

## STAMINALI

### ALLOGENIC MESENCHYMAL STEM CELLS TRANSPLANTATION IN REFRACTORY SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS: A PILOT CLINICAL STUDY

LIANG J, ZHANG H, HUA B, ET AL.

*Ann Rheumatol Dis* 2010;69:1423-9

Gli Autori sono partiti dal concetto che il LES sia una malattia potenzialmente mediata da un difetto acquisito o costituzionale delle cellule staminali mesenchimali (*Mesenchymal Stem Cells*, MSC) dei soggetti colpiti (infatti, le loro MSC crescono e funzionano meno bene rispetto a quelle dei soggetti sani); hanno deciso di usare MSC eterologhe sulla base di questo presupposto, e sulla scorta di risultati insoddisfacenti ottenuti da altri con MSC autologhe (Carrion F, et al. *Lupus* 2010;19:317-22). I pazienti da trattare erano 15, affetti da LES cortico-chemioresistente, di cui 14 con nefrite. Le MSC sono state raccolte dal midollo di familiari sani (non è stata ricercata una HLA-compatibilità) e infuse nei soggetti malati alla dose di  $1 \times 10^6$  cellule per kg di peso corporeo. Un trattamento chemioterapico è stato mantenuto per 1 mese, poi sospeso; i pazienti sono stati seguiti per un periodo medio di 17 mesi. I risultati sono eclatanti: in tutti è significativamente e rapidamente calato il punteggio di attività del LES (SLEDAI score); in tutti è consistentemente e rapidamente diminuita la proteinuria/24 h e così pure il titolo di anti-dsDNA; in 2 è migliorata consistentemente la clearance della creatinina. Due pazienti, su 13 seguiti per più di 12 mesi, hanno subito una ricaduta. Non è stato segnalato alcun effetto indesiderato significativo.

### MESENCHYMAL STEM CELLS IN THE TREATMENT OF AUTOIMMUNE DISEASES

TYNDALL A, HOUSIAU FA

*Ann Rheumatol Dis* 2010;69:1413-4

L'uso delle cellule staminali mesenchimali (MSC) nel trattamento di malattie infiammatorie e/o autoimmuni è in rapida crescita. All'inizio di questo movimento si collocano alcune osservazioni in vitro che dimostravano un'attività anti-proliferativa e cito-regolatoria delle MSC, a opera principalmente di molecole di contatto, sulle cellule linfatiche co-coltivate, in grado di determinare, in queste, anche una ri-programmazione genetica. A questa prima fase, "in vitro", è seguita una larghissima sperimentazione sulla patologia autoimmune e sulla trapiantologia nel topolino, con risultati preclinici molto incoraggianti, anche se con qualche significativo fallimento nel trattamento del LES murino e di artriti murine (Schurgers E, et al. *Arthritis Res Ther* 2010;12:R31; Youd M, et al. *Clin Exp Immunol* 2010;161:176-86). Infine, siamo arrivati alla fase clinica, sia pure ancora sperimentale, che sembra addirittura allargare le speranze e l'interesse medico, con risultati forse inattesi, o forse troppo esaltati, sulla facilitazione al trapianto, sulla malattia di rigetto contro l'ospite (*Graft Versus Host Disease*, GVHD), sulla sclerosi multipla (SM), sul-

la sclerosi laterale amiotrofica (SLA), sul lupus eritematoso sistemico (LES), sull'artrite reumatoide, sulla malattia di Crohn. Nei fatti, sino alla pubblicazione del lavoro, i soggetti trattati sono più di 1000, e sono state registrate 69 sperimentazioni controllate; i risultati, però, pur rimanendo per alcuni versi entusiasmanti, non sono costanti e le differenze tra loro non sono, sinora, completamente comprese. Inoltre, la maggior parte delle ricerche pubblicate riguarda casistiche piccole, o casi singoli. Da un esame delle casistiche principali sembra però di poter concludere, almeno provvisoriamente, e con beneficio di inventario, che le MSC dei soggetti malati (di fatto le MSC autologhe, auto-trapiantate) sono meno efficaci delle MSC eterologhe, da qualunque tessuto esse vengano ottenute (in genere dal midollo). E si capisce.

Gli Autori sottolineano alcune perplessità sulle conclusioni che si possono trarre da questa casistica eterogenea; tuttavia citano, sia pure con alcune riserve concernenti singoli aspetti, il lavoro recentissimo, che abbiamo riportato qui sopra, fin troppo convincente circa il potere terapeutico delle MSC, in almeno una malattia autoimmune, il lupus cortico-chemioresistente.

