

© Borgis

Procedury umożliwiające szersze zastosowanie komórek macierzystych z krwi pępowinowej

Dominika Gładysz¹, Katarzyna Pawelec^{1, 2}, *Dariusz Boruczkowski¹

¹PBKM – Polski Bank Komórek Macierzystych, Warszawa

Kierownik Banku: dr n. biol. Tomasz Ołdak

²Katedra i Klinika Pediatrii Hematologii i Onkologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Kierownik Katedry i Kliniki: prof. dr hab. med. Michał Matysiak

ENHANCING STRATEGIES THAT ALLOW BROADENED USAGE OF CORD BLOOD STEM CELLS

Summary

Nearly nine thousands patients worldwide have been transplanted with cord blood stem cells and that number continues to increase. The intense interest in cord blood usage can be explained by its advantages: prompt availability of HLA-typed stem cells, acceptable HLA disparity up to two antigen mismatches, no adverse effects on stem cell donor, decreased risk of infection transmission and lower incidence of graft versus host disease. Nevertheless, the limitations still exist. The number of stem cells collected is lower in comparison with bone marrow or mobilized peripheral blood. This results in poorer homing and engraftment, which puts patients at risk of prolonged neutropenia and life-threatening infections. With a remarkable growth of science in medicine, many methods have appeared with the object to overcome those limitations. That can be achieved by increasing numbers of infused stem cells through double umbilical cord blood stem cell transplantation or enhanced homing using complement C3a and dipeptidyl peptidase IV inhibitors either stem cells *ex vivo* expansion with cytokines and growth factors. The bone marrow microenvironment can be influenced by mesenchymal stem cells co-transplantation or intrabone infusion in place of intravenous one. Other possibilities include maintaining of undifferentiated state of progenitors by co-culture with Notch ligand, nicotinamide, copper chelators or aryl hydrocarbon receptor antagonists. Prostaglandin E₂ or α 1,3-fucosyltransferase VI has been used in manipulation of stem cells as well. Up to date, there are many clinical trials conducted to establish safety and efficacy of above-mentioned procedures.

Key words: cord blood, stem cells, hematopoietic stem cell transplantation

WSTĘP

Przeszczepienia komórek macierzystych z krwi pępowinowej (ang. *umbilical cord blood haematopoietic stem cell transplantations* – UCB-HSCT) są obecnie uznaną procedurą, szczególnie w przypadku braku dawcy zgodnego w układzie HLA (1-3). Pierwsze doniesienia na temat terapeutycznego użycia krwi pępowinowej pochodzą prawdopodobnie z 1939 roku, jednak pierwszą udaną transplantację udało się przeprowadzić niemal 50 lat później (4-6). Początkowo liczba wykonywanych UCB-HSCT była bardzo mała, w 2000 roku przeszczepiono zaledwie pięćset jednostek, jednakże dzięki dynamicznemu rozwojowi medycyny liczba przeszczepionych allogenicznych jednostek krwi pępowinowej w 2011 roku przekroczyła cztery tysiące (7). Tylko według danych Eurocordu do dnia 31 grudnia 2011 roku przeszczepiono je u 8807 pacjentów, używając 10 651 jednostek krwi

pępowinowej (8), a do końca 2012 liczba wszystkich transplantacji krwi pępowinowej na całym świecie przekroczyła 25 000 procedur.

Krew pępowinowa (CB) jako źródło komórek hematopoetycznych ma wiele zalet – m.in. jest bardzo szybko dostępna i już wytypowana w układzie HLA, dawca nie jest narażony na powikłania procedury pobierania szpiku, występuje mniejsze ryzyko przeniesienia zakażenia, a dzięki niedojrzałości immunologicznej komórek dopuszczalna jest mniejsza zgodność w układzie HLA (1, 3, 9-12). Ponadto komórki z krwi pępowinowej mają większe zdolności proliferacyjne i do tworzenia kolonii (13). Opisuje się także niższą częstość ostrej i przewlekłej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi (ang. *Graft versus Host Disease* – GvHD) (1-3, 10-12).

Obecnie największym problemem ograniczającym zastosowanie krwi pępowinowej, szczególnie u osób

dorosłych, jest ograniczona liczba pozyskiwanych z niej komórek, która skutkować może wydłużonym czasem odnowy immunologicznej oraz hematopoetycznej w porównaniu do przeszczepień komórek pochodzących ze szpiku kostnego (ang. *bone marrow* – BM) czy krwi obwodowej (ang. *peripheral blood* – PB). Również ryzyko nieprzyjęcia się przeszczepu jest wyższe i wynosi ok. 10-20% (1, 3, 10). Mediana czasu odnowy neutrofilii waha się w granicach 22-27 dni, tym samym pacjenci zostają narażeni na przedłużające się okresy neutropenii (1-3, 10), co pociąga za sobą wczesne powikłania infekcyjne, które stanowią główną przyczynę zgonów w tej grupie (2). Wśród pacjentów poddanych UCB-HSCT jest również najwyższa 100-dniowa śmiertelność, jednak wobec niższej częstości GvHD zarówno odległa przeżywalność, jak i częstość wznów pozostaje na tym samym poziomie co u pacjentów po BM-HSCT lub PB-HSCT (12).

Aby pokonać bariery uniemożliwiające szersze korzystanie ze źródła komórek macierzystych, jakim jest krew pępowinowa, naukowcy opracowują metody polegające na zwiększeniu liczby podawanych komórek poprzez jednoczesne przeszczepianie dwóch jednostek krwi pępowinowej oraz połączenie UCB-HSCT z haploidentycznym przeszczepem z deplecją limfocytów T, a także na zwiększeniu odsetka zagnieżdżających się komórek macierzystych dzięki ich doszypkowemu podaniu, inhibicji enzymu dipeptydylo-peptydazy IV czy też wspólnej infuzji z komórkami mezenchymalnymi. Można również dokonywać manipulacji *in vitro* bądź *in vivo* w celu ekspansji komórek krwi pępowinowej. Należy także ze szczególną uwagą dobierać jednostkę krwi pępowinowej i kondycjonowanie do pacjenta – pamiętając o jego rozpoznaniu i zgodności preparatów CB z dawcą w układzie HLA. Coraz bardziej ulepszana jest także sama metoda pobierania krwi pępowinowej (1, 3, 10).

Część powyższych procedur jest już stosunkowo dobrze poznana, jednak większość nadal podlega intensywnym badaniom, a pierwsze próby kliniczne oceniające ich bezpieczeństwo i przydatność u ludzi dopiero się zaczynają.

MANIPULACJA EX VIVO

W celu skrócenia czasu potrzebnego do zagnieżdżenia i przyjęcia się komórek macierzystych, próbuje się dokonywać na nich manipulacji jeszcze przed podaniem do organizmu biorcy. Krew pępowinowa może być poddana hodowli wraz z cytokinami i czynnikami wzrostu albo podlegać ekspansji poprzez ligand Notch. Do innych metod należy hodowla wraz z komórkami mezenchymalnymi (MSC) lub związkami różnego typu, jak np. związki chelatujące miedź czy nikotynoamid (14-30). Badania mające na celu ustalenie optymalnych warunków hodowli *ex vivo* są wciąż w toku. Nadal nie określono odpowiedniej proporcji czynników wzrostu i cytokin, co jest kluczowe dla tego rodzaju manipulacji. Niewłaściwy dobór substancji może skutkować poprawą jednego z czynników, np. odnowy układu płytkotwórczego, kosztem innego, np. odnowy w układzie granulocytarnym (15, 16). Jedną z bardziej zaawansowanych manipulacji jest hodowla wraz z ligandem Notch. Szlak sygnałowy Notch odgrywa ważną rolę w różnicowaniu i proliferacji ludzkich komórek progenitorowych, reguluje m.in. powstawanie limfocytów T i B (17). Delaney i wsp. dowiedli, że przy użyciu tej

metody można aż stukrotnie zwiększyć liczbę pożądanych komórek, a w efekcie klinicznym doprowadzić do znacznie szybszej odnowy układu hematopoetycznego. W badaniu I fazy poziom granulocytów przekraczający 500/ μ l został osiągnięty już 16 dni po UCB-HSCT w przeciwieństwie do przeciętnie uzyskiwanego pułapu 22-27 dni. Przeszczepiano dwie jednostki krwi pępowinowej; jednostka modyfikowana *ex vivo* była podana po czterech godzinach od pierwszej infuzji. Jednostką dominującą zwykle okazywała się ta, którą podano w pierwszej kolejności. Wobec znaczącej poprawy parametrów odnowy hematologicznej przypuszcza się, że hodowana z ligandem Notch jednostka pozytywnie wpłynęła na tę niezmienioną (18).

