



Cellule staminali e malattie respiratorie*

Michael R. Loebinger, BM, BCh, MA (Hons); Sam M. Janes, MSc, PhD

Le malattie respiratorie rappresentano una delle cause principali di morbilità e mortalità nel mondo. La possibilità di manipolare le cellule staminali, embrionali ed adulte, per rigenerare il parenchima polmonare ha suscitato un notevole interesse. Si è sempre pensato che le cellule staminali adulte avessero una limitata capacità di differenziazione e di essere organo specifiche. Tuttavia una serie di studi condotti negli ultimi 10 anni, hanno dimostrato che le cellule staminali derivate dal midollo osseo adulto possiedono una maggiore plasticità e sono capaci di differenziarsi in epitelio bronchiale e alveolare, in endotelio vascolare e in cellule interstiziali. Questo articolo vuole valutare in maniera critica l'evidenza di queste scoperte e l'eventuale impiego nella pratica clinica.

(*CHEST Edizione Italiana 2007; 3:49-55*)

Parole chiave: midollo osseo; endotelio; polmone; progenitore; riparazione; respiratorio; cellula staminale; terapia

Abbreviazioni: FC = fibrosi cistica; PRCT = proteina regolatrice di conduttanza transmembrana; CPE = cellula progenitrice endoteliale; PFV = proteina a fluorescenza verde; CSE = cellula staminale ematopoietica; CSM = cellula staminale mesenchimale

Il polmone è un organo con una limitata capacità rigeneratrice. Le cellule staminali organo specifiche che possiedono la capacità illimitata di rigenerarsi e di produrre progenitori giocano un ruolo fondamentale nella riparazione e rigenerazione di vari organi, come per esempio la cute; tuttavia il ruolo delle cellule staminali endogene dell'epitelio respiratorio non è stato ancora completamente chiarito. Studi sperimentali¹ su animali hanno dimostrato la presenza di differenti tipi di cellule staminali lungo tutta la via aerea, con le cellule epiteliali basali localizzate nella trachea e nelle maggiori diramazioni bronchiali e le cellule di Clara che esprimono proteine cellulari

nelle piccole vie; gli pneumociti di II tipo, invece, agiscono a livello parenchimale. Una popolazione di cellule CD 45 negative è stata identificata nel parenchima polmonare, ma non è ancora chiaro come intervenga nel processo rigenerativo.² Tuttavia, indipendentemente dal tipo di cellula dominante, la riparazione endogena non risulta sufficiente a prevenire le patologie respiratorie.³ Sono in corso studi, analizzati da questo articolo, sulla manipolazione di cellule staminali non organo specifiche per incrementare la risposta rigeneratrice del polmone al danno e alla malattia.

Le cellule staminali adulte rappresentano il fulcro di questa ricerca. Tradizionalmente, sono state considerate capaci di differenziarsi unicamente in cellule del loro tessuto di origine (Tabella 1); tuttavia questa visione restrittiva è stata recentemente rivalutata sulla base di studi⁴⁻¹⁴ sulle cellule staminali del midollo osseo adulto che sembrano essere in grado di adottare fenotipi di cellule di altri tessuti. Questo ha portato a valutare l'utilizzo delle cellule staminali in varie patologie. Uno dei potenziali vantaggi della pratica clinica sarebbe quello di prelevare cellule da un paziente, espanderle in coltura e reimpiantarle nello stesso paziente evitando i problemi immunologici legati al rigetto.

*Dal Centre of Respiratory Research, University College London, London, UK.

Dr. Loebinger è membro praticante del Medical Research Council. Dr. Janes è membro del Medical Research Council.

Gli autori dichiarano assenza di conflitto di interesse.

Manoscritto ricevuto il 13 novembre 2006; revisione accettata il 23 gennaio 2007.

La riproduzione di questo articolo è vietata in assenza di autorizzazione scritta dell'American College of Chest Physicians (www.chestjournal.org/misc/reprints.shtml).