Gli Autori concludono comunque che, in termini di sicurezza e di ottimale fattibilità, il problema deve ancora maturare: che bisogna ben capire quale sia la fonte migliore di staminali (il tessuto adiposo, il midollo osseo, il cordone ombelicale); quale sia la scelta migliore, caso per caso, se le MSC autologhe o quelle eterologhe; quali siano infine i pazienti VERAMENTE candidati al trapianto di MSC.

### Commento

*La storia delle cellule staminali mesenchimali è lunga e piena di sorprese. Nel 1986 Friedeman e collaboratori hanno isolato e coltivato in vitro cellule spindle-shaped, che hanno considerato essere dei fibroblasti. In realtà si trattava di cellule multipotenti, in grado di differenziarsi in condrociti, adipociti, osteoblasti e cellule stromali. A loro volta, queste cellule staminali mesenchimali si possono ottenere, oltre che dal midollo osseo, anche dalla placenta e/o dal sangue del cordone ombelicale, dal tessuto adiposo, dalla sinovia e dal liquido sinoviale, dal fegato, dal sangue. Più tardi, alla fine del secolo scorso, si è visto che da queste cellule multipotenti potevano "transdifferenziarsi" anche cellule sia dell'endoderma che dell'ectoderma: cellule epiteliali e neuroglia-like, miocellule, cellule polmonari, epatociti. Cellule staminali dunque, non totipotenti, ma certamente multipotenti. Anzi "pleuro-potenti", così vengono anche definite queste staminali così poco differenziate: queste Mesenchymal Stem Cells (MSC). Nel 2006, la International Society of Cellular Therapy (Dominici M, et al. *Cryotherapy* 2006; 8:315-7) ha definito le MSC come cellule mesenchimali stromali multipotenti, caratterizzate dalle seguenti proprietà: a) capacità di crescere come "cellule aderenti" su plastica; b) morfologia fibroblast-like; c) espressione dei marker stromali; c) mancata espressione dei marker emopoietici, CD34, CD14, CD45. Queste cellule appaiono promettenti per i fini della medicina rigenerativa.*



### Le MSC come truppe di complemento

Le MSC esprimono assai debolmente il complesso maggiore di istocompatibilità di classe prima, e non producono molecole co-stimolatorie come CD80, CD86, CD40, e quindi non danno, per sé, problemi di rigetto e possono esser fornite da "donatori universali". Il loro impiego originario è stato sperimentato per curare malattie specifiche da difetto genetico di formazione come l'osteogenesi imperfetta (Horwitz EM, et al. *Nat Med* 1999; 5:309-13; Horwitz EM, et al. *Blood* 2001;97:1227-31; Le Blanc K, et al. *Transplantation* 2005;79:1607-14), ma anche per ricostruire o ripristinare la funzione di organi danneggiati, come lo scheletro (fratture) o la cartilagine (nell'animale) o il muscolo (De Bari C, et al. *J Cell Biol* 2003;160:909-18) o come il miocardio. Le loro qualità "speciali" si sono però rivelate legate piuttosto alla quantità di molecole di adesione, di integrine, di recettori di fattori di crescita, di recettori di chemochine, di proteine morfogenetiche, galectina-1, angiopoietina-1, trombospondina-1 e -2: alcune di queste molecole, o il loro insieme, fanno sì che l'infusione di MSC faciliti l'attecchimento di cellule staminali emopoietiche trapiantate, ricostituendone il microambiente. Dunque le MSC, per questo tipo di funzione, appaiono piuttosto come delle servizievoli e capaci ancelle piuttosto che come cellule sostitutive o ricostruttrici di tessuti nati scadenti oppure corrosi dal tempo e dalla malattia.

NB. Anche le MSC invecchiano (anzi, molta patologia autoimmune va considerata, in qualche misura, l'espressione di un invecchiamento delle MSC e di una perdita delle loro squisite capacità regolatorie). Nei fatti, ai fini terapeutici, le MSC di un vecchio servono poco, mentre sono "perfette" quelle di un donatore di 0-20 anni (Huang H, et al. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2005;13:1049-53).

