

세포배양삽입체계(Cell Culture Insert System)에서 중간엽 줄기세포(Mesenchymal Stem Cell)가 수지상세포(Dendritic Cell)의 활성화에 미치는 영향

가톨릭대학교 의과대학 ¹내과학교실, ²퓨처셀뱅크

김기원¹ · 박석영¹ · 이경복² · 김현수²

The Effect of Mesenchymal Stem Cells on the Activation of Dendritic Cells in the Cell Culture Insert System

Kee Won Kim¹, Suk Young Park¹, Kyung Bock Lee² and Hyun-su Kim²

Department of ¹Internal Medicine, Medical College, The Catholic University of Korea, ²Future Cell Bank, Seoul, Korea

ABSTRACT

Background: Bone marrow mesenchymal stem cells (MSC) inhibit the immune response of lymphocytes to specific antigens and dendritic cells (DC) are professional antigen-presenting cells whose function is to present antigen to naive T-lymphocytes with high efficiency and play a central role in the regulation of immune response. We studied the effects of MSC on DC to evaluate the relationship between MSC and DC in transplantation immunology. **Methods:** MSC were expanded from the bone marrow and DC were cultured from peripheral blood mononuclear cells (PBMNC) of 6 myelogenous leukemia after achieving complete response. Responder cells isolated from PBMNC and lysates of autologous leukemic cells are used as tumor antigen. The effect of MSC on the DC was analyzed by immunophenotype properties of DC and by proliferative capacity and the amount of cytokine production with activated PBMNC against the allogeneic lymphocytes. Also, cytotoxicity tests against leukemic cells studied to evaluate the immunologic effect of MSC on the DC. **Results:** MSC inhibit the CD83 and HLA-class II molecules of antigen-loaded DC. The proliferative capacity and the amount of INF- γ production of lymphocytes to allogeneic lymphocytes were decreased in DC co-cultured with MSC. Also the cytotoxic activity of lymphocytes against leukemic cells was decreased in DC co-cultured with MSC. **Conclusion:** MSC inhibit the activation and immune response of DC induced by allogeneic or tumor antigen. (*Immune Network* 2004;4(2):88-93)

Key Words: Mesenchymal stem cells, dendritic cells, lymphocytes

서 론

줄기세포(stem cell)란 자신과 동일한 세포를 연속적으로 재생(self-replication)하고, 다양한 조직세포로 분화(differentiation)할 수 있는 능력을 가진 근원세포로서 손상받은 조직을 재생시킬 수 있는 능력이 있어 임상적 응

용에 대한 연구가 오래 전부터 지속되어 왔으나(1), 현재 까지 임상적 응용은 조혈모세포(hematopoietic stem cell) 이식이 주류를 이루고 있다.

최근 골수에서 존재하는 중간엽 줄기세포를 성공적으로 배양하게 되면서 그 기능과 성상이 차츰 밝혀지게 되어, 이들을 이용하여 골, 연골, 근육, 심장, 간, 뇌 및 상피 세포 등과 같은 각 조직세포로 분화하고자 하는 연구가 활발하게 되었고(2-4), 일부 연구자들은 손상된 조직의 재건, 또는 특정 유전자를 삽입하는 유전자치료법의 매개체로 사용하는 등 각종 난치병을 치료하는 데 이용하고자 하는 연구를 시도하고 있다(5-7).

책임저자 : 김기원, 가톨릭대학교 대전성모병원 중앙혈액내과
☎ 301-723, 대전 중구 대흥2동 520-2
Tel: 042-220-9114, Fax: 042-255-8663
E-mail: kwkim@djsungmo.com

본 연구는 가톨릭대학교 대전성모병원 임상의학연구소 연구비 보조로 수행되었음.

또한 동종 조혈모세포 이식에서 동종 면역세포에 대한 면역반응을 억제시켜서 생착을 촉진시키는 중간엽 줄기세포의 역할이 보고되면서(8,9), 면역조절기전에서의 역할에 대한 연구가 관심을 끌고 있다. 중간엽 줄기세포는 MHC 및 ICAM-1과 같은 유착분자나 CD80이나 CD83과 같은 보조자극분자가 적은 것으로 알려져 있고, 일부의 연구자들은 중간엽 줄기세포가 TGF- β 등을 분비하여 면역세포의 활성도를 낮추어 면역반응을 저하시키거나, 면역세포의 apoptosis를 유도한다는 보고도 있지만(10), 아직까지 중간엽 줄기세포의 면역조절기전은 규명되어 있지 못하다.