Corrispondenza: Sam M. Janes, MSc, PhD, MRCP, Centre of Respiratory Research, Rayne Building, University College London, 5 University St, London, WC1E 6JJ, UK; e-mail: s.janes@ucl.ac.uk

(*CHEST 2007; 132:279-285*)

Tabella 1—Glossario dei termini usati

Cellula staminale	Cellula che ha la proprietà di rigenerarsi indefinitamente e di produrre cellule figlie più differenziate
Cellula progenitrice	Cellula capace di dividersi e differenziarsi
Cellula transito	La progenie delle cellule staminali che possono proliferare e differenziarsi
Plasticità	Capacità delle cellule di superare le barriere delle linee cellulari adottando fenotipi di altri tessuti
Rigenerazione	Capacità delle cellule di produrre almeno una cellula figlia identica durante la divisione cellulare
Totipotenza	Capacità di produrre tutte le cellule dell'organismo
Pluripotenza	Capacità di produrre tutte le linee cellulari dell'organismo
Multipotenza	Capacità di produrre cellule di diverse linee cellulari
Unipotenza	Capacità di produrre cellule di una sola linea cellulare

PLASTICITÀ DELLE CELLULE STAMINALI
DERIVATE DA MIDOLLO OSSEO ADULTO

Il midollo osseo contiene cellule staminali ematopoietiche (CSE) che si differenziano in tutte le linee cellulari presenti nel sangue e cellule staminali mesenchimali (CSM) dalle quali derivano le cellule del tessuto adiposo, osseo e cartilagineo.⁴ Diversi studi⁵⁻¹⁴ hanno dimostrato che le cellule derivate da midollo osseo adulto possono generare *in vitro* e *in vivo* varie cellule non ematopoietiche. Principalmente, nelle ricerche condotte in vivo, sono state inoculate in topi cellule staminali da midollo osseo adulto. Le cellule del donatore sono marcate in modo tale da essere distinte da quelle del ricevente sia per il fenotipo [esprimendo una proteina a fluorescenza verde (PFV)] che per il genotipo (contendo il cromosoma Y). Il destino delle cellule derivate dal donatore viene poi valutato in diversi organi mediante esami istologici, immunostochimici e funzionali.⁵⁻¹⁴

Uno dei primi studi⁵ che dimostrano il coinvolgimento di cellule staminali derivate da midollo osseo adulto nella rigenerazione del parenchima polmonare è stato pubblicato nel 2001. Una singola CSE di un topo adulto di sesso maschile è stata inoculata in un topo di sesso femminile che era stata precedentemente irradiata per sopprimere completamente il suo midollo osseo. La CSE del donatore ha ripopolato il midollo osseo e ha anche colonizzato altri organi. Fino al 20% delle cellule del parenchima polmonare del ricevente conteneva il cromosoma Y che era colonizzato con marker epiteliali.⁵ Ulteriori studi condotti⁶⁻¹⁴ su animali hanno mostrato vari livelli di colonizzazione da parte di cellule staminali di midollo osseo adulto del tessuto alveolare e dell'epitelio della via aerea. I trapianti di midollo eseguiti tra essere umani di sesso differente hanno fornito un modello di ricerca; infatti donne che hanno ricevuto il midollo osseo da un uomo hanno mostrato una sorta di chimerismo polmonare, con cellule del donatore sia nell'epitelio che nell'endotelio.¹⁵ Gli stessi risultati sono stati osservati il uomini che sono stati sottoposti a un trapianto di polmone da donatore donna.¹⁶ L'analisi quantitativa condotta in questo studio ha evidenziato che i più alti livelli di coloniz-

zazione erano presenti nei siti di maggior danno parenchimale dopo un rigetto o un episodio infettivo. Questa osservazione è stata confermata in modelli animali in base alla quale era evidente una maggiore colonizzazione del polmone se il parenchima era danneggiato prima del trapianto (dalle radiazioni o dalla bleomicina),^{6,9-14,17,18} suggerendo che le cellule staminali di midollo osseo adulto sono reclutate dal polmone danneggiato per agire nel processo di riparazione.