Innym sposobem ekspansji okazała się modyfikacja osteoblastów w niszy szpikowej modelu zwierzęcego za pomocą aktywacji receptora parathormonu (PTH), co wpłynęło na proliferację komórek macierzystych. Udowodniono, że użycie PTH zwiększa liczbę komórek progenitorowych u biorców przeszczepów oraz podczas ich mobilizacji do krwi obwodowej (19, 20). Do nowatorskich technik manipulacji *in vitro* należy modyfikacja epigenetyczna polegająca na inhibicji metylacji histonów komórek hematopoetycznych w celu zwolnienia procesu różnicowania pod wpływem czynników wzrostu. W oparciu o podobny mechanizm działa chelatacja miedzi. Odpowiednio niskie stężenie wewnątrzkomórkowe miedzi, poprzez spowolnienie różnicowania, promuje niedojrzały fenotyp CD34⁺ podczas jednoczesnej stymulacji cytokinami, co pozwala na szybsze wszczepienie komórek hematopoetycznych (14, 15, 21). W mechanizmie mającym na celu wspieranie „nawnej” immunologicznie postaci komórek, działa jeszcze nikotynoamid (22) oraz aktywacja szlaku Wtn (23, 24), a także antagoniści receptora węglowodorów aromatycznych (25, 26). Stosuje się także białko wiążące IGF (IGFBP-2) wraz z białkami podobnymi do angiopoetyny, co pozwala 20-krotnie zwiększyć poziom samoodnawiających się komórek macierzystych (27). Wśród nowszych technik możemy znaleźć próby zastosowania kwasu trans-retinowego, który miałby zwiększać frakcję komórek ulegających samoodnawianiu się przez długi czas (ang. *long-term repopulating cells* – LTRC). Również inkubacja z czynnikiem 3a dopełniacza zdaje się odnosić zamierzony skutek (14, 28). Kolejnym sposobem jest równoczesna hodowla z komórkami mezenchymalnymi. Badanie kliniczne I fazy dowiodło bezpieczeństwa i skuteczności tej procedury. Zastosowanie MSC wpłynęło na przyspieszenie odnowy szeregu neutrofilii i płytek krwi, co skutkowało niezależnością od transfuzji u większości pacjentów. Okazało się również, że MSC zwiększają liczbę regulatorowych komórek T i zmniejszają częstość GvHD (14, 29, 30). Bardzo ciekawą możliwość ekspansji przedstawiają Bari i wsp. – dzięki użyciu nanotechnologii stworzyli specyficzne rusztowanie dla komórek, które mając za zadanie imitację mikrośrodowiska i architektury szpiku kostnego, jednocześnie pobudza proliferację komórek i zapobiega apoptozie (31).

JEDNOCZASOWE PRZESZCZEPIENIE DWÓCH JEDNOSTEK KRWI PĘPOWINOWEJ

Jednym ze sposobów dostarczenia większej liczby komórek jest przeszczepienie dwóch (*double*) jednostek krwi

pępowinowej (dUCB-HSCT). Wykazano, że procedura przeszczepiania nawet kilku jednostek od różnych osób nie niesie za sobą ryzyka krzyżowych reakcji immunologicznych (32, 33). Pierwsze próby dUCB-HSCT miały miejsce w 1999 roku, leczono dwie dorosłe osoby, jedną z rozpoznaniem ostrej białaczki limfoblastycznej, drugą z powodu przewlekłej białaczki szpikowej (34). U obu pacjentów doszło do pełnej rekonstrukcji hematologicznej, jednak oboje zmarli – jeden z powodu krwotoku, drugi z powodu wznowy choroby podstawowej. Według danych z Eurocordu do 2011 roku ten typ przeszczepienia zastosowano u 1046 dorosłych (vs 1331 przeszczepień pojedynczych jednostek) i 160 dzieci (vs 2074) (35). Czas odnowy hematologicznej w obu przypadkach jest porównywalny, natomiast przy przeszczepieniach dwóch jednostek krwi pępowinowej obserwujemy większą częstość ostrej choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi stopnia II, a tym samym większy efekt przeszczep-przeciwko-chorobie nowotworowej, co związane jest z mniejszą częstością wznów u pacjentów onkologicznych (34). Przeszczepiając dwie jednostki krwi pępowinowej, mamy do czynienia z chimerizmem mieszanym zaraz po transplantacji, gdy w organizmie biorcy obecne są komórki od obu dawców. Już od ok. 2-3 tygodnia po przeszczepieniu dochodzi do dominacji jednej z wszczepionych jednostek (36-38). Jednostkę dominującą określa się jako jedyną, która uległa przyjęciu bądź jako tę, która przyczynia się do ponad 60% hematopoezy dnia setnego po HSCT (36). Osiągnięty chimerizm wydaje się stabilny – w badaniu Haspel i wsp. przeprowadzonym u pacjentów z chorobami rozrostowymi układu krwiotwórczego poddanych kondycjonowaniu o zredukowanej intensywności (ang. *reduced intensity conditioning* – RIC) zaledwie jeden z pacjentów utracił całkowity chimerizm pochodzenia biorcy na rzecz chimerizmu mieszanego (36). Opisano również jeden przypadek, w którym doszło do zamiany jednostki dominującej w 253 dniu po przeszczepieniu u 15-letniego chłopca leczonego z powodu ostrej białaczki limfoblastycznej (39). Do tej pory czynniki warunkujące przyjęcie się jednej z dwóch jednostek nie zostały dokładnie poznane. Ballen i wsp. opisują, że częściej dochodzi do dominacji jednostki, która została przeszczepiona jako pierwsza (40). Jedną z możliwych hipotez wyjaśniających to zjawisko jest wypełnienie poprzez pierwszą jednostkę niszy hematopoetycznej, a tym samym zredukowanie mikrośrodowiskowych czynników umożliwiających wszczęcie kolejnej jednostki (36). Natomiast Haspel i wsp. w badaniu opartym na 38 pacjentach, którym drugą jednostkę krwi pępowinowej podano po ok. 4 h od pierwszej, potwierdzili wpływ kolejności infuzji oraz wykazali, że jednostka dominująca odznacza się większą całkowitą liczbą komórek jądrzastych (TNC) oraz większą liczbą przeszczepionych komórek CD34⁺, co rodziłoby pytanie o rolę drugiej jednostki w procesie przeszczepowym. Bez wpływu na chimerizm pozostaje wiek biorcy, płeć oraz dobór w układzie AB0 i HLA. Natomiast jedynym istotnym statystycznie czynnikiem wpływającym na czas rekonstrukcji płytkotwórczej okazała się liczba przeszczepionych komórek CD34⁺ znajdująca się w jednostce dominującej. Obserwowano podobny trend w przypadku odnowy układu granulocytarnego. Wpływ na czynniki wa-

