

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ АУТОЛОГИЧНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МИКОБАКТЕРИАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ: ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КОНДИЦИОНИРОВАНИЯ

Я. Ш. ШВАРЦ^{1,2}, С. Н. БЕЛОГОРОДЦЕВ^{2,3}, П. Н. ФИЛИМОНОВ³, А. Г. ЧЕРЕДНИЧЕНКО³

TRANSPLANTATION OF AUTOLOGOUS MESENCHYMAL STEM CELLS IN THE EXPERIMENTAL MYCOBACTERIAL INFECTION: IMPACT OF CONDITIONING

YA. SH. SHVARTS^{1,2}, S. N. BELOGORODTSEV^{2,3}, P. N. FILIMONOV³, A. G. CHEREDNICHENKO³

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины», г. Новосибирск

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск

³ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулеза» МЗ РФ, г. Новосибирск

¹Research Institute of Therapy and Preventive Medicine, Novosibirsk, RF

²Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, RF

³Novosibirsk Tuberculosis Research Institute, Novosibirsk, RF

Использование мезенхимальных стволовых клеток (МСК) в иммунотерапии туберкулеза с лекарственной устойчивостью возбудителя должно иметь экспериментальное обоснование. Исследовано влияние некондиционированных и poly(A:U)-кондиционированных МСК на течение БЦЖ-инфекции у мышей. Показано, что двукратное введение МСК мышам линии BALB/c через 11 и 12,5 нед. после инфицирования БЦЖ вызывает значительное снижение гранулемообразования и активирует рост микобактерий. Аналогичное введение МСК, кондиционированных poly(A:U), напротив, значительно ингибирует рост микобактерий, не влияя на формирование гранул. Некондиционированные МСК проявляли иммуносупрессорные свойства, а poly(A:U)-кондиционирование вызывало их провоспалительную поляризацию *in vitro*. Сделан вывод, что МСК-терапия микобактериальной инфекции может быть эффективной при направленном формировании провоспалительного иммунофенотипа МСК.

Ключевые слова: БЦЖ-гранулематоз, туберкулез, мезенхимальные стволовые клетки, клеточная терапия.

The use of mesenchymal stem cells (MSC) in immune therapy of drug resistant tuberculosis is to be experimentally justified. The impact of non-conditioned and poly(A:U)-conditioned MSC on the course of BCG-infection in mice has been studied. It has been proved that double administration of MSC to mice of BALB/c line in 11 and 12.5 weeks after infection with BCG caused significant reduction of granulomas formation and activated the mycobacterial growth. On the contrary the similar administration of MSC with poly(A:U) conditioning significantly inhibited the mycobacterial growth and provided no effect on granulomas formation. Non-conditioned MSC manifested immune suppression properties, and poly(A:U) conditioning caused their pro-inflammatory polarization *in vitro*. It has been concluded that MSC therapy of mycobacterial infection can be effective in case of targeted formation of pro-inflammatory immune-phenotype of MSC.

Key words: BCG-granulomatosis, tuberculosis, mesenchymal stem cells, cellular therapy.

Одним из перспективных подходов к лечению туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью возбудителя (МЛУ МБТ) может стать клеточная терапия с применением мезенхимальных стволовых клеток (МСК). Имеются публикации об успешном клиническом использовании МСК для лечения туберкулеза легких с МЛУ МБТ [1, 3], в которых показано, что внутривенная трансплантация аутологичных МСК костного мозга в комплексе с химиотерапией обеспечивает существенную положительную бактериологическую и клиническую динамику. Несмотря на это, механизмы лечебных эффектов МСК-терапии в этих работах остались неисследованными. Предположительно ими являлись индукция репаративной регенерации и снижение активности воспалительного процесса.

Действительно, МСК-терапия эффективна при множестве воспалительных заболеваний, поскольку основана на способности этих клеток мигрировать в зоны тканевого повреждения, дифферен-

цироваться, поддерживать трофику и регенерацию тканей [2, 9, 11]. Работами групп S. Raghuvanshia [8] и В. Das [4] в моделях туберкулеза у мышей и при туберкулезном лимфадените у больных выявлены значительные скопления МСК в специфических воспалительных инфильтратах лимфоузлов, легких и селезенки. В то же время считается, что МСК способны регулировать иммунновоспалительный ответ вследствие активной продукции в них трансформирующего фактора роста-бета (ТФР-β), интерлейкина-10 (ИЛ-10), простагландина E2 (ПГЕ2), индоламин-2,3-диоксигеназы (ИДО), окиси азота (NO) и других факторов, супрессирующих провоспалительную активность Т-клеток и макрофагов [11]. Считается, что иммуносупрессия негативно влияет на течение и исход микобактериальной инфекции [6, 7]. Очевидно, МСК-опосредованное подавление иммунного ответа может угнетать противотуберкулезную резистентность и ухудшать течение заболевания. Например, пока-

