

LES CELLULES SOUCHES MÉSENCHYMATEUSES : une nouvelle thérapeutique polyvalente

F. BARON (1), A. GOTHOT (2)

RÉSUMÉ : Les cellules souches mésenchymateuses (CSM) résident dans le tissu de soutien de la moelle hématopoïétique. Bien que présentes en quantité infime *in vivo*, elles peuvent être isolées et multipliées aisément en culture cellulaire. Les CSM peuvent générer *in vitro* des tissus osseux, cartilagineux, adipeux et, sous certaines conditions, hépatiques, musculaires et nerveux. De nombreuses études laissent entrevoir la possibilité d'utiliser des CSM pour réparer des lésions tissulaires d'origine dégénérative ou traumatique, dans des organes dont les potentialités réparatrices sont naturellement limitées. Par ailleurs, les CSM possèdent des propriétés immunosuppressives, exploitées pour contrôler la maladie du greffon contre l'hôte et le rejet des allogreffes de cellules souches hématopoïétiques.

MOTS-CLÉS : Cellules souches - Thérapie cellulaire - Immunosuppression

MESENCHYMAL STEM CELLS : A NEW VERSATILE THERAPEUTIC OPTION
SUMMARY : Mesenchymal stem cells (MSC) reside in the stromal compartment of the hematopoietic bone marrow. Although present in small numbers *in vivo*, MSC may be easily isolated and expanded in cell culture. MSC are able to generate bone, cartilage, fat, and under specific conditions, liver, muscle and nerve. Numerous studies have suggested a potential use of MSC to repair degenerative or traumatic lesions, in organs where tissue repair is limited. Furthermore, MSC are endowed with immunosuppressive properties, utilized to control graft versus host disease and rejection of allogenic hematopoietic stem cell transplants.

KEYWORDS : Stem cells - Cell therapy - Immunosuppression

INTRODUCTION

La moelle osseuse est, on le sait, le siège de l'hématopoïèse. Depuis le XIX^{ème} siècle, il est reconnu qu'elle contient également des cellules progénitrices ostéogènes. Après transplantation hétérotopique de moelle, on assiste effectivement à la formation de tissu osseux. En plaçant la moelle transplantée dans une chambre de diffusion uniquement perméable aux substances solubles, on peut prouver que son potentiel ostéogène est intrinsèque aux cellules médullaires et qu'il ne dépend pas d'un pouvoir chémoattractant sur des progéniteurs ostéogènes de l'hôte. Des travaux ultérieurs menés dans les années 1960 ont confirmé la présence de cellules ostéogènes dans les chambres de diffusion, mais aussi de progéniteurs du tissu cartilagineux. Friedenstein et collaborateurs observèrent que le potentiel ostéogénique médullaire est une propriété d'un sous-type spécifique de cellules, qu'ils nommèrent «colony forming unit-fibroblasts» (CFU-f) pour leur capacité à former des colonies d'aspect fibroblastique en culture (1). Les CFU-fs ne représentent qu'une fraction infime des cellules médullaires totales. Elles sont capables de former de l'os et du cartilage, ainsi que des cellules fibroblastiques réticulaires ou «cellules stromales» qui, *in vitro*, jouent le rôle de cellules accessoires de l'hématopoïèse (2).

Le concept de lignée stromale fut initialement proposé par Owen, qui, par assimilation à la lignée hématopoïétique, proposa un modèle incluant

cellules souches, progéniteurs de maturation et cellules terminales différenciées ostéogéniques, cartilagineuses, adipocytaires et fibroblastiques (3). Caplan introduisit le terme de cellules souches mésenchymateuses (CSM) pour désigner des cellules multipotentes, capables de se différencier en os, cartilage, muscle lisse, tendon, ligament et tissu adipeux (4). La preuve formelle du caractère multipotent des CSM fut apportée en observant des colonies cellulaires clonées à partir d'une seule cellule médullaire fibroblastique. Dennis et Caplan montrèrent chez la souris que, au sein d'une seule colonie, se retrouvaient des cellules ostéogéniques et adipocytaires (5). A partir de moelle humaine, Pittenger et coll. en 1999 furent capables de générer de façon reproductible os, cartilage et tissu adipeux à partir de CSM individuelles clonées (6). En décrivant des méthodes robustes de purification et de différenciation des CSM, la publication de Pittenger et coll. a donné lieu à une pléthore de travaux visant à exploiter les CSM à des fins thérapeutiques.

