

Perspektywy zastosowania terapii opartych o komórki macierzyste w astmie i alergicznym nieżycie nosa

Perspectives of stem cell-based therapies in asthma and allergic rhinitis

ANDRZEJ ELJASZEWICZ¹, MARCIN MONIUSZKO^{1,2}

¹ Zakład Medycyny Regeneracyjnej i Immunoregulacji, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

² Klinika Alergologii i Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku

Streszczenie

Medycyna regeneracyjna należy do jednych z najszybciej rozwijających się dyscyplin nauki, a komórki macierzyste znajdują swoje zastosowanie w terapii coraz większej liczby chorób degeneracyjnych i zapalnych. W ostatnich latach pojawiło się wiele interesujących doniesień opisujących przypadki zastosowania komórek macierzystych w doświadczalnych modelach astmy i alergicznego nieżytu nosa prowadzące do zahamowania zapalenia alergicznego i ograniczenia przebudowy dróg oddechowych. Niniejsze opracowanie stanowi podsumowanie dostępnej wiedzy na temat możliwości zastosowania metod medycyny regeneracyjnej w chorobach alergicznych dróg oddechowych.

Słowa kluczowe: *astma, alergiczny nieżyt nosa, terapia komórkowa, komórki macierzyste, komórki progenitorowe*

Summary

Regenerative medicine is currently the fastest growing branch of medical science and stem cells have already been applied in treatment of a great number of degenerative and inflammatory diseases. Recently, numerous stem cell-based therapies used in experimental models of asthma or allergic rhinitis were shown to suppress allergic inflammation and limit the extent of airway remodeling. The present report summarizes current knowledge on perspectives of the application of regenerative medicine methods in treatment of allergic airway diseases.

Keywords: *asthma, allergic rhinitis, cell therapy, stem cells, progenitor cells*

© *Alergia Astma Immunologia* 2016, 21 (4): 000-000

www.alergia-astma-immunologia.pl

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Prof. dr hab. Marcin Moniuszko

Klinika Alergologii i Chorób Wewnętrznych
Uniwersytet Medyczny w Białymstoku
ul. Waszyngtona 13, 15-269 Białystok
tel. +48 85 748 59 72, fax: +48 85 748 59 71
e-mail: Marcin.Moniuszko@umb.edu.pl

Wstęp

Przewlekłe alergiczne zapalenie dróg oddechowych leżące u podłoża alergicznego nieżytu nosa (ANN), jak i znacznej części przypadków astmy jest wynikiem złożonych i nie w pełni jeszcze poznanych interakcji pomiędzy różnymi typami komórek strukturalnych tkanki płucnej oraz układu immunologicznego. W patogenezie przewlekłego zapalenia alergicznego, w odróżnieniu od wczesnej fazy odpowiedzi alergicznej determinowanej głównie przez komórki tuczne i ich mediatory, kluczową rolę odgrywają przede wszystkim granulocyty kwasochłonne (eozynofile) oraz leukocyty jednonądrzaste, a zwłaszcza monocyty/makrofagi i limfocyty T [1,2].

O ile w przypadku ANN wysoką skuteczność kliniczną wykazują leki przeciwhistaminowe (LPH), o tyle w przypadku astmy wciąż niezastąpionym narzędziem stosowanym od kilkudziesięciu lat w leczeniu przewlekłego zapalenia dróg oddechowych są glikokortykosteroidy (GKS) [3,4]. Na poziomie komórkowym leki te hamują syntezę szeregu proalergicznych cytokin: IL-3, IL-4, IL-5 oraz IFN-gamma i TNF. GKS hamują również proliferację limfocytów T, indukują apop-

tozę limfocytów T i eozynofili, zmniejszając jednocześnie napływ tych ostatnich, a tym samym ich liczbę w miejscu zapalenia. Innym efektem działania GKS jest zmniejszenie rekrutacji monocytów/makrofagów do miejsca zapalenia, a także zmniejszenie uwalniania przez te komórki mediatorów prozapalnych [1,2].

Zarówno LPH, jak i GKS wykazują się wysoką skutecznością w eliminacji lub znaczącej redukcji objawów klinicznych typowych odpowiednio dla ANN i astmy. Tym niemniej, jedną z istotnych konsekwencji przewlekłego zapalenia dróg oddechowych jest ich nieodwracalna przebudowa określana często w piśmiennictwie mianem remodelingu [5,6]. Dynamika i zakres remodelingu pozostają bardzo zróżnicowane, tym niemniej w każdym przypadku jego efektem jest różnego stopnia uszkodzenie płuc prowadzące do zaburzenia czynności układu oddechowego. U podłoża remodelingu leżą między innymi takie zmiany jak uszkodzenie nabłonka, rozrost i przerost mięśni gładkich, zwiększona produkcja kolagenu przez fibroblasty i jego odkładanie w mięszu tkanki płucnej, a także nasilenie angiogenezy [5,6]. W każdym przypadku, nasilenie zmian