runkujące jednostkę dominującą może mieć czas upływający pomiędzy kolejnymi infuzjami, co wymaga dalszych badań (36). Nie wszystkie prace potwierdzają wpływ kolejności podawania na jednostkę ulegającą wszczęciu (33, 37, 38). Barker i wsp. oraz Brunstein i wsp. stosowali inny schemat infuzji, podając jedną jednostkę ok. 30 minut po drugiej. Wylimitowali tym samym kolejność jako czynnik warunkujący jednostkę dominującą, gdyż najpierw przeszczepione komórki nie miały odpowiedniego czasu na dotarcie do niszy hematopoetycznej. Nie odkryli oni żadnych czynników wpływających na to, która z jednostek okaże się dominująca (37, 38). W większości przeprowadzonych badań dUCB-HSCT w grupie osób dorosłych poddanych mieloabacyjnemu kondycjonowaniu wiązało się z dość dobrym przyjęciem się przeszczepu, niską śmiertelnością związaną z procedurą i czasem przeżycia bez progresji choroby porównywalnym z innymi metodami przeszczepiania komórek hematopoetycznych (41). Natomiast przyjęcie przeszczepu okazało się gorsze przy kondycjonowaniu z użyciem busulfanu i fludarabiny (42). Procedurę przeprowadzano także przy użyciu kondycjonowania o zredukowanej intensywności z dobrymi efektami (43). Jednostki dobierane do przeszczepu muszą być zgodne w co najmniej 4/6 HLA z dawcą oraz pomiędzy sobą. Minimalna liczba TNC przypadająca na jedną jednostkę to 1,5 x 10⁷/kg mc (44). Obecnie nadal trwa wiele badań klinicznych (I, II, jak i III fazy) podejmujących temat przeszczepień dwóch jednostek krwi pępowinowej.

DOSZPIKOWE PODANIE KOMÓREK MACIERZYSTYCH

Dostęp doszpikowy (ang. *intra bone*) jest znaną i bezpieczną metodą podaży leków i płynów w sytuacjach zagrożenia życia. Doszpikowa transplantacja komórek macierzystych (IB-UCB-HSCT) wydaje się jedną z metod pozwalających na szersze zastosowanie krwi pępowinowej. Potencjalnie wiążą się z nią powikłania takie jak zwiększona częstość zakażeń lub zator powietrzny czy tłuszczowy, jednakże dotychczas nie odnotowano komplikacji innych niż ból w miejscu podania (45). Procedura odbywa się zwykle w znieczuleniu miejscowym lub łagodnej anestezji dożylniej, trwa około 20 minut, używa się do niej igieł służących do biopsji szpiku. Komórki podaje się po jednej lub po obu stronach miednicy, w okolicy tylnej górnej grzebienia biodrowego, w kilku iniekcjach w miejscach oddalonych od siebie o 2-3 cm (45-47). Istnieją także zautomatyzowane urządzenia służące do biopsji szpiku, jak np. Marrow Miner, które być może będzie można wykorzystać do realizacji tej procedury (48). Badania nad modelem zwierzęcym oraz pierwsze kliniczne próby na ludziach dowiodły, że doszpikowa droga podania znacznie skraca czas przyjęcia się przeszczepu (47, 49-52), a zagnieżdżenie odbywa się nawet z 15-krotnie większą efektywnością (51). Wykazano, że IB-UCB-HSCT zmniejsza ryzyko GvHD (45, 47, 49). Jednak mechanizmy rządzące tymi zjawiskami nie zostały do końca poznane. Zmniejszenie GvHD związane jest prawdopodobnie z modyfikacją odpowiedzi limfocytów T oraz z interakcjami pomiędzy komórkami stromalnymi szpiku kostnego, gdyż limfocyty T

dawcy najpierw wchodzi w kontakt z osteoblastami i komórkami macierzystymi szpiku kostnego biorcy, które mają potencjalne działanie immunosupresyjne (45, 47). Jednak niższa częstość GvHD w przypadku IB-UCB-HSCT nie wiąże się ze zwiększonym ryzykiem wznowy choroby (47, 52). Natomiast krótszy czas do przyjęcia się przeszczepu może być związany ze zwiększoną ekspresją adhezyn podczas IB-UCB-HSCT, co pozwala na szybsze rozprzestrzenienie się komórek CD34⁺ w niszach szpiku kostnego dalekich od miejsca iniekcji. Podawanie dożylnie związane jest ze zwiększoną i niepotrzebną dystrybucją wśród narządów biorcy, co dodatkowo wzmacnia ryzyko GvHD (45). Badanie Marini i wsp. wykazało, że za korzystne parametry odnowy hematologicznej może być odpowiedzialny zwiększony metabolizm szpiku kostnego w miejscu iniekcji komórek, związany z ich proliferacyjną aktywnością i zależny od liczby podanych komórek krwi pępowinowej. Ponadto, na podstawie aktywności metabolicznej w miejscu iniekcji mierzonej za pomocą PET-CT udało się przewidzieć dzień rekonstrukcji hematologicznej płytek oraz poziom płytek setnego dnia po przeszczepie (53). Wpływ na parametry odnowy zdaje się mieć sposób podania komórek – Okada i wsp. sugerują, że w badaniach klinicznych, w których podawano komórki kolejno porcjami po 4-6 mL, uzyskano poprawę parametrów odnowy układu płytkotwórczego (46, 52), a podawanie jednorazowo większych ilości wydawało się nie mieć na nią wpływu (45, 54). Innymi hipotezami wyjaśniającymi brak pozytywnego efektu IB-UCB-HSCT są zbyt szybka prędkość infuzji czy mieloablacyjne kondycjonowanie – oba czynniki mogą uszkadzać mikrośrodowisko szpiku, likwidując tym samym czynniki przyczyniające się do szybszego zagnieżdżenia przy IB-UCB-HSCT (45). Z kolei Okada i wsp. w swoim badaniu pokazali bezpieczeństwo procedury doszpikowego podawania komórek macierzystych przy kondycjonowaniu o zredukowanej intensywności (46). Frassoni i wsp. (47) przeprowadzili symulację wyszukania odpowiedniej jednostki krwi pępowinowej dla 200 osób potrzebujących przeszczepienia w ciągu 2 ostatnich lat przed ukazaniem się publikacji. Przeszukiwanie prowadzono w oparciu o międzynarodowy rejestr dawców szpiku. Kryteria, które musiała spełniać jednostka krwi pępowinowej, to maksymalna niezgodność dwóch antygenów HLA klasy I lub jedna niezgodność w klasie I i jedna w klasie II, a także (niższa niż przy dożylnym podaniu) minimalna liczba TNC równa 1,5 x 10⁷/kg mc. W takim przypadku, przy zakładanej niższej liczbie komórek, potencjalne źródło komórek hematopoetycznych znalazłoby aż 93% osób. Aktualnie trwają badania kliniczne I i II fazy dotyczące doszpikowych transplantacji krwi pępowinowej zarówno wśród dorosłych (NCT01332006, NCT00886522, NCT01613066), jak i dzieci (NCT01711788).