зано, что у МБТ-резистентных трансгенных мышей TGF β RIIDN введение МСК отменяет резистентность животных к МБТ [8]; продемонстрирована роль NO в рекрутировании МСК в гранулемы, показано, что иммуносупрессия в МБТ-инфицированных органах опосредована МСК. Кроме того, продемонстрировано, что при латентной туберкулезной инфекции микобактерии (МБ) могут инфицировать МСК непосредственно в костном мозге [4]. При этом МСК выступают в качестве своеобразных иммунопривилегированных локусов для МБТ.

Единичные сообщения об успешном применении МСК-терапии у больных туберкулезом, с одной стороны, и данные об иммуносупрессивных функциях МСК, с другой, в определенном смысле противоречат друг другу.

В последние годы стало понятно, что иммунофенотип МСК вариабелен: эти клетки при определенных условиях способны к функциональной поляризации и могут проявлять провоспалительную активность [15]. Например, агонист TLR-3 – синтетическая двухцепочечная РНК poly(A:U) – индуцирует провоспалительный фенотип МСК [5, 10]. Не исключено, что эффективность МСК-терапии может кардинально зависеть от их функционального состояния. Предположили, что результаты трансплантации МСК при микобактериальной инфекции могут критически зависеть от условий кондиционирования этих клеток. Для проверки данного предположения на модели микобактериальной инфекции у мышей изучали влияние трансплантации аутологичных МСК, кондиционированных и не кондиционированных агонистом рецепторов TLR-3.

Материалы и методы

Экспериментальные животные и схема эксперимента

Эксперименты проводили на мышах-самцах линии BALB/c в возрасте 6-8 нед., полученных из питомника ФГБУ «ИЦиГ» СО РАН (г. Новосибирск). Все животные были разделены на 4 экспериментальных группы, не менее чем по 7 мышей в каждой: 1-я группа – интактные мыши, 2-я – БЦЖ-инфицированные (группа «БЦЖ»), 3-я – БЦЖ-инфицированные, которым вводили МСК (группа «БЦЖ-МСК»), 4-я – инфицированные мыши, которым осуществляли введение кондиционированных poly(A:U) МСК (группа «БЦЖ-пМСК»). Микобактериальную инфекцию вызывали однократной интраперитонеальной инъекцией 0,5 мг (10×10^6 микробных единиц) вакцины БЦЖ (ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи», г. Москва) в 0,2 мл физиологического раствора. МСК вводили внутривенно в ретроорбитальный синус по 750 тыс. клеток/мышь через 11 и 12,5 нед. после инфицирования. Через 14 нед. после инфицирования животных выводили из эксперимента путем цервикальной дислокации и получали био-

логические образцы для исследования. Протокол исследований был одобрен этическим комитетом ФГБУ «ННИИТ» МЗ РФ.

Получение МСК

Костный мозг получали из бедренных и большеберцовых костей согласно стандартному протоколу [14]. Культивирование осуществляли в культуральной среде RPMI-1640 (Sigma-Aldrich Corp., USA) с добавлением 10% фетальной телячьей сыворотки (HyClone, USA), 4,0 mM L-глутамина, 100 Ед/мл пенициллина, 100 мкг/мл стрептомицина и 2,5 мг/мл амфотерицина. Неприлипающую фракцию клеток костного мозга удаляли при сменах культуральной среды 2 раза в неделю начиная с 3-го дня. МСК имели классический фибробластоподобный фенотип и образовывали сплошной монослой к 4-й нед. культивирования. Пассирование МСК проводили с использованием 0,25% раствора Версен-трипсина (БиолотТ, Россия). Для трансплантации использовали 3-й пассаж клеток. Иммунофенотипический анализ МСК после 3 пассажей с использованием моноклональных антител Abcam (США) показал, что экспрессия CD29 составила 78%, экспрессия CD44 достигала 94%, также клетки были негативны по гемопоэтическому маркеру CD45. Для введения МСК их снимали с подложки раствором Версен-трипсина, отмывали и ресуспендировали в забуференном физиологическом растворе. Жизнеспособность клеток, определяемая окраской с трипановым синим, составляла более 95%. Для кондиционирования МСК в культуральную среду за 24 ч до окончания культивирования добавляли лиганд TLR-3 poly(A:U) (полудан; ООО «Лэнс-Фарм», Россия) в дозе 1,0 мкг/мл.