수지상세포(dendritic cells)는 인간의 면역체계에서 지금까지 알려진 가장 강력한 항원전달세포로서, 생체 내 및 시험관 내에서 항원으로 감각 후 원시 Th-림프구 및 세포독성 T-림프구를 활성화시킬 수 있는 면역학적 활성화의 효과적인 매개체로 알려져 있다(11,12). 지금까지는 이러한 수지상세포를 이용하는 데 제약이 많았으나, 최근 수적으로 증가시킬 수 있는 기술이 개발됨에 따라(13) 이를 이용하여 종양항원에 대한 면역반응을 증가시키고자 하는 연구가 활발하다.

중간엽 줄기세포와 수지상세포는 모두 골수에서 기원하는데 이들의 상호작용, 특히 중간엽 줄기세포의 수지상세포 성숙과정 및 면역세포의 활성화 유도에 어떠한 영향을 주는지 알려진 바가 거의 없다. 본 연구에서 저자들은 면역학적 치료로 효과가 있다고 알려져 있는 수지상세포를 발생시키고, 감각된 수지상세포가 반응세포인 말초혈액 단핵세포(주로 세포독성T-림프구)의 활성화 및 종양세포에 대한 특이적 면역반응을 유도하는 과정에서 중간엽 줄기세포가 면역반응 활성화 유도에 어떠한 영향을 미치는지 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

대상. 백혈병(만성골수성백혈병 3, 급성골수성백혈병 3)으로 진단된 환자의 혈액을 대상으로 하여 종양세포는 골수세포에서 RBC lysis buffer (R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) 및 Ficoll/Hypaque 비중구배 차이를 사용하여 90% 이상이 될 때까지 분리한 후 냉동 보관하였다. 종양항원은 냉동된 종양세포로부터 반복된 온도차에 의하여 lysates를 만들어 사용하였다. 반응세포(responder cells)는 환자가 관해상태에 이른 후 말초혈액으로부터 Ficoll/Hypaque 비중구배 차이로 단핵세포(주로 T 림프구)를 분리하여 사용하였다.

수지상세포 발생 및 중간엽 줄기세포 배양. 수지상세포는 환자가 관해상태에 이른 후 말초혈액으로부터 Ficoll/Hypaque 비중구배 차이로 분리한 단핵세포를 Macrophage-SFM (serum redd media) 배양액(Gibco, Gland Island, NY, USA)과 함께 GM-CSF (Endogen, Woburn,

MA, USA) 200 μ g/ml와 IL-4 (R&D System) 8 ng/ml을 첨가하여 약 7일간 발생시켰다. 중간엽 줄기세포는 환자가 완전관해에 이른 후 채취된 골수에서 단핵세포를 분리한 뒤 10% DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) 배양액(Sigma, Saint Louis, MO, USA)에서 단핵세포와 대식세포를 계속적으로 제거하면서 약 2주 이상 계대 배양하였다.

중간엽 줄기세포가 수지상세포의 활성화에 미치는 영향. 중간엽 줄기세포가 수지상세포의 활성화에 미치는 영향을 조사하기 위하여 세포군 간에 서로 물리적으로 간섭하지 않고 체액만 교류하는 transwell culture (혼합배양)법을 이용하였고, 이를 위하여 1.0 μ m의 미세구멍을 가진 세포배양삽입체계(Cell Culture Insert, Falcon, Franklin Lakes, NJ, USA)를 사용하였다. 간단하게 설명하면 약 7일 간 발생시킨 수지상세포를 종양항원으로 감각시키고 세포배양삽입체계에서 중간엽 줄기세포와 약 24시간 동안 transwell culture한 후 대표적인 수지상세포의 면역표현형인 CD80, CD83 및 HLA-DR을 유세포기(flow cytometry)로 관찰하고, 같은 조건이지만 중간엽 줄기세포만 없는 세포배양삽입체계에서 transwell culture된 수지상세포의 면역표현형과 비교하여 보았다.

