

## ТЕРАПИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ – СОСУД НАПОЛОВИНУ ПОЛОН ИЛИ НАПОЛОВИНУ ПУСТ?

© 2020 г. Ю. В. Суханов<sup>а, \*</sup>, Е. А. Воротеляк<sup>а</sup>, И. В. Лядова<sup>а</sup>, А. В. Васильев<sup>а</sup>

<sup>а</sup>Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, ул. Вавилова, 26, Москва, 119334 Россия

\*e-mail: yuri.sukhanov@gmail.com

Поступила в редакцию 28.04.2020 г.

После доработки 30.04.2020 г.

Принята к публикации 02.05.2020 г.

Актуальность скорейшего поиска и внедрения в медицинскую практику метода терапии особо тяжелых форм пневмонии COVID-19 обусловлена отсутствием эффективных методов лечения, уничтожающих возбудителя. Ожидания получить хороший клинический эффект от применения мезенхимальных стволовых клеток (МСК) не беспочвенны – имеется научное обоснование использования МСК в терапии воспалительных заболеваний, в том числе доказанные механизмы их действия. Наряду с этим, надежных данных о механизме действия МСК при их системном введении человеку крайне мало, так же, как и данных о распределении клеток в организме и отдаленных последствиях такого введения. Данные модельных экспериментов противоречивы как в отношении специфического действия МСК, так и их безопасности. Если клинические исследования покажут приемлемое соотношение риск/польза применения МСК, страны, где такие исследования проводились, могут рассчитывать на их внедрение в медицинскую практику. В России следует инициировать экспериментальную проверку наличия специфического действия МСК и риски их применения при COVID-19 в достаточном объеме, и параллельно создавать механизм ускоренного, но обоснованного допуска биомедицинских клеточных продуктов в практику.

**Ключевые слова:** мезенхимальные стволовые клетки, МСК, SARS-CoV-2, пневмония, COVID-19, воспаление, цитокины, клинические исследования, биомедицинские клеточные продукты

**DOI:** 10.31857/S0475145020040102

Среди множества проблем клеточных технологий самым актуальным остается вопрос клинического использования мезенхимальных стволовых клеток (МСК). Эти клетки привлекают внимание в качестве наиболее доступного ресурса клеточных технологий, пригодных для решения многих медицинских задач. Многолетние усилия по трансдифференцировке МСК в другие типы клеток, в т.ч. нейральные, кроветворные, а также в гепатоциты, кардиомиоциты и клетки поджелудочной железы как и многие другие, не привели к ожидаемым результатам, однако попытки клинического применения МСК в качестве системного регулятора воспалительных и репаративных процессов продолжают.

В связи с этим не стали неожиданными попытки использовать МСК для лечения пациентов с тяжелой формой SARS-CoV-2. Актуальность скорейшего поиска и внедрения в медицинскую практику метода терапии особо тяжелых форм пневмонии COVID-19 обусловлена отсутствием таргетных методов лечения, уничтожающих возбудителя, а также особенностями пациентов, имеющих самый высокий риск смерти – это па-

циенты старшей возрастной группы, с осложнениями в виде иных заболеваний. Не следует забывать и о коммерческой мотивации стремления внедрить МСК в клиническую практику.

Ожидания получить клинический эффект от применения МСК не беспочвенны – есть научное обоснование использования МСК в противовоспалительной терапии, в том числе доказанные механизмы их действия.

Одной из основных характеристик МСК является их иммуномодулирующая/иммунорегуляторная активность, которая обеспечивается как прямыми межклеточными контактами, так и паракринно, за счет экспрессии на МСК и секреции ими большого количества молекул, обладающих иммуномодуляторными свойствами (Lyadova et al., 2016; Jiang, Xu, 2020). К таким молекулам относятся цитокины TGF-β, IL-10, ферменты индоламин-2,3-диоксигеназа (IDO), аргиназа-1 (Arg1), индуцибельная NO-синтаза (NOS2), простагландин E2 (PGE2), неклассические молекулы главного комплекса гистосовместимости I типа (HLA-G2), молекулы CD39 и CD73 (экспрессируются на МСК и совместно обеспечивают расщепление АТФ до аде-