Определение содержания цитокинов

Концентрации ИФН- γ , ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-10, ТФР- β в культуральной среде и в сыворотках крови мышей оценивали с помощью метода твердофазного ИФА с использованием наборов eBioscience серии Platinum, следуя инструкции производителя. Культуральную среду для анализа забирали при снятии с подложки клеток, предназначенных для введения мышам, сыворотку – при выведении животных из эксперимента.

Гистологическое исследование

Для гистологического исследования использовали образцы печени (наружная левая доля), легких (средняя правая доля) и селезенки (вентральный конец – $1/3$ селезенки). Препараты окрашивали гематоксилин-эозином и по Цилю – Нельсену, просматривали в микроскопе AxioImager.A1 (Carl Zeiss AG, Germany). Число гранул в поле зрения оценивали при увеличении $\times 600$. Количество микобактерий подсчитывали при увеличении $\times 1\,500$, определяя число МБ в каждой грануле, и пересчитывали количество МБ, содержащихся в одном поле зрения при увеличении $\times 600$. Все подсчеты вели, не имея информации о группе животных и примененном воздействии.

Бактериологическое исследование

Для определения количества кислотоустойчивых микобактерий (КУМ) фрагменты печени, легких и селезенки взвешивали, готовили из них 10% гомогенат в забуференном физиологическом растворе, делали препараты, фиксировали их в сухожаровом шкафу при 80° С в течение 1 ч, окрашивали аураминол-О и родамином-С для люминесцентной микроскопии. В каждом препарате просматривали по 50 полей зрения и подсчитывали число КУМ. Одновременно проводили посев 10% гомогенатов на жидкую среду MGIT (Bactec 960) и плотную среду (Левенштейна – Йенсена).

Статистический анализ

Значимость различий параметров между группами оценивали с использованием t-критерия Стьюдента, а при отсутствии нормальности распределения – критерия Манна – Уитни. Частоты признаков сравнивали с помощью критерия χ^2 Пирсона.

Результаты исследования

Влияние кондиционирования на иммуновоспалительные функции МСК

Имуноферментный анализ цитокинового профиля некондиционированных клеток показал, что содержание в культуральной среде провоспалительных цитокинов ИФН- γ , ФНО- α и ИЛ-1 β было на уровне или ниже уровня чувствительности метода, тогда как содержание противовоспалительных цитокинов ИЛ-10 и особенно ТФР- β значительно превышало этот уровень. После инкубации МСК с poly(A:U) продукция ФНО- α возрастала более чем в 12 раз, ИЛ-6 – в 5,8 раза. Продукция ИЛ-1 β и ИФН- γ также достоверно увеличивалась, хотя абсолютные значения концентраций этих цитокинов были невысоки. В то же время содержание в культуральной среде противовоспалительного цитокина ТФР- β 1 под действием poly(A:U) уменьшалось более чем в 3 раза. Продукция противовоспалительного

цитокина ИЛ-10 под влиянием лиганда TLR3 достоверно повышалась, однако в целом формировался преимущественно провоспалительный тип поляризации МСК (рис. 1).

Морфологическое исследование

При макроскопическом осмотре в опытных группах выявляли умеренную спленомегалию. У интактных мышей средняя масса селезенки относительно массы тела равнялась $0,42 \pm 0,02$, в группе «БЦЖ» – было достоверное увеличение на 40%, в группе «БЦЖ + МСК» – на 60%, а в группе «БЦЖ + пМСК» – только на 14%.

При гистологическом исследовании печени спустя 14 нед. после инфицирования во всех опытных группах преобладали мелкие неспецифические (макрофагально-лимфоцитарные) гранулемы, специфические гранулемы из эпителиоидных клеток встречались редко, МБ не содержали. Аналогичная картина отмечена в легких: встречались немногочисленные перибронхиальные или периваскулярные лимфоидные инфильтраты, иногда с центральными скоплениями макрофагов с широкой негомогенной цитоплазмой. Специфические эпителиоидно-клеточные гранулемы в легочной ткани отсутствовали. Введение контрольных и poly(A:U)-обработанных МСК не вызывало значимых изменений в тканях печени и легких.