o typie remodelingu odbywa się kosztem zmniejszenia liczby i/lub funkcji istniejących komórek tkanki płucnej. O ile niektóre badania wskazują na możliwość zmniejszania tempa przebudowy dróg oddechowych przez takie leki jak GKS, tym niemniej jednak żadna z dotychczas stosowanych standardowych form terapii stosowanych w astmie lub ANN nie jest w stanie zwiększyć liczby w pełni funkcjonalnych komórek tworzących strukturę tkanki płucnej. W związku z powyższym, zarówno w astmie jak i w ANN podjęto szereg eksperymentalnych prób zastosowania metod medycyny regeneracyjnej w nadziei na powstrzymanie toczącego się przewlekłego zapalenia dróg oddechowych i odbudowę uszkodzonych struktur tkankowych.

Medycyna regeneracyjna jest jedną z najmłodszych i najszybciej rozwijających się dziedzin medycyny. Celem medycyny regeneracyjnej jest naprawa, regeneracja i/lub zastąpienie uszkodzonych komórek, tkanek i narządów. Medycyna regeneracyjna opiera się między innymi o: wykorzystanie rekombinowanych białek, na przykład czynników mobilizujących komórki macierzyste takich jak rekombinowany G-CSF; terapię genową, czyli naprawę uszkodzonych lub nieaktywnych genów, a także przeprogramowanie komórek i tkanek (wytworzenie indukowanych pluripotentnych komórek macierzystych); terapię komórkową, czyli wykorzystanie komórek macierzystych, progenitorowych izolowanych z tkanek własnych organizmu biorcy; inżynierię tkankową, czyli wykorzystanie tkanek i organów stworzonych w warunkach pozaustrojowych z komórek własnych biorcy [7,8].

Pomimo znacznego postępu w wykorzystaniu metod medycyny regeneracyjnej, należy podkreślić, że większość przykładów zastosowania komórek macierzystych w astmie i chorobach alergicznych pozostaje na etapie badań podstawowych i przedklinicznych. Zastosowanie terapii opartych o wykorzystanie komórek macierzystych w chorobach alergicznych dróg oddechowych wciąż pozostaje dosyć nowatorskim podejściem, niemniej jednak opartym o niemałą liczbę prac doświadczalnych. Niniejsze opracowanie stanowi podsumowanie dotychczasowych osiągnięć w zastosowaniu metod medycyny regeneracyjnej w terapii astmy i ANN.

Komórki macierzyste i progenitorowe dróg oddechowych

Tworzenie się górnych i dolnych dróg oddechowych w okresie prenatalnym związane jest bezpośrednio z funkcjonalnym połączeniem elementów pochodzenia endodermalnego (nabłonka) i mezenchymalnego (unaczynienia), zapewniających główną funkcję tego organu, a więc wymianę gazową. Formowanie się nabłonka płucnego u myszy rozpoczyna się około dziewiątego dnia embriogenezy (u człowieka okres ten nie został dokładnie poznany) [9]. Możliwe jest to dzięki obecności komórek progenitorowych wykazujących ekspresję genu TTF-1, który uznawany jest jednocześnie za najwcześniejszy marker komórek progenitorowych nabłonka płucnego [9,10]. Należy zaznaczyć, że czynnik transkrypcyjny kodowany przez ten gen ma również istotne znaczenie dla utrzymania funkcji ochronnych nabłonka dojrzałych, w pełni rozwiniętych płuc, co jest możliwe dzięki kontrolowaniu ekspresji białek odpowiedzialnych za ścisłe przyleganie komórek, a mianowicie kładyny 18 (CLDN18) [11]. TTF-1 podlega ekspresji we wszystkich komórkach nabłonka płuc podczas embrioge-

