve KMC se kaže v daljši življenjski dobi, izboljšanju kliničnega stanja, preprečitvi ali zmanjšanju dolgoročnih posledic bolezni, vendar jo moramo opraviti dovolj zgodaj, še preden se pojavijo nepovratne poškodbe.¹⁶ Študije na področju presaditve KMC pri prirojenih presnovnih motnjah še vedno potekajo,²¹ hkrati pa se razvijajo tudi različni načini zdravljenja, zasnovane na genski terapiji.

Gensko zdravljenje z matičnimi celicami

Nekatere bolezni, ki so posledica genske okvare, kot so bolezni imunske pomanjkljivosti,¹⁵ prirojene napake metabolizma¹⁶ in še nekatere hematopoetske bolezni, že lahko zdravimo s presaditvijo KMC.¹⁴ Veliko pa si obetajo tudi od zdravljenja zgoraj omenjenih bolezni z gensko spremenjenimi KMC ali MMC.^{57,58} Večino študij so opravili na živalih, vendar so v teku tudi klinične študije genskega zdravljenja raka dojke pri ljudeh.⁵⁸ Bolnik z epidermalno motnjo (bulozno epidermolizo) je že uspešno prejel gojen avtologni epidermis, v katerem je bil okvarjen gen popravljen *ex vivo*.²⁰ Nedavno so v reviji Nature poročali tudi o prvem primeru uspešnega genskega zdravljenja talasemije z uporabo transduciranih avtolognih KMC pri bolniku, ki je bil že od mladosti odvisen od mesečnih transfuzij in ni mogel dobiti skladnega dajalca KMC za presaditev, ki je sicer edini možni način zdravljenja.⁵⁹ Avtologne gensko spremenjene KMC pa so se izkazale kot uspešen način zdravljenja tudi pri 2 primerih Wiscott-Aldrichovega sindroma, po katerem je prišlo do občutnega izboljšanja kliničnega stanja bolnikov.⁶⁰

»Lažno« zdravljenje z matičnimi celicami

Res je, da se MC že uspešno uporabljajo pri določenih aplikacijah v klinični praksi, vendar moramo kljub želji po zdravju vse obljube obravnavati realno. Zdravljenje z MC je predvsem živahno v državah z bolj permisivno zakonodajo. S presaditvijo KMC iz popkovnične krvi, vbrizganjem

rastnih faktorjev in rehabilitacijo zdravijo širok spekter bolezni, vendar pri tem na žalost opažajo pojav številnih nepreverjenih zdravljenj. Na medmrežju je mogoče najti najrazličnejše klinike, ki ponujajo zdravljenje z MC. Metode teh klinik so žal mnogokrat poenostavljene, klinično nepreverjene in lahko povzročajo resne stranske učinke, o rezultatih njihovih postopkov pa ni kredibilnih podatkov, ker temeljijo večinoma na anekdotičnih podatkih, zato verjetno obljublja več, kot je trenutno mogoče.

Zaključek

Napredek pri razumevanju biologije MC v zadnjih letih je omogočil njihovo uporabo v klinični praksi. Kljub vsem uspehom in odkritjem še vedno nismo dosegli široke uporabe MC v regenerativni medicini. Kot vsako novo zdravljenje so MC na začetku izzvale izjemno velika pričakovanja in upanja, od katerih so mnoga zaenkrat še vedno vprašljiva. Gojenje organov in tkiv *in vitro*, zdravljenje multiple skleroze, poškodb hrbtenjače ter ostalih poškodb in degenerativnih bolezni je šele v povojih in ostaja naloga za bližnjo prihodnost. Znanje o uporabnosti matičnih celic je potrebno najprej prenesti v različne zdravniške specializacije in obenem vložiti veliko dodatnega truda in sredstev v nujno potrebne predklinične in klinične raziskave. Kljub vsemu obstaja verjetnost, da bomo z razumevanjem delovanja matičnih celic v naslednjih desetletjih temeljito spremenili razvoj medicinske vede. Ob vsem optimizmu se moramo zavedati tudi nevarnosti, ki jo predstavlja kombinacija obupanih bolnikov, zanesenjaških raziskovalcev, senzacij željnih novinarjev in pritiskov komercialnih podjetij, ki pozabljajo, da je ob vpeljavi vsakega novega zdravljenja potrebno najprej zadostiti nujnim zahtevam kot sta učinkovitost in varnost.