В селезенке визуализировались только эпителиоидно-клеточные гранулемы, которые были чаще мелкими (3-10 клеток) и располагались в лимфоидных фолликулах. В части гранул обнаруживали КУМ. Гранулемы содержали включения гемосидерина (рис. 2).

В БЦЖ-инфицированном контроле общее количество гранул в среднем составило 1 шт. на 2 поля зрения. Введение МСК вызвало снижение гранулемообразования в 1,5 раза. При введении poly(A:U)-кондиционированных МСК также имелась тенденция к снижению общего числа гранул (табл. 1).

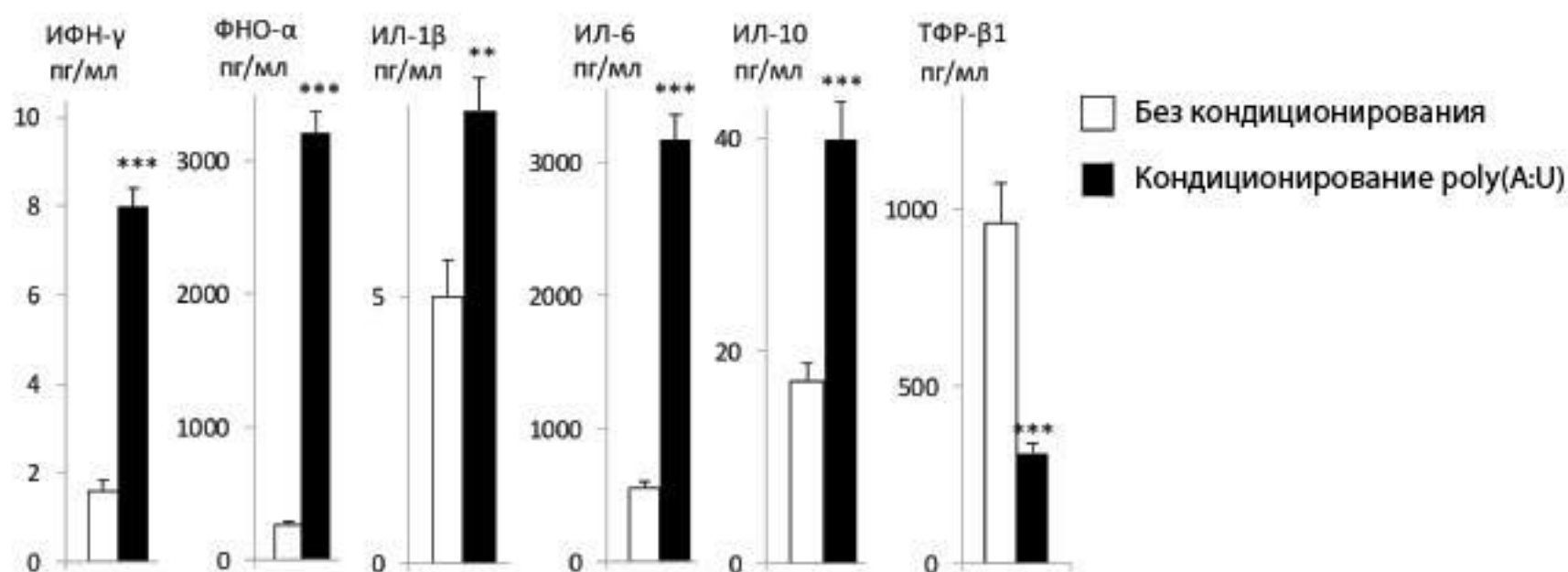


Рис. 1. Продукция про- и противовоспалительных цитокинов МСК.

** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ в сравнении с соответствующим контролем.

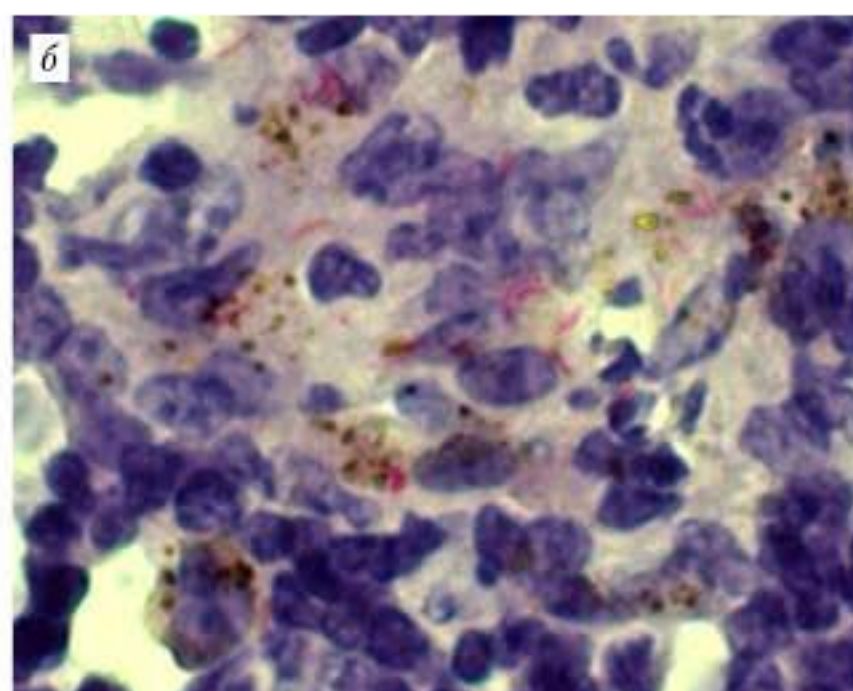
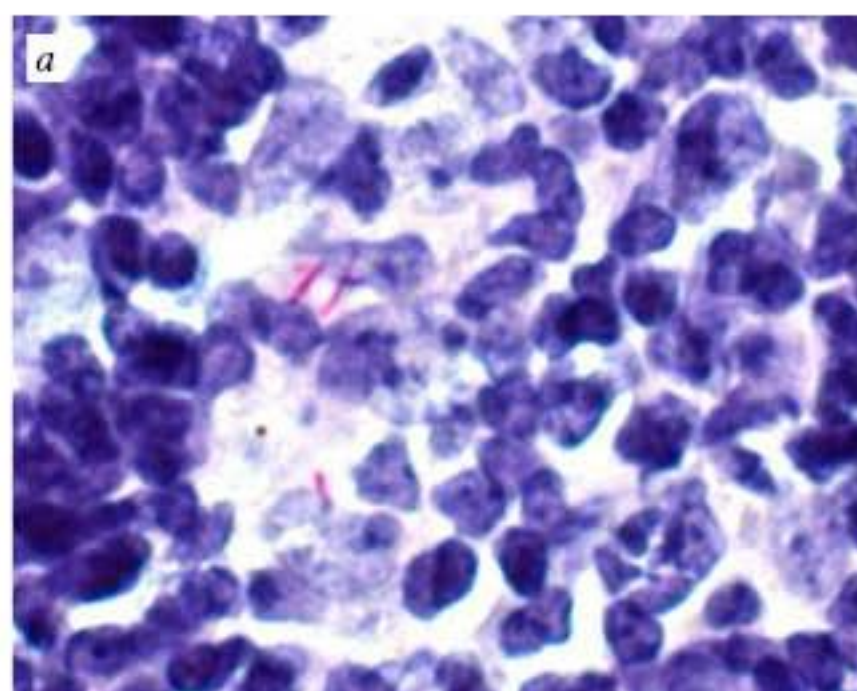


Рис. 2. Типичные микобактерии в БЦЖ-индуцированных гранулемах в селезенке мышей линии BALB/c через 14 нед. после инфицирования. а – небольшое количество микобактерий, группа «БЦЖ», б – значительное количество микобактерий, группа «БЦЖ + МСК». На микрофотографии б в эпителиоидных клетках видны гранулы гемосидерина

Таблица 1

Численность гранулем и микобактерий в селезенке (n/поле зрения) в разных группах

Параметр / Группа животных	БЦЖ	БЦЖ + МСК	БЦЖ + пМСК
Количество гранулем в 1 поле зрения (шт.)	0,50 ± 0,97	0,34 ± 0,75 <i>p</i> = 0,048*	0,36 ± 0,78 <i>p</i> = 0,054*
Доля гранулем, содержащих МБ (%)	10,0 ± 25,2	29,1 ± 45,4 <i>p</i> = 0,023*	19,4 ± 36,4
Количество МБ на гранулему	0,37 ± 1,78	1,30 ± 2,88 <i>p</i> = 0,027*	0,35 ± 0,85

Примечание: критерий Манна – Уитни (данные представлены в виде среднее арифметическое ± стандартное отклонение); * – в сравнении с соответствующим показателем группы «БЦЖ».