LES CSM SONT-ELLES D'AUTENTIQUES CELLULES SOUCHES ?

La publication de Pittenger et coll. paraît au cours d'une période d'engouement peu ordinaire pour le sujet des «cellules souches». Dans les revues les plus prestigieuses, paraissent un grand nombre d'articles rapportant des observations fascinantes de plasticité des cellules souches. Il est ainsi montré que des cellules récoltées d'un organe donné peuvent se convertir en cellules appartenant à un autre organe : on parle de transdifférenciation des cellules souches de moelle en foie (7), de cerveau en sang (8), de moelle en muscle (9)... Il est maintenant considéré que

(1) Chercheur Qualifié FNRS, Service d'Hématologie clinique, (2) Chef de Service, Service d'Hématologie biologique et Immuno-hématologie, CHU Sart Tilman, Liège.

certaines de ces observations sont peu étayées, voire non reproductibles, ou représentent des occurrences de fusion cellulaire, plus triviales. Au cours de cette période, le terme de cellule souche a été fréquemment utilisé de façon abusive. Qu'en est-il des CSM ? Méritent-elles le qualificatif de cellule souches ?

Pour répondre à cette question, il faut revenir aux propriétés fondamentales des cellules souches somatiques. Les cellules souches sont des cellules indifférenciées et qui n'assurent aucun rôle fonctionnel (par exemple, métabolique, contractile, endocrine, immunologique...) propre dans l'organisme. Leurs propriétés essentielles sont les suivantes :

LA CAPACITÉ DE PROLIFÉRER INDÉFINIMENT À L'ÉTAT INDIFFÉRENCIÉ, OU AUTO-RENOUVELLEMENT

Les CSM sont capables de proliférer abondamment en culture sans perdre leur état indifférencié et leur capacité à donner naissance aux tissus osseux, cartilagineux et adipeux. Toutefois, dépourvues d'activité télomérasique, propriété cardinale des cellules souches embryonnaires, les CSM ne sont généralement pas maintenues en culture au-delà de 70 doublements, ce qui est malgré tout considérable (10). *In vivo*, leur potentiel de prolifération reste totalement indéterminé.

LA CAPACITÉ DE DONNER NAISSANCE PAR DIVISION À DES CELLULES DIFFÉRENCIÉES.

Typiquement, les CSM ont un potentiel de différenciation ostéogénique, chondrogénique et adipogénique. Ces 3 tissus peuvent être dérivés d'une seule CSM, ce qui prouve leur multipotentialité. Au sein de la population globale des CSM que l'on peut isoler de la moelle, la capacité de différenciation est hétérogène : seule une minorité de CSM sont tri-potentes, les autres étant soit bi-potentes, soit seulement ostéogéniques (6). Actuellement, il n'existe pas de méthode permettant de résoudre cette hétérogénéité et de séparer les sous-populations de CSM.

LA PROPRIÉTÉ DE SE NICHER DANS UN MICRO-ENVIRONNEMENT SPÉCIFIQUE

Après transplantation par infusion intraveineuse chez un hôte immunologiquement immature tel que le fœtus de mouton, les CSM humaines se dispersent largement dans l'organisme et subissent une différenciation dictée par leur microenvironnement. Toutefois, il semble que ce processus soit non spécifique et passif, et résulte simplement de la distribution des CSM

injectées suivant l'importance relative des lits capillaires irriguant les différents organes. Par ailleurs, les CSM semblent avoir un tropisme plus marqué pour les sites de lésions tissulaires, ce qui est d'un intérêt évident dans une perspective de thérapie cellulaire (11).

LA CAPACITÉ DE RÉPARER

FONCTIONNELLEMENT UNE LÉSION TISSULAIRE

Si, dans la lignée hématopoïétique, on peut montrer qu'une seule cellule souche peut reconstituer à long terme la moelle d'un hôte irradié à doses létales, il n'existe aucun modèle comparable d'ablation de tissus mésenchymateux à l'aide duquel la capacité réparatrice de CSM pourrait être évaluée. Il a néanmoins été montré que les CSM pouvaient contribuer à la guérison de lésions osseuses et cartilagineuses ponctuelles.