PROSTAGLANDYNA E₂

Jednym z mechanizmów służących do poprawy wyników transplantacji z użyciem krwi pępowinowej jest manipulacja za pomocą prostaglandyny E₂ (PGE₂) (55-65). Jest ona eikozanoidem i mediatorem wielu procesów fizjologicznych (61, 66). Odgrywa także rolę w hematopoezie: w sposób zależny od dawki hamuje mielopoezę, ale równocześnie stymuluje

komórki szeregu erytroidalnego i multipotencjalne komórki progenitorowe (55, 67, 68). Na powierzchni hematopoetycznych komórek macierzystych znajdują się receptory dla PGE₂, a krótka ekspozycja *ex vivo* na tę substancję wzmacnia zagnieżdżenie i proliferację komórek CD34⁺, co skutkuje zwiększonym występowaniem LTRC (55, 58, 61, 69, 70). Prostaglandyna E₂ zwiększa ekspresję mRNA dla chemokiny CXCR4 – jednego z czynników mających kluczową rolę w zagnieżdżeniu, wzmacnia chemotaktyczną odpowiedź wszczepianych komórek, a także stymuluje je do różnicowania się poprzez szybsze włączenie do cyklu komórkowego, działając za pomocą cAMP na szlak sygnalizacyjny białka Wtn (55, 58, 59, 61, 70). Poza tym hamuje apoptozę za pomocą zwiększenia poziomu białka surwiwiny i redukcję poziomu kaspazy-3 (55, 61). Prawdopodobnie krótkotrwała ekspozycja na PGE₂ zwiększa właściwości kompetencyjne komórek aż czterokrotnie – dwukrotnie częściej komórki ulegają zagnieżdżeniu, a także dwukrotnie częściej włączają się do cyklu komórkowego (61, 69). Goessling i wsp. w swoim badaniu wykazali, że ekspozycja na dimetyloprostaglandynę (dmPGE₂) zwiększyła częstość chimeryzmu CD45⁺ pochodzenia ludzkiego u nieotyłych cukrzycowych myszy z mutacją SCID (ang. *severe combined immunodeficiency* – ciężki złożony niedobór odporności) poddanych ksenotransplantacji komórek macierzystych pochodzących z ludzkiej krwi pępowinowej. Ponadto, zastosowanie prostaglandyny E₂ okazało się nie mieć negatywnego wpływu na komórki hematopoetyczne i ich różnicowanie podczas obserwacji modeli zwierzęcych do roku po transplantacji (73). W badaniu klinicznym dwunastu pacjentom po RIC przeszczepiono dwie jednostki krwi pępowinowej, przy czym jedna była wcześniej inkubowana z dmPGE₂. Wszczepienie nastąpiło średnio już po 17,5 dnia, nie obserwowano wczesnego odrzucenia przeszczepu. Do dominacji jednostki modyfikowanej doszło w przypadku dziewięciu pacjentów na jedenastu możliwych do oceny – NCT 00890500 (64). Poza wspomnianym powyżej, trwa jeszcze jedno badanie kliniczne dotyczące bezpieczeństwa i skuteczności zastosowania PGE₂ w przypadku przeszczepiania jednej jednostki krwi pępowinowej u pacjentów z chorobami rozrostowymi poddanych kondycjonowaniu typu RIC (NCT01527838).

TRANSPLANTACJA RAZEM Z KOMÓRKAMI MEZENCHYMALNYMI

Podanie komórek mezenchymalnych wraz z hematopoetycznymi komórkami macierzystymi wydaje się bardzo ciekawą metodą z dobrymi wstępnymi wynikami (71-74). MSC regulują homeostazę szpiku poprzez oddziaływania międzykomórkowe czy też produkcję cytokin, mają również właściwości immunomodulujące i przeciwzapalne (75, 76). Massolo i wsp. w badaniu na modelu zwierzęcym podawali MSC doszpikowo. Choć po około 30 minutach komórki mezenchymalne przedostały się do układu krążenia, nawet tak krótki kontakt doprowadził do zmiany kinetyki przeszczepu, owocując lepszym zagnieżdżeniem komórek w obszarach oddalonych od miejsca iniekcji (71). Macmillan i wsp. w badaniu klinicznym I i II fazy na ośmiu pacjentach pediatrycznych, którym podano haploidentyczne MSC, dowiedli bezpieczeństwa stosowania komórek mezenchymalnych (72).

Według badania Ball i wsp. zastosowanie MSC przy przeszczepieniu haploidentycznym znacznie poprawia czas odnowy neutrofilii, a poza tym może zmniejszać częstość nieprzyjęcia się przeszczepu. W przypadku 14 dzieci, które otrzymały taki przeszczep wraz z MSC, ani razu nie doszło do jego odrzucenia (74). Ponadto, jednoczesne podawanie MSC może także służyć jako profilaktyka GvHD (74, 77). Barięą na wykonywanie jednoczesowego przeszczepienia komórek macierzystych hematopoetycznych i mezenchymalnych wydaje się czas potrzebny do hodowli MSC *ex vivo*. Procedura taka trwa ok. 4-6 tygodni, a biorca często jest w stanie klinicznym wymagającym natychmiastowego przeszczepienia (72). Natomiast badanie Ning i wsp. zwraca uwagę na możliwą częstszą liczbę wznów wśród pacjentów z chorobami rozrostowymi układu krwiotwórczego (78). Obecnie trwa kilka badań klinicznych z użyciem komórek mezenchymalnych, m.in. badanie mające na celu ocenę celowości i bezpieczeństwa stosowania MSC wraz z komórkami macierzystymi z krwi pępowinowej u pacjentów, u których doszło do odrzucenia autoprzeszczepu (NCT01763099).

FUKOZYLACJA

Komórki hematopoetyczne pochodzące z krwi pępowinowej ulegają zagnieżdżeniu w niszy hematopoetycznej wolniej niż ich odpowiedniki wywodzące się ze szpiku bądź krwi obwodowej. Spowodowane jest to prawdopodobnie odmienną budową cząsteczki CD34⁺ pochodzącej z krwi pępowinowej, na której brak ligandów dla P- i E-selektyn. Odpowiadają one za tzw. rolowanie leukocytów po powierzchni endotelium i są jednym z najważniejszych czynników warunkujących zagnieżdżenie (79-86). Około 30% frakcji CD34⁺CD38^{low}, szczególnie bogatej w komórki macierzyste i progenitorowe, nie wiąże się z P-selektyną (80). Powyższa odmienność spowodowana jest mniejszą aktywnością i ekspresją α 1,3-fukozylotransferazy (79-86). Inkubacja komórek CD34⁺ z ludzkim, rekombinowanym enzymem α 1,3-fukozylotransferazy VI wraz z substratem wpływa na ekspresję selektyn na powierzchni cząsteczki, nie modulując przy tym pozostałych ligandów mających znaczenie w procesie zajmowania niszy hematopoetycznej. Fukozylacja zwiększa liczbę komórek zdolnych do interakcji z mikrośrodowiskiem szpiku kostnego, co w większości przeprowadzonych badań okazało się mieć wpływ na szybsze zagnieżdżenie w niszy hematopoetycznej (81, 82, 86). W badaniu Hidalgo i wsp. eksperyment nie przełożył się na szybkość zagnieżdżenia komórek CD34⁺ (80). Mogło to być związane z negatywnym wpływem procesu fukozylacji na właściwości komórki *in vivo* (np. skłonność do apoptozy), na selektyny ulegające ekspresji na powierzchni cząsteczki lub też z toksycznym wpływem manganianu, który był używany w trakcie procedury (85). Badania Winkler czy Lévesque wskazują, że poddanie komórki CD34⁺ nadmiernemu wpływowi E- i P-selektyn ma negatywne działanie na hematopoezę i może indukować apoptozę (87, 88). Jednakże zwiększona fukozylacja jest przejściowa, a tym samym szansa, że wpłynie na długoterminową hematopoezę, pozostaje niska (81). Aktualnie trwa nierandomizowane badanie kliniczne (NCT 01471067) mające na celu ustalenie bezpieczeństwa i efektywności przeszczepiania komórek macierzystych z krwi pępowino-

wej poddanych uprzedniej fukozylacji w grupie pacjentów z chorobami rozrostowymi układu krwiotwórczego. Każdy z pacjentów dostanie dwie jednostki krwi pępowinowej, jedną niepoddaną manipulacji oraz drugą, fukozylowaną. Badanie zakończy się w 2015 roku.