Несмотря на 1,5-кратное снижение гранулемогенной реакции, вызванное введением некондicionированных МСК (табл. 1), количество МБ-содержащих гранулем под действием МСК возросло почти в 3 раза: число МБ, приходящихся в среднем на 1 гранулему, также повышалось в 3,5 раза. Учитывая увеличение массы селезенки, можно говорить минимум о 3-кратном увеличении количества МБ в селезенке в группе «БЦЖ-МСК» в сравнении с группой «БЦЖ». В то же время введение роу(А:U)-кондicionированных МСК не приводило к статистически значимому увеличению доли гранулем, содержащих МБ, по сравнению с группой «БЦЖ».

Таким образом, МСК-индуцированная супрессия гранулемогенеза сопровождалась ростом численности МБ-содержащих гранулем и увеличением популяции МБ в пораженном органе. Введение МСК, обработанных роу(А:U), не вызывало значимого увеличения числа МБ-содержащих гранулем; количество гистологически обнаруживаемых МБ, приходящихся на такие гранулемы, было сравнимо с показателем контрольной группы («БЦЖ»).

Бактериологическое исследование

Микобактериологическое исследование подтвердило морфологические данные. При люминесцентно-микроскопическом анализе КУМ обнаруживались только в препаратах селезенки. В группе «БЦЖ» КУМ-положительными было 43% препаратов, в группе «БЦЖ + МСК» – 50%, тогда как в группе «БЦЖ + пМСК» все препараты были КУМ-негативными.

Аналогичным образом посев на жидкую среду MGIT (Bactec 960) выявил в группе «БЦЖ» 29% положительных образцов, в группе «БЦЖ + МСК» – 25% образцов, а в группе «БЦЖ + пМСК» – отсутствие таких образцов.

Посев на плотную среду Левенштейна – Йенсена дал очень медленный (более 2,5-3 мес.) и скудный рост колоний, но позволил обнаружить МБ в селезенке, в печени и в одном случае (группа «БЦЖ + МСК») в легких мыши. В группе «МСК», в сравнении с группой «БЦЖ + МСК», число положительных посевов во всех трех исследованных органах незначительно увеличилось. При подсчете колоний МБ, выросших при посеве гомогенатов, было

показано, что трансплантация некondиционированных МСК приводит к весьма значительному увеличению числа выросших колоний, в то время как трансплантация полудан-кondиционированных МСК – к снижению их численности (табл. 2).

Таким образом, по данным бактериологического исследования, введение некondиционированных и полудан-кondиционированных МСК БЦЖ-инфицированным животным вызывало прямо противоположные эффекты: «наивные» клетки усиливали, а kondиционированные – тормозили рост МБ.

Системный иммуновоспалительный ответ

Для оценки возможных системных иммуновоспалительных эффектов трансплантации МСК и пМСК через 14 нед. после инфицирования в сыворотке крови определяли уровень про- и противовоспалительных цитокинов. Установлено, что на данном сроке инфекции во всех экспериментальных группах уровень исследуемых цитокинов не отличался от соответствующих значений у интактных животных.

Заключение

В данной работе в качестве модели микобактериальной инфекции было использовано внутрибрюшинное введение БЦЖ, что во многом воспроизводит главные черты туберкулеза, не вызывая гибели животных. БЦЖ являются внутриклеточным патогеном, нарушающим созревание

фагосом и их слияние с лизосомами [13], индуцируют специфический гранулемогенез, снижают способность мононуклеарных фагоцитов реагировать на ИФН- γ и презентовать антигены Т-хелперам, у чувствительных животных, как правило, вызывают иммунный ответ преимущественно Th2-типа и активацию макрофагов типа M2 [12]. Внутрибрюшинное введение БЦЖ у мышей ведет к полиорганной диссеминации МБ, затем гранулематозной реакции и далее к постепенной элиминации микроорганизмов или их персистенции в дормантном состоянии.

Определено, что на поздних сроках первичной БЦЖ-инфекции (14 нед.) у мышей линии BALB/c в селезенке остается относительно небольшое число жизнеспособных МБ, но сохраняются признаки гранулематозного воспаления и явления спленомегалии. Вместе с тем в селезенке введение МСК вызывало манифестные изменения, которые, судя по резкому снижению гранулемогенеза и повышенному количеству МБТ, следует характеризовать как МСК-индуцированная супрессия иммуновоспалительного ответа, провоцирующая микобактериальный рост. Данная иммуносупрессия, очевидно, носила локальный характер, так как цитокиновый профиль в сыворотке крови под действием МСК практически не менялся. Также показана способность некondиционированных МСК регулировать иммуновоспалительную реакцию и потенцировать рост МБ.

