

DONNEES ACTUELLES DE LA SCIENCE DANS LES THERAPIES REGENERATRICES PAR CELLULES SOUCHES

David A. Prentice

RESUME

Les thérapies régénératrices par cellules souches représentent un bon espoir pour le traitement des maladies dégénératives. Le potentiel thérapeutique des cellules souches embryonnaires reste relativement inexploité à ce jour, et d'importants obstacles scientifiques restent à franchir avant que ces cellules ne puissent être considérées comme sans danger et efficaces pour l'utilisation chez des patients. Pendant ce temps-là, les cellules souches adultes ont commencé à montrer leurs propres capacités dans la réparation des tissus endommagés, à la fois sur les modèles animaux et dans les premiers essais *cliniques*.

Mots clés : thérapies régénératrices, cellules souches, greffe de cellules souches

La thérapie régénératrice représente un espoir pour des millions de patients atteints de maladies et de lésions dégénératives. La réparation des organes ou des tissus endommagés en utilisant des cellules souches pourrait potentiellement répondre aux besoins de ces patients, représentant la plupart des 15 principales causes de décès aux Etats-Unis. Cependant, l'appel émotionnel envers les cellules souches et le débat politique dans lequel la science est embrouillée ont terni la plupart des résultats actuels dans ce domaine. Il est impératif qu'une revue complète des résultats scientifiques et des promesses potentielles participent à un débat pleinement éclairé.

Une cellule souche a deux caractéristiques principales : (1) elle continue à proliférer afin qu'un groupe de cellules soit toujours disponible et (2) elle répond à des signaux appropriés en se différenciant en un ou plusieurs types de cellules spécialisées (Figure 1A). Il existe de nombreuses sources de cellules souches humaines, dont celles provenant de jeunes embryons (5–7 jours postconception), de tissu fœtal, du sang et de la matrice du cordon ombilical, de tissus placentaires, et de la plupart des tissus corporels; les sources postnatales sont souvent regroupées sous le terme de "cellules souches adultes". (Figure 1B). La "plasticité" d'une cellule souche, autrement dit, sa capacité à former des types de cellules différenciées, va d'unipotente (capable de générer seulement un type différencié), à multipotente (capable de générer plusieurs types de cellules), à pluripotente (capable de générer la plupart ou tous les tissus du corps adulte), à totipotente (capable de générer tous les tissus postnataux et extraembryonnaires, potentiellement capables de recréer un nouvel embryon complet).

CELLULES SOUCHES EMBRYONNAIRES

Les cellules souches embryonnaires (ES) de la souris ont été cultivées pour la première fois en 1981,¹² mais les cellules souches embryonnaires humaines n'ont pas été cultivées avec succès avant 1988.¹ L'isolement des cellules souches embryonnaires requiert la désagrégation du jeune embryon — d'où le débat éthique autour de ces cellules. Presque au même moment, une autre équipe réussissait à cultiver des cellules souches, appelées cellules germinales embryonnaires, ayant les mêmes propriétés que les cellules germinales primordiales du fœtus.⁴ Les cellules souches embryonnaires sont considérées comme l'archétype de la cellule souche pluripotente; elles prolifèrent de manière extensive en culture et, comptant sur leur fonction normale pendant le développement ou sur les résultats de la réinsertion dans un autre embryon, elles ont le potentiel pour générer tout type de tissu. Bien que ce potentiel soit attrayant pour le traitement de maladies dégénératives, les résultats à ce jour sont modestes, et il y a encore beaucoup

d'obstacles scientifiques à franchir avant que les cellules souches embryonnaires ne puissent être utilisées cliniquement, en particulier la génération de cellules différenciées fonctionnelles, la formation de tumeur, et le rejet immunitaire.⁵ Les meilleurs exemples à ce jour de succès potentiels sont sur des modèles animaux de lésions de la moelle épinière et la maladie de Parkinson. Keirstead *et coll.* ont montré une certaine réussite dans l'amélioration des lésions médullaires aiguës (mais pas chroniques) chez le rat, avec y compris une amélioration de l'activité locomotrice,⁶ et Nistor *et coll.* ont montré l'activité remyélinisante des cellules