Tuttavia non tutti gli studi hanno ottenuto gli stessi risultati e recentemente sono stati posti alcuni dubbi sulla metodologia degli esperimenti. È infatti stato accertato che i metodi per determinare la colonizzazione cellulare non erano rigorosi (Tabella 2) in particolare in relazione alla migrazione delle cellule nelle zone di danneggiamento tissutale. Le tecniche utilizzate per valutare il chimerismo polmonare come misura della colonizzazione (in particolare l'esame immunostochimico) hanno fornito risultati alterati a causa di artefatti che portavano ad una sovrastima del grado di colonizzazione.^{19,20} Uno studio¹⁹ che impiegava un sistema di riconoscimento cellulare in topi transgenici basato su un gene codificante PFV solo su cellule dell'epitelio polmonare (proteina C surfactante PFV) non ha evidenziato migrazione da parte di cellule del midollo osseo¹⁹ mediante citofluorometria, istologia e metodologie molecolari. Questi risultati sono stati confermati anche da un'altra ricerca²⁰ che considera il chimerismo polmonare come una sovrapposizione cellulare nel microscopio. Le ragioni che possono spiegare queste differenze di risultati sono l'utilizzo nei diversi studi di differenti popolazioni utilizzate come donatori di cellule staminali [CSM, CSE, cellule progenitrici endoteliali (CPE), cellule adulte progenitrici multipotenti²¹] e le diverse condizioni sperimentali dei riceventi.

Questa revisione della letteratura, che comprende anche i dati degli autori, mette in evidenza che la migrazione di cellule derivate dal midollo osseo adulto verso l'epitelio della via aerea e alveolare è verosimile, ma con un grado estremamente basso (da 0,01 a 0,1%).²² I ricercatori in futuro dovrebbero utilizzare in ogni singolo esperimento differenti metodi per determinare in modo inequivocabile e senza ambi-

Tabella 2—Tecniche comunemente usate per valutare la colonizzazione delle cellule staminali*

Tecnica	Vantaggi	Problemi	Bibliografia
Immunoistochimica a luminescenza	Immagine morfologica delle cellule marcate	Soggettività Anticorpi aspecifici	5-21,31,32,37
Immunoistochimica a fluorescenza	Doppia colorazione delle cellule del donatore	Soggettività; Anticorpi aspecifici; autofluorescenza cellule apoptotiche	5-21,31,32,37
Citoflussometria	Rimuove gli artefatti	Nessuna informazione morfologica; eliminazione capacità di identificare cellule morte; anticorpi aspecifici	11,19,20
PCR o RT-PCR	Sensibilità	Include le cellule circolanti	7,12,19,37
Microdissezione laser	Rimuove le colorazioni aspecifiche	Nessuna informazione morfologica	16
Immunoistochimica a spirale	Rimuove gli artefatti	Autofluorescenza; anticorpi aspecifici	8,14,20,37
Geni promotori	Cellule solo marcate	Perdita di sensibilità se non c'è attivazione del promotore	19,20

*PCR= reazione polimerasica a catena, RT-PCR= reazione polimerasica a catena in tempo reale.

guità i risultati come il microscopio a spirale, la microdissezione a laser e la citoflussometria e fornire, se possibile, dei dati funzionali.

Tuttavia sono stati accumulati nel corso degli anni numerosi dati sul ruolo delle cellule derivate dal midollo osseo adulto nella formazione della popolazione fibroblastica e mioblastica circolante nel polmone.^{11,17,18} Queste cellule esprimono il marker CD34 propria delle CSE e il collagene I. Infatti l'80% dei fibroblasti che esprimono il collagene I presenti in zone di fibrosi polmonare hanno origine nel midollo osseo adulto nei topi trattati con bleomicina. Fibrociti marcati sono stati inoltre osservati nel tessuto bronchiale e successivamente all'esposizione ad un allergene differenziati in miofibroblasti in modelli animali e in prelievi biotipici umani.²³ Infine si è dimostrato che anche cellule di endotelio derivate da progenitori nel midollo osseo adulto sono espresse nelle lesioni vascolari indotte dall'ipertensione polmonare in animali.²⁴

MIGRAZIONE, RAGGIUNGIMENTO DELL'OBIETTIVO E COLONIZZAZIONE

Un esperimento condotto *in vitro* ha dimostrato che la produzione di chemochine che attirano le cellule staminali circolanti verso il tessuto polmonare danneggiato non era evidente se veniva utilizzato tessuto polmonare sano.¹³ Infatti in corso di danno tissutale vengono prodotte vari tipi di chemochine come lo ialurano, l'osteopontina, il fattore stromale 1 α e la chemochina linfoide che interagiscono con diversi recettori come il CD44 presente sulle CSM¹² e i CXCR4 e CCR7 dei fibrociti derivati dal midollo osseo.^{11,25} L'importanza di questa migrazione e del processo di raggiungimento dell'obiettivo è stato anche dimostrato dalla inibizione delle chemochine

mediante anticorpi specifici, che riduce il contributo del midollo osseo nella produzione dei fibroblasti polmonari.²⁵