HAMOWANIE AKTYWNOŚCI DIPEPTYDYLOPEPTYDAZY IV

Dipeptydylopeptydaza IV (DPP-IV, CD26) jest związanym z błoną komórkową enzymem proteolitycznym występującym na powierzchni limfocytów krwi obwodowej, śródbłonna, fibroblastów oraz nabłonka, którego funkcja w organizmie nie została jeszcze do końca zgłębiona (89, 90). Wiadomo, że CD26 uczestniczy w procesach zachodzących w układzie odpornościowym, przewodzeniu sygnałów i apoptozie (89). Odgrywa również rolę w patogenezie agresywnych chłoniaków T-komórkowych, a także innych nowotworów, w których jego rola nie została dotychczas dokładnie poznana (89, 91). DPP-IV odcina dwupeptyd Xaa-Pro lub Xaa-Ala znajdujące się na N-terminalnym końcu łańcucha polipeptydowego, tym samym jest zdolna odciąć prolinę przy N-terminalnym końcu czynnika pochodzenia stromalnego (SDF-1, CXCL12) (89, 92, 93). CXCL12 jest chemokina, która zdaje się być jednym z ważniejszych czynników warunkujących hematopoezę u zdrowych osób (94), działa ona chemotaktycznie na komórki macierzyste i progenitorowe ze szpiku kostnego poprzez swój receptor CXCR4 (92, 95). DPP-IV bierze udział w degradacji czynnika stromalnego w szpiku kostnym, co zaburza oś CXCL12-CXCR4 i uwalnia komórki CD34⁺ do krwi. Z tym procesem mamy do czynienia m.in. podczas mobilizacji CD34⁺ przy użyciu G-CSF czy GM-CSF (92, 95). Badania cytometryczne wykazały, że CXCR4⁺/CD26⁺ ulega ekspresji również na powierzchni niewielkiej, ale znaczącej dla procesu zagnieżdżenia, subpopulacji komórek CD34⁺ wywodzących się z krwi pępowinowej (90, 92). Właśnie dlatego zahamowanie aktywności DPP-IV mogłoby wpłynąć na proces zajmowania niszy hematopoetycznej. Dowiedziono, że inhibicja dipeptydylopeptydazy IV skraca czas potrzeby do zagnieżdżenia komórek i przyjęcia się przeszczepu (90, 96-100) zarówno w przypadku krwi pępowinowej, wykazującej największą ekspresję CD26, jak i w przypadku szpiku kostnego czy zmobilizowanej krwi obwodowej (101). Yoo i wsp. poprzez użycie w swoim badaniu myszy CD26-ujemnych dowodzi, że status CD26 biorcy istotnie wpływa na czas potrzebny do przyjęcia się przeszczepu, natomiast przeszczepianie CD26⁻ komórek macierzystych wiąże się zarówno z szybszym wszczepieniem, jak i szybszym zajęciem niszy hematopoetycznej (98, 100). Jako że pierwszy proces jest skutkiem tego drugiego, możemy domniemywać, iż musi on wynikać jeszcze z szeregu innych, dotychczas niezbadanych czynników. Jednym z nich może być zastosowane kondycjonowanie. Praca Schwaiger i wsp. na modelu zwierzęcym pokazuje brak efektu hamowania aktywności DPP-IV w przypadku niemieloablacyjnego przeszczepienia szpiku kostnego (102). Silnym i wybiórczym inhibitorem DPP-IV jest sitagliptyna, dotychczas stosowana w cukrzycy w dawce 100 mg/dobę, w celu poprawy czynności komórek Langerhansa poprzez zwiększenie wrażliwości komórek na glukozę i zależnego od glukozy wydzielania

insuliny (103, 104). Focosi i wsp. opisali przypadek 56-letniej pacjentki z AML-M1, która po mieloablacyjnym kondycjonowaniu otrzymała przeszczep komórek macierzystych z krwi obwodowej od zgodnego w HLA i niezgodnego w układzie ABO dawcy rodzinnego. Przeszczep przyjął się 11 dnia po procedurze, jednakże pacjentka powróciła po dwóch miesiącach z pancytopenią we krwi obwodowej i ubogokomórkowym szpikem kostnym. Wykluczono wirusologiczne przyczyny wtórnego nieprzyjęcia się przeszczepu, podawano G-CSF i korygowano poziom płytek oraz hemoglobiny przetoczeniami, a następnie przeprowadzono kolejną mieloablację wraz z doszczepieniem komórek macierzystych od tego samego dawcy. Wobec niezadowolających wyników zdecydowano się włączyć sitagliptynę w dawce 100 mg dwa razy dziennie. Po czterech tygodniach terapii nie obserwowano hipoglikemii czy innych objawów niepożądanych, natomiast liczba leukocytów we krwi obwodowej wzrosła z 200 do 8600/mikrolitr, a zapotrzebowanie pacjentki na transfuzję zmniejszyło się z dwóch jednostek koncentratu krwinek czerwonych i płytkowych do jednej jednostki tygodniowo. Niestety dobre wyniki utrzymywały się tylko do reaktywacji CMV, a następnie również astro- i kaliciwirusa. Wstrzymano podawanie sitagliptyny ze względu na niedostępność leku. Pacjentka zmarła z powodu ostrej niewydolności nerek i rozlanego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (103). Farag i wsp. podawali sitagliptynę 24 pacjentom poddawanym mieloablacyjnemu przeszczepieniu pojedynczej jednostki krwi pępowinowej z powodu chorób rozrostowych układu krwiotwórczego. Stosując 600 mg dziennie, od dnia poprzedzającego przeszczepienie do drugiej doby po przeszczepieniu włącznie, uzyskali medianę czasu przyjęcia się przeszczepu równą 21 dniom (od 13 do 50) i wykazali związek pomiędzy niższą aktywnością osoczowej DPP-IV a czasem rekonstrukcji układu hematopoetycznego. Autorzy przytoczonej pracy uważają, że optymalizacja dawek inhibitora dipeptydylopeptydazy IV mogłaby istotnie poprawić wyniki przeszczepień komórek macierzystych z krwi pępowinowej (105). Obecnie trwa badanie kliniczne II fazy (NCT00862719) mające na celu oszacowanie, czy sitagliptyna może być bezpiecznie stosowana u pacjentów poddawanych UCB-HSCT z powodu chorób rozrostowych układu krwiotwórczego. Do badania zakwalifikowano 29 pacjentów, którzy będą otrzymywać sitagliptynę doustnie przez 4 dni, poczynając od dnia poprzedzającego przeszczepienie, od jednej do trzech dawek (600 mg) dziennie, w zależności od ramienia terapeutycznego. Wyniki zostaną przedstawione w 2014 roku. Niewątpliwą zaletą tej metody wydaje się łatwość podania leku oraz niski koszt w porównaniu np. z przeszczepieniem dwóch jednostek krwi pępowinowej (93).

PODSUMOWANIE

Komórki pochodzące z krwi pępowinowej są coraz częściej wykorzystywanym źródłem macierzystych komórek hematopoetycznych ze względu na swoje unikatowe właściwości biologiczne i immunologiczne. Dzięki dynamicznemu rozwojowi nauki i licznym eksperymentom laboratoryjnym oraz badaniom klinicznym możliwości ich zastosowania stale wzrastają. Przytoczone powyżej procedury są doskonałym dowodem na to, że najprawdopodobniej już niedługo

będzie można pokonać ograniczenia w postaci zbyt małej liczby komórek bądź wolnej odnowy hematologicznej. □