Okrajšave

EMC:	matična celica zarodka
G-CSF:	granulocitni, kolonije stimulirajoči faktor
GVHD:	bolezen presadka proti gostitelju
iPS:	inducirana pluripotentna matična celica
KMC:	krvotvorna matična celica
KOPB:	kronična obstruktivna pljučna bolezen
MC:	matična celica
MMC:	mezenhimska matična celica

Literatura

1. Watt FM, Driskell RR. The therapeutic potential of stem cells. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 2010; 365(1537): 155–63.
2. Mimeault M, Batra SK. Concise review: recent advances on the significance of stem cells in tissue regeneration and cancer therapies. *Stem Cells* 2006; 24(11): 2319–45.
3. Rožman P, Jež M.. Matične celice in napredno zdravljenje (zdravljenje s celicami, gensko zdravljenje in tkivno inženirstvo)–pojmovnik. [Ljubljana: Društvo za celično in tkivno inženirstvo Slovenije, 2010, p. 1–90 dosegljivo na http://www.dctis.org/drustvo/o_nas.php
4. Zipori D. The stem state: plasticity is essential, whereas self-renewal and hierarchy are optional. *Stem Cells*, 2005; 23(6): 719–26.
5. Frisen J. Stem cell plasticity? *Neuron* 2002; 35(3): 415–8.
6. Ratajczak MZ, Zuba-Surma EK, Wysoczynski M, Ratajczak J, Kucia M. Very small embryonic-like stem cells: characterization, developmental origin, and biological significance. *Experimental Hematology* 2008b; 36 (6): 742–51.
7. Virant-Klun I, Zech N, Rozman P, Vogler A, Cvjetanin B, Klemenc P, et al. Putative stem cells with an embryonic character isolated from the ovarian surface epithelium of women with no naturally present follicles and oocytes. *Differentiation* 2008; 76(8): 843–56.
8. Trounson A, Thakar RG, Lomax G, Gibbons D. Clinical trials for stem cell therapies. *BMC Med*. 2011; 10; 9: 52.
9. Leeb C, Jurga M, McGuckin C, Moriggl R, Kenner L. Promising New Sources for Pluripotent Stem Cells. *Stem Cell Reviews and Reports* 2010; 6(1): 15–26.
10. Kang KS, Kim SW, Oh YH, Yu JW, Kim KY, Park HK, et al. A 37-year-old spinal cord-injured female patient, transplanted of multipotent stem cells from human UC blood, with improved sensory perception and mobility, both functionally and morphologically: a case study. *Cytotherapy* 2005; 7(4): 368–73.
11. Urbanek K, Rota M, Cascapera S, Bearzi C, Nascimbene A, De Angelis A, et al. Cardiac stem cells possess growth factor-receptor systems that after activation regenerate the infarcted myocardium, improving ventricular function and long-term survival. *Circ Res* 2005; 97: 663–73.
12. Macchiarini P, Jungebluth P, Go T, Asnaghi MA, Rees LE, Cogan TA, Dodson A, et al. Clinical transplantation of a tissue-engineered airway. *Lancet* 2008; 372: 2023–30.
13. Soto-Gutierrez A, Yagi H, Uygun BE, Navarro-Alvarez N, Uygun K, Kobayashi N, et al. Cell Delivery: From Cell Transplantation to Organ Engineering. *Cell Transplant*. 2010; 19(6): 655–65.
14. Andoljšek D. Bolezni krvi in krvotvornih organov. In: Kocjančič A, Mrevlje F, Štajer D, eds. *Interna medicina*. Ljubljana: Littera Picta, 2005; p. 1171–314.