중간엽 줄기세포와 transwell culture된 수지상세포에 의한 동종혼합림프구 증식반응. 세포배양삽입체계에서 중간엽 줄기세포와 transwell culture된 수지상세포가 동종혼합림프구 증식반응에 어떠한 영향을 미치는지 조사하여 보았다. 간략하게 설명하면 발생시킨 수지상세포를 30 Gy의 방사선에 조사된 동종단핵구로 감각시킨 후 세포배양삽입체계에서 중간엽 줄기세포와 약 2일간 transwell culture하고 나서 반응세포와 5일간 배양하고, [3 H]-thymidine을 12시간 작용시킨 후 β -counter (Top-Count NXT, Packard, Meriden, CT, USA)로 증식반응을 측정하였다. 대조군으로 같은 조건이지만 중간엽 줄기세포만 없는 세포배양삽입체계에서 transwell culture된 수지상세포의 값과 비교하여 보았다. 그리고 30 Gy의 방사선을 조사한 중간엽간세포가 수지상세포 발생에 미치는 영향을 알아보려고 같은 방법으로 증식 반응을 조사하여 비교하였으며, 중간엽간세포의 림프구 면역반응 억제 기전 중의 하나로 보고된 TGF- β 1에 대한 항TGF- β 1 중화항체(R&D system) 1 μ g/ml을 첨가하여 증식반응의 변화 여부를 조사하여 보았다. 또한 세포성 면역반응을 유도하는 인터루킨-12 (p70, Pharmingen, San Diego, CA, USA) 3.5 ng/ml를 첨가하여 저하된 증식반응이 교정되는지를 조사하였다.

중간엽 줄기세포와 transwell culture된 수지상세포에 의한 반응세포 IFN- γ 생산. 중간엽 줄기세포가 수지상세포의 Th1 면역반응 유도에 미치는 영향을 조사하여 보았다. 간략하게 설명하면 발생시킨 수지상세포를 30

Gy의 방사선에 조사된 동종단핵구로 감작시키고 세포 배양삽입체계에서 중간엽 줄기세포와 약 2일간 transwell culture하고 나서 반응세포와 4일간 배양시킨 후 반응세포에서 분비된 Th1 세포성 면역반응의 대표적 사이토카인 IFN- γ 값을 ELISA법(Endogen)으로 측정하여 같은 조건이지만 중간엽 줄기세포만 없는 세포배양삽입체계에서 transwell culture된 수지상세포의 값과 비교하여 보았다.

중간엽 줄기세포와 transwell culture된 수지상세포에 의한 반응세포 세포독성. 종양항원에 감작된 수지상세포에 의하여 활성화된 반응세포가 종양세포에 특이적인 세포독성 면역반응을 일으키는데 중간엽 줄기세포가 어떠한 영향을 미치는지 비교하여 보았다. 간략하게 설명하면, 세포배양삽입체계에서 중간엽 줄기세포와 약 2일간 transwell culture된 수지상세포를 종양항원으로 자극시키고 반응세포와 5일간 배양시킨 후 냉동 보관하였던 종양세포와 24시간 반응시켜서 종양세포의 파괴 시 유출되는 lactate dehydrogenase (LDH)를 측정하여 세포독성실험을 시행하고(14), 같은 조건이지만 중간엽 줄기세포만 없는 세포배양삽입체계에서 transwell culture된 수지상세포의 값과 비교하여 보았다. 모든 반응은 3배수 실험의 평균값으로 산출하였다.

통계학적 처리. 모든 반응은 3배수 실험의 평균값과 표준 오차로 산출하였다. 통계학적 처리는 paired T-test를 이용하였고 유의 수준은 0.05 이하로 판단하였다.

결 과

중간엽 줄기세포가 수지상세포의 활성화에 미치는 영향. 발생된 수지상세포를 종양항원으로 감작시키고, 세포배양삽입체계에서 중간엽 줄기세포와 transwell culture된 수지상세포와 같은 조건이지만 중간엽 줄기세포만 없는 세포배양삽입체계에서 transwell culture된 수지상세포의 면역표현형 차이를 유세포기로 비교한 결과, 중간엽 줄기세포는 일반적으로 활성화된 수지상세포에서 증가되는 면역표현형으로 알려진 CD83과 HLA-DR의 표현을 감소시켰다(Fig. 1).

중간엽 줄기세포와 transwell culture된 수지상세포에 의한 동종혼합림프구 증식반응. 세포배양삽입체계에서 중간엽 줄기세포와 transwell culture된 수지상세포는 동종항원에 대한 림프구 증식반응을 저하시켜서 수지상세포의 림프구 증식반응 유도를 저하시켰다(Fig. 2). 또한 중간엽 줄기세포에 30 Gy의 방사선을 조사하거나, 항 TGF항체를 첨가하여 수지상세포를 반응세포와 배양하여도 반응세포의 증식반응 저하는 계속되어 기대하였던 중간엽 줄기세포의 면역반응 억제에 상쇄시키지 못하였다(Fig. 3). 세포배양체계에서 중간엽 줄기세포와 transwell culture된 수지상세포에 대한 IL-12의 첨가는 반응세포의 증식반응을 증가시켰으나 중간엽 줄기세포의 영향

없이 transwell culture된 수지상세포의 증식반응 유도에 비하여 낮았다.