Il meccanismo della conversione fenotipica delle cellule derivate dal midollo osseo non è stato ancora determinato. Una delle possibili spiegazioni è la fusione delle cellule midollari progenitrici con le cellule polmonari. Questo meccanismo è conosciuto in altri organi,²⁶ ma non è ancora stato dimostrato avvenire nel polmone.²⁷ È probabile che ogni conversione fenotipica sia mediata da fattori solubili e dal contatto diretto tra le cellule.

EFFETTO DELLE CELLULE STAMINALI NELLA COLONIZZAZIONE POLMONARE

Le cellule staminali derivate dal midollo osseo sembrano essere reclutate dal parenchima polmonare come descritto precedentemente. Di seguito sono riportati gli effetti di questo processo e la risposta al danno tissutale.

Due studi^{9,13} hanno tentato di dimostrare che il normale processo riparativo del polmone mimasse un processo endogeno mediante cellule staminali circolanti. Infatti il danno secondario ai lipopolisaccaridi o alla bleomicina era aumentato in caso di soppressione midollare con un incremento della mortalità dei topi; tuttavia il trapianto di midollo era in grado di invertire la tendenza. Ulteriori studi^{10,12,13} hanno dimostrato che l'aumento del processo di migrazione delle cellule staminali conduceva ad una riduzione del danno tissutale. L'inoculazione intraperitoneale di acido retinoico tutto-trans o del fattore stimolante i granulociti aumentava il grado di colonizzazione polmonare delle cellule staminali nei topi che avevano inalato elastasi per indurre l'enfisema. In questi soggetti la componente enfisematosa era

ridotta rispetto al gruppo di controllo.¹⁰ L'aggiunta diretta delle cellule staminali derivate dal midollo osseo si è dimostrato in grado di ridurre il danno parenchimale. La somministrazione di CSM in topi subito dopo l'esposizione alla bleomicina ha mostrato una riduzione dell'infiammazione indotta dal farmaco e la deposizione di collagene nel polmone.^{12,13} L'incidenza della colonizzazione in questi studi era molto bassa, ed è probabile che fosse dovuta principalmente agli effetti della secrezione paracrina dei fattori di crescita e delle citochine stimolanti la riparazione piuttosto che alla colonizzazione delle cellule staminali.

Le CPE prevengono la progressione dell'ipertensione polmonare in modelli animali, colonizzando il letto vascolare.²⁴ Anche in studi condotti su uomini le CPE sono state associate ad un miglioramento dei risultati dopo danno acuto polmonare e polmoniti batteriche.^{28,29}

Contrariamente a quanto detto finora, ci sono studi che suggeriscono che le cellule staminali derivate da midollo osseo adulto abbiano un impatto negativo sul recupero funzionale del polmone. Come descritto precedentemente,¹¹ i fibroblasti proliferano e contribuiscono alla fibrosi polmonare dopo il richiamo da parte della chemochina CXCL12. L'utilizzo di anticorpi anti-CXCL12 nel suddetto studio²⁵ ha mostrato una riduzione del grado di fibrosi. I fibrociti hanno contribuito alla fibrosi subepiteliale nelle vie aeree in animali modelli di asma.²³

È importante considerare il ruolo delle cellule staminali nello sviluppo del cancro. La stessa proprietà di queste cellule di rinascita infinita che consente di ipotizzare una possibilità nelle rigenerazione tissutale, le rende candidate per la crescita incontrollata e la trasformazione maligna. Un elegante esperimento ha sottolineato questa potenzialità in un modello di cancro allo stomaco nei topi. Gli animali C57BL subivano prima una soppressione midollare e successivamente un trapianto con topi di differente sesso, di cellule PVF marcate. Infine venivano infettati con *Helicobacter felis* che conduce a infiammazione gastrica e cancro dello stomaco. In questo modello la neoplasia derivava dalle cellule midollari del donatore suggerendo la vulnerabilità di questa popolazione alla trasformazione maligna.³⁰ Inoltre in altri studi le cellule midollari risultavano coinvolte nella produzione di miofibroblasti e fibroblasti nei tumori stromali.³¹

Chiaramente, le differenti variabili sperimentali, le cellule staminali del donatore e i riceventi possono alterare il processo di migrazione e la risposta al danno del polmone in modo significativo. Tuttavia, la prospettiva di avere la capacità di alterare la riparazione e la risposta al danno usando questo meccanismo è particolarmente attraente.

