

CÉLULAS MADRE/ESTROMALES MESENQUIMALES. SU POTENCIAL TERAPÉUTICO EN MEDICINA

LUCIANA M. DOMÍNGUEZ¹, ESTEBAN J. FIORE¹, GUILLERMO D. MAZZOLINI^{1, 2}

¹Laboratorio de Terapia Génica y Celular, Instituto de Investigaciones en Medicina Traslacional, Facultad de Ciencias Biomédicas, CONICET-Universidad Austral, ²Unidad de Hepatología, Hospital Universitario Austral, Universidad Austral, Buenos Aires, Argentina

Resumen La terapia celular y la medicina regenerativa son áreas en gran desarrollo en la investigación biomédica. En la mayoría de los tejidos existen mecanismos de auto-reparación llevados a cabo, principalmente, por células madre o progenitoras residentes con capacidad para diferenciarse y reemplazar a las células dañadas o para secretar factores tróficos que induzcan el proceso regenerativo. Dado que estos mecanismos de reparación no siempre son suficientes, se postula que la terapia celular puede contribuir a la regeneración de los tejidos sometidos a injuria. Las células madre/estromales mesenquimales (MSCs, del inglés *Mesenchymal Stem/Stromal Cells*) son un tipo de progenitor adulto multipotente, que tienen la capacidad de expandirse *in vitro* con facilidad cuando son aisladas de su nicho *in vivo*, migrar selectivamente a los tejidos lesionados, modular y evadir el sistema inmunológico, y secretar factores tróficos que ayudan a la reparación tisular. Asimismo, la fácil manipulación *ex vivo* permitiría también usarlas como vehículos de genes terapéuticos. Las principales fuentes de obtención son la médula ósea, el tejido adiposo y cordón umbilical. Los numerosos estudios pre-clínicos y clínicos han demostrado que las MSCs parecieran ser seguras tanto para uso autólogo como alogénico. En este trabajo se resumen las propiedades de las MSCs y su potencial terapéutico para una amplia gama de enfermedades, también presentamos los distintos ensayos clínicos avanzados que las posicionan en el ámbito biomédico como una herramienta interesante para la regeneración de tejidos y el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

Palabras clave: terapia celular, medicina regenerativa, células madre/estromales mesenquimales

Abstract *Mesenchymal stem/stromal cells. Their therapeutic potential in medicine.* Cell therapy and regenerative medicine are currently active areas for biomedical research. In most tissues, there are self-repair mechanisms carried out mainly by resident stem cells that can differentiate and replace dead cells or secrete trophic factors that stimulate the regenerative process. These mechanisms often fail in degenerative diseases; thus it is postulated that exogenous cell therapy can contribute to tissue regeneration and repair. Mesenchymal stem cells (MSCs) are multipotent adult stem/progenitor cells, which could be easily expanded *in vitro* and have the ability to selectively migrate toward injured tissues, evade the immune system recognition, and secrete trophic factors to support tissue repair. Furthermore, MSCs could be engineered for the delivery of therapeutic genes. The main sources for MSCs are bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord. A number of pre-clinical and clinical studies have shown that MSCs therapy is safe for both autologous and allogeneic uses. This review summarizes information about the properties of MSCs and their therapeutic potential for a broad spectrum of diseases. We also present here the last data about clinical trials that position the use of MSCs as an interesting tool for tissue regeneration and the treatment of inflammatory diseases.

Key words: cell therapy, regenerative medicine, mesenchymal stem cells

PUNTOS CLAVE

- La terapia celular y la medicina regenerativa son áreas en gran desarrollo en la investigación biomédica. El uso de células madre/estromales mesenquimales (MSCs) ha mostrado un fuerte desarrollo en los últimos años ya que superan gran parte de las limitaciones de otros tipos celulares y tienen un gran potencial terapéutico.
- Este trabajo resume las propiedades de las MSCs, su potencial terapéutico como herramienta para la regeneración de tejidos y el tratamiento de enfermedades inflamatorias, y los distintos ensayos clínicos avanzados que en la actualidad se encuentran utilizando células madre de distintos tipos.

En los últimos años la investigación biomédica ha avanzado en el estudio de las terapias celulares y su uso en medicina regenerativa¹. Estos avances buscan reparar órganos y tejidos enfermos mediante la administración de células o moléculas biológicamente activas². Se han propuesto diferentes tipos y fuentes celulares con potencial terapéutico para tratar diversas enfermedades. Particularmente, la utilización de células madre/estromales mesenquimales (MSCs del inglés *Mesenchymal stem/stromal cells*) como fuente de células para terapia celular y regenerativa, ha mostrado un fuerte desarrollo en los últimos años³.