nezy, a proces ich różnicowania z endodermalnych komórek prekursorowych możliwy jest dzięki indukcji sygnałów związanych z aktywacją szlaków Wnt, a także aktywnością czynnika wzrostu fibroblastów (ang. *fibroblast growth factor*, FGF), oraz białek morfogenetycznych kości (ang. *bone morphogenetic protein*, BMP), w tym BMP4 [12]. W późniejszym etapie organogenezy, podczas rozdzielania się załączków płuc, komórki nabłonkowe specjalizują się i różnicują w kierunku nabłonka tchawicy oraz pęcherzyków płucnych. Istotną rolę w tym procesie pełnią czynniki transkrypcyjne Sox2 oraz Sox9. Sox2 kontroluje różnicowanie się komórek w kierunku wydzielniczych i rzęskowych komórek nabłonkowych. Natomiast Sox9 jest niezbędny do terminalnego różnicowania w kierunku nabłonka pęcherzyków płucnych, a więc komórek typu 1 oraz typu 2 [13-16]. Proces ten nie został jednak w wystarczający sposób poznany i opisany. Wiadomo natomiast, że komórki nabłonkowe typu 2 dzięki wydzielaniu surfaktantu regulują napięcie powierzchniowe pęcherzyków płucnych, co zapobiega ich zapadaniu się podczas wydechu. Z drugiej strony, komórki typu 1 z uwagi na bezpośrednią bliskość z naczyniami krwionośnymi pełnią istotną rolę w wymianie gazowej. Co ciekawe, komórki typu 2 wydają się charakteryzować swego rodzaju plastycznością, która umożliwia im różnicowanie się w kierunku komórek typu 1, które z kolei nie wykazują podobnych zdolności. Dlatego uznaje się, że komórki nabłonkowe typu 2 mogą stanowić prekursorów komórek typu 1 [17]. Tym niemniej, ostateczne potwierdzenie tej zależności wymaga jeszcze dalszych badań.

Znacznie mniej wiadomo jest na temat mechanizmów kontrolujących proliferację i różnicowanie się komórek pochodzenia mezodermalnego w mięśniówkę gładką płuc oraz naczyń, komórki endotelialne, komórki śródbłonka, perycyty, a także fibroblasty tkanki płucnej. Dotychczasowe wyniki badań pozwoliły na identyfikację populacji mezodermalnych komórek progenitorowych układu oddechowego i krążenia (ang. *Cardiopulmonary mesoderm progenitor*, CPP), które mogą różnicować się w kardiomiocyty, komórki wsierdzia, a także wszystkie wyżej wymienione populacje tworzące tkanki płuca [18,19]. Niestety, mechanizmy towarzyszące tym procesom nie zostały jak dotąd opisane i wymagają dalszych badań.

Co ciekawe, komórki macierzyste i progenitorowe można odnaleźć w większości dojrzałych, w pełni rozwiniętych tkanek i organów, w tym również układu oddechowego. Komórki te określa się mianem komórek rezydujących w tkankach (zwanymi komórkami osiadłymi). Komórki macierzyste w pełni rozwiniętego układu oddechowego zlokalizowane są w warstwie podstawnej i gruczołach podśluzówkowych dróg oddechowych, a także na powierzchni nabłonka pęcherzyków płucnych. Komórki progenitorowe natomiast zostały zidentyfikowane w sąsiedztwie komórek neuroendokrynnych (ang. *pulmonary neuroendocrine cell rests*), a także w okolicach połączeń oskrzelowych i powierzchni nabłonka pęcherzyków płucnych [20]. Główną rolą osiadłych komórek macierzystych jest odnowa i regeneracja tkanek budujących drogi oddechowe. Komórki progenitorowe są już bardziej zróżnicowane, a ich plastyczność jest znacznie ograniczona. Biorą one jednak aktywny udział w procesie odnowy uszkodzonych tkanek bezpośrednio różnicując się w komórki budujące płuca lub pośrednio poprzez sekrecję szeregu czynników wspierających ten proces [20].

W pełni ukształtowane płuca są organem relatywnie „stabilnym”, a tempo proliferacji komórek jest raczej niewielkie. Należy też zaznaczyć, że proces złuszczenia się nabłonka płucnego zachodzi znacznie wolniej w porównaniu do nabłonka jelita cienkiego i grubego. Utrudnia to w znaczący sposób wyselekcjonowanie tych populacji komórek, które odgrywałyby znaczącą rolę w procesie regeneracji. Dlatego badania te prowadzone są w większości z wykorzystaniem modeli zwierzęcych, w których indukuje się uszkodzenie tkanki płucnej, między innymi poprzez wzbudzenie stanu zapalnego (na przykład poprzez długotrwałą ekspozycję na alergen) [21,22]. Pozwala to zaobserwować zmiany zachodzące podczas naprawy uszkodzonej tkanki płucnej. Podstawowa ocena morfologiczna pozwoliła na identyfikację komórek nabłonkowych o wyższym potencjale proliferacyjnym, włączając w to komórki podstawne, wydzielnicze, oskrzelikowe komórki maczugowate (znane również jako oskrzelikowe komórki egzokrynne i Clara Cells), a także komórki nabłonkowe typu 2 w pęcherzykach płucnych [20]. Dopiero późniejsze analizy wskazały, że większość komórek nabłonkowych z wyłączeniem komórek rzęskowych wykazuje zdolność proliferacji i może brać udział w procesie regeneracji płuc po ich uszkodzeniu. Ponadto komórki podstawne wykazujące ekspresję p63, komórki Itga6+Itgb4+, komórki oddechowe wykazujące ekspresję Scgb1a, oskrzelowe komórki macierzyste oraz komórki nabłonkowe typu 2 wykazują zdolność do znacznego wzrostu w warunkach pozaustrojowych z zachowaniem możliwości ich różnicowania [23-26]. W związku z powyższym możliwe jest ich wykorzystanie w badaniach *in vitro* umożliwiających dokładniejsze poznanie ich funkcji.