Le cellule staminali hanno molteplici implicazioni cliniche a livello polmonare^{32,33} (Figura 1). La realizzazione che cellule staminali adulte possono contribuire alla riparazione polmonare consente di utilizzare questa direzione di studio per molte malattie umane. Il trattamento di condizioni acute come l'ARDS o di patologie croniche come l'enfisema o la fibrosi polmonare, come precedentemente dimostrato da studi sui topi, può essere previsto, anche se tuttora i dati dimostrano che la colonizzazione dell'epitelio respiratorio è un evento raro e il suo utilizzo non realistico al presente.

Un ruolo importante potrebbe ricoprirlo nella terapia genica. In un modello murino³⁴ cellule midollari sono state geneticamente alterate per esprimere PFV e successivamente trapiantate in un polmone del ricevente dove si sono differenziate in cellule epiteliali mantenendo le caratteristiche transgeniche. Le cellule staminali inoltre potrebbero essere utilizzate come vettori in particolari malattie che necessitano di una sostituzione di proteine o di DNA. Un esempio di questa applicazione è che un topo con una forma fatale di tirosinemia genetica (deficienza della idrolasi fumaril acetata) potrebbe essere curato mediante il trapianto di cellule midollari colonizzate nel fegato e che producono la proteina.³⁵ Nelle malattie respiratorie, la fibrosi cistica (FC) è una patologia devastante che potrebbe giovare dello stesso approccio. Uno studio *ex vivo*³⁶ è stato condotto su cellule midollari transgeniche di pazienti FC per tentare di renderle capaci ad esprimere una normale proteina regolatrice di conduttanza transmembrana (PRCT). Queste cellule erano poi inserite in una coltura di epitelio alveolare umano con cellule di pazienti FC. Le cellule staminali erano in grado di differenziarsi in epitelio della via aerea e di correggere anche se parzialmente la PRCT.³⁶ *In vivo* cellule midollari wild erano capaci di colonizzare polmoni di topi senza PRCT e di acquisire fenotipi epiteliali che includevano l'RNA messaggero e le proteine della PRCT. Tuttavia questo si è rivelato un evento raro (0,01%) e lontano da avere un reale significato funzionale, visto che è stato stimato che è necessario almeno una modificazione cellulare del 10-15%.³⁷

Dati più incoraggianti derivano dall'utilizzo della terapia genica nell'ipertensione polmonare indotta da monocrotalina e ridotta grazie alla somministrazione nei ratti di CPE trasdotte con ossido nitrico sintasi endoteliale umano.²⁴ In base a questi risultati di fase I (Ipertensione Polmonare: Valutazione della Terapia Genica) in Canada è stato iniziato un protocollo terapeutico nei pazienti refrattari a qualsiasi terapia, di somministrazione, attraverso un catetere in arteria polmonare, di PCE autologhe transgeniche.