Таблица 2

Частота положительных результатов и количество колоний при посеве на среду Левенштейна – Йенсена в разных группах

Экспериментальные группы	Селезенка		Печень		Легкие	
	МБ(+)	n колоний	МБ(+)	n колоний	МБ(+)	n колоний
1 БЦЖ	5 из 7	36	3 из 7	5	0 из 7	0
2 БЦЖ+МСК	6 из 8	62	4 из 8	26	1 из 8	4
3 БЦЖ+пМСК	1 из 8	7	1 из 8	4	0 из 8	0
	$p = 0,044^*$	$p < 0,0001^{**}$	НЗ*	$p < 0,0001^{**}$	НЗ*	НЗ**

Примечание: * – критерий χ^2 с поправкой Йейтса, сравнения частот в трех сериях; ** – одновыборочный критерий χ^2 , сравнения равенности распределения признака (количества колоний) в трех сериях; НЗ – различия не значимы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Васильева И.А., Конопляников А.Г., Ерохин В.В. и др. Лечебный эффект системной трансплантации культивируемых аутогенных мезенхимальных стволовых клеток костного мозга у больных с резистентными формами туберкулеза легких // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2007. – Т. 2, № 1. – С. 77-80.
2. Калинин Н.И., Сысоева В.Ю., Рубина К.А. Мезенхимальные стволовые клетки в процессах роста и репарации тканей // Acta Naturae (русскаяязычная версия). – 2011. – Т. 3, № 4 (11). – С. 32-39.
3. Скрягина Е.М., Скрягина А.Е., Исаякина Я.И. и др. Лечение пациентов с множественно-лекарственно-устойчивым туберкулезом с использованием аутологичной трансплантации мезенхимальных стволовых клеток // Рецепт. – 2011. – № 2 (76). – С. 84-93.
4. Das B., Kashino S. S., Pulu I. et al. CD271⁺ bone marrow mesenchymal stem cells may provide a niche for dormant *Mycobacterium tuberculosis* // Sci. Transl. Med. – 2013. – Vol. 5. – Issue 170. – P. ra13.
5. Dumitru C. A., Hemeda H., Jakob M. et al. Stimulation of mesenchymal stromal cells (MSCs) via TLR3 reveals a novel mechanism of autocrine priming // FASEB J. – 2014. – Vol. 28, № 9. – P. 3856-3866.
6. Hawn T. R., Matheson A. I., Maley S. N. et al. Host-directed therapeutics for tuberculosis: can we harness the host? // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2013. – Vol. 77. – P. 608-627.
7. Modlin R. L., Bloom B. R. TB or Not TB: That Is No Longer the Question // Sci. Transl. Med. – 2013. – Vol. 5, Issue 213. – P. sr6.
8. Raghuvanshi S., Sharma P., Singh S. et al. *Mycobacterium tuberculosis* evades host immunity by recruiting mesenchymal stem cells // PNAS. – 2010. – Vol. 107, № 50. – P. 21653-21658.