Uznając osiadłe komórki macierzyste oraz progenitorowe za komórki o nieograniczonym potencjale do samoodtwarzania oraz różnicowania, wymienione powyżej populacje należałoby zakwalifikować jako komórki macierzyste i progenitorowe tkanki płucnej. Należy jednak zaznaczyć, że grupa ta stanowi ponad połowę wszystkich opisanych dotąd komórek nabłonkowych dróg oddechowych. Wydaje się zatem nieprawdopodobne, aby w pełni rozwinięty organ posiadał tak znaczącą liczbę komórek macierzystych. Dlatego powszechnie uznaje się, że układ oddechowy zbudowany jest raczej z komórek, które pod wpływem uszkodzenia tkanki nabierają cech plastyczności i w ten sposób biorą udział w procesach naprawy.

Eksperymentalne strategie terapeutyczne

Potencjał osiadłych komórek macierzystych i progenitorowych spada wraz z wiekiem. Dotyczy to również komórek znajdujących się w tkance płucnej. Do celów eksperymetalnych wykorzystuje się m.in.: endotelialne komórki progenitorowe (ang. *endothelial progenitor cells*, EPC), mezenchymalne komórki macierzyste (ang. *mesenchymal stem cells*, MSC), hematopoetyczne komórki macierzyste (ang. *hematopoietic stem cells*, HSC), bardzo małe komórki o cechach embrionalnych (ang. *very small embryonic like stem cells*, VSELs) oraz indukowane pluripotentne komórki macierzyste (ang. *induced pluripotent stem cells*, iPSC). Ich źródłem są tkanki organizmu, w tym między innymi krew, szpik, a także tkanka tłuszczowa [27-32]. Z drugiej strony, iPSC są komórkami o indukowanej pluripotencjalności, niewystępującymi naturalnie w organizmie. Poprzez zastosowanie technik inżynierii genetycznej wymusza się ekspresję genów odpowiedzialnych za pluripotencję, w tym: KLF4, OCT4, SOX2 oraz c-MYC. Pod względem fenotypowym i czyn-

nościowym wykazują one podobieństwo do zarodkowych komórek macierzystych. Należy zaznaczyć jednak, że pomimo początkowego entuzjazmu (czego potwierdzeniem było między innymi przyznanie Nagrody Nobla odkrywcom iPSC), ich właściwości i potencjał pozostają nadal przedmiotem wielu krytycznych badań [32,33].

Komórki macierzyste w astmie

Jedną z bardziej obiecujących strategii zastosowania metod medycyny regeneracyjnej w astmie jest terapia oparta o mezenchymalne komórki macierzyste (MSCs). Ich największe zalety to niska immunogenność oraz zdolność do różnicowania się w kierunku komórek kilku różnych linii pochodzenia mezodermalnego. MSC posiadają charakterystyczny profil markerów powierzchniowych takich jak: CD44, CD73, CD90, CD105, CD117, CD166 oraz STRO-1 przy jednoczesnym braku ekspresji markerów charakterystycznych dla populacji hematopoetycznych: CD11b, CD14, CD31, CD34, CD45. Cechy te umożliwiają ich stosunkowo łatwą izolację, głównie ze szpiku kostnego i tkanki tłuszczowej [28,34].

Jak wspomniano powyżej, MSC wykazują niską immunogenność, która związana jest bezpośrednio z brakiem ekspresji MHC klasy II i niewielką ekspresją cząsteczek MHC klasy I. Nie posiadają również molekuł kostymulujących (CD80, CD86) i tym samym nie wykazują zdolności do pobudzania antygenowo swoistej odpowiedzi immunologicznej [35]. W konsekwencji większość aktywności immunomodulujących związana jest raczej z działaniem przeciwzapalnym (immunosupresyjnym), które można wykorzystać do ograniczenia zapalenia alergicznego w płucach [35-37]. Dlatego zastosowanie MSC w eksperymetalnej terapii astmy zyskuje coraz większe zainteresowanie [38-40].