En conclusion, les CSM partagent ainsi un certain nombre de caractéristiques reconnues aux cellules souches, mais ne peuvent être considérées rigoureusement comme d'authentiques cellules souches. Une communication de l'International Society for Cellular Therapy (ISCT) a d'ailleurs recommandé d'utiliser le terme de «mesenchymal multipotent stromal cells» plutôt que «mesenchymal stem cells» afin d'éviter toute confusion (12).

INTÉRÊT DES CSM EN THÉRAPIE CELLULAIRE

Les propriétés des CSM en font des vecteurs particulièrement bien adaptés pour la thérapie cellulaire. Pour être efficace, une thérapie cellulaire par CSM doit suivre les étapes suivantes. Administrées par voie intraveineuse, les CSM migrent de façon relativement spécifique aux sites lésionnels et s'intègrent dans le tissu hôte. Une fois implantées, elles continuent de proliférer et amplifient ainsi quantitativement l'effet thérapeutique. Celui-ci peut dépendre d'une différenciation dirigée par le microenvironnement où s'est réalisée l'implantation : il s'agit alors d'une thérapie cellulaire régénératrice directe. Un effet thérapeutique indirect peut aussi être obtenu *via* la sécrétion par les CSM de molécules effectrices telles que des facteurs de croissance, qui agissent de façon paracrine sur les tissus environnants.

Un certain nombre de travaux semblent montrer un potentiel de différenciation des CSM bien plus étendu que décrit initialement. Dans des milieux de culture spécifiques, les CSM peuvent, en effet, acquérir des caractéristiques

morphologiques ou phénotypiques évoquant des neurones et des astrocytes (13), des cardiomyocytes (14), des cellules endothéliales (15), des hépatocytes (16). Cependant il n'est pas toujours établi que les cellules obtenues à partir de CSM possèdent bien les caractéristiques fonctionnelles attendues, qui, seules, vont conditionner les effets thérapeutiques éventuels. Les recherches pré-cliniques sur l'utilisation thérapeutique des CSM doivent continuer à poursuivre trois objectifs :

1. définir les interactions ligands/récepteurs nécessaires à l'implantation dirigée des CSM aux sites lésionnels;
2. définir les voies de différenciation parcourues par les CSM dans un tissu donné;
3. quantifier les cytokines et facteurs de croissance produits *in vivo*.

PROPRIÉTÉS IMMUNOMODULATRICES DES CSM

Les CSM sont capables d'échapper au système immunitaire, ce qui les rend très intéressantes dans différents projets de greffe. Les CSM expriment les molécules d'histocompatibilité de classe I, mais pas les molécules d'histocompatibilité de classe II, ni les molécules de co-stimulation telles que le B7.1, le B7.2, le CD40 ou le CD40 ligand (17). De plus, les CSM résistent à l'action de lymphocytes T CD8 dirigés contre un de leurs complexes majeurs d'histocompatibilité de classe I, et ne sont pas (ou peu) sensibles à l'action des cellules NK (17). Ces données suggèrent que des CSM allogéniques pourraient être

greffées sans être rejetées par le système immunitaire du receveur.

Les CSM ont des propriétés immunosuppressives importantes. *In vitro*, les CSM sont capables d'inhiber la prolifération des lymphocytes T induites par une culture mixte lymphocytaire, ou par des mitogènes (17). Cette inhibition est effective tant sur les cellules naïves que sur les cellules effectrices, et ne dépend pas de la compatibilité HLA entre les CSM et les lymphocytes. Cette dernière observation suggère que les CSM utilisées dans le cadre, par exemple, des greffes de cellules souches hématopoïétiques, ne doivent pas nécessairement provenir du donneur de cellules souches hématopoïétiques. L'effet inhibiteur des CSM est dose-dépendant, et n'induit pas d'anergie puisque les lymphocytes peuvent être restimulés avec succès lorsque les CSM sont enlevées. Les mécanismes responsables de l'effet immunosuppresseur des CSM restent mal connus, mais semblent dépendre de facteurs solubles.

In vivo, les CSM prolongent la durée de survie de greffes de peau allogéniques dans des modèles de primates non humains (18), et préviennent le développement de l'encéphalite auto-immune dans des modèles murins (19).