중간엽 줄기세포와 transwell culture된 수지상세포에 의한 반응세포 IFN- γ 생산. ELISA법을 이용하여 IFN- γ 의 값을 측정한 결과 30 Gy의 방사선에 조사된 동종단핵구로 감작시키고 세포배양삽입체계에서 중간엽 줄기세포와 transwell culture된 수지상세포에 의하여 활성화된 반응세포에서 IFN- γ 분비 값이 상대적으로 적게 측정되었다(Fig. 4).

중간엽 줄기세포와 transwell culture된 수지상세포에 의한 반응세포 세포독성. 세포배양삽입체계에서 중간엽 줄기세포와 transwell culture된 수지상세포와 같은 조건이지만 중간엽 줄기세포만 없는 세포배양삽입체계에서 transwell culture된 수지상세포의 종양세포에 대한 림프구 세포독성 면역반응 유도능 차이를 조사한 결과 중간엽 줄기세포와 transwell culture된 수지상세포에 의하여 활성화된 반응세포의 종양세포에 대한 세포독성반응률이 상대적으로 낮았다(Fig. 5).

고 찰

중간엽 줄기세포는 손상된 간이나, 심장, 신경계 및 혈관의 치료에 긍정적인 결과가 보고되면서 그 의학적 응용의 가능성이 높아지고 있다. 중간엽 줄기세포의 면역학적 기능은 최근까지 밝혀지지 않다가 동종 중간엽 줄기세포 및 조혈모세포의 혼합 이식이 생착에 좋은 효과를 보였다는 보고가 있고 나서(8,9) 이에 대한 관심이 높아지기 시작하였다. 특히 조혈모세포이식 등의 세포면역치료법에는 중간엽 줄기세포가 같이 투여되므로 중간엽 줄기세포와 면역세포 간의 상호작용을 규명하는 것이 필요하다고 사료되어 본 연구를 시작하게 되었다.

본 연구의 목표는 조혈모세포이식 후 이식편대종양반응(graft-versus-tumor reaction)이나 공여자림프구투여(donor lymphocyte infusion) 등으로 면역학적 치료의 효과가 확인된 백혈병 환자로부터(15) 발생된 수지상세포가 림프구 활성화 및 종양세포에 대한 특이적 면역반응을 유도하는 활성화 과정에서 중간엽 줄기세포가 어떠한 영향을 미치는지 알아보는 것이다.

중간엽 줄기세포가 림프구의 활성을 억제시켜서 면역학적 억제의 역할을 가진다는 보고는 많다(16-19). 이러한 면역학적 억제는 동종간의 골수이식에서 생착을 용이하게 유도하게 되는데, 실제적으로 골수세포를 이용한 조혈모세포이식이 중간엽 줄기세포가 포함될 가능성이 적은 말초혈액 조혈모세포이식보다 이식편대숙주질환(graft-versus-host disease)이 적은 이유가 된다(20). 이러한 면역학적 억제능으로 중간엽 줄기세포는 혈액학적 이식뿐만 아니라 동종간의 조직이나 장기이식에도 이용될 수 있을 것으로 예상된다(21).