En esta revisión abarcaremos las distintas terapias con células que se encuentran en estudio para su futuro uso en medicina regenerativa. Principalmente, nos enfocamos en la potencialidad de las MSCs y presentamos los distintos ensayos clínicos avanzados que las posicionan en el ámbito biomédico como una herramienta interesante para la regeneración de tejidos y el tratamiento de enfermedades inflamatorias. Para ello realizamos una búsqueda exhaustiva de artículos científicos originales y revisiones en revistas nacionales e internacionales y utilizamos la base de datos www.clinicaltrials.gov para determinar el número de ensayos clínicos donde utilizan MSCs como terapia.

Terapia celular y medicina regenerativa

La terapia celular y la medicina regenerativa se han convertido en áreas relevantes de investigación biomédica en los últimos años¹. La medicina regenerativa tiene como objetivo reparar órganos y tejidos enfermos o dañados y abarca el empleo de diversas estrategias que incluyen desde la administración de moléculas biológicamente activas (proteínas y microARN) hasta la implantación de células aisladas de tejidos adultos que pueden dar lugar a la regeneración estructural del tejido u órgano afectado^{2,4}. Por otro lado, la terapia celular incluye la aplicación tanto de células somáticas o adultas, como de progenitores, así como también de células modificadas genéticamente

para facilitar la regeneración de células dañadas dentro de un órgano o tejido^{5,6}.

En la mayoría de los tejidos existen mecanismos de auto-reparación llevados a cabo, principalmente, por células madre o progenitores residentes que pueden diferenciarse y reemplazar a las células dañadas, o secretar factores tróficos que induzcan el proceso regenerativo. La característica principal de este tipo de células es la capacidad de dividirse a nivel clonal mientras mantiene un estado indiferenciado como así también de diferenciarse en uno o más tipos de células especializadas. Dado que en diversos procesos patológicos estos mecanismos de reparación no son suficientes, se postula que la terapia celular puede contribuir a la regeneración de los tejidos⁷. Muchos de los tratamientos actuales para la mayoría de las enfermedades degenerativas son paliativos o solo retrasan el progreso de la enfermedad, esto nos lleva a pensar que un enfoque combinado entre terapia celular y medicina regenerativa constituyen una alternativa prometedora que incida positivamente en el inicio y progresión de la enfermedad⁵.

El trasplante de células madre hematopoyéticas (HSCs, del inglés *Hematopoietic Stem Cells*) para el tratamiento de neoplasias malignas de la médula ósea (MO), fue la primera terapia celular que se utilizó en la práctica clínica y desde su aprobación, se han empleado con éxito durante más de 50 años⁸. Si bien hasta la actualidad este tipo de terapia con células progenitoras ha sido el único adoptado de forma rutinaria en la práctica clínica, ha alentado a médicos y científicos a desarrollar el área de estudio.

Se han propuesto diferentes tipos y fuentes de células madre para su potencial aplicación terapéutica^{9,10}.

- Células madre embrionarias: se obtienen de la masa celular interna de embriones no utilizados. Son células pluripotentes que tienen una combinación única de genes de histocompatibilidad, heredados del espermatozoide y el óvulo, por lo que serían rechazadas en un trasplante alogénico histoincompatible¹¹⁻¹³.

- Células VSEL (del inglés, *Very Small Embryonic-Like stem cells*): son una población de células progenitoras con características pluripotentes que derivan de células germinales y pueden ser aisladas de tejido adulto. Además, expresan marcadores embrionarios, se depositan en los órganos en desarrollo durante la embriogénesis y desempeñan un papel como población de respaldo para las células madre comprometidas a un determinado tejido¹⁴.

- Células madre pluripotentes inducidas (iPSC, del inglés, *induced Pluripotent Stem Cells*): se obtienen a partir de la reprogramación de células somáticas adultas mediante la expresión de los genes de pluripotencia Oct4, Sox2, c-Myc y Klf4¹⁵. Las mismas pueden diferenciarse a células de tejidos pertenecientes a las tres capas germinales del embrión^{15,16}. Esta tecnología permitió obtener células pluripotentes que son histoidénticas con la célula donante inicial utilizada para la reprogramación¹⁷.