PURIFICATION ET CONTRÔLE DE QUALITÉ DES CSM POUR LA THÉRAPIE CELLULAIRE

Malgré leur très faible fréquence, estimée à 0.01 % des cellules totales de la moelle, les CSM sont très aisément isolées à partir d'une aspiration médullaire, puis multipliées en culture. Les

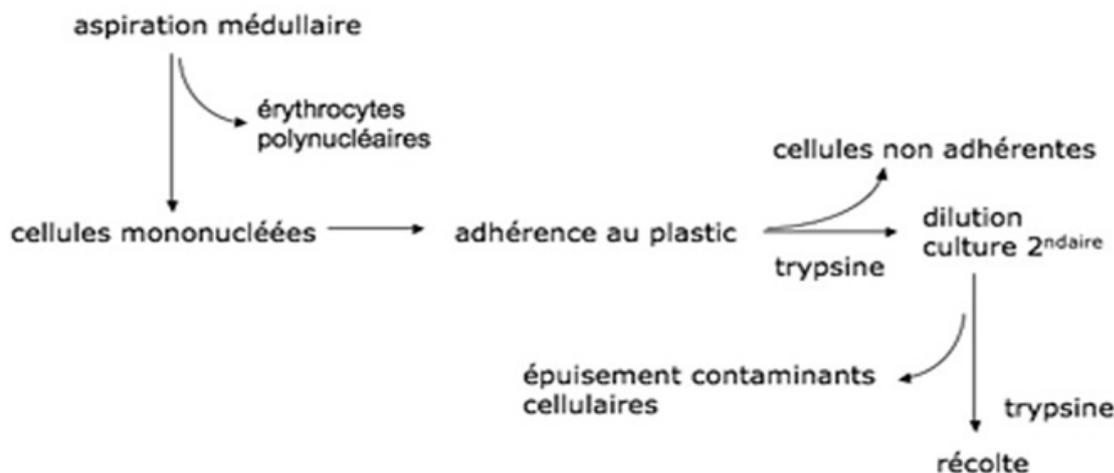


Figure 1 : Schéma de purification des CSM pour applications cliniques par adhérence différentielle et amplification sélective.

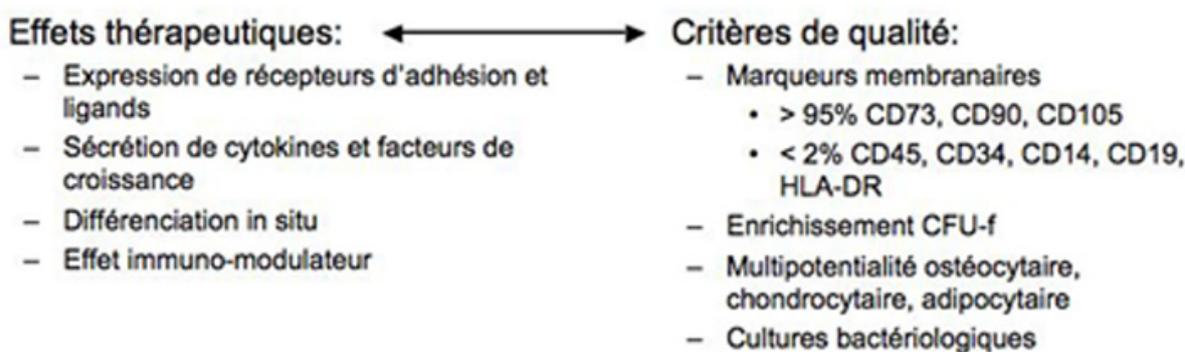


Figure 2 : Absence d'adéquation entre les contrôles de qualité réalisés sur les préparations de CSM et les effets thérapeutiques attendus