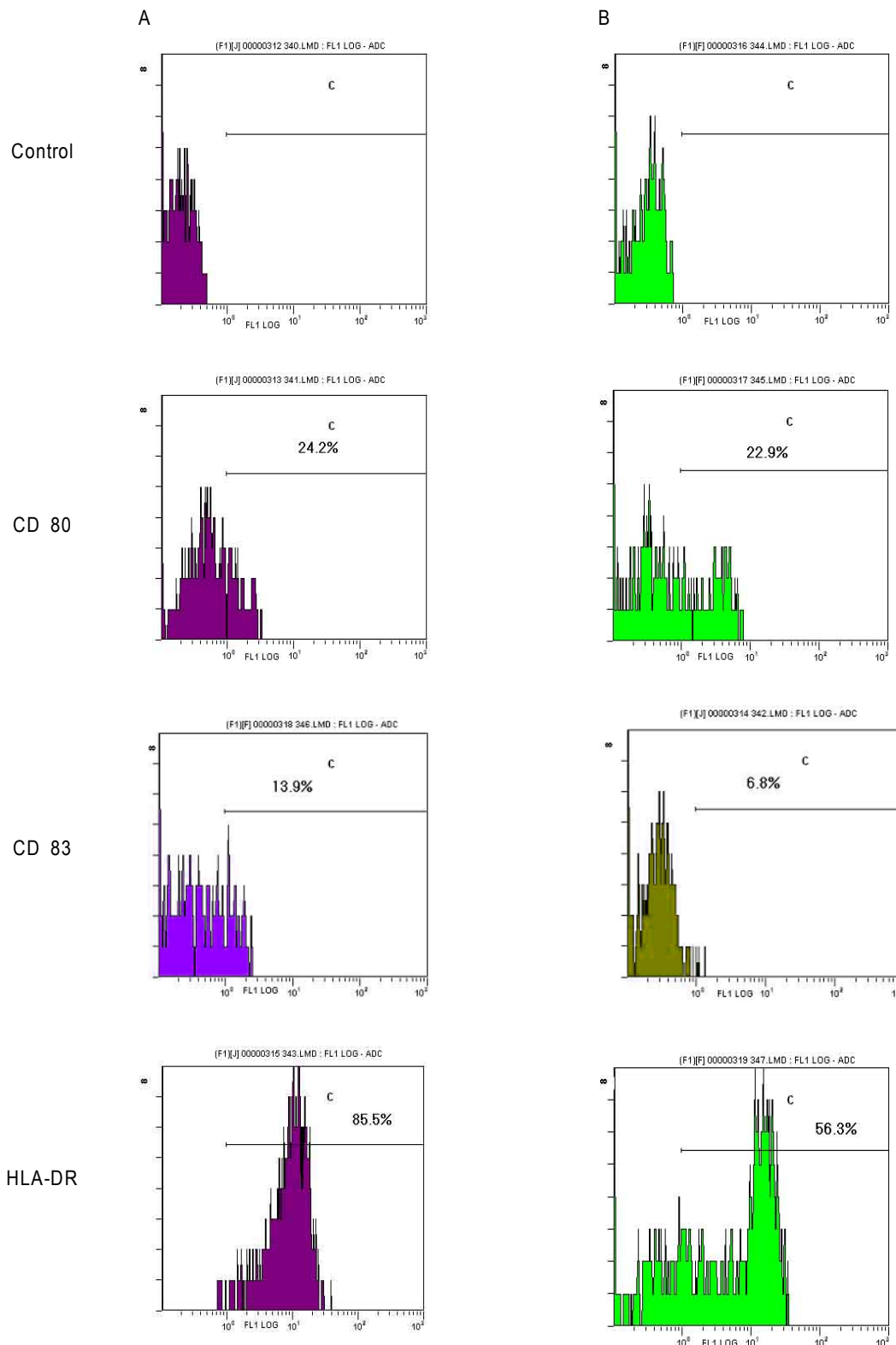


Figure 1. Immunophenotypic findings. The expression of CD83, and MHC class II are suppressed on dendritic cells which have been activated by autologous tumor antigen loading and cultured over 24 hour in the Cell Culture Insert with mesenchymal stem cells. Surface immunophenotypes are stained with fluorescent mononuclear antibodies and analyzed by flow cytometry (A: antigen-loaded dendritic cells without mesenchymal stem cells, B: antigen-loaded dendritic cells with mesenchymal stem cells).

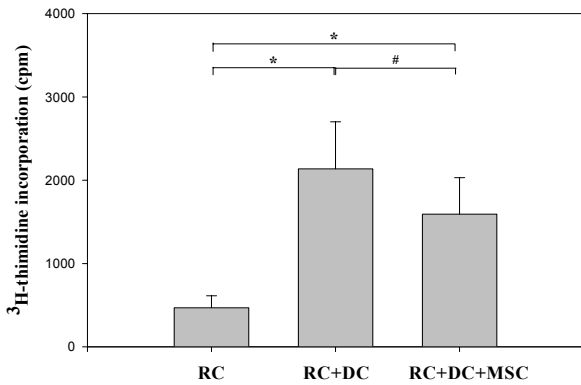


Figure 2. Allogeneic mixed lymphocyte reaction by dendritic cells with or without mesenchymal stem cells. Dendritic cells cultured in the Cell Culture Insert with mesenchymal stem cells are less potent for lymphocyte proliferation against allogeneic lymphocytes than dendritic cells without mesenchymal stem cells (RC: 1×10^5 responder cell without dendritic cells, RC+DC: 1×10^5 responder cell with 1×10^4 dendritic cells, RC+DC+MSC: 1×10^5 responder cell with 1×10^4 dendritic cells and 1×10^4 mesenchymal stem cells). Data points shown are expressed using the mean value of triplicate cultures (*: $P < 0.01$, #: $P < 0.05$). cpm: β counts per minutes.