нозина, обладающего иммуносупрессорной активностью), галектины (Gal-1 Gal-9). Эти факторы ингибируют пролиферацию Т-лимфоцитов и НК-клеток, образование и активность Т-хелперов 1 типа (Th1), продукцию ими IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ , созревание и антигенпрезентирующую функцию дендритных клеток и макрофагов, продукцию провоспалительных цитокинов и хемокинов (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12, TNF- $\alpha$ , CCL2, CCL5, IL-8). За счет образования антагониста CCL2 МСК могут также ингибировать миграцию провоспалительных CCR2+ моноцитов в очаг воспаления. При этом МСК стимулируют образование Т-хелперов 2 типа (Th2) и регуляторных популяций Т- и В-лимфоцитов (Treg и Breg соответственно). Перечисленные свойства МСК обуславливают их противовоспалительную активность, которая потенцируется в “воспалительном” микроокружении, в частности, в присутствии IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , что позволяет рассматривать МСК не как иммуносупрессорную, а как иммунорегулирующую популяцию клеток (Lyadova et al., 2016; Jiang, Xu, 2020).

Наличие у МСК противовоспалительной активности подтверждается многочисленными исследованиями *in vivo*. В моделях экспериментального сепсиса внутривенное введение МСК, полученных из различных источников (костного мозга, жировой ткани, пуповинной крови) снижало уровень провоспалительных цитокинов TNF- $\alpha$  и IL-6, стимулировало продукцию IL-10 макрофагами, уменьшало тяжесть сепсиса и смертность животных от него (Németh et al., 2002; Ahn et al., 2020). В модели эмфиземы легких у мышей терапия МСК костного мозга человека и кондиционированная МСК среда оказывали существенное цитопротективное действие при раннем применении (Kennelly et al., 2016). Эти защитные эффекты были обусловлены значительными противовоспалительными, антифиброзными и антиапоптотическими свойствами.

В то же время в исследованиях на животных встречаются указания на возможную недостаточную эффективность и возможные побочные эффекты при введении МСК. Так, в модели сепсиса на свиньях введение МСК не выявило сколь-нибудь значимых положительных эффектов (Hogak et al., 2020), не уменьшало гемодинамические изменения и развитие полиорганной недостаточности, вызванных сепсисом. У мышей в условиях выраженного воспалительного процесса в легочной ткани, вызванного инфекцией *M. tuberculosis*, МСК не обеспечивали эффективного снижения воспалительного процесса (Nenasheva et al., 2017).

Побочные эффекты от введения МСК связаны, прежде всего, с их прокоагулянтной активностью и риском возникновения тромбозов, обусловленными продукцией тканевого фактора и, возможно, активацией системы комплемента (подробно рас-

сматривается в обзоре Coppin и соавт. (Coppin et al., 2017). В экстраклеточных секретлируемых везикулах, полученных от МСК, выявлено присутствие тканевого фактора (TF) и других белков, вовлеченных в систему коагуляции крови. Кроме того, обнаружено, что некоторые МСК и их везикулы содержали аннексин V, что подразумевает присутствие фосфатидилсерина на их поверхностях, усиливающее образование сгустка крови (Silachev et al., 2019). При системном введении здоровым животным МСК могут вызвать блокаду капиллярного русла легочной ткани и, помимо снижения продукции провоспалительных цитокинов (IL-6, IL-12, IFN- $\gamma$ ), индуцировать повышение локального уровня хемокинов (CCL3, CCL4, RANTES) (Nenasheva et al., 2017).

Еще одним важным моментом является то, что вызываемое МСК снижение воспалительного ответа сопровождается ингибированием иммунных реакций, ответственных за защитные функции организма, в частности, за развитие противовирусного и противобактериального ответов (ингибирование образования и активности Th1, НК-клеток). В связи с этим применение МСК в условиях инфекционной патологии представляется невозможным без четкого определения иммунологических критериев целесообразности их применения (“окон возможностей”).