### Le MSC e il sistema immune

Ma le MSC hanno anche altre qualità, come si è visto dai lavori che abbiamo riportato. Queste qualità si sono affacciate sul palcoscenico della scienza, finalmente, in questo secolo, 2003, con l'osservazione che MSC di topo trasferite nel babuino da una parte inibiscono la proliferazione dei linfociti T e dall'altra sostengono la sopravvivenza di T cellule iperstimolate, che sarebbero altrimenti destinate all'apoptosi: il massimo della concretezza contenuta nel termine un po' abusato di "immunomodulazione". Inoltre le MSC riducono la produzione di interferone gamma, pro-infiammatorio, e aumentano la produzione di interleuchina 4, anti-flogistica, da parte delle T cellule: questo probabilmente per effetto di molecole di contatto, cui abbiamo già fatto cenno, e di fattori solubili "generalisti" come ossido nitrico, indoleamina-2,3-deidrogenasi, eme-ossigenasi-1, e di diversi tipi di fattori di crescita (GF). Per converso, più di 10 anni fa, Ikehara, studiando le (dis)funzioni delle cellule ematopoietiche in malattie autoimmuni, era già giunto alla conclusione che queste malattie erano, in effetti, il risultato di una disfunzione delle cellule staminali (Ikehara S. *Acta Haematol* 1998; 99:116-32). Più recentemente si è dimostrato che, nel topo con malattia autoimmune sperimentale e nell'uomo

con LES, le cellule malate sono effettivamente le MSC, la cui crescita in coltura appare anormalmente stentata. Dunque, il circolo (della comprensione) sembra chiudersi: le MSC acquistano un ruolo funzionale (patogenetico e terapeutico) impensato, e l'effetto dell'infusione (un trapianto!) delle MSC (eterologhe) diventa un effetto "rigenerativo" su un organo-funzione "stanco" o "malato".

Negli anni che seguono, dal 2005 al 2008, sono stati riconosciuti effetti immuno-modulanti delle MSC anche sul sistema B: un po' come abbiamo visto accadere per il sistema T, anche sul sistema B le MSC inibiscono la funzione aggressiva e auto-aggressiva, interferendo sul passaggio maturativo da B linfocita a plasmacellula, e bloccando così la produzione materiale di anticorpi; e nello stesso tempo proteggono le cellule B iperstimolate dall'apoptosi producendo, dunque, anche su questo versante, una vera immuno-modulazione, fatta al tempo stesso di freno e di conservazione.

Infine, si è potuto riconoscere che le MSC agiscono anche sulle cellule dendritiche, interferendo in maniera complessa e sempre attraverso molecole solubili, con la loro differenziazione (dal monocita), maturazione e funzione; e controllano, in maniera anche più complessa, ma sempre singolarmente "moderata", i natural killer. Anche troppo, no?

### Le applicazioni e le sperimentazioni cliniche con le MSC

Le principali applicazioni cliniche delle MSC pubblicate sinora riguardano prima di tutto il Graft Versus Host Disease (GVHD).

Quasi contemporaneamente si è affrontata la patologia autoimmune e degenerativa del sistema nervoso centrale (sclerosi multipla, sclerosi laterale amiotrofica). Si era partiti dall'idea che le MSC potessero, come è dimostrato, "trans differenziarsi" in cellule neuroglia-like e forse consentire l'autoproduzione di nuovi neuroni e, qui sta il punto, penetrare nel SNC e "ricostruirlo". In realtà, un effetto clinico c'è stato, e molto significativo (e c'è anche a livello sperimentale sull'encefalo-mielite autoimmune e sulla miastenia grave del topolino), ma sembra quasi sicuramente, e ragionevolmente, legato all'ormai miracolosa azione immuno-modulante ("anti-autoimmune") delle MSC (Riordan NH, et al. *J Transl Med* 2009;7:29; Kassis I, et al. *Curr Stem Cell Res Ther* 2010 (Epub ahead of print).

Infine, sono arrivate le ricerche sul LES, e prima ancora le ricerche sull'artrite sperimentale del topo (Djouan F, et al. *Arthritis Rheum* 2005;52:1595-63), sull'artrite reumatoide dell'uomo (Augello A, et al. *Arthritis Rheum* 2007;56:175-86) e sulla malattia di Crohn (Sun L, et al. *Dis Colon Rectum* 2005;48:1416-23).

Una storia, dunque, che viene da lontano, dapprima sotto traccia, chiusa nei laboratori di ricerca pura, poi sperimentale, infine esplosa nella clinica, con nomi orientali di ricercatori a cui non siamo ancora abituati. Nella sostanza, le MSC inaugurano un capitolo del tutto nuovo, apertissimo, pieno di promesse, a cavallo tra la medicina rigenerativa e la medicina dei disordini immunologici. Un'apertura che nessuno può ignorare, senza essere, appunto, ignorante.