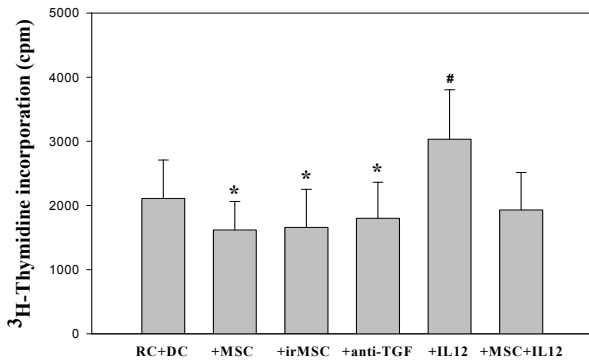


Figure 3. Allogeneic mixed lymphocyte reaction by dendritic cells with mesenchymal stem cells in various conditions. The suppressed allogeneic mixed lymphocyte reaction by dendritic cells cultured in the Cell Culture Insert with mesenchymal stem cells are not affected by 30 Gy radiation of MSC, addition of anti-TGF- β antibody, or IL-12. (RC+DC: 1×10^5 responder cells with 1×10^4 dendritic cells, MSC: RC+DC+ 1×10^4 mesenchymal stem cells, irMSC: RC+DC + 1×10^4 irradiated mesenchymal stem cells, anti-TGF: RC+DC+MSC+anti-TGF- β antibody, IL12: RC+DC+IL-12, MSC+IL12: RC+DC+MSC+IL-12). Data points shown are expressed using the mean value of triplicate cultures (*: $P < 0.05$, #: $P < 0.01$ compared to A). cpm: β counts per minutes.

본 연구에서 중간엽 줄기세포와 transwell culture되었던 수지상세포에서 활성화된 면역표현형과 이에 활성화된 림프구의 동종항원에 대한 증식반응, 세포성 면역반응 사이토카인 IFN- γ 분비 및 종양세포에 대한 세포독성 반응이 모두 저하되었다. 이는 중간엽 줄기세포가 수지

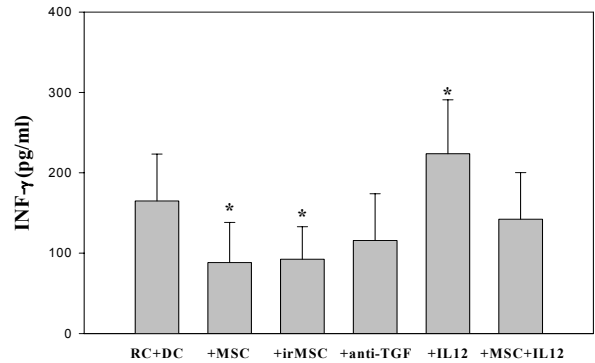


Figure 4. IFN- γ in the supernatant after activation of responder cells by dendritic cells cultured in the Cell Culture Insert with mesenchymal stem cells in various conditions. All data are calculated using the mean value of triplicate cultures (RC+DC: 1×10^5 responder cells with 1×10^4 dendritic cells, MSC: RC+DC+ 1×10^4 mesenchymal stem cells, irMSC: RC+DC+ 1×10^4 irradiated mesenchymal stem cells, anti-TGF: RC+DC+MSC+anti-TGF- β antibody, IL12: RC+DC+IL-12, MSC+IL12: RC+DC+MSC+IL-12). Data points shown are expressed using the mean value of triplicate cultures (*: $P < 0.05$ compared to A).