Aktywności immunomodulujące MSC wynikają zarówno z bezpośrednich interakcji z komórkami układu immunologicznego, jak i pośredniego oddziaływania na profil wydzielanych mediatorów takich jak IL-7, IL-8, IL-11, IL-14, IL-15, M-CSF, GM-CSF oraz TGF- β [41]. W zapaleniu alergicznym immunosupresyjne działanie MSC związane jest między innymi z obniżeniem proliferacji komórek ekspozowanych na działanie alergenu. Proces ten związany jest z podwyższeniem poziomu IL-10, a także ukierunkowaniem polaryzacji limfocytów T w kierunku komórek T regulatorowych oraz zahamowaniem dojrzewania komórek dendrytycznych [42].

Uznaje się, że wzrost poziomu IL-10 po podaniu MSC w indukowanym modelu astmy związany jest między innymi z bezpośrednim oddziaływaniem tych komórek na makrofagi płucne, które polaryzowane są w kierunku makrofagów M2, czyli komórek wykazujących fenotyp przeciwzapalny [43,44]. Z drugiej strony zwraca się uwagę na zjawisko zwiększenia liczby limfocytów T regulatorowych obserwowane po podaniu MSC, co może znacząco wpływać na hamowanie zapalenia wywołanego alergenem [45,46]. Wzrost stężenia IL-10 prowadzi również do zahamowania dojrzewania limfocytów T w kierunku komórek Th17 i tym samym obniża intensywność nacieku zapalnego w płucach [47].

Innym niezwykle istotnym czynnikiem odpowiedzialnym za aktywność immunosupresyjną MSC w astmie, jest wydzielany przez te komórki antagonist receptoru IL-1 (IL-1ra), który powoduje zahamowanie kaskady cytokin prozapalnych i tym samym zmniejsza intensywność reakcji zapalnej w obrębie płuc. W konsekwencji dochodzi do

zahamowania migracji, a także ograniczenia aktywacji i dojrzewania komórek dendrytycznych [48]. Prowadzi to następnie do obniżenia liczby limfocytów Th2 [49].

Należy zaznaczyć, że regulacja i ograniczenie stanu zapalnego w obrębie uszkodzonej tkanki stanowi istotny etap rozpoczynający proces naprawy i regeneracji. W procesie tym, jak już wspomniano, mogą brać również udział MSC. W związku z powyższym ich wykorzystanie w terapii astmy ma na celu nie tylko ograniczenie reakcji zapalnej, ale i wspieranie procesu regeneracji płuc. Systemowe podanie MSC, w indukowanym uszkodzeniu płuc, poza złagodzeniem zapalenia, ogranicza również proces włóknienia. Należy jednak podkreślić, że efekt terapeutyczny w doświadczalnym modelu mysim obserwowany był jedynie w przypadku natychmiastowego podania tych komórek (do 4 godz. po indukcji uszkodzenia tkanki płucnej) [50]. Podsumowując, potencjalne korzystne efekty zastosowania MSC w astmie związane są raczej z ich działaniem immunosupresyjnym, a w mniejszym stopniu z możliwością bezpośredniej regeneracji uszkodzonej tkanki płucnej.

Komórki macierzyste w alergicznym nieżycie nosa

Podobnie jak w przypadku astmy, również w przypadku ANN, największe nadzieje pokłada się w zastosowaniu komórek MSC. Systemowe podanie MSC w warunkach eksperymentalnych znacząco ogranicza objawy typowe ANN [51,52]. Zaobserwowano między innymi spadek liczby eozynofili, stężenia specyficznych przeciwciał klasy IgE, a także obniżenie cytokin należących do profilu Th2, przy jednoczesnym wzroście stężenia IFN- γ [51,52]. Co ciekawe, zaobserwowany spadek cytokin należących do profilu Th2, związany jest najprawdopodobniej ze zmniejszeniem liczby komórek tej subpopulacji oraz jednoczesnym zwiększeniem liczby limfocytów Th1 [53]. Podobny efekt uzyskano po zastosowaniu MSC różnicowanych *in vitro* z indukowanych pluripotentnych komórek macierzystych [54]. Wydaje się, że efekt terapeutyczny MSC związany jest przede wszystkim z ich zdolnościami do produkcji czynników przeciwzapalnych w odpowiedzi na stymulację mediatorami prozapalnymi. Zaobserwowano bowiem, że supernatant zebrany z hodowli MSC stymulowanych TNF stosowany miejscowo może zmniejszać zapalenie błon śluzowych. Dochodzi do znaczącego ograniczenia nacieku zapalnego, obniżenia ilości przeciwciał klasy IgE, a także ograniczenia przepuszczalności naczyń krwionośnych. Poznanie dokładnego mechanizmu tych interakcji wymaga dalszych badań, wiadomo jednak, że wydzielanie czynników regulujących zapalenie błon śluzowych przez komórki MSC stymulowane TNF związane jest bezpośrednio z aktywnością cyklooksygenazy 2 (Cox-2). Zablokowanie Cox-2 w MSC przed stymulacją TNF znosi całkowicie przeciwzapalne aktywności supernatantu [55]. Oczywiście jest, że zastosowanie komórek macierzystych w terapii ANN w dniu dzisiejszym ma bardziej znacze-