Piśmiennictwo

1. Rocha V, Broxmeyer HE: New approaches for improving engraftment after cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16: 123-132.
2. Laughlin MJ, Barker J, Bambach B et al.: Hematopoietic engraftment and survival in adult recipients of umbilical cord blood from unrelated donors. *N Engl J Med* 2001; 344: 1815-1822.
3. Petropoulou AD, Rocha V: Risk factors and options to improve engraftment in unrelated cord blood transplantation. *Stem Cells Int* 2011; 2011: 610514.
4. Halbrecht J: Transfusion with placental blood. *Lancet* 1939; 233: 202-203.
5. Halbrecht J: Fresh and stored placental blood. *Lancet* 1939; 234: 1263-1265.
6. Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD et al.: Haematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anaemia by means of umbilical cord blood from an HLA identical sibling. *N Engl J Med* 1989; 321: 1174-1178.
7. World Marrow Donor Association, Cord Blood WG Meeting, Minneapolis. Number of cord blood units provided for unrelated transplantation, <http://www.worldmarrow.org>, http://www.worldmarrow.org/fileadmin/Committees/CBWG/20121107-CBWG-PRES-Minneapolis_2012_7nov12.pdf (1.07.2013).
8. Eurocord Registry – Agence de la Biomédecine, UPDATE, WDMA – CBWG, May 2012. Eurocord Registry at ABM. General data base overview – <http://www.worldmarrow.org>, <http://www.worldmarrow.org/fileadmin/Committees/CBWG/20120501-CBWG-PREEurocord.pdf> (1.7.2013).
9. Gluckman E: History of cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2009; 44: 621-626.
10. Locatelli F: Improving cord blood transplantation in children. *Br J Haematol* 2009; 147: 217-226.
11. Rocha V, Wagner JE Jr, Sobocinski KA et al.: Graft-versus-host disease in children who have received a cord-blood or bone marrow transplant from an HLA-identical sibling. Eurocord and International Bone Marrow Transplant Registry Working Committee on Alternative Donor and Stem Cell Sources. *N Engl J Med* 2000; 342: 1846-1854.
12. Rocha V, Cornish J, Sievers EL et al.: Comparison of outcomes of unrelated bone marrow and umbilical cord blood transplants in children with acute leukemia. *Blood* 2001; 97: 2962-2971.
13. Mayani H, Lansdorp PM: Biology of human umbilical cord blood-derived hematopoietic stem/progenitor cells. *Stem Cells* 1998; 16: 153-165.
14. Norkin M, Lazarus HM, Wingard JR: Umbilical cord blood graft enhancement strategies: has the time come to move these into the clinic? *Bone Marrow Transplant* 2013; 48: 884-889.
15. Hofmeister CC, Zhang J, Knight KL et al.: *Ex vivo* expansion of umbilical cord blood stem cells for transplantation: growing knowledge from the hematopoietic niche. *Bone Marrow Transplant* 2007; 39: 11-23.
16. von Drygalski A, Savatski L, Eastwood D et al.: The rate of marrow recovery and extent of donor engraftment following transplantation of *ex vivo* – expanded bone marrow cells are independently influenced by the cytokines used for expansion. *Stem Cells Dev* 2005; 14: 564-575.
17. Jaleco AC, Neves H, Hooijberg E et al.: Differential effects of Notch ligands Delta-1 and Jagged-1 in human lymphoid differentiation. *J Exp Med* 2001; 194: 991-1002.
18. Delaney C, Heimfeld S, Brashem-Stein C et al.: Notch-mediated expansion of human cord blood progenitor cells capable of rapid myeloid reconstitution. *Nat Med* 2010; 16: 232-236.
19. Adams GB, Martin RP, Alley IR et al.: Therapeutic targeting of a stem cell niche. *Nat Biotechnol* 2007; 25: 238-243.
20. Ballen KK, Shpall EJ, Avigan D et al.: Phase I trial of parathyroid hormone to facilitate stem cell mobilization. *Biol Blood Marrow Transplant* 2007a; 13: 838-843.
21. Peled T, Landau E, Prus E et al.: Cellular copper content modulates differentiation and self-renewal in cultures of cord blood-derived CD34+ cells. *Br J Haematol* 2002; 116: 655-661.
22. Peled T, Shoham H, Aschengrau D et al.: Nicotinamide, a SIRT1 inhibitor, inhibits differentiation and facilitates expansion of hematopoietic progenitor cells with enhanced bone marrow homing and engraftment. *Exp Hematol* 2012; 40: 342-355.
23. Sato N, Meijer L, Skaltsounis L et al.: Maintenance of pluripotency in human and mouse embryonic stem cells through activation of Wnt signaling by a pharmacological GSK-3 – specific inhibitor. *Nat Med* 2004; 10: 55-63.
24. Murdoch B, Chadwick K, Martin M et al.: Wnt-5A augments repopulating