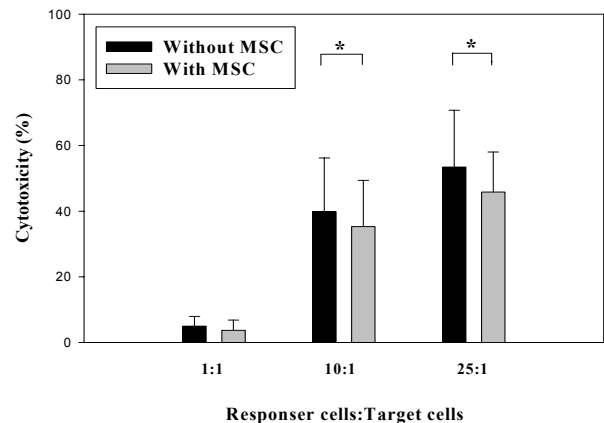


Figure 5. Cytotoxic activity of responder cells activated by dendritic cells. Cytotoxicity of responder cells against autologous tumor cells (target cells) is measured using LDH release assay. Responder cells are activated by the dendritic cells cultured in the Cell Culture Insert with or without mesenchymal stem cells and pulsed with tumor cell lysates. Data points shown are expressed using the mean value of triplicate cultures (*: $P < 0.05$).

상세포의 활성화를 억제시키고 수지상세포의 림프구 면역반응 활성화를 저하시켰음을 의미한다. 이러한 결과는 중간엽 줄기세포에 대한 30 Gy의 방사선 조사 및 항 TGF- β 1 항체의 사용에도 계속되었다. Bartholomew들은 동물 실험을 통해서 방사선 조사된 중간엽 줄기세포도 림프구의 면역반응을 억제시켰다고 보고하였는데 본 연구에서는 인간에서 방사선 조사된 중간엽 줄기세포도

수지상세포의 기능을 억제한다는 사실을 확인할 수 있었다. 또한 Di Nicola 등(17)은 중간엽 줄기세포가 림프구의 면역반응을 억제시키는 기전으로 TGF- β 1의 분비를 제시하였으나, 최근 Krampera 등(18)이 부정적인 실험결과를 보고하였는데 본 연구에서도 가능성이 적음을 확인할 수 있었다. IL-12의 영향은 지금까지 알려진 바가 없으나 Bartholomew는 IL-2를 첨가하여도 중간엽 줄기세포의 림프구에 대한 면역억제 현상이 계속되었다고 발표하였고(10) 본 연구의 결과도 유사하였다. 일반적인 면역세포는 방사선 조사나 항TGF- β 및 IL-12의 영향을 받으므로 본 실험에서 배양된 중간엽 줄기세포가 면역억제의 기능을 가지지만 일반적인 면역세포와는 다른 특성을 가진 것으로 추측된다.

이상의 실험결과로 세포배양상입체계를 이용하여 직접적인 세포의 접촉이 없이 상층액과 교환되는 transwell culture의 조건에서 중간엽 줄기세포가 수지상세포에게 영향을 미치는 것은 중간엽 줄기세포에서 분비되는 미상의 물질이 수지상세포의 활성화를 억제한다는 것을 유추할 수 있었고 향후 이에 대한 추가적인 연구가 필요하리라 판단된다.

골수의 환경을 구성하는 중간엽 줄기세포의 면역조절 기전에서의 역할은 많은 연구가 필요한 분야이다. 이는 동종간의 조혈모세포뿐만 아니라 조직이나 장기의 이식, 그리고 면역질환에 대한 치료 및 유전자 치료, 나아가서는 종양의 치료 등 여러 가지 면역조절요법에 응용될 수 있을 것이다.

결론적으로 중간엽 줄기세포는 면역반응의 활성화를 조절하는 수지상세포의 기능을 억제하여 동종항원이나 종양항원에 대한 면역반응 유도를 억제하고 이러한 면역억제는 아직까지 밝혀지지 않은 체액성 물질에 의하여 이루어지는 것으로 판단되며, 이 물질이 림프구뿐만 아니라 수지상세포의 면역반응 유도능을 억제하는 것으로 추측된다.