nie poznawcze niż praktyczne. Wysokie koszty i ograniczona dostępność tej metody sprawiają, że prawdopodobnie długo nie będzie ona miała szansy konkurować z innymi formami terapii opartymi na przykład o LPH czy GKS donosowe. Tym niemniej, warto podkreślić, że badania z użyciem komórek macierzystych w ANN pozwalają nam odkrywać nowe nieznane dotychczas mechanizmy immunologiczne leżące u podłoża tej jednostki chorobowej.

Zastosowanie metod inżynierii tkankowej w chorobach płuc

Medycyna regeneracyjna w swojej najbardziej zaawansowanej formie zakłada możliwość stworzenia pozaustrojowo w pełni funkcjonalnych tkanek i organów z komórek własnych biorcy w celu ich późniejszej transplantacji. Oczywiście, aby było to możliwe konieczne jest zastosowanie wyszukanych matryc i rusztowań umożliwiających odpowiednie osadzenie hierarchicznych struktur tkankowych. W tym celu wykorzystuje się między innymi rusztowania biologiczne powstałe z pozbawionych komórek (acelularnych) płuc [56]. Należy zaznaczyć jednak, że proces ponownego zasiedlania wytworzonych rusztowań komórkami biorcy w celu uzyskania w pełni funkcjonalnej tkanki nie jest łatwy. Podejmowane jak dotąd próby wykorzystują linie komórek epitelialnych [57], MSC [58], a także komórek uzyskanych z pełnej tkanki płucnej [59] oraz embrionalnych komórek macierzystych i zróżnicowanych iPSC [60]. Zaprojektowane w ten sposób płuca wykazują częściową aktywność, w tym na przykład zdolność do wymiany gazowej [57,59]. Wydaje się zatem, że po wcześniejszym pokonaniu szeregu przeszkód natury technicznej, inżynieria tkankowa może w przyszłości dostarczyć funkcjonalnych rozwiązań wykorzystywanych w terapii chorób płuc, w tym astmy.

Wnioski

W najbliższej perspektywie czasowej, zastosowanie komórek macierzystych w terapii astmy i ANN, z przyczyn farmakoekonomicznych z pewnością nie stanie się leczeniem pierwszego, ani nawet drugiego rzutu. W niektórych sytuacjach, szczególnie tych związanych z użyciem iPSC, wątpliwości budzić może także profil bezpieczeństwa takiej metody, będący konsekwencją relatywnie wysokiej „niestabilności genetycznej” tych komórek. Tym niemniej, prace doświadczalne z użyciem komórek macierzystych w astmie i ANN przynoszą szereg nieocenionych informacji o nowych możliwościach hamowania postępującego zapalenia dróg oddechowych, jak i ich przebudowy. Obiecujące wyniki tych prac pozwalają też przypuszczać, że komórki macierzyste mogłyby stać się w przyszłości interesującą opcją terapeutyczną przynajmniej w niektórych, szczególnie trudnych sytuacjach klinicznych charakteryzujących się brakiem satysfakcjonującej odpowiedzi na dotychczas stosowane leczenie.

Piśmiennictwo

- Holgate ST. Innate and adaptive immune responses in asthma. *Nat Med* 2012; 18: 673-83.
- Pawankar R, Mori S, Ozu C i wsp. Overview on the pathomechanisms of allergic rhinitis. *Asia Pac Allergy* 2011; 1: 157-67.
- Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL i wsp. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma. *Eur Respir J* 2014; 43: 343-73.
- Hellings PW, Fokkens WJ, Akdis C i wsp. Uncontrolled allergic rhinitis and chronic rhinosinusitis: where do we stand today? *Allergy* 2013; 68: 1-7.
- Jeffery PK. Remodeling in asthma and chronic obstructive lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: S28-38.
- Bousquet J, Jacot W, Vignola AM i wsp. Allergic rhinitis: a disease remodeling the upper airways? *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 43-9.