Результаты клинических исследований МСК также весьма противоречивы (Gomez-Salazar et al., 2010) и зачастую не достигают поставленных целей. Наиболее разработанным является применение МСК для смягчения рефрактерной к стероидам тяжелой реакции “трансплантат против хозяина”. Однако, например, на III фазе клинических исследований было продемонстрировано отсутствие значимого клинического эффекта препарата МСК Prochymal<sup>TM</sup>. Этот препарат, тем не менее, был разрешен в некоторых странах для лечения этой патологии у детей, поскольку именно в этой группе пациентов была заметна значимая разница с группой плацебо. Проводятся исследования для оценки потенциала МСК для лечения диабета, патологий печени, почек и легких, сердечно-сосудистой системы, опорно-двигательного аппарата, воспалительных, неврологических и аутоиммунных заболеваний (Squillaro et al., 2016). Острый респираторный дистресс-синдром (ОРДС) также рассматривается в контексте возможного применения МСК (Han et al., 2019). Однако ОРДС является гетерогенным синдромом и на основании анализа данных клинических исследований делается вывод о наличии, по крайней мере, двух типов ОРДС, из которых только один характеризовался более высокими уровнями воспалительных биомаркеров в плазме (Calfée et al., 2014). Возможно, терапия МСК для таких пациентов с гипертрофическим типом ОРДС будет наиболее эффективной.

В экспериментальных моделях вирусного ОРДС эффект МСК также не был однозначным. Вызванное вирусом гриппа H1N1 повреждение легких у мышей не купировалось введением МСК (Gotts et al., 2014). Однако введение МСК заметно ослабляло травму альвеолярно-капиллярного барьера у мышей, зараженных H5N1, которые имеют высокий уровень воспаления, и повышало вероятность выживания животных (Chan et al., 2016). В клинических исследованиях введение аллогенных МСК из жировой ткани больным с ОРДС не оказало положительного клинического эффекта и не вызвало сколь-нибудь статистически значимых изменений в биохимических показателях крови, в частности, в уровнях IL-8 и IL-6 (Zheng et al., 2016).

Хотя пока нет результатов серьезных клинических исследований долговременных эффектов и соотношения риск/польза внутривенного введения МСК, по имеющейся информации, количество краткосрочных побочных эффектов и осложнений невелико. Среди краткосрочных осложнений обращают на себя внимание сообщения о риске тромбоза, вызванного терапией (Tatsumi et al., 2017). При введении здоровым людям липополисахарида, предварительное введение МСК в высокой дозе оказывало смешанное провоспалительное (повышенное высвобождение IL-8 и нуклеосом) и противовоспалительное действие (повышенное высвобождение IL-10 и TGF- $\beta$ ), а также увеличивало активацию системы коагуляции и снижало фибринолитическую активность крови (Perlee et al., 2018).

Пока нет ответа и на самый важный вопрос о возможной индукции трансплантированными МСК опухолевого роста за счет модификации опухолевой стромы (Direkze et al., 2004).

Таким образом, надежных данных о механизме действия МСК при системном введении человеку крайне мало, так же, как и данных о распределении клеток в организме и отдаленных последствиях такого введения, а данные модельных экспериментов противоречивы как в отношении специфического действия МСК, так и их безопасности.

Тем не менее, вскоре после начала развития пандемии SARS-Cov-2 были инициированы клинические исследования с использованием МСК для лечения тяжелых проявлений этой инфекции. Большая часть таких исследований начата в КНР, однако вскоре появились сообщения и из других стран, и их число постоянно растет (более чем в два раза за неделю).

В связи с этим нами была предпринята попытка оценить масштаб исследований возможного терапевтического эффекта МСК при COVID-19 человека на основе информации международной базы данных клинических исследований Clinical-

Trials.gov (<https://clinicaltrials.gov>) (табл. 1 в Приложении на сайте журнала “Онтогенез”). На момент написания статьи было официально зарегистрировано 29 клинических исследований биомедицинских клеточных продуктов (БМКП) (включая 1 отмененное) с целью лечения осложнений COVID-19, а также одно исследование клеточных везикул. Из них 18 соответствуют критериям клинических исследований, в то время как остальные могут быть описаны термином “Клиническая апробация”. Кроме того, по имеющимся данным ряд клинических исследований проводится с регистрацией только в КНР (Golchin et al., 2020). В качестве источника для клеточного продукта чаще всего использованы клетки пупочного канатика, что, вероятно, объясняется доступностью и/или свойствами биоматериала.