15. Duke University Medical Center. »Stem Cell Transplants For Babies With Severe Combined Immunodeficiency (SCID).« Dosegljivo na: <http://www.sciencedaily.com/releases/2002/01/020129074637.htm>.
16. Boelens JJ, Prasad VK, Tolar J, Wynn RF, Peters C. Current international perspectives on hematopoietic stem cell transplantation for inherited metabolic disorders. *Pediatr Clin North Am*. 2010; 57(1): 123–45.
17. Wei L, Yong JZ, Yan J. Potential of Stem Cells for Skin Regeneration Following Burns. *Expert Rev Dermatol*. 2009; 4(2): 97–9.
18. Santos MS, Gomes JA, Hofling-Lima AL, Rizzo LV, Romano AC, Belfort R. Survival analysis of conjunctival limbal grafts and amniotic membrane transplantation in eyes with total limbal stem cell deficiency. *Am J Ophthalmol* 2005; 140(2): 223–30.
19. Sun L, Zhang T, Lan X, Du G. Effects of stem cell therapy on left ventricular remodeling after acute myocardial infarction: a meta-analysis. *Clin Cardiol*. 2010; 33(5): 296–302.
20. Mavilio F, Pellegrini G, Ferrari S, Di Nunzio F, Di Iorio E, Recchia A, et al. Correction of junctional epidermolysis bullosa by transplantation of genetically modified epidermal stem cells. *Nature Medicine* 2006; 12: 1397–402.
21. ClinicalTrials.gov is a registry of federally and privately supported clinical trials conducted in the United States and around the world. Dosegljivo na <http://clinicaltrials.gov/>
22. Rožman P, Jazbec J, Domanović D. Presaditve matičnih celic iz popkovnične krvi—dve desetletji kliničnih izkušenj. *Zdrav Vestn* 2012; 81: 413–21.
23. Rožman P, Domanović D, Knežević M. Shranjevanje matičnih celic iz popkovnične krvi—danes in jutri. *Zdrav Vestn* 2012; 81: 44–53.
24. Thomas ED. Bone marrow transplantation: a historical review. *Medicina, Ribeirão Preto*, 2000; 33: 209–18.
25. Sullivan KM, Muraro P, Tyndall A. Hematopoietic cell transplantation for autoimmune disease: updates from Europe and the United States. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2010; 16(Suppl 1):S48–56.
26. Okano H., Neural stem cells and strategies for the regeneration of the central nervous system *Proc. Jpn. Acad., Ser. B Phys Biol Sci*. 2010; 86(4): 438–50.
27. Lindvall O, Kokaia Z. Progress Stem cells for the treatment of neurological disorders. *Nature* 2006; 441: 1094–6.
28. Zeng X, Cai J, Chen J, Luo Y, You ZB, Fötter E et al. Dopaminergic differentiation of human embryonic stem cells. *Stem Cells* 2004; 22(6): 925–40.
29. Grigoryan G, Gray J, Rashid T, Chadwick A, Hodges H. Conditionally immortal neuroepithelial stem cell grafts restore spatial learning in rats with lesions at the source of cholinergic forebrain projections. *Restorative Neurology and Neuroscience* 2000; 17: 1.
30. Capello E, Vuolo L, Gualandi F, Van Lint MT, Roccatagliata L, Bonzano L et al. Autologous hematopoietic stem-cell transplantation in multiple sclerosis: benefits and risks. *Neurol Sci*. 2009; 30 Suppl 2: 175–7.
31. Cristante AF, Barros-Filho TE, Tatsui N, Mendrone A, Caldas JG, Camargo A et al. Stem cells in the treatment of chronic spinal cord injury: evaluation of somatosensitive evoked potentials in 39 patients. *Spinal Cord*. 2009; 47(10): 733–8.