9. Ren G., Chen X., Dong F. et al. Concise review: mesenchymal stem cells and translational medicine: emerging issues // *Stem. Cells Transpl. Med.* – 2012. – Vol. 1, № 1 – P. 51-58.
10. Romieu-Mourez R., Francois M., Boivin M.-N. et al. Cytokine Modulation of TLR Expression and Activation in Mesenchymal Stromal Cells Leads to a Proinflammatory Phenotype // *J. Immunol.* – 2009 – Vol. 182. – P. 7963-7973.
11. Salem H. K., Thiemermann C. Mesenchymal stromal cells: current understanding and clinical status // *Stem Cells.* – 2010. – Vol. 28. – P. 585-596.
12. Sendide K., Deghmane A.-E., Reyrat J.-M. et al. *Mycobacterium bovis* BCG urease attenuates major histocompatibility complex class II trafficking to the macrophage cell surface // *Infect. Immun.* – 2004. – Vol. 72, № 7. – P. 4200-4209.
13. Sun J., Deghmane A.-E., Soualhine H. et al. *Mycobacterium bovis* BCG disrupts the interaction of Rab7 with RILP contributing to inhibition of phagosome maturation // *J. Leukoc. Biol.* – 2007. – Vol. 82, № 6. – P. 1437-1445.
14. Tropel Ph., Noël D., Platet N. et al. Isolation and characterisation of mesenchymal stem cells from adult mouse bone marrow // *Exp. Cell. Research.* – 2004. – Vol. 295. – P. 395-406.
15. Waterman R. S., Tomchuck S. L., Henkle S. L. et al. A new mesenchymal stem cell (MSC) paradigm: Polarization into a pro-inflammatory MSC1 or an immunosuppressive MSC2 phenotype // *PLoS ONE.* – 2010. – Vol. 5, Issue 4. – P. e10088.
7. Modlin R.L., Bloom B.R. TB or Not TB: That Is No Longer the Question. *Sci. Transl. Med.*, 2013, vol. 5, issue 213, pp. sr6.
8. Raghuvanshia S., Sharma P., Singh S. et al. *Mycobacterium tuberculosis* evades host immunity by recruiting mesenchymal stem cells. *PNAS*, 2010, 107, no. 50, pp. 21653-21658.
9. Ren G., Chen X., Dong F. et al. Concise review: mesenchymal stem cells and translational medicine: emerging issues. *Stem. Cells Transpl. Med.*, 2012, vol. 1, no. 1, pp. 51-58.
10. Romieu-Mourez R., Francois M., Boivin M.-N. et al. Cytokine Modulation of TLR Expression and Activation in Mesenchymal Stromal Cells Leads to a Proinflammatory Phenotype. *J. Immunol.*, 2009, vol. 182, pp. 7963-7973.
11. Salem H.K., Thiemermann C. Mesenchymal stromal cells: current understanding and clinical status. *Stem Cells*, 2010, vol. 28, pp. 585-596.
12. Sendide K., Deghmane A.-E., Reyrat J.-M. et al. *Mycobacterium bovis* BCG urease attenuates major histocompatibility complex class II trafficking to the macrophage cell surface. *Infect. Immun.*, 2004, vol. 72, no. 7, pp. 4200-4209.
13. Sun J., Deghmane A.-E., Soualhine H. et al. *Mycobacterium bovis* BCG disrupts the interaction of Rab7 with RILP contributing to inhibition of phagosome maturation. *J. Leukoc. Biol.*, 2007, vol. 82, no. 6, pp. 1437-1445.
14. Tropel Ph., Noël D., Platet N. et al. Isolation and characterisation of mesenchymal stem cells from adult mouse bone marrow. *Exp. Cell. Research*, 2004, vol. 295, pp. 395-406.
15. Waterman R.S., Tomchuck S.L., Henkle S.L. et al. A new mesenchymal stem cell (MSC) paradigm: Polarization into a pro-inflammatory MSC1 or an immunosuppressive MSC2 phenotype. *PLoS One*, 2010, vol. 5, issue 4, pp. e10088.

REFERENCES

1. Vasil'eva I.A., Konopyannikov A.G., Erokhin V.V. et al. Curative effect of system transplantation of cultured autogenous mesenchymal stem cells of bone marrow in patients suffering from resistant forms of pulmonary tuberculosis. *Kletoch-naya Transplantologiya i Tkanevaya Inzheneriya*, 2007, vol. 2, no. 1, pp. 77-80. (In Russ.)
2. Kalinina N.I., Sysoeva V.Yu., Rubina K.A. Mesenchymal stem cells in tissue growth and reparation. *Acta Naturae (Russian version)*, 2011, vol. 3, no. 4(11), pp. 32-39. (In Russ.)
3. Skryagina E.M., Skryagin A.E., Isaykina Ya.I. et al. Treatment of drug resistant tuberculosis patients with the use of autologous transplantation of mesenchymal stem cells. *Retsept*, 2011, no. 2 (76), pp. 84-93. (In Russ.)
4. Das B., Kashino S.S., Pulu I. et al. CD271⁺ bone marrow mesenchymal stem cells may provide a niche for dormant *Mycobacterium tuberculosis*. *Sci. Transl. Med.*, 2013, vol. 5, Issue 170, pp. ra13.
5. Dumitru C.A., Hemedi H., Jakob M. et al. Stimulation of mesenchymal stromal cells (MSCs) via TLR3 reveals a novel mechanism of autocrine priming. *FASEB J.*, 2014, vol. 28, no. 9, pp. 3856-3866.
6. Hawn T.R., Matheson A.L., Maley S.N. et al. Host-Directed Therapeutics for Tuberculosis: Can We Harness the Host? *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 2013, vol. 77, pp. 608-627.

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Шварц Яков Шмульевич

*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины»,
доктор медицинских наук, заведующий лабораторией
молекулярно-клеточных механизмов терапевтических
заболеваний,
630089, г. Новосибирск, ул. Б. Богаткова, д. 175/1.
Тел./факс: 8 (383) 373-09-81, 8 (383) 264-25-16.
E-mail: yshschwartz@mail.ru*

Поступила 26.08.2015