Вероятно, отсутствие серьезных доказательств эффективности продуктов на основе живых клеток человека при COVID-19 не позволило их упомянуть в выпущенном 21 апреля 2020 года Руководстве по лечению COVID-19 (Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines) Национальных институтов здоровья США (NIH) как возможно перспективных. В Руководстве отмечается, что в настоящее время ни один препарат не является безопасным и эффективным для лечения COVID-19, а эмпирически подобранные и применяемые в настоящее время средства лечения оказывают незначительное сдерживающее действие на развитие симптомов пневмонии, в том числе легочной недостаточности, приводящей к летальному исходу. В Рекомендациях отмечается, что не существует одобренных FDA лекарств, специально предназначенных для лечения пациентов с COVID-19 и недостаточно данных для того, чтобы рекомендовать применение противовирусной или иммуномодулирующей терапии у пациентов с COVID-19 (Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines). Тем не менее, если клинические исследования покажут приемлемое соотношение риск/польза применения МСК, страны, где такие исследования проводились, могут рассчитывать на их внедрение в медицинскую практику, вероятно, не ранее чем через год.

В России, однако, действующее законодательство в области БМКП не предполагает не только каких-либо механизмов ускоренной, либо упрощенной регистрации БМКП (в отличие от многих зарубежных стран, где для таких случаев предусмотрены механизмы Fast Track (быстрый вариант) или условной регистрации), но и механизма ускоренного получения разрешения на проведение клинических исследований. Даже если специальный механизм для БМКП будет разработан и одобрен, критическим вопросом является проведение доказательных доклинических исследований и изготовление образцов для клинических исследований на лицензированном

согласно надлежащим правилам производстве БМКП.

Представляется крайне важным, с одной стороны, не пропустить шанс для медицины получить новый эффективный инструмент лечения неизлечимых обычными методами заболеваний (либо состояний с высокой фатальностью), а с другой – не допустить массового применения БМКП с неопределенным соотношением риск/польза. Сначала следует провести экспериментальную проверку наличия специфического действия МСК и риски их применения при COVID-19 в достаточном объеме и параллельно создавать механизм ускоренного, но обоснованного допуска БМКП в практику. В противном случае, выявление серьезных побочных эффектов может произойти через какое-то время и полностью дискредитировать БМКП.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Работа была выполнена в рамках Госзадания ИБР РАН № 0108-2019-0004. 2020 год.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Настоящая статья не содержит описания выполненных авторами исследований с участием людей или использованием животных в качестве объектов.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют, что какой-либо конфликт интересов отсутствует.

#### ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Таблица 1 (см. на сайте журнала “Онтогенез” <http://ontogenez.org/?show=content4>).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Ahn S.Y., Maeng Y.-S., Kim Y.R. et al.* In vivo monitoring of dynamic interaction between neutrophil and human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cell in mouse liver during sepsis // *Stem Cell Research & Therapy*. 2020. V. 11. № 1. P. 44–59.
- Calfee C.S., Delucchi K., Parsons P.E. et al.* Subphenotypes in acute respiratory distress syndrome: latent class analysis of data from two randomized controlled trials // *Lancet Respir. Med.* 2014. V. 2. № 8. P. 611–620.
- Chan M.C., Kuok D.I., Leung C.Y. et al.* Human mesenchymal stromal cells reduce influenza A H5N1-associated acute lung injury *in vitro* and *in vivo* // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016. V. 113. № 13. P. 3621–3626.
- Coppin L., Sokal E., Stéphenne X.* Thrombogenic risk induced by intravascular mesenchymal stem cell therapy: Current status and future perspectives // *Cells*. 2019. V. 8. № 10. P. 1160.
- Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines. <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>.
- Direkze N.C., Hodivala-Dilke K., Jeffery R. et al.* Bone marrow contribution to tumor-associated myofibroblasts and fibroblasts // *Cancer Res.* 2004. V. 64. № 23. P. 8492–8495.
- Golchin A., Seyedjafari E., Ardehshiryajimi A.* Mesenchymal stem cell therapy for COVID-19: present or future // *Stem Cell Rev. Rep.* 2020. P. 1–7.
- Gomez-Salazar M., Gonzalez-Galofre Z.N., Casamitjana J. et al.* Five decades later, are mesenchymal stem cells still relevant? // *Front Bioeng. Biotechnol.* 2020. V. 8. № 148. P. 1–13.
- Gotts J.E., Abbott J., Matthay M.A.* Influenza causes prolonged disruption of the alveolar-capillary barrier in mice unresponsive to mesenchymal stem cell therapy // *Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol.* 2014. V. 307. № 5. P. L395–L406.
- Han J., Li Y., Li Y.* Strategies to enhance mesenchymal stem cell-based therapies for acute respiratory distress syndrome // *Stem Cells Int.* 2019. № 5432134. P. 1–12. <https://clinicaltrials.gov>.
- Horak J., Nalos L., Martinkova V. et al.* Evaluation of mesenchymal stem cell therapy for sepsis: a randomized controlled porcine study // *Front Immunol.* 2020. V. 11. № 126. P. 1–13.
- Jiang W., Xu J.* Immune modulation by mesenchymal stem cells // *Cell Prolif.* 2020. V. 53. P. e12712.
- Kennelly H., Mahon B., English K.* Human mesenchymal stromal cells exert HGF dependent cytoprotective effects in a human relevant pre-clinical model of COPD // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. № 38207. P. 1–11.
- Lyadova I.V., Sosunova E., Nikolaev A.V. et al.* Mesenchymal stem cells and myeloid derived suppressor cells: Common traits in immune regulation // *J. Immunol. Res.* 2016. 2016: 7121580.
- Németh K., Leelahavanichkul A., Yuen P.S. et al.* Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E(2)-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production // *Nat. Med.* 2009. V. 15. № 1. P. 42–49.
- Nenasheva T., Nikolaev A., Diykanov D. et al.* The introduction of mesenchymal stromal cells induces different immunological responses in the lungs of healthy and *M. tuberculosis* infected mice // *PLoS One*. 2017. V. 12. № 6. e0178983.
- Perlee D., van Vught L.A., Scicluna B.P. et al.* Intravenous infusion of human adipose mesenchymal stem cells modifies the host response to lipopolysaccharide in humans: a randomized, single-blind, parallel group, placebo controlled trial // *Stem Cells*. 2018. V. 36. № 11. P. 1778–1788.
- Silachev D.N., Goryunov K.V., Shpilyuk M.A. et al.* Effect of MSCs and MSC-derived extracellular vesicles on human blood coagulation // *Cells*. 2019. V. 8. № 258. P. 1–23.
- Squillaro T., Peluso G., Galderisi U. et al.* Clinical trials with mesenchymal stem cells: an update // *Cell Transplant.* 2016. V. 25. № 5. P. 829–848.
- Tatsumi K., Ohashi K., Matsubara Y. et al.* Tissue factor triggers procoagulation in transplanted mesenchymal stem cells leading to thromboembolism // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2013. V. 431. № 2. P. 203–209.
- Zheng G., Huang L., Tong H. et al.* Treatment of acute respiratory distress syndrome with allogeneic adipose-derived mesenchymal stem cells: a randomized, placebo-controlled pilot study // *Respir. Res.* 2014. V. 15. № 39. P. 1–10.

## **News and Views Mesenchymal Stem Cells Therapy – Is a Glass Half Full or Half Empty?**

**Yu. V. Sukhanov<sup>1,\*</sup>, E. A. Vorotelyak<sup>1</sup>, I. V. Lyadova<sup>1</sup>, and A. V. Vasiliev<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Koltzov Institute of Development Biology of the Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 26, Moscow, 119334 Russia*

*\*e-mail: yuri.sukhanov@gmail.com*

The relevance of the speedy search and implementation to the medical practice new methods of severe forms of pneumonia COVID-19 treatment is to the lack of effective methods that destroy the pathogen. Expectations for a good clinical effect of use MSCs are not unfounded – there is a scientific justification for the use of MSCs, including proven mechanisms of their action. Reliable data on the mechanism of action of MSCs during systemic administration to humans are extremely scarce, as well as the data on the distribution of cells in the body and the long-term consequences of the administration. The data of model experiments are contradictory both with respect to the specific action of MSCs and its safety. If clinical trials show an acceptable risk/benefit ratio for the use of MSCs, countries where such studies have been conducted can count on their introduction into medical practice. In Russia, an experimental verification of the presence of a specific action of MSCs and the risks of their use with COVID-19 in sufficient quantities should be initiated, and in parallel, a mechanism should be established for the accelerated but substantiated admission of cell products.

*Keywords:* mesenchymal stem cells, MSCs, SARS-CoV-2, pneumonia, COVID-19, inflammation, cytokines, clinical trials, biomedical cell products