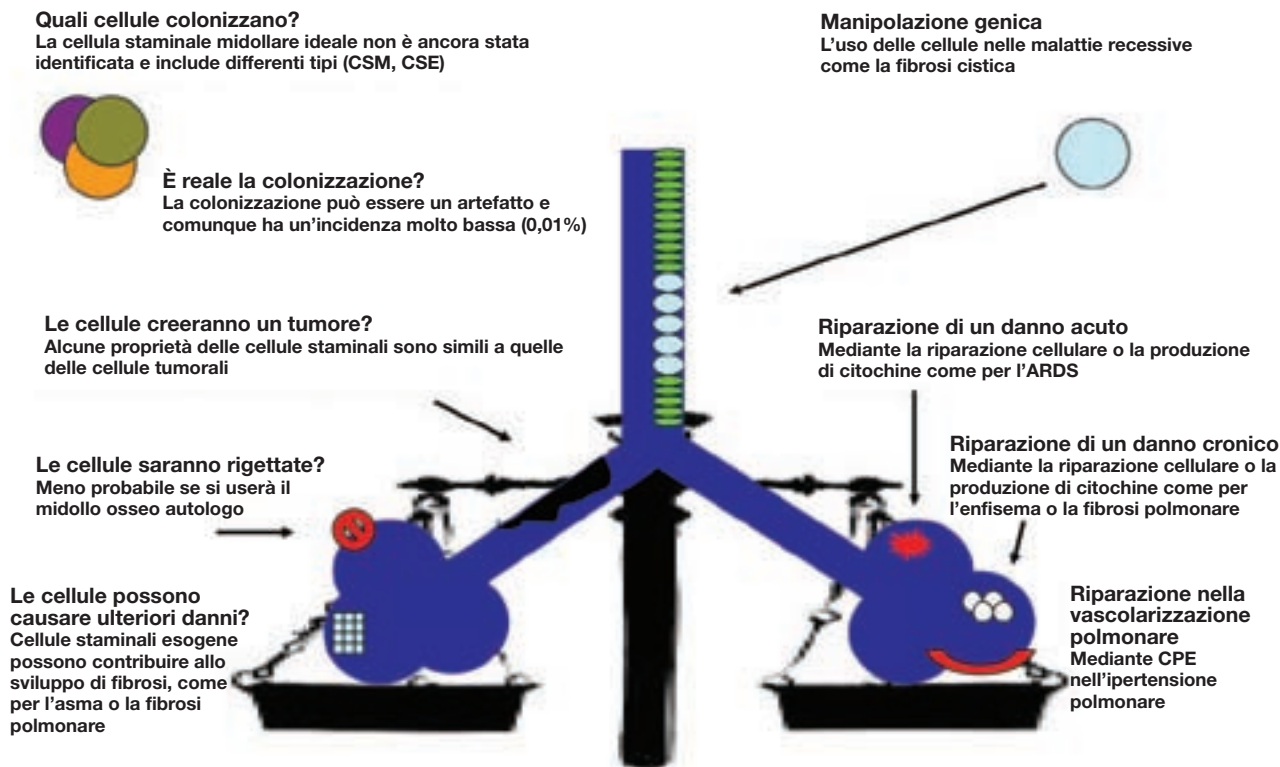


FIGURA 1. Le controversie e le possibilità terapeutiche dell'uso delle cellule staminali. Pulm Hypert = Ipertensione polmonare.

Come la terapia genica e cellulare, lo studio delle cellule staminali può migliorare la conoscenza e il trattamento di alcune neoplasie. Esiste sempre più un convincimento che le neoplasie contengano delle cellule staminali cancerose e che la maggioranza di queste non sia tuttavia in grado di intraprendere il processo di iniziazione. Inoltre sembra che queste cellule siano relativamente quiescenti, suggerendo che i comuni farmaci antiproliferativi possono liberarle, e portare alle recidive. Una maggiore conoscenza delle cellule staminali tumorali, può condurre allo sviluppo di terapie mirate e alla non replicazione delle cellule figlie. In questo senso l'identificazione di markers di superficie delle cellule staminali tumorali, permetterà l'utilizzo di terapie molecolari mirate.³⁸

CELLULE STAMINALI EMBRIONALI

Le cellule staminali embrionali derivano dai blastocisti, sono pluripotenti e sono in grado di differenziarsi in ogni linea cellulare dell'organismo. Al momento, il loro impiego è minore rispetto alle cellule adulte, anche se il loro potenziale è stato dimo-

strato da vari articoli.³⁹ Le preoccupazioni maggiori risultano dalla possibilità di queste cellule di trasformazione maligna⁴⁰ e dalle questioni etiche che derivano dal sacrificio di un embrione per motivi di ricerca.