Todas estas células se encuentran en incesante estudio pero su potencial aplicación en la clínica presenta algunos problemas, como por ejemplo: formación de teratomas de las iPSC (lo que explica por qué se suspendieron los primeros ensayos clínicos que utilizaron estas células)¹⁸⁻²⁰; cuestionamientos éticos en el caso de las células aisladas de embriones humanos; tumorigenicidad debido a la inestabilidad genómica en el caso de las VSEL; como así también la posibilidad de rechazo inmunológico en caso de uso alogénico^{18, 21, 22}. Actualmente, la principal aplicación de las iPSCs es para el modelado *in vitro* de enfermedades y para el testeo de fármacos²³⁻²⁵.

En este contexto, la utilización de MSCs como fuente de células para terapia celular y regenerativa ha mostrado un fuerte desarrollo en los últimos años³. Las MSCs son un tipo de célula progenitora adulta que supera la mayoría de las limitaciones descritas para las células madre pluripotentes y que se han probado ampliamente en estudios preclínicos y clínicos con resultados prometedores en diversas enfermedades^{5, 26, 27}.

Células madre mesenquimales

En los organismos que se reproducen sexualmente, el desarrollo comienza a partir del cigoto formado luego de la unión de los gametos haploides femenino y masculino². Este cigoto totipotente tiene el potencial de dividirse y diferenciarse para generar todas las células especializadas del cuerpo humano adulto^{28, 29}. Durante la embriogénesis, las células madre pluripotentes dan lugar a las tres capas germinales (meso, ecto y endodermo) que van a desarrollar los distintos tejidos y órganos. Asimismo, en cada tejido adulto existe una población de especializada de ellas y responsable del reemplazo de células senescentes o de las que mueren producto de una injuria^{2, 30}. Dentro de este último nivel jerárquico existe una población de progenitores que residen en el estroma de prácticamente todos los tejidos, denominadas células madre/estromales mesenquimales (MSCs), las mismas tienen como rol fisiológico el soporte trófico de los tejidos durante la reparación y regeneración tisular³¹.

Las MSCs son multipotentes debido a que tienen la capacidad de diferenciarse a osteocitos, adipocitos y condrocitos, además pueden expandirse *in vitro* como cultivos adherentes y están fenotípicamente bien descritas, expresando CD29, CD73, CD90 y CD105, mientras que son negativas para marcadores hematopoyéticos como CD14, CD34 y CD45^{32, 33}. Entre otras características importantes, las MSCs tienen la capacidad de autorrenovarse *in vitro* de forma estable por varios pasajes, de modular el sistema inmunológico, secretar factores tróficos y migrar selectivamente a los tejidos lesionados^{34, 35, 36}. Por esta razón, sumado al potencial de diferenciación, están siendo exploradas desde el punto de vista terapéutico

para regenerar tejidos u órganos dañados. Asimismo, la fácil manipulación *ex vivo* permite también usarlas como vehículos de genes terapéuticos³⁶. Las principales fuentes para obtener MSCs de uso clínico son la médula ósea, el tejido adiposo y tejidos asociados con el nacimiento como placenta, amnios y cordón umbilical^{26, 37}.

Células madre/estromales mesenquimales como herramienta terapéutica

Desde su descripción y aislamiento en los años 70, numerosos estudios pre-clínicos y clínicos han demostrado que las MSCs parecieran ser seguras tanto para uso autólogo como alogénico, además, son fáciles de aislar y crecer *in vitro* en número suficiente para las dosis que suelen aplicarse en pacientes^{27, 38-41}.

Si bien en un principio se pensaba que la capacidad de diferenciación era el mecanismo principal para promover la regeneración tisular, actualmente existe un consenso general que indica que los efectos terapéuticos de las MSCs son una consecuencia de las moléculas biológicamente activas secretadas en forma soluble o a través de vesículas extracelulares (VEs)⁴²⁻⁴⁴. Los factores secretados de forma soluble entre los que se encuentran HGF, IGF-I, IL-6, BDNF y NGF, tienen actividad anti-apoptótica y proliferativa; otros, como SDF-1, VEGF y PDGF tienen capacidad de inducir el proceso de neo-vascularización; y algunos actúan regulando el sistema inmunitario como IL-10, TGF- β 1, IDO-1, ILRa1 y PGE2⁴⁵. Por otro lado, las VEs son estructuras que emergen de la membrana plasmática y son generadas a partir de cuerpos multivesiculares. Tienen un diámetro entre 40 nm a 2 μ m y están involucradas en la comunicación intercelular transportando una gran cantidad de proteínas (incluidos factores de crecimiento y citocinas), ADN, ARNm, microARN y ARNinc^{46