- capacity and primitive hematopoietic development of human blood stem cells *in vivo*. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100: 3422-3427. **25.** Boitano AE, Wang J, Romeo R et al.: Aryl hydrocarbon receptor antagonists promote the expansion of human hematopoietic stem cells. Science 2010; 329: 1345-1348. **26.** Casado FL: Aryl Hydrocarbon Receptor Activation in Hematopoietic Stem/Progenitor Cells Alters Cell Function and Pathway-Specific Gene Modulation Reflecting Changes in Cellular Trafficking and Migration. Mol Pharmacol 2011; 80: 673-682. **27.** Zhang CC, Kaba M, Iizuka S et al.: Angiotensin-like 5 and IGFBP2 stimulate *ex vivo* expansion of human cord blood hematopoietic stem cells as assayed by NOD/SCID transplantation. Blood 2008; 111: 3415-3423. **28.** Rajczak MZ, Reza R, Wysoczynski M et al.: Transplantation studies in C3-deficient animals reveal a novel role of the third complement component (C3) in engraftment of bone marrow cells. Leukemia 2004; 18: 1482-1490. **29.** De Lima M, Robinson S, McMannis J et al.: Mesenchymal stem cell (msc) based cord blood (CB) expansion (Exp) leads to rapid engraftment of platelets and neutrophils. ASH Ann Meeting Abstracts 2010; 116: 362. **30.** Fan X, Gay FP, Ong SY et al.: Mesenchymal stromal cell supported umbilical cord blood *ex vivo* expansion enhances regulatory T cells and reduces graft versus host disease. Cytotherapy 2013; 15: 610-619. **31.** Bari S, Chu PP, Lim A et al.: Protective role of functionalized single walled carbon nanotubes enhance *ex vivo* expansion of hematopoietic stem and progenitor cells in human umbilical cord blood. Nanomedicine: NB 2013; XX: 1-13, <http://dx.doi.org/10.1016/j.nano.2013.05.009>. **32.** Shen BJ, Hou HS, Zhang HQ, Sui XW: Unrelated, HLA-mismatched multiple human umbilical cord blood transfusion in four cases with advanced solid tumors: initial studies. Blood Cells 1994; 20: 285-292. **33.** Lister J, Gryn JF, McQueen KL et al.: Multiple unit HLA-unmatched sex – mismatched umbilical cord blood transplantation for advanced hematological malignancy. Stem Cells Dev 2007; 16: 177-186. **34.** Sideri A, Neokleous N, Brunet De La Grange P et al.: An overview of the process on double umbilical cord blood transplantation. Haematologica 2011; 96: 1213-1220. **35.** Eurocord Registry – Agence de la Biomedecine, UPDATE, WDMA – CBWG, May 2012. Eurocord Registry at ABM. Eurocord Registry at ABM. Unrelated European CBT by recipient's age and graft type, <http://www.worldmarrow.org>, <http://www.worldmarrow.org/fileadmin/Committees/CBWG/20120501-CBWG-PRES-Eurocord.pdf> (1.7.2013). **36.** Haspel RL, Kao G, Yeap BY et al.: Preinfusion variables predict the dominant unit in the setting of reduced-intensity double cord blood transplantation. Bone Marrow Transplant 2008; 41: 523-529. **37.** Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE et al.: Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. Blood 2005; 105: 1243-1347. **38.** Brunstein CG, Barker JN, Weisdorf DJ et al.: Umbilical cord blood transplantation after non-myeloablative conditioning: impact on transplantation outcomes in 110 adults with hematologic disease. Blood 2007; 110: 3065-3070. **39.** Yen HJ, Chiou TJ, Hung GY et al.: Long-term mixed full donor chimerism with dominance reversion after a double-unit cord blood transplant. Eur J Haematol 2008; 80: 366-367. **40.** Ballen KK, Spitzer TR, Yeap BY et al.: Double unrelated reduced-intensity umbilical cord blood transplantation in adults. Biol Blood Marrow Transplant 2007; 13: 82-89. **41.** Brunstein CG, Laughlin MJ: Extending cord blood transplants to adults: dealing with problems and results overall. Semin Hematol 2010; 47: 86-96. **42.** Russell JA, Duan Q, Chaudhry MA et al.: Myeloablative Intravenous Busulfan/Fludarabine Conditioning Does Not Facilitate Reliable Engraftment of Dual Umbilical Cord Blood Grafts in Adult Recipients. Biol Blood Marrow Transplant 2008; 14: 591-594. **43.** Chen YB, Aldridge J, Kim HT et al.: Reduced-intensity conditioning stem cell transplantation: comparison of double umbilical cord blood and unrelated donor grafts. Biol Blood Marrow Transplant 2012; 18: 805-812. **44.** Wagner JE: Selection of double cord blood units. Abstract book. World Cord Blood Congress III. Rome-Italy 2011: 45-47. **45.** Ramirez PA, Wagner JE, Brunstein CG: Going straight to the point: intra-BM injection of hematopoietic progenitors. Bone Marrow Transplant 2010; 45: 1127-1133. **46.** Okada M, Yoshihara S, Taniguchi K et al.: Intra-bone Marrow Transplantation of Unwashed Cord Blood Using Reduced-Intensity Conditioning Treatment: A Phase I Study. Biol Blood Marrow Transplant 2012; 18: 633-639. **47.** Frassoni F, Valardo R, Gualandi F et al.: The intra-bone marrow injection of cord blood cells extends the possibility of transplantation to the majority of patients with malignant hematopoietic diseases. Best Pract Res Clin Haematol 2010; 23: 237-244. **48.** Kraft D, Song L, Crocker M et al.: The "Marrow-Miner" efficacy of anovel, minimally invasive bone marrow harvesting device in pre-clinical evaluation & first human experience. Biol Blood Marrow Transplant 2008; 14 (suppl. 2): 44. **49.** Nakamura K, Inaba M, Sugiura K et al.: Enhancement of allogeneic hematopoietic stem cell engraftment and prevention of GVHD by intra-bone marrow bone marrow transplantation plus donor lymphocyte infusion. Stem Cells 2004; 22: 125-134. **50.** Wang J, Kimura T, Asada R et al.: SCID-repopulating cell activity of human cord blood-derived CD34⁺ cells assured by intra-bone marrow injection. Blood 2003; 101: 2924-2931. **51.** Castello S, Podestà M, Menditto VG et al.: Intra-bone marrow injection of bone marrow and cord blood cells: an alternative way of transplantation associated with a higher seeding efficiency. Exp Hematol 2004; 32: 782-787. **52.** Frassoni F, Gualandi F, Podestà M et al.: Direct intrabone transplant of unrelated cord-blood cells in acute leukaemia: a phase I study. Lancet Oncol 2008; 9: 831-839. **53.** Marini C, Podestà M, Massollo M et al.: Intra-bone Transplant of Cord Blood Stem Cells Establishes a Local Engraftment Store: A Functional PET/CT Study. Journal of Biomedical and Biotechnology 2012; 2012: 767369. **54.** Brunstein CG, Barker JN, Weisdorf DJ et al.: Intra-BM injection to enhance engraftment after myeloablative umbilical cord blood transplantation with two partially HLA-matched units. Bone Marrow Transplant 2009; 43: 935-940. **55.** Hoggatt J, Singh P, Sampath J, Pelus LM: Prostaglandin E₂ enhances hematopoietic stem cell homing, survival, and Proliferation. Blood 2009; 113: 5444-5455. **56.** Broxmeyer HE: Mechanism Unknown: Prostaglandin E₂ May Improve HSC Therapies. Cell Stem Cell 2007; 1: 135-136. **57.** North TE, Goessling W, Walkley CR et al.: Prostaglandin E₂ regulates vertebrate hematopoietic stem cell Homeostasis. Nature 2007; 447: 1007-1011. **58.** Goessling W, Allen RS, Guan X et al.: Prostaglandin E₂ enhances human cord blood stem cell xenotransplants and shows long-term safety in preclinical nonhuman primate transplant models. Cell Stem Cell 2011; 8: 445-458. **59.** Goessling W, North TE, Loewer S et al.: Genetic interaction of PGE₂ and Wnt signaling regulates developmental specification of stem cells and regeneration. Cell 2009; 136: 1136-1147. **60.** Frisch BJ, Porter RL, Gigliotti BJ et al.: *In vivo* prostaglandin E₂ treatment alters the bone marrow microenvironment and preferentially expands short-term hematopoietic stem cells. Blood 2009; 114: 4054-4065. **61.** Pelus LM, Hoggatt J: Pleiotropic effects of prostaglandin E₂ in hematopoiesis; prostaglandin E₂ and other eicosanoids regulate hematopoietic stem and progenitor cell function. Prostaglandins Other Lipid Mediat 2011; 96: 3-9. **62.** Durand EM, Zon LI: Newly emerging roles for prostaglandin E₂ regulation of hematopoiesis and hematopoietic stem cell engraftment. Curr Opin Hematol 2010; 17: 308-312. **63.** Cutler C, Ballen KK: Improving outcomes in umbilical cord blood transplantation: State of the art. Blood Reviews 2012; 26: 241-246. **64.** Cutler CS, Shoemaker D, Ballen KK et al.: FT1050 (16,16-dimethyl prostaglandin E₂) – enhanced umbilical cord blood accelerates hematopoietic engraftment after reduced intensity-conditioning and double umbilical cord blood transplantation. ASH Annu Meet Abstr 2011; 118: 653. **65.** Delaney C, Bollard CM, Shpall EJ: Cord Blood Graft Engineering. Biol Blood Marrow Transplant 2013; 19: 74-78. **66.** Miller SB: Prostaglandins in health and disease: an overview. Semin Arthritis Rheum 2006; 36: 37-49. **67.** Lu L, Pelus LM, Broxmeyer HE: Modulation of the expression of HLA-DR (Ia) antigens and the proliferation of human erythroid (BFU-E) and multipotential (CFU-GEMM) progenitor cells by prostaglandin E. Exp Hematol 1984; 12: 741-748. **68.** Lu L, Pelus LM, Piacibello W et al.: Prostaglandin E acts at two levels to enhance colony formation *in vitro* by erythroid (BFU-E) progenitor cells. Exp Hematol 1987; 15: 765-771. **69.** North TE, Goessling W, Walkley CR et al.: Prostaglandin E₂ regulates vertebrate hematopoietic stem cell Homeostasis. Nature 2007; 447: 1007-1011. **70.** Cutler C, Ballen KK: Improving outcomes in umbilical cord blood transplantation: State of the art. Blood Reviews 2012; 26: 241-246. **71.** Massollo M, Podestà M, Marini C et al.: Contact with the bone marrow microenvironment readdresses the fate of transplanted hematopoietic stem cells. Exp Hematol 2010; 38: 968-977. **72.** Macmillan ML, Blazar BR, DeFor TE, Wagner JE: Transplantation of *ex vivo* culture-expanded parental haploidentical mesenchymal stem cells to promote engraftment in