참 고 문 헌

- Deans RJ, Moseley AB: Mesenchymal stem cells: biology and potential clinical uses. *Exp Hematol* 28;875-884, 2000
- Reyes M, Lund T, Lenvik T, Aular D, Koodie L, Verfaillie CM: Purification and ex vivo expansion of postnatal human marrow mesodermal progenitor cells. *Blood* 98;2615-2625, 2001
- Graf T: Differentiation plasticity of hematopoietic cells. *Blood* 99;3089-3101, 2002
- Herzog EL, Chai Li, Krause DS: Plasticity of marrow-derived stem cells. *Blood* 102;3483-3493, 2003
- Devine SM, Cobbs C, Jennings M, Bartholomew A, Hoffman R: Mesenchymal stem cells distribute to a wide range of tissues following systemic infusion into nonhuman primates. *Blood* 101;2999-3001, 2003
- Körbling M, Estrov Z: Adult stem cells for tissue repair-a new therapeutic concept? *N Eng J Med* 349;570-582, 2003
- Deng Y, Guo X, Yuan Q, Li S: Efficiency of adenovirus vector mediated CTLA4Ig gene delivery into mesenchymal stem cells. *Chin Med J* 116;1649-1654, 2003
- Noort WA, Krusselbrink AB, in't Anker PS, Kruger M, van Bezooijen RL, de Paus RA, Heemskerk MHM, Löwik CWGM, Falkenburg JHF, Willemze R, Fibbe WE: Mesenchymal stem cells promote engraftment of human umbilical cord blood-derived CD34(+) cells in NOD/SCID mice. *Exp Hematol* 30; 870-878, 2002
- Lee ST, Jang JH, Cheong J, Kim JS, Maeng H, Hahn JS, Ko YW, Min YH: Treatment of high-risk acute myelogenous leukaemia by myeloablative chemoradiotherapy followed by co-infusion of T-cell-depleted haematopoietic stem cells and culture-expanded marrow mesenchymal stem cells from a related donor with one fully mismatched human leucocyte antigen haplotype. *Br J Haematol* 118;1128-1131, 2002
- Bartholomew A, Sturgeon C, Siatskas M, Ferrer K, McIntosh K, Patil S, Hardy W, Devine S, Ucker D, Deans R, Moseley A, Hoffman R: Mesenchymal stem cells suppress lymphocytes proliferation in vitro and prolong skin graft survival in vivo. *Exp Hematol* 30;42-48, 2002
- Engleman EG: Dendritic cells: potential role in cancer therapy. *Cytotechnology* 25;1-8, 1997
- Austyn JM, Phil MA: Dendritic cells. *Cur Opin Hematol* 5;3-15, 1998
- Romani N, Gruner S, Brang D, Kämpgen E, Lenz A, Trockenbacher B, Konwalinka G, Fritsch PO, Steinman RM, Schuler G: Proliferation dendritic cell progenitors in human blood. *J Exp Med* 180;83-93, 1994
- Weidmann F, Brieger J, Jahn B, Hoelzer D, bergmann L, Mitrou PS: Lactate dehydrogenase-release assay: a reliable, nonradioactive technique for analysis of cytotoxic lymphocyte-mediated lytic activity against blasts from acute myelocytic leukemia. *Ann Hematol* 70;153-158, 1995
- Slavin S, Morecki S, Weiss L, Shapira MY, Resnick I, Or R: Nonmyeloablative stem cell transplantation: reduced-intensity conditioning for cancer immunotherapy-from bench to patient bedside. *Semin Oncol* 31;4-21, 2004
- Devine SM, Peter S, Martin BJ, Barry F, McIntosh KR: Mesenchymal stem cells: stealth and suppression. *Cancer J* 7; s76-82, 2001
- Di Nicola M, Carlo-Stella C, Magni M, Milanese M, Longoni PD, Matteucci P, Grisanti S, Gianni AM: Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induce by cellular or nonspecific mitogenic stimuli. *Blood* 99;3838-3843, 2002
- Krampera M, Glennie S, Dyson J, Scott D, Laylor R, Simpson E, Dazzi F: Bone marrow mesenchymal stem cells inhibit the response of naive and memory antigen-specific T cells to their cognate peptide. *Blood* 101;3722-3729, 2003
- Le Blanc K, Tammik L, Sundberg B, Haynesworth SE, Ringden O: Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses independently of the major histocompatibility complex. *Scand J Immunol* 57;11-20, 2003
- Mohty M, Bilger K, Jourdan E, Kuentz M, Michallet M, Bourhis JH, Milpied N, Sutton L, Jouet JP, Attal M, Bordignon P, Cahn JY, Sadoun A, Ifrah N, Guyotat D, Faucher C, Fegueux N, Reiffers J, Maraninchi D, Blaise D: Higher doses of CD34+ peripheral blood stem cells are associated with increased mortality from chronic graft-versus-host disease after allogeneic HLA-identical sibling transplantation. *Leukemia* 17;869-875, 2003
- Djouad F, Plence P, Bony C, Tropel P, Apparailly F, Sany J, Noel D, Jorgensen C: Immunosuppressive effect of mesenchymal stem cells favors tumor growth in allogeneic animals. *Blood* 102;3837-3844, 2003