7. Lanza R. Regenerative medicine: the last 10 years. *Regen Med* 2016; 11: 745-6.
8. Langer R. Perspectives and challenges in tissue engineering and regenerative medicine. *Adv Mater* 2009; 21: 3235-6.
9. Cardoso WV, Lü J. Regulation of early lung morphogenesis: questions, facts and controversies. *Development* 2006; 133: 1611-24.
10. Lazzaro D, Price M, de Felice M i wsp. The transcription factor TTF-1 is expressed at the onset of thyroid and lung morphogenesis and in restricted regions of the foetal brain. *Development* 1991; 113: 1093-104.
11. Niimi T, Nagashima K, Ward JM i wsp. claudin-18, a novel downstream target gene for the T/EBP/NKX2.1 homeodomain transcription factor, encodes lung- and stomach-specific isoforms through alternative splicing. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 7380-90.
12. Weaver M, Yingling JM, Dunn NR i wsp. Bmp signaling regulates proximal-distal differentiation of endoderm in mouse lung development. *Development* 1999; 126: 4005-15.
13. Tompkins DH, Besnard V, Lange AW i wsp. Sox2 activates cell proliferation and differentiation in the respiratory epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2011; 45: 101-10.
14. Tompkins DH, Besnard V, Lange AW i wsp. Sox2 is required for maintenance and differentiation of bronchiolar Clara, ciliated, and goblet cells. *PLoS One* 2009; 4: e8248.
15. Que J, Okubo T, Goldenring JR i wsp. Multiple dose-dependent roles for Sox2 in the patterning and differentiation of anterior foregut endoderm. *Development* 2007; 134: 2521-31.
16. Rockich BE, Hrycaj SM, Shih HP i wsp. Sox9 plays multiple roles in the lung epithelium during branching morphogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: E4456-64.
17. Barkauskas CE, Crouse MJ, Rackley CR i wsp. Type 2 alveolar cells are stem cells in adult lung. *J Clin Invest* 2013; 123: 3025-36.
18. Peng T, Tian Y, Boogerd CJ i wsp. Coordination of heart and lung co-development by a multipotent cardiopulmonary progenitor. *Nature* 2013; 500: 589-92.
19. Hoffmann AD, Peterson MA, Friedland-Little JM i wsp. sonic hedgehog is required in pulmonary endoderm for atrial septation. *Development* 2009; 136: 1761-70.
20. Hogan BL, Barkauskas CE, Chapman HA i wsp. Repair and regeneration of the respiratory system: complexity, plasticity, and mechanisms of lung stem cell function. *Cell Stem Cell* 2014; 15: 123-38.
21. Matute-Bello G, Frevert CW, Martin TR. Animal models of acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; 295: L379-99.
22. Nials AT, Uddin S. Mouse models of allergic asthma: acute and chronic allergen challenge. *Dis Model Mech* 2008; 1: 213-20.
23. Chilosi M, Poletti V, Murer B i wsp. Abnormal re-epithelialization and lung remodeling in idiopathic pulmonary fibrosis: the role of deltaN-p63. *Lab Invest* 2002; 82: 1335-45.
24. Kumar PA, Hu Y, Yamamoto Y i wsp. Distal airway stem cells yield alveoli in vitro and during lung regeneration following H1N1 influenza infection. *Cell* 2011; 147: 525-38.
25. Chernaya O, Shinin V, Liu Y i wsp. Behavioral heterogeneity of adult mouse lung epithelial progenitor cells. *Stem Cells Dev* 2014; 23: 2744-57.
26. Liu Y, Sadikot RT, Adami GR, i wsp. FoxM1 mediates the progenitor function of type II epithelial cells in repairing alveolar injury induced by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Exp Med* 2011; 208: 1473-84.
27. Hristov M, Erl W, Weber PC. Endothelial progenitor cells: mobilization, differentiation, and homing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 1185-9.
28. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res* 1991; 9: 641-50.
29. Wognum AW, Eaves AC, Thomas TE. Identification and isolation of hematopoietic stem cells. *Arch Med Res* 2003; 34: 461-75.
30. Havens AM, Shiozawa Y, Jung Y i wsp. Human very small embryonic-like cells generate skeletal structures, in vivo. *Stem Cells Dev* 2013; 22: 622-30.
31. Ratajczak MZ, Marycz K, Poniewierska-Baran A, i wsp. Very small embryonic-like stem cells as a novel developmental concept and the hierarchy of the stem cell compartment. *Adv Med Sci* 2014; 59: 273-80.
32. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K i wsp. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science* 2007; 318: 1917-20.
33. Wilson KD, Wu JC. Induced pluripotent stem cells. *JAMA* 2015; 313: 1613-4.
34. Bianco P. "Mesenchymal" stem cells. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2014; 30: 677-704.
35. McIntosh K, Zvonic S, Garrett S i wsp. The immunogenicity of human adipose-derived cells: temporal changes in vitro. *Stem Cells* 2006; 24: 1246-53.
36. Jiang XX, Zhang Y, Liu B i wsp. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. *Blood* 2005; 105: 4120-6.
37. Plumas J, Chaperot L, Richard MJ i wsp. Mesenchymal stem cells induce apoptosis of activated T cells. *Leukemia* 2005; 19: 1597-604.
38. Nemeth K, Keane-Myers A, Brown JM i wsp. Bone marrow stromal cells use TGF-beta to suppress allergic responses in a mouse model of ragweed-induced asthma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 5652-7.
39. Goodwin M, Sueblinvong V, Eisenhauer P i wsp. Bone marrow-derived mesenchymal stromal cells inhibit Th2-mediated allergic airways inflammation in mice. *Stem Cells* 2011; 29: 1137-48.
40. Park HK, Cho KS, Park HY i wsp. Adipose-derived stromal cells inhibit allergic airway inflammation in mice. *Stem Cells Dev* 2010; 19: 1811-8.
41. Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 726-36.
42. Kapoor S, Patel SA, Kartan S i wsp. Tolerance-like mediated suppression by mesenchymal stem cells in patients with dust mite allergy-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 129: 1094-101.
43. Mathias LJ, Khong SM, Spyroglou L i wsp. Alveolar macrophages are critical for the inhibition of allergic asthma by mesenchymal stromal cells. *J Immunol* 2013; 191: 5914-24.
44. Braza F, Dirou S, Forest V i wsp. Mesenchymal Stem Cells Induce Suppressive Macrophages Through Phagocytosis in a Mouse Model of Asthma. *Stem Cells* 2016; 34: 1836-45.
45. Kavanagh H, Mahon BP. Allogeneic mesenchymal stem cells prevent allergic airway inflammation by inducing murine regulatory T cells. *Allergy* 2011; 66: 523-31.
46. Engela AU, Baan CC, Dor FJ i wsp. On the interactions between mesenchymal stem cells and regulatory T cells for immunomodulation in transplantation. *Front Immunol* 2012; 3: 126.
47. Ghannam S, Pène J, Moquet-Torcy G i wsp. Mesenchymal stem cells inhibit human Th17 cell differentiation and function and induce a T regulatory cell phenotype. *J Immunol* 2010; 185: 302-12.
48. Duong KM, Arikatt J, Ullah MA i wsp. Immunomodulation of airway epithelium cell activation by mesenchymal stromal cells ameliorates house dust mite-induced airway inflammation in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2015; 53: 615-24.
49. Zeng SL, Wang LH, Li P i wsp. Mesenchymal stem cells abrogate experimental asthma by altering dendritic cell function. *Mol Med Rep* 2015; 12: 2511-20.
50. Ortiz LA, Gambelli F, McBride C i wsp. Mesenchymal stem cell engraftment in lung is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 8407-11.
51. Zhao N, Liu Y, Liang H i wsp. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells reduce immune reaction in a mouse model of allergic rhinitis. *Am J Transl Res* 2016; 8: 5628-36.
52. Işık S, Karaman M, Adan A i wsp. Intraperitoneal mesenchymal stem cell administration ameliorates allergic rhinitis in the murine model. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2017; 274: 197-207.