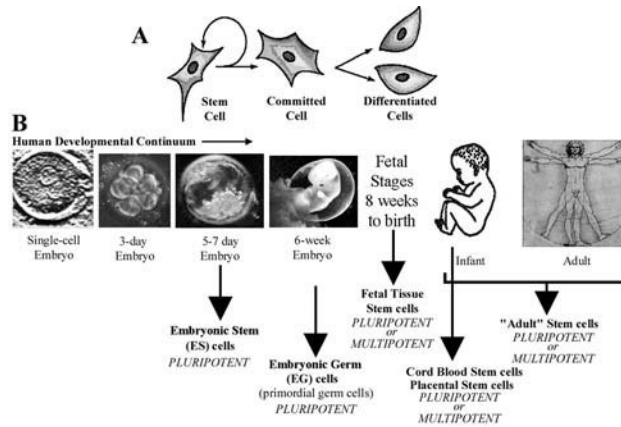


FIGURE 1 Caractéristiques et origines des cellules souches. A), les cellules souches poursuivent une prolifération (flèche circulaire) et répondent à des signaux de différenciation (flèche vers la droite). B), les sources incluent les embryons, les cellules germinales primordiales, le tissu foetal différencié, et les cellules souches "adultes", y compris la matrice et le sang du cordon ombilical, le placenta, et les tissus cellulaires postnataux.

Données actuelles de la science sur les cellules souches/PRENTICE

From the Family Research Council and the Center for Clinical Bioethics, Georgetown Medical Center, Washington, DC.

Address correspondence to: Dr David A Prentice, Family Research Council, 801 G Street, NW, Washington, DC 20001; e-mail: dap@frc.org. DOI = 10.2310/6650.2005.05043

souches embryonnaires humaines chez le rat.⁷ Sur des modèles animaux de la maladie de Parkinson, des cellules souches embryonnaires ont été greffées avec succès et sont parvenues à sécréter de la dopamine, atténuant ainsi quelques uns des symptômes comportementaux chez le singe⁸ et le rat,⁹ bien que dans le dernier exemple, les cellules souches embryonnaires aient cessé leur développement après 12 semaines. Cependant, certaines expériences, bien que montrant une amélioration partielle du comportement, ont également montré la tumorigénèse des cellules souches embryonnaires injectées.^{10,11} La formation de tumeurs est toujours un problème pour l'utilisation clinique potentielle des cellules souches embryonnaires; la croissance incontrôlée des cellules natives ou même des cellules progénitrices dérivées de cellules ES est un facteur qui a, jusqu'à présent, rendu impossible leur utilisation chez l'homme.^{12,13} Un certain nombre d'études animales ont également montré une certaine capacité des cellules souches embryonnaires dans la réparation cardiaque,^{14,15} bien que des études *in vitro* aient montré des problèmes potentiels d'arythmie induite par les cellules cardiaques dérivées de cellules ES.¹⁶ Alors que les premiers travaux suggéraient une éventuelle utilisation des cellules ES pour la génération de cellules insulino-sécrétrices et le traitement du diabète,^{17,18} des études plus récentes indiquent que la sécrétion d'insuline précédemment observée était un artefact lié à l'insuline absorbé à partir du milieu de culture²⁰ et que les cellules dérivées de cellules ES exprimant l'insuline n'étaient pas de vraies cellules bêta, bien qu'elles soient toujours tumorigéniques.¹² Jusqu'ici, il a été difficile d'obtenir une culture pure de cellules différenciées fonctionnelles dérivées de cellules ES et d'avoir une intégration physiologique dans les tissus endommagés.