protocoles de purification sont basés sur les propriétés d'adhérence différentielle des cellules hématopoïétiques et des CSM. A l'inverse des cellules hématopoïétiques qui représentent l'immense majorité de la cellularité médullaire, les CSM adhèrent fermement au polystyrène («plastique») dont sont fabriquées les boîtes de culture. Il suffit, dès lors, pour purifier les CSM de déposer pour quelques jours une suspension de moelle dans un flacon de culture, puis d'en éliminer les cellules non adhérentes. Il persiste alors, attachée au plastic, une population cellulaire majoritairement fibroblastique, contaminée en proportions variables de macrophages, de cellules endothéliales, voire de lymphocytes adsorbés aux cellules stromales. La prolifération des cellules fibroblastiques est limitée par l'inhibition de contact. Dès lors, l'isolat primaire est détaché du support de culture par trypsination, dilué et réensemencé dans une nouvelle boîte et dans un milieu de culture conçu pour stimuler sélectivement la prolifération des CSM. De cette façon, les contaminants cellulaires, sont progressivement épuisés, soit parce qu'ils sont dépourvus constitutionnellement d'activité proliférative, soit parce que les milieux de culture utilisés ne permettent pas leur croissance (Fig.1). En général, après un ou deux passages, on obtient une culture purifiée de CSM.

Les préparations de CSM destinées à la thérapie cellulaire subissent un contrôle de qualité

rigoureux. Le degré de pureté des produits est vérifié par marquage des cellules obtenues à l'aide d'anticorps monoclonaux reconnaissant des marqueurs membranaires spécifiques. Les réactions sont identifiées par cytométrie en flux. D'après les critères de l'ISCT (12), les préparations de CSM purifiées doivent être positives à plus de 95% pour les marqueurs CD73, CD90 et CD105, et contenir moins de 2% de contaminants parmi lesquels sont systématiquement recherchés les macrophages CD14+ ou CD11b+, les cellules progénitrices hématopoïétiques et les cellules endothéliales CD34+, les lymphocytes T CD3+ et les lymphocytes B CD19+. L'absence de positivité pour les marqueurs pan-leucocytaires CD45 et HLA-DR doit aussi être établie.

Il faut également vérifier les caractéristiques fonctionnelles des cellules obtenues. D'une part, l'enrichissement en CSM peut être évalué en mesurant la capacité des cellules à former des colonies fibroblastiques. On obtient ainsi la proportion réelle de CFU-fs dans l'ensemble des cellules récoltées. D'autre part, le caractère multipotent doit être établi en vérifiant la capacité des CSM à subir une différenciation ostéocytaire, chondrocytaire et adipocytaire. Ces tests fonctionnels sont à réaliser ponctuellement, en particulier lors de la mise au point des procédures de préparation des CSM. Nécessitant plusieurs semaines de culture additionnelle dans

des milieux d'induction appropriés, ils ne sont pas réalisés systématiquement.

Enfin, des contrôles sérologiques sont réalisés chez le donneur pour exclure la possibilité de transmission des virus HIV, HBV, HCV, EBV et CMV, ainsi que de la syphilis et de la toxoplasmose. Des cultures bactériologiques sont systématiquement ensemencées à partir des préparations cellulaires.

On remarquera néanmoins l'insuffisance actuelle des analyses de contrôle de qualité lorsqu'on les met en rapport avec les mécanismes envisagés des effets thérapeutiques. Pour autant que ceux-ci soient clairement établis pour une application donnée, il semblerait plus approprié de mesurer, selon les cas, les taux de sécrétion de certains facteurs de croissance, l'activité immunosuppressive en culture lymphocytaire ou l'expression de récepteurs critiques pour l'intégration des CSM dans les tissus cibles (Fig. 2).

LES ÉTUDES CLINIQUES INITIÉES À PARTIR DE PRÉPARATIONS DE CSM

Malgré le caractère souvent parcellaire des données pré-cliniques, un grand nombre d'études cliniques ont été entreprises. Le site clinicaltrials.gov du National Institute of Health américain fait actuellement état de 26 essais cliniques incluant l'utilisation de CSM. Les applications sont les suivantes :

1. prévention ou traitement de la maladie du greffon contre l'hôte et du rejet de greffe hématologique (11 essais)
2. traitement de l'ischémie myocardique (4 essais);
3. régénération hépatique (3 essais);
4. traitement de la maladie de Crohn (2 essais);
5. réparation des fractures tibiales (2 essais);
6. traitement de la sclérose en plaques (1 essai);
7. réparation des lésions méniscales (1 essai)
8. réparation des foyers de périodontite (1 essai);
9. traitement de l'osteogenesis imperfecta (1 essai).