53. Yang C, Li J, Lin H, i wsp. Nasal mucosa derived-mesenchymal stem cells from mice reduce inflammation via modulating immune responses. *PLoS One* 2015;10(3):e0118849.
54. Fu QL, Chow YY, Sun SJ i wsp. Mesenchymal stem cells derived from human induced pluripotent stem cells modulate T-cell phenotypes in allergic rhinitis. *Allergy* 2012; 67: 1215-22.
55. Su W, Wan Q, Huang J i wsp. Culture medium from TNF- α -stimulated mesenchymal stem cells attenuates allergic conjunctivitis through multiple anti-allergic mechanisms. *J Allergy Clin Immunol* 2015; 136: 423-32.e8.
56. Wallis JM, Borg ZD, Daly AB i wsp. Comparative assessment of detergent-based protocols for mouse lung de-cellularization and re-cellularization. *Tissue Eng Part C Methods* 2012; 18: 420-32.
57. Petersen TH, Calle EA, Zhao L i wsp. Tissue-engineered lungs for in vivo implantation. *Science* 2010; 329: 538-41.
58. Daly AB, Wallis JM, Borg ZD i wsp. Initial binding and recellularization of decellularized mouse lung scaffolds with bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. *Tissue Eng Part A* 2012; 18: 1-16.
59. Ott HC, Clippinger B, Conrad C i wsp. Regeneration and orthotopic transplantation of a bioartificial lung. *Nat Med* 2010; 16: 927-33.
60. Cortiella J, Niles J, Cantu A i wsp. Influence of acellular natural lung matrix on murine embryonic stem cell differentiation and tissue formation. *Tissue Eng Part A* 2010; 16: 2565-80.