pediatric recipients of unrelated donor umbilical cord blood: results of a phase I-II clinical trial. *Bone Marrow Transplant* 2009; 43: 447-454. **73.** Gonzalo-Daganzo R, Regitador C, Martin-Donaire T et al.: Results of a pilot study on the use of third-party donor mesenchymal stromal cells in cord blood transplantation in adults. *Cytotherapy* 2009; 11: 278-288. **74.** Ball LM, Bernardo ME, Roelofs H et al.: Co-transplantation of *ex vivo* expanded mesenchymal stem cells accelerates lymphocyte recovery and may reduce the risk of graft failure in haplo-identical hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2007; 110: 2764-2767. **75.** Méndez-Ferrer S, Michurina TV, Ferraro F et al.: Mesenchymal and hematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche. *Nature* 2010; 466: 829-834. **76.** Shi M, Liu ZW, Wang FS: Immunomodulatory properties and therapeutic application of mesenchymal stem cells. *Clin Exp Immunol* 2011; 164: 1-8. **77.** Ringdén O, Uzunel M, Rasmusson I et al.: Mesenchymal stem cells for treatment of therapy resistant graft-versus-host disease. *Transplantation* 2006; 81: 1390-1397. **78.** Ning H, Yang F, Jiang M et al.: The correlation between co-transplantation of mesenchymal stem cells and higher recurrence rate in hematologic malignancy patients: outcome of a pilot clinical study. *Leukemia* 2008; 22: 593-599. **79.** Robinson S, de Lima M, Parmar S et al.: Improved engraftment with cord blood expansion and fucosylation. Abstract book. World Cord Blood Congress III 2011: 51-53. **80.** Hidalgo A, Frenette PS: Enforced fucosylation of neonatal CD34+ cells generates selection ligands that enhance the initial interactions with microvessels but not homing to bone marrow. *Blood* 2005; 105: 657-575. **81.** Xia L, McDaniel JM, Yago T et al.: Surface fucosylation of human cord blood cells augments binding to P-selectin and E-selectin and enhances engraftment in bone marrow. *Blood* 2004; 104: 3091-3096. **82.** Taupin P: *Ex vivo* fucosylation of stem cells to improve engraftment: WO2004094619. *Expert Opin Ther Pat* 2010; 20: 1265-1269. **83.** Taupin P: *Ex vivo* fucosylation to improve the engraftment capability and therapeutic potential of human cord blood stem cells. *Drug Discov Today* 2010; 15: 698-699. **84.** Katayama Y, Hidalgo A, Furie BC et al.: PSGL-1 participates in E-selectin-mediated progenitor homing to bone marrow: evidence for cooperation between E-selectin ligands and $\alpha 4$ integrin. *Blood* 2003; 102: 2060-2067. **85.** Sackstein R: Re: "Ex vivo fucosylation improves human cord blood engraftment in NOD-SCID IL-2R γ null mice". *Exp Hematol* 2012; 40: 518-519. **86.** Robinson SN, Simmons PJ, Thomas MW et al.: *Ex vivo* fucosylation improves human cord blood engraftment in NOD-SCID IL-2R γ null (NSG) mice. *Exp Hematol* 2012; 40: 445-445. **87.** Winkler IG, Snapp KR, Simmons PJ, Lévesque JP: Adhesion to E-selectin promotes growth inhibition and apoptosis of human and murine hematopoietic progenitor cells independent of PSGL-1. *Blood* 2004; 103: 1685-1692. **88.** Lévesque JP, Zannettino AC, Pudney M et al.: PSGL-1 – Mediated Adhesion of Human Hematopoietic Progenitors to P-Selectin Results in Suppression of Hematopoiesis. *Immunity* 1999; 11: 369-378. **89.** Pro B, Dang NH: CD26/dipeptidyl peptidase IV and its role in cancer. *Histol Histopathol* 2004; 19: 1345-1351. **90.** Christopherson KW 2nd, Hangoc G, Broxmeyer HE: Cell surface peptidase CD26/Dipeptidylpeptidase IV regulates CXCL12/Stromal Cell-Derived Ractor-1 α -Mediated Chemotaxis of Human Cord Blood CD34+ Pro-

genitor Cells. *J Immunol* 2002; 169: 7000-7008. **91.** Carbone A, Cozzi M, Gloghini A, Pinto A: CD26/dipeptidylpeptidase IV expression in human lymphomas is restricted to CD30-positive anaplastic large cell and a subset of T cell non-Hodgkin's lymphomas. *Human Pathol* 1994; 25: 1360-1365. **92.** Christopherson KW 2nd, Cooper S, Broxmeyer HE: Cell surface peptidase CD26/DPPIV mediates G-CSF mobilization of mouse progenitor cells. *Blood* 2003; 101: 4680-4686. **93.** Broxmeyer HE: Enhancing engraftment of cord blood cells via insight into the biology of stem/progenitor cell function. *Ann NY Acad Sci* 2012; 1266: 151-160. **94.** Gieryng A, Bogunia-Kubik K: Znaczenie interakcji między SDF-1 i CXCR4 w hematopoezie i mobilizacji macierzystych komórek hematopoetycznych do krwi obwodowej. *Postepy Hig Med Dosw* 2007; 61: 369-383. **95.** Christopherson KW 2nd, Uralil SE, Porecha NK et al.: G-CSF- and GM-CSF-induced upregulation of CD26 peptidase downregulates the functional chemotactic response of CD34+CD38-human cord blood hematopoietic cells. *Exp Hematol* 2006; 34: 1060-1068. **96.** Broxmeyer HE: Effect of CD26 on Cord Blood, and Other Means to Enhance Engraftment of Hematopoietic Stem Cells. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 2007; 13: 1394-1395. **97.** Peranteau WH, Endo M, Adibe OO et al.: CD26 inhibition enhances allogeneic donor-cell homing and engraftment after in utero hematopoietic-cell transplantation. *Blood* 2006; 108: 4268-4274. **98.** Yoo E, Paganessi LA, Alikhan WA et al.: Loss of CD26 protease activity in recipient mice during hematopoietic stem cell transplantation results in improved transplant efficiency. *Transfusion* 2013; 53: 878-887. **99.** Christopherson KW 2nd, Paganessi LA, Napier S, Porecha NK: CD26 Inhibition on CD34-or Lineage- Human Umbilical Cord Blood Donor Hematopoietic Stem Cells/Hematopoietic Progenitor Cells Improves Long-Term Engraftment into NOD/SCID/Beta2null Immunodeficient Mice. *Stem Cells Dev* 2007; 16: 355-360. **100.** Campbell TB, Hangoc G, Liu Y et al.: Inhibition of CD26 in Human Cord Blood CD34- Cells Enhances Their Engraftment of Nonobese Diabetic/Severe Combined Immunodeficiency Mice. *Stem Cells and Dev* 2007; 16: 347-353. **101.** Christopherson KW 2nd, Frank RR, Jagan S et al.: CD26 protease inhibition improves functional response of unfractionated cord blood, bone marrow, and mobilized peripheral blood cells to CXCL12/SDF-1. *Exp Hematol* 2012; 40: 945-952. **102.** Schwager E, Klaus C, Matheussen V et al.: Dipeptidyl peptidase IV (DPPIV/CD26) inhibition does not improve engraftment of unfractionated syngeneic or allogeneic bone marrow after nonmyeloablative conditioning. *Exp Hematol* 2012; 40: 97-106. **103.** Focosi D, Kast RE, Metelli MR et al.: Enhancement of hematopoietic stem cell engraftment by inhibition of CXCL12 proteolysis with sitagliptin, an oral dipeptidyl-peptidase IV inhibitor: A report in a case of delayed graft failure. *Leuk Res* 2009; 33: 178-204. **104.** Aschner P, Kipnes MS, Lunceford JK et al.: Sitagliptin Study 021 Group: Effect of the Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor Sitagliptin as Monotherapy on Glycemic Control in Patients With Type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29: 2632-2637. **105.** Farag SS, Srivastava S, Messina-Graham S et al.: *In Vivo* DPP-4 Inhibition to Enhance Engraftment of Single-Unit Cord Blood Transplants in Adults with Hematological Malignancies. *Stem Cells Dev* 2013; 22: 1007-1015.

nadesłano: 11.07.2013

zaakceptowano do druku: 20.08.2013

Adres do korespondencji:

*Dariusz Boruczkowski

Polski Bank Komórek Macierzystych
ul. Grzybowska 2/41, 00-131 Warszawa
tel./fax: +48 (22) 436-40-49, +48 (22) 436-40-50
e-mail: dariusz.boruczkowski@pbkm.pl