Comme on le voit, ces études tentent d'exploiter les propriétés immunosuppressives des CSM, ainsi que leur potentiel de différenciation ostéo-articulaire, cardiomyocytaire et hépatique. Les applications hématologiques, qui semblent actuellement les plus prometteuses et dans lesquelles le CHU est particulièrement actif, seront détaillées ci-dessous. Les applications non hématologiques sont explicitées dans un article de revue récent par Giordano et collaborateurs (20).

INTÉRÊT DES CSM DANS LA PRÉVENTION ET LE TRAITEMENT DE LA MALADIE DU GREFFON CONTRE L'HÔTE ET LE REJET DE GREFFE

INFUSION DE CSM APRÈS AUTOGREFFE DE CELLULES SOUCHES HÉMATOPOÏÉTIQUES

Une étude de phase 1 a été réalisée par Lazarus et coll. afin de déterminer la faisabilité et la sécurité de l'expansion des CSM et de leur infusion (autologue) intraveineuse chez des sujets sains. Quinze patients ont été inclus, 5 d'entre eux ont reçu 1×10^6 CSM, 5 autres 5×10^6 CSM, et les 5 derniers 50×10^6 CSM. Aucun effet secondaire n'a été démontré (17). Les mêmes auteurs ont par la suite étudié l'infusion de CSM (1×10^6 CSM/kg) simultanément à une autogreffe de cellules souches hématopoïétiques chez 32 patients atteints de néoplasies mammaires (21). Aucun effet secondaire n'a été observé, alors que la récupération hématologique était tout particulièrement rapide. De plus, les auteurs ont démontré la présence de CSM clonogéniques dans le sang de certains patients dans les premières heures après infusion, mais plus par la suite.

INFUSION DE CSM COMME TRAITEMENT DE LA MALADIE DU GREFFON CONTRE L'HÔTE (GVHD)

La maladie du greffon contre l'hôte (GVHD) est une complication redoutable des allogreffes de cellules souches hématopoïétiques, caractérisée par la destruction des tissus sains du receveur par les lymphocytes du donneur. On distingue la GVHD aiguë qui survient généralement pendant les 100 premiers jours après la greffe, et la GVHD chronique qui survient plus tardivement. Le traitement de la GVHD aiguë consiste en l'administration de fortes doses de corticostéroïdes. Malheureusement, ce traitement est inefficace chez approximativement 1/3 des patients. Ces patients ayant une GVHD réfractaire ont un mauvais pronostic, et il n'y a pas, à l'heure actuelle, de traitement standard de la GVHD aiguë réfractaire.

Ces données ont conduit Le Blanc et coll. à administrer des CSM à un jeune patient atteint de GVHD aiguë sévère (digestive et hépatique) réfractaire non seulement aux corticostéroïdes, mais également aux traitements de seconde et troisième lignes (22). L'infusion de CSM a permis d'obtenir une rémission complète de la GVHD. De plus, une biopsie du tube digestif a permis de mettre en évidence des cellules épithéliales digestives provenant probablement des CSM. Plus récemment, les données de 40 patients atteints de GVHD aiguë réfractaire ont

été rapportées (Le Blanc et coll., communication orale). Sur les 40 patients, 21 ont obtenu une réponse complète, 8 une réponse partielle, et 2 une stabilisation de leur GVHD. De plus, du DNA provenant du donneur de CSM a pu être mis en évidence dans un ganglion lymphatique et dans le côlon d'un des patients.

INFUSION DE CSM POUR FAVORISER LA PRISE DU GREFFON APRÈS ALLOGREFFE DE CELLULES SOUCHES HÉMATOPOÏÉTIQUES

Certaines données préliminaires suggèrent que la co-infusion de CSM en même temps qu'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques permettrait de favoriser la prise du greffon (23). Nous évaluons actuellement la capacité de la co-infusion de CSM à favoriser la prise du greffon et à prévenir la GVHD chez les patients traités par une mini-allogreffe (c.a.d. allogreffe après un conditionnement non myéloablateur comprenant une faible dose d'irradiation corporelle totale et de la fludarabine) provenant d'un donneur présentant 1 ou 2 mismatches HLA avec le patient.