32. Anon.: Stem Cells–The Hype & Hope–World Analysis 2009–2024. London: Visiongain LTD; 2009.
33. hESC–Derived Oligodendrocyte Progenitor Cells (GRNOPC1). Dosegljivo na <http://www.geron.com/patients/clinicaltrials/hESC.aspx>
34. Carroll JE, Mays RW. Update on stem cell therapy for cerebral palsy. *Expert Opin Biol Ther* 2011; 11(4):463–71.
35. Vrtovec B, Poglajen G, Sever M, Lezaic L, Domanovic D, Cernelc P et al. Effects of intracoronary stem cell transplantation in patients with dilated cardiomyopathy. *J Card Fail.* 2011; 17(4): 272–81.
36. Wagner JE, Ishida-Yamamoto A, McGrath JA, Hordinsky M, Keene DR, Woodley DT, et al. Bone marrow transplantation for recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *N Engl J Med* 2010; 363(7): 629–39.
37. Bonfanti P, Claudinot S, Amici AW, Farley A, Blackburn CC, Barrandon Y. Microenvironmental reprogramming of thymic epithelial cells to skin multipotent stem cells. *Nature* 2010; 466(7309): 978–82.
38. Krampera M, Pizzolo G, Aprili G, Franchini M. Mesenchymal stem cells for bone, cartilage, tendon and skeletal muscle repair. *Bone.* 2006 Oct; 39(4): 678–83.
39. Smrke D, Gubina B, Domanovic D, Rozman P. Allogeneic platelet gel with autologous cancellous bone graft for the treatment of a large bone defect. *Eur Surg Res* 2007; 39(3): 170–4.
40. Tedesco FS, Dellavalle A, Diaz-Manera J, Messina G, Cossu G. Repairing skeletal muscle: regenerative potential of skeletal muscle stem cells. *J Clin Invest.* 2010; 120(1): 11–9.
41. Hee-Sook Jun. Cell Replacement and Regeneration Therapy for Diabetes. *Korean Diabetes J* 2010; 34: 77–83.
42. Terai S, Ishikawa T, Omori K, Aoyama K, Marumoto Y, Urata Y, et al. Improved liver function in patients with liver cirrhosis after autologous bone marrow cell infusion therapy. *Stem Cells* 2006; 24(10): 2292–8.
43. Levicar N, Pai M, Habib NA, Tait P, Jiao LR, Marley SB, et al. Long-term clinical results of autologous infusion of mobilized adult bone marrow derived CD34+ cells in patients with chronic liver disease. *Cell Prolif* 2008; 41 Suppl 1: 115–25.
44. Salama H, Zekri AR, Zern M, Bahnassy A, Loutfy S, Shalaby S, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in 48 patients with end-stage chronic liver diseases. *Cell Transplant* 2010; 19(11): 1475–86.
45. Han Y, Yan L, Han G, Zhou X, Hong L, Yin Z, et al. Controlled trials in hepatitis B virus-related decompensate liver cirrhosis: peripheral blood monocyte transplant versus granulocyte-colony-stimulating factor mobilization therapy. *Cytotherapy* 2008; 10(4): 390–6.
46. Sueblinvong V, Weiss DJ. Stem cells and cell therapy approaches in lung biology and diseases. *Translational Research* 2010; 156(3):188–205
47. Bonfield TL, Caplan AI. Adult mesenchymal stem cells: an innovative Therapeutic for lung diseases. *Discovery Medicine* 2010; 9(47): 337–45.
48. Haynes T, Rio-Tsonis K. Retina repair, stem cells and beyond. *Curr Neurovasc Res* 2004; 1(3): 231–9.
49. Rama P, Matuska S, Paganoni G, Spinelli A, De Luca M, Pellegrini G. Limbal Stem-Cell Therapy and Long-Term Corneal Regeneration, *N Engl J Med* 2010; 363: 147–55.
50. Le Blanc K, Ringden O. Immunobiology of human mesenchymal stem cells and future use in hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2005; 11(5): 321–34.
51. Pollack A. First stem cell drug fails 2 late-stage clinical trials. Dosegljivo na <http://www.nytimes.com/2009/09/09/health/research/09drug.html>.
52. Karussis D, Karageorgiou C, Vaknin-Dembinsky A, Gowda-Kurkalli B, Gomori JM, Kassis I et al. Safety and immunological effects of mesenchymal stem cell transplantation in patients with multiple sclerosis and amyotrophic lateral sclerosis. *Arch Neurol.* 2010; 67(10): 1187–94.
53. Dick JE. Stem cell concepts renew cancer research. *Blood* 2008; 112: 4793–807.
54. Marques-Mari AI, Lacham-Kaplan O, Medrano JV, Pellicer A, Simón C. Differentiation of germ cells and gametes from stem cells. *Human Reproduction* 2009; 15(3): 379–90.
55. Nayernia K, Nolte J, Michelmann HW, Lee JH, Rathsack K, Drusenheimer N, et al. In vitro-differentiated embryonic stem cells give rise to male gametes that can generate offspring mice. *Developmental Cell* 2006; 11(1): 125–32.
56. Kohn DB. Update on gene therapy for immunodeficiencies. *Clin Immunol* 2010; 135(2): 247–54.
57. Yannaki E, Stamatoyannopoulos G. Hematopoietic stem cell mobilization strategies for gene therapy of beta thalassemia and sickle cell disease. *Ann N Y Acad Sci* 2010; 1202: 59–63.
58. Takahashi S, Ito Y, Hatake K, Sugimoto Y. Gene therapy for breast cancer. —Review of clinical gene therapy trials for breast cancer and MDR1 gene therapy trial in Cancer Institute Hospital. *Breast Cancer* 2006; 13(1): 8–15.
59. Cavazzana-Calvo M, Payen E, Negre O, Wang G, Hehir K, Fusil F, et al. Transfusion independence and HMGa2 activation after gene therapy of human beta-thalassaemia. *Nature* 2010; 467: 318–22.
60. Boztug K, Schmidt M, Schwarzer A, Banerjee PP, Díez IA, Dewey RA et al. Stem-cell gene therapy for the Wiskott-Aldrich syndrome. *N Engl J Med.* 2010; 363(20): 1918–27.