Un autre obstacle à surmonter dans l'utilisation thérapeutique potentielle de cellules ES est le rejet immunitaire. Les études sur les animaux étaient habituellement basées sur l'immunosuppression ou l'injection dans des sites immunoprivilégiés, comme le cerveau, et il est probable que de tels protocoles aient besoin d'être suivis pour tout essai chez l'être humain. Plusieurs possibilités ont été proposées par Odorico *et coll.* pour maîtriser le rejet potentiel de cellules ES, dont le génie génétique des gènes du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH), le chimérisme hématopoïétique induit, la création des "banques" de lignées de cellules ES pour correspondre à des receveurs potentiels et les transferts nucléaires de cellule somatique (TNCS; appelé "clonage thérapeutique").²¹ Zwaka et Thomson ont démontré qu'il est possible de faire une recombinaison homologe dans les cellules ES humaines, semblable à celle faite en routine dans les cellules ES de la souris, ouvrant la possibilité de développer des cellules ES correspondant aux antigènes MHC de différent patient.²² La transplantation de cellules hématopoïétiques dérivées de cellules ES, produisant un chimérisme du système immunitaire, pourrait potentiellement maîtriser le problème du rejet immunitaire; le concept

a déjà été démontré en utilisant des transplantations de moelle osseuse de cellules souches adultes suivies d'une transplantation d'organe solide.²³ Les banques de cellules ES humaines correspondant à tous les patients peuvent également être possibles, même si on ne connaît pas exactement le nombre de lignées de cellules ES nécessaires, avec des estimations allant de 250 à 10000 lignées potentielles nécessaires.

Le clonage thérapeutique a été accueilli comme une solution idéale pour maîtriser le problème du rejet immunitaire. Théoriquement, en créant un clone embryonnaire du patient, à partir duquel les cellules ES correspondantes pourraient être prélevées, des lignées de cellules spécifiques du patient pourraient être fabriquées et ne seraient pas rejetées. Des chercheurs de Corée du Sud ont récemment revendiqué la création de scores d'embryons humains clonés à partir de patients et la production de 11 lignées de cellules ES.²⁴ Il a été prouvé que ces déclarations étaient frauduleuses et l'article publié a été retiré. On ne sait toujours pas si en réalité les cellules auraient été acceptées par le système immunitaire du patient, et les spécialistes des cellules ES ont mis en cause l'efficacité de l'utilisation du clonage thérapeutique pour un usage clinique.^{25,26} Dans une précédente expérience chez la souris, les cellules provenant d'embryons clonés ont été rejetées par l'hôte génétiquement correspondant.^{27,28} Les cas rapportés de correspondances réussies de cellules dérivées par clonage TNCS sont tout aussi douteux; à ce jour les meilleurs résultats des études sur l'animal proviennent en réalité de la gestation d'animaux clonés au stade fœtal et du prélèvement de cellules souches tissulaires.²⁹⁻³¹

CELLULES SOUCHES ADULTES

Le dogme traditionnel maintient qu'il y a peu de cellules souches adultes (tissulaire ou postnatales) présentes dans le corps et qu'elles sont difficiles à isoler et à cultiver et extrêmement limitées dans leur capacité à générer de nouveaux types de cellules, étant limitées à la formation de cellules identiques à celle de leur tissu d'origine. Cependant, ces dernières années un article a eu un effet explosif dans les publications renversant ce dogme et montrant la flexibilité remarquable de ces cellules.³² Dans un article de 2001, il a été prouvé qu'une seule cellule souche de moelle osseuse adulte peut contribuer non seulement à la formation de moelle et de sang mais aussi à la formation de foie, poumon, tube digestif, peau, cœur, et muscle.³³ Il existe maintenant plusieurs exemples de cellules souches adultes avec une flexibilité pluripotente, dont les cellules de la moelle osseuse,³⁴⁻³⁶ du sang périphérique,³⁷ de l'oreille interne,³⁸ du sang du cordon ombilical,^{39,40} de la muqueuse nasale,⁴¹ du liquide amniotique,⁴² et de la membrane amniotique placentaire.⁴³ La plupart de ces études publiées montre également que ces cellules souches adultes pluripotentes spécifiques peuvent se multiplier en culture sur de longues périodes de temps tout en retenant leur capacité à se différencier et fournissant un nombre suffisant de cellules pour les traitements cliniques.

En rapport avec leur utilisation potentielle dans les thérapies cliniques, il y a eu beaucoup de cas rapportés sur l'efficacité des cellules souches adultes dans le traitement de modèles animaux de maladie. Dans des modèles d'AVC, les cellules souches adultes ont apporté des bénéfices thérapeutiques.⁴⁴⁻⁴⁶ De façon intéressante, dans quelques expériences, les cellules ont montré une capacité à trouver leur destination (homing) sur le site des tissus endommagés. Il semblerait que le ligand c-Kit (facteur de cellule souche) soit importante dans ce comportement homing⁴⁶; bien que ce phénomène ne soit pas encore totalement compris, il permet l'étonnante possibilité de diriger les cellules souches régénératrices. Pour les lésions de la moelle épinière, les cellules souches adultes ont favorisé la croissance neuronale et le bénéfice thérapeutique chez des rongeurs.⁴⁸⁻⁵⁰ Un résultat récent qui met en évidence quelques uns des problèmes inattendus auxquels il faut potentiellement faire face avec la thérapeutique régénératrice a été la découverte que, dans les transplantations réussies, la croissance du nouveau tissu nerveux peut entraîner une augmentation de la douleur; cependant, cela peut être contrôlé par une différenciation dirigée des cellules souches avant la transplantation.⁵¹ Les premiers essais cliniques réalisés au Portugal sont en cours sur environ 36 patients.⁵² Dans les modèles animaux de la maladie de Parkinson, les cellules souches adultes ont montré une efficacité en stimulant la sécrétion de dopamine et en diminuant les symptômes comportementaux.^{53,54} Un patient a reçu une transplantation de ses propres cellules neurales, entraînant la diminution des symptômes de la maladie de Parkinson.⁵⁵ Dans une étude conçue non pas pour transplanter des cellules souches mais plutôt pour stimuler les cellules souches endogènes adultes en vue d'une réparation, du facteur neurotrophique dérivé des cellules gliales a été injecté à cinq patients, entraînant une diminution de 61% en moyenne de la symptomatologie.⁵⁶ Le suivi d'un patient a montré que le facteur de croissance a stimulé la création de nouvelles neurones.⁵⁷

Les cellules souches adultes ont été efficaces dans l'amélioration de la dégénérescence rétinienne sur des modèles animaux,⁵⁸⁻⁶⁰ augmentant l'espoir de trouver d'éventuels traitements pour la rétinopathie diabétique et la dégénérescence maculaire liée à l'âge. En ce qui concerne le diabète, plusieurs exemples existent maintenant montrant la génération de cellules insulino-sécrétrices à partir de plusieurs cellules souches adultes, dont le foie,⁶⁰ la moelle osseuse,^{62,63} et le pancréas.⁶⁴ Dans certaines expériences, il est apparu que ce ne sont pas les cellules souches adultes qui constituent les nouvelles cellules bêta mais les cellules injectées qui stimulent les précurseurs endogènes dans le pancréas afin d'accomplir la régénération.⁶⁵ L'utilisation de cellules spléniques a permis à un groupe d'obtenir une rémission complète de la maladie et a maintenant l'approbation de la Food and Drug

Administration pour débiter les essais chez l'homme pour le diabète de type 1.⁶⁶

L'utilisation de cellules souches adultes à partir de moelle osseuse ou mobilisées dans le sang périphérique est devenue relativement habituelle comme un adjuvant à la chimiothérapie cancéreuse afin de remplacer le système hématopoïétique du patient ou pour traiter les anémies. Des techniques semblables pour remplacer le système immunitaire sont actuellement en cours d'essai avec certains succès chez des patients souffrant de maladies auto-immunes, comme le scléromyxœdème,⁶⁷ la sclérose en plaque,⁶⁸ et la maladie de Crohn.⁷⁰ De tels traitements ont également montré des résultats encourageant pour les maladies métaboliques, comme la maladie de Krabbe.⁷¹ Les cellules souches adultes ont également été utilisées dans des protocoles de réparation osseuses.⁷² La réparation de lésion cardiaque chez les patients est également passée à l'étape d'essais cliniques, avec plusieurs cas rapportés de réussites dans la réparation de lésions suite à un infarctus.⁷³⁻⁷⁴

Le mécanisme de ces thérapies régénératives reste flou. Les cellules souches adultes dans certains cas semblent être capables d'interconversion entre des types de tissus différents, connu sous le nom de transdifférentiation. Dans certains tissus, les cellules souches adultes semblent fusionner avec le tissu hôte et prendre les caractéristiques de ce tissu, facilitant la régénération. Dans certaines études, les cellules souches adultes ne contribuent pas directement à la régénération du tissu mais semblent plutôt stimuler les cellules endogènes du tissu pour commencer la réparation. Quel que soit le mécanisme, les cellules souches adultes réussissent à régénérer le tissu endommagé.

En résumé, il reste encore beaucoup de travail à faire avant d'étendre l'application clinique des cellules souches aux thérapies régénératrices. Vu les obstacles scientifiques qui persistent pour les cellules ES, celles-ci sont peut être moins bien adaptées aux applications cliniques qu'aux études scientifiques basiques. De récents résultats provenant d'études sur les animaux et les premiers essais cliniques indiquent que les cellules souches adultes, par opposition aux théories précédentes, ont d'importantes capacités pour réparer des cellules et des tissus endommagés, un peu comme un kit de réparation de naissance. La flexibilité et le potentiel de ces cellules souches adultes pour influencer sur les maladies semblent être énormes.

REFERENCES

1. Martin GR. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981;78:7634-8.
2. Evans MJ, Kaufman MH. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos. *Nature* 1981;292:154-6.
3. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science* 1998;282:1145-7.
4. Shambloot MJ, Axelman J, Wang S, et al. Derivation of pluripotent stem cells from cultured human primordial germ cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:13726-31.
5. Bloom S. Stem cell division. *J Clin Invest* 2005;115:1676-7.
6. Keirstead H, Nistor G, Bernal G, et al. Human embryonic stem cell derived oligodendrocyte progenitor cell transplants remyelinate and restore locomotion after spinal cord injury. *J Neurosci* 2005;25:4694-705.
7. Nistor GI, Totoiu M, Haque N, et al. Human embryonic stem cells differentiate into oligodendrocytes in high purity and myelinate after spinal cord transplantation. *Glia* 2005; 49:385-96.
8. Takagi Y, Takahashi J, Saiki H, et al. Dopaminergic neurons generated from monkey embryonic stem cells function in a Parkinson primate model. *J Clin Invest* 2005;115:102-9.
9. Ben-Hur T, Idelson M, Khaner H, et al. Transplantation of human embryonic stem cell-derived neural progenitors improves behavioral deficit in Parkinson's rats. *Stem Cells* 2004;22:1246-55.
10. Nishimura F, Yoshikawa M, Kanda S, et al. Potential use of embryonic stem cells for the treatment of mouse parkinsonian models: improved behavior by transplantation of in vitro differentiated dopaminergic neurons from embryonic stem cells. *Stem Cells* 2003;21:171-80.
11. Bjorklund LM, Sanchez-Pernaute R, Chang S, et al. Embryonic stem cells develop into functional dopaminergic neurons after transplantation in a Parkinson rat model. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:2344-9.
12. Wakitani S, Takoaka K, Hattori T, et al. Embryonic stem cells injected into the mouse knee joint form teratomas and subsequently destroy the joint. *Rheumatology* 2003;42:162-5.
13. Sipione S, Eshpeter A, Lyon JG, et al. Insulin expressing cells from differentiated embryonic stem cells are not beta cells. *Diabetologia* 2004;47:499-508.
14. Hodgson DM, Behfar A, Zingman LV, et al. Stable benefit of embryonic stem cell therapy in myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;287:471-9.
15. Min JY, Yang Y, Sullivan MF, et al. Long-term improvement of cardiac function in rats after infarction by transplantation of embryonic stem cells. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2003;125: 361-9.
16. Zhang YM, Hartzell C, Narlow M, et al. Stem cell-derived cardiomyocytes demonstrate arrhythmic potential. *Circulation* 2002;106:1294-9.

Current Science of Stem Cells/PRENTICE

1. Hori Y, Rulifson IC, Tsai BC, et al. Growth inhibitors promote differentiation of insulin-producing tissue from embryonic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:16105-10.
2. Lumelsky N, Blondel O, Laeng P, et al. Differentiation of embryonic stem cells to insulin-secreting structures similar to pancreatic islets. *Science* 2001;292:1389-94.

3. 19. Hansson M, Tonning A, Frandsen U, et al. Artifactual insulin release from differentiated embryonic stem cells. *Diabetes* 2004;53:2603–9.
4. 20. Rajagopal J, Anderson WJ, Kume S, et al. Insulin staining of ES cell progeny from insulin uptake. *Science* 2003;299:363.
5. 21. Odorico JS, Kaufman DS, Thomson JA. Multilineage differentiation from human embryonic stem cell lines. *Stem Cells* 2001;19:193–204.
6. 22. Zwaka TP, Thomson JA. Homologous recombination in human embryonic stem cells. *Nat Biotechnol* 2003;21:319–21.
7. 23. Spitzer TR, Delmonico F, Tolloff-Rubin N, et al. Combined histocompatibility leukocyte antigen-matched donor bone marrow and renal transplantation for multiple myeloma with end stage renal disease: the induction of allograft tolerance through mixed lymphohematopoietic chimerism. *Transplantation* 1999;68:480–4.
8. 24. Hwang WS, Roh SI, Lee BC, et al. Patient-specific embryonic stem cells derived from human SCNT blastocysts. *Science* 2005;308:1777–83.
9. 25. Mombaerts P. Therapeutic cloning in the mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:11924–5.
10. 26. Trounson AO. The derivation and potential use of human embryonic stem cells. *Reprod Fertil Dev* 2001;13:523–32.
11. 27. Rideout WM, Hochedlinger K, Kyba M, et al. Correction of a genetic defect by nuclear transplantation and combined cell and gene therapy. *Cell* 2002;109:17–27.
12. 28. Tsai RYL, Kittappa R, McKay RDG. Plasticity, niches, and the use of stem cells. *Dev Cell* 2002;2:707–12.
13. 29. Lanza R, Shieh J-H, Wettstein PJ, et al. Long-term bovine hematopoietic engraftment with clone-derived stem cells. *Cloning Stem Cells* 2005;7:95–106.
14. 30. Lanza R, Moore MAS, Wakayama T, et al. Regeneration of the infarcted heart with stem cells derived by nuclear transplantation. *Circ Res* 2004;94:820–7.
15. 31. Lanza R, Chung HY, Yoo JJ, et al. Generation of histocompatible tissue using nuclear transplantation. *Nat Biotechnol* 2002;20:689–96.
16. 32. Prentice D. Adult stem cells. In: *Monitoring stem cell research: a report of the President's Council on Bioethics*. Washington (DC): Government Printing Office; 2004. p. 309–46.
17. 33. Krause DS, Theise ND, Collector MI, et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell. *Cell* 2001;105:369–77.
18. 34. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature* 2002;418:41–9.
19. 35. D'Ippolito G, Diabira S, Howard GA, et al. Marrow-isolated adult multilineage inducible (MIAMI) cells, a unique population of postnatal young and old human cells with extensive expansion and differentiation potential. *J Cell Sci* 2004;117: 2971–81.
20. 36. Yoon Y-S, Wecker A, Heyd L, et al. Clonally expanded novel multipotent stem cells from human bone marrow regenerate myocardium after myocardial infarction. *J Clin Invest* 2005;115:326–38.
1. 37. Zhao Y, Glesne D, Huberman E. A human peripheral blood monocyte-derived subset acts as pluripotent stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:2426–31.
2. 38. Li H, Liu H, Heller S. Pluripotent stem cells from the adult mouse inner ear. *Nat Med* 2003;9:1293–9.
3. 39. Kögl G, Sensken S, Airey JA, et al. A new human somatic stem cell from placental cord blood with intrinsic pluripotent differentiation potential. *J Exp Med* 2004;200:123–35.
4. 40. McGuckin CP, Forraz N, Baradez N-O, et al. Production of stem cells with embryonic characteristics from human umbilical cord blood. *Cell Prolif* 2005;38:245–55.
5. 41. Murrell W, Feron F, Wetzig A, et al. Multipotent stem cells from adult olfactory mucosa. *Dev Dyn* 2005;233:496–515.
6. 42. Prusa A-R, Marton E, Rosner M, et al. Oct-4-expressing cells in human amniotic fluid: a new source for stem cell research? *Hum Reprod* 2003;18:1489–93.
7. 43. Miki T, Lehman T, Cai H, et al. Stem cell characteristics of amniotic epithelial cells. *Stem Cells* 2005;23:1549–59.
8. 44. Shyu W-C, Lin S-Z, Yang H-I, et al. Functional recovery of stroke rats induced by granulocyte colony-stimulating factor-stimulated stem cells. *Circulation* 2004;110:1847–54.
9. 45. Willing AE, Vendrame M, Mallery J, et al. Mobilized peripheral blood stem cells administered intravenously produce functional recovery in stroke. *Cell Transplant* 2003;12:449–54.
10. 46. Reiss P, Zhang C, Saatman KE, et al. Transplanted neural stem cells survive, differentiate, and improve neurological motor function after experimental traumatic brain injury. *Neurosurgery* 2002;51:1043–52.
11. 47. Heissig B, Hattori K, Dias S, et al. Recruitment of stem and progenitor cells from the bone marrow niche requires MMP9 mediated release of kit-ligand. *Cell* 2002;109:625–37.
12. 48. Lu J, Feron F, Mackay-Sim A, et al. Olfactory ensheathing cells promote locomotor recovery after delayed transplantation into transected spinal cord. *Brain* 2002;125:14–21.
13. 49. Hofstetter CP, Schwarz EJ, Hess D, et al. Marrow stromal cells form guiding strands in the injured spinal cord and promote recovery. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:2199–204.
14. 50. Ohta M, Suzuki Y, Noda T, et al. Bone marrow stromal cells infused into the cerebrospinal fluid promote functional recovery of the injured rat spinal cord with reduced cavity formation. *Exp Neurol* 2004;187:266–78.
15. 51. Hofstetter CP, Holmstrom NAV, Lilja JA, et al. Allodynia limits the usefulness of intraspinal neural stem cell grafts; directed differentiation improves outcome. *Nat Neurosci* 2005;8:346–53.
16. 52. Steeves J, Fawcett J, Tuszynski M. Report of International Clinical Trials Workshop on Spinal Cord Injury. *Spinal Cord* 2004;42:591–7.
17. 53. Dezawa M, Kanno H, Hoshino M, et al. Specific induction of neuronal cells from bone marrow stromal cells and application for autologous transplantation. *J Clin Invest* 2004;113:1701–10.
18. 54. Liker MA, Petzinger GM, Nixon K, et al. Human neural stem cell transplantation in the MPTP-lesioned mouse. *Brain Res* 2003;971:168–77.
19. 55. Lévesque M, Neuman T. Autologous transplantation of adult human neural stem cells and differentiated dopaminergic neurons for Parkinson disease: 1-year postoperative clinical and functional metabolic result [abstract]. American Association of Neurological Surgeons Annual Meeting, April 3, 2002. Available at: <http://www.aans.org/Library/Article.aspx?ArticleId=12096> (accessed December 8, 2005).

1. 56. Gill SS, Patel NK, Hotton GR, et al. Direct brain infusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease. *Nat Med* 2003;9:589–95.
2. 57. Love S, Plaha P, Patel NK, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor induces neuronal sprouting in human brain. *Nat Med* 2005;11:703–4.
3. 58. Otani A, Dorrell MI, Kinder K, et al. Rescue of retinal degeneration by intravitreally injected adult bone marrow-derived lineage-negative hematopoietic stem cells. *J Clin Invest* 2004;114:765–74.
4. 59. Otani A, Kinder K, Ewalt K, et al. Bone marrow derived stem cells target retinal astrocytes and can promote or inhibit retinal angiogenesis. *Nat Med* 2002;8:1004–10.
5. 60. Tomita M, Yamada H, Adachi Y, et al. Bone marrow derived stem cells can differentiate into retinal cells in injured rat retina. *Stem Cells* 2004;20:279–83.
6. 61. Sapir T, Shternhall K, Meivar-Levy I, et al. Cell-replacement therapy for diabetes: generating functional insulin-producing tissue from adult human liver cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:7964–9.
7. 62. Oh S-H, Muzzonigra TM, Bae S-H, et al. Adult bone marrow-derived cells transdifferentiating into insulin-producing cells for the treatment of type I diabetes. *Lab Invest* 2004;84:607–17.
8. 63. Ianus A, Holz GG, Theise ND, et al. In vivo derivation of glucose competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion. *J Clin Invest* 2003;111:843–50.
9. 64. Seaberg BM, Smukler SR, Kieffer TJ, et al. Clonal identification of multipotent precursors from adult mouse pancreas that generate neural and pancreatic lineages. *Nat Biotechnol* 2004;22:1115–24.
10. 65. Hess D, Li L, Martin M, et al. Bone marrow-derived stem cells

initiate pancreatic regeneration. *Nat Biotechnol* 2003;21: 763–70.

1. 66. Kodama S, Kuhlreiber W, Fujimura S, et al. Islet regeneration during the reversal of autoimmune diabetes in NOD mice. *Science* 2003;302:1223–7.
2. 67. Feasel AM, Donato ML, Duvic M. Complete remission of scleromyxedema following autologous stem cell transplantation. *Arch Dermatol* 2001;137:1071–2.
3. 68. Mancardi GL, Saccardi R, Filippi M, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation suppresses Gd-enhanced MRI activity in MS. *Neurology* 2001;57:62–8.
4. 69. Kreisel W, Potthoff K, Bertz H, et al. Complete remission of Crohn's disease after high-dose cyclophosphamide and autologous stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2003;32:337–40.
5. 70. Escolar ML, Poe MD, Provenzale JM, et al. Transplantation of umbilical cord-blood in babies with infantile Krabbe's disease. *N Engl J Med* 2005;352:2069–81.
6. 71. Lendeckel S, Jodicke A, Christophis P, et al. Autologous stem cells (adipose) and fibrin glue used to treat widespread traumatic calvarial defects: case report. *J Craniomaxillofac Surg* 2004;32:370–3.
7. 72. Britten MB, Abomaali ND, Assmus B, et al. Infarct remodeling after intracoronary progenitor cell treatment in patients with acute myocardial infarction. *Circulation* 2003;108:2212–8.
8. 73. Wollert KC, Meyer GP, Lotz J, et al. Intracoronary autologous bone-marrow cell transfer after myocardial infarction: the BOOST randomised controlled clinical trial. *Lancet* 2004;364:141–8.
9. 74. Dohmann HFR, Perin EC, Takiya CM, et al. Transendocardial autologous bone marrow mononuclear cell injection in ischemic heart failure. *Circulation* 2005;112:521–6.