DAL LABORATORIO AL PAZIENTE E RITORNO

Per ottenere i successi sperati nella terapia cellulare o genica è necessario individuare l'obiettivo specifico riguardo alla colonizzazione dell'organo e alla sua preservazione a lungo termine. L'espressione del corretto fenotipo e la funzionalità dei geni manipolati devono essere strettamente controllati soprattutto per il rischio di trasformazione maligna. Lo studio delle più appropriate cellule da trapiantare è fondamentale. Esiste un grande interesse in questo campo di ricerca, ma sono ancora troppe le domande aperte (Figura 1). Anche se l'uso clinico di cellule staminali adulte nella riparazione dei danni del parenchima polmonare attende che siano chiariti vari aspetti ancora aperti, studi clinici^{41,42} condotti in cardiologia hanno dimostrato la sicurezza e la fattibilità della

somministrazione di cellule progenitrici derivate dal midollo osseo autologo nel trattamento dell'ischemia miocardica. I pochi trial clinici a disposizione hanno dimostrato che esiste una tendenza al miglioramento funzionale nei pazienti trapiantati sia nel danno acuto che in quello cronico. Tuttavia, a causa delle molte questioni aperte, per l'utilizzo clinico nelle patologie polmonari delle cellule staminali adulte ulteriori ricerche sono necessarie.

CONCLUSIONI

Esiste un'evidenza scientifica che le cellule staminali derivate dal midollo osseo adulto hanno un ruolo nella riparazione di tessuti danneggiati. L'esatto meccanismo non è ancora completamente conosciuto e differenti linee cellulari sembrano coinvolte. Queste ricerche aprono sicuramente nuove strade nella farmacologia e nella terapia cellulare e genica per curare sempre più malattie non solo in ambito respiratorio.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Hong KU, Reynolds SD, Watkins S, et al. Basal cells are a multipotent progenitor capable of renewing the bronchial epithelium. *Am J Pathol* 2004; 164:577-588
- 2 Majka SM, Beutz MA, Hagen M, et al. Identification of novel resident pulmonary stem cells: form and function of the lung side population. *Stem Cells* 2005; 23:1073-1081
- 3 Uhal BD. Cell cycle kinetics in the alveolar epithelium. *Am J Physiol* 1997; 272:L1031-L1045
- 4 Bonnet D. Biology of human bone marrow stem cells. *Clin Exp Med* 2003; 3:140-149
- 5 Krause DS, Theise ND, Collector MI, et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001; 105:369-377
- 6 Kotton DN, Ma BY, Cardoso WV, et al. Bone marrow-derived cells as progenitors of lung alveolar epithelium. *Development* 2001; 128:5181-5188
- 7 Anjos-Afonso FSE, Bonnet D. In vivo contribution of murine mesenchymal stem cells into multiple cell-types under minimal damage conditions. *J Cell Sci* 2004; 117:5655-5664
- 8 MacPherson H, Keir P, Webb S, et al. Bone marrow-derived SP cells can contribute to the respiratory tract of mice *in vivo*. *J Cell Sci* 2005; 118:2441-2450
- 9 Yamada M, Kubo H, Kobayashi S, et al. Bone marrow-derived progenitor cells are important for lung repair after lipopolysaccharide-induced lung injury. *J Immunol* 2004; 172:1266-1272
- 10 Ishizawa K, Kubo H, Yamada M, et al. Bone marrow-derived cells contribute to lung regeneration after elastase-induced pulmonary emphysema. *FEBS Lett* 2004; 556:249-252
- 11 Hashimoto N, Jin H, Liu T, et al. Bone marrow-derived progenitor cells in pulmonary fibrosis. *J Clin Invest* 2004; 113:243-252
- 12 Ortiz LA, Gambelli F, McBride C, et al. Mesenchymal stem cell engraftment in lung is enhanced in response to bleomycin exposure and ameliorates its fibrotic effects. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100:8407-8411
- 13 Rojas M, Xu J, Woods CR, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells in repair of the injured lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005; 33:145-152
- 14 Aliotta JM, Keaney P, Passero M, et al. Bone marrow production of lung cells: the impact of G-CSF, cardiotoxin, graded doses of irradiation, and subpopulation phenotype. *Exp Haematol* 2006; 34:230-241
- 15 Suratt BT, Cool CD, Serls AE, et al. Human pulmonary chimerism after haematopoietic stem cell transplantation. *Am J Respir Crit Care* 2003; 168:318-322