CONCLUSIONS

Les CSM représentent une population cellulaire versatile dont les propriétés immunomodulatrices et régénératives sont d'un intérêt majeur en thérapie cellulaire. Leur potentiel exact doit être précisé par des études cliniques contrôlées.

BIBLIOGRAPHIE

- Friedenstein A, Kuralesova AI.— Osteogenic precursor cells of bone marrow in radiation chimeras. *Transplantation*, 1971, **12**, 99-108.
- Friedenstein AJ, Chailakhyan RK, Latsinik NV et al.— Stromal cells responsible for transferring the microenvironment of the hemopoietic tissues. Cloning in vitro and retransplantation *in vivo*. *Transplantation*, 1974, **17**, 331-340.
- Bab I, Ashton BA, Gazit D et al.— Kinetics and differentiation of marrow stromal cells in diffusion chambers *in vivo*. *J Cell Sci*, 1986, **84**, 139-151.
- Caplan AI.— Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res*, 1991, **9**, 641-650.
- Dennis JE, Caplan AI.— Differentiation potential of conditionally immortalized mesenchymal progenitor cells from adult marrow of a H-2Kb-tsA58 transgenic mouse. *J Cell Physiol*, 1996, **167**, 523-538.
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al.— Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science*, 1999, **284**, 143-147.
- Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD et al.— Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science*, 1999, **284**, 1168-1170.
- Bjornson CR, Rietze RL, Reynolds BA et al.— Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells *in vivo*. *Science*, 1999, **283**, 534-537.
- Gussoni E, Soneoka Y, Strickland CD et al.— Dystrophin expression in the mdx mouse restored by stem cell transplantation. *Nature*, 1999, **401**, 390-394.
- Banfi A, Bianchi G, Notaro R et al.— Replicative aging and gene expression in long-term cultures of human bone marrow stromal cells. *Tissue Eng*, 2002, **8**, 901-910.
- Liechty KW, MacKenzie TC, Shaaban AF et al.— Human mesenchymal stem cells engraft and demonstrate site-specific differentiation after in utero transplantation in sheep. *Nat Med*, 2000, **6**, 1282-1286.
- Dominici M, Le Blanc K, Mueller I et al.— Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*, 2006, **8**, 315-317.
- Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ et al.— Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J Neurosci Res*, 2000, **61**, 364-370.
- Wakitani S, Saito T, Caplan AI.— Myogenic cells derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells exposed to 5-azacytidine. *Muscle Nerve*, 1995, **18**, 1417-1426.
- Reyes M, Dudek A, Jahagirdar B et al.— Origin of endothelial progenitors in human postnatal bone marrow. *J Clin Invest*, 2002, **109**, 337-346.
- Schwartz RE, Reyes M, Koodie L et al.— Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J Clin Invest*, 2002, **109**, 1291-1302.
- Le Blanc K, Ringden O.— Mesenchymal stem cells: properties and role in clinical bone marrow transplantation. *Curr Opin Immunol*, 2006, **18**, 586-591.
- Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M et al.— Mesenchymal stem cells suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival *in vivo*. *Exp Hematol*, 2002, **30**, 42-48.
- Zappia E, Casazza S, Pedomonte E et al.— Mesenchymal stem cells ameliorate experimental autoimmune encephalomyelitis inducing T-cell anergy. *Blood*, 2005, **106**, 1755-1761.
- Giordano A, Galderisi U, Marino IR.— From the laboratory bench to the patient's bedside: an update on clinical trials with mesenchymal stem cells. *J Cell Physiol*, 2007, **211**, 27-35.
- Koc ON, Gerson SL, Cooper BW et al.— Randomized cross-over trial of progenitor-cell mobilization: high-dose cyclophosphamide plus granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) versus granulocyte-macrophage colony-stimulating factor plus G-CSF. *J Clin Oncol*, 2000, **18**, 1824-1830.
- Le Blanc K, Rasmusson I, Sundberg B et al.— Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet*, 2004, **363**, 1439-1441.
- Le Blanc K, Samuelsson H, Gustafsson B et al.— Transplantation of mesenchymal stem cells to enhance engraftment of hematopoietic stem cells. *Leukemia*, 2007, **21**, 1733-1738.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Pr. A. Gothot, Service d'Hématologie Biologique et Immuno-Hématologie, CHU Sart Tilman, 4000 Liège, Belgique.