- 16 Kleeberger W, Versmold A, Rothamel T, et al. Increased chimerism of bronchial and alveolar epithelium in human lung allografts undergoing chronic injury. *Am J Pathol* 2003; 162:1487-1494
- 17 Epperly MW, Guo H, Grettton JE, et al. Bone marrow origin of myofibroblasts in irradiation pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003; 29:213-224
- 18 Direkze NC, Forbes SJ, Brittan M, et al. Multiple organ engraftment by bone-marrow-derived myofibroblasts and fibroblasts in bone-marrow-transplanted mice. *Stem Cells* 2003; 21:514-520
- 19 Kotton DN, Fabian AJ, Mulligan RC. Failure of bone marrow to reconstitute lung epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005; 33:328-334
- 20 Chang JC, Summer R, Sun X, et al. Evidence that bone marrow cells do not contribute to the alveolar epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005; 33:335-342
- 21 Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002; 418:41-49
- 22 Krause DS. Engraftment of bone marrow-derived epithelial cells. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1044:117-124
- 23 Schmidt M, Sun G, Stacey MA, et al. Identification of circulating fibrocytes as precursors of bronchial myofibroblasts in asthma. *J Immunol* 2003; 170:380-389
- 24 Zhao YD, Courtman DW, Deng Y, et al. Rescue of monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension using bone marrow-derived endothelial-like progenitor cells. *Circ Res* 2005; 96:442-450
- 25 Philips RJ, Burdick MD, Hong K, et al. Circulating fibrocytes traffic to the lungs in response to CXCL12 and mediate fibrosis. *J Clin Invest* 2004; 114:438-446
- 26 Wang X, Willenbring H, Akkari Y, et al. Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature* 2003; 422:897-901
- 27 Harris RG, Herzog EL, Bruscia EM, et al. Lack of a fusion requirement for development of bone marrow-derived epithelia. *Science* 2004; 305:90-93
- 28 Burnham EL, Taylor WR, Quyyumi AA, et al. Increased circulating endothelial progenitor cells are associated with survival in acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172:854-860
- 29 Yamada M, Kubo H, Ishizawa K, et al. Increased circulating endothelial progenitor cells in patients with bacterial pneumonia: evidence that bone marrow derived cells contribute to lung repair. *Thorax* 2005; 60:410-413
- 30 Houghton J, Stoicov C, Nomura S, et al. Gastric cancer originating from bone marrow-derived cells. *Science* 2004; 306:1568-1571
- 31 Direkze NC, Hodivala-Dilke K, Jeffery R, et al. Bone marrow contribution to tumour associated myofibroblasts and fibroblasts. *Cancer Res* 2004; 64:8492-8495
- 32 Griffiths MJD, Bonnet D, Janes SM. Stem cells of the alveolar epithelium. *Lancet* 2005; 366:249-260
- 33 Weiss DJ, Berberich MA, Borok Z, et al. Adult stem cells, lung biology, and lung disease. *Proc Am Thorac Soc* 2006; 3:193-207
- 34 Grove JE, Lutzko C, Priller J, et al. Marrow-derived cells as vehicles for delivery of gene therapy to pulmonary epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 27:645-651

- 35 Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes *in vivo*. *Nat Med* 2000; 6:1229–1234
- 36 Wang G, Bunnell BA, Painter RG, et al. Adult stem cells from bone marrow stroma differentiate into airway epithelial cells: potential therapy for cystic fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102:186–191
- 37 Loi R, Beckett T, Goncz KK, et al. Limited restoration of cystic fibrosis lung epithelium *in vivo* with adult bone marrow-derived cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173:171–179
- 38 Jordan CT, Guzman ML, Noble M. Cancer stem cells. *N Engl J Med* 2006; 355:1253–1261
- 39 Coraux C, Nawrocki-Raby B, Hinnrasky J, et al. Embryonic stem cells generate airways epithelial tissue. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 32:87–92
- 40 Orkin SH, Morrison SJ. Biomedicine: stem-cell competition. *Nature* 2002; 418:25–27
- 41 Rosenzweig A. Cardiac cell therapy: mixed results from mixed cells. *N Engl J Med* 2006; 355:1274–1277
- 42 No consensus on stem cells. *Nature* 2004; 428:587
- 43 Rubio D, Garcia-Castro J, Marti'n MC, et al. Spontaneous human adult stem cell transformation. *Cancer Res* 2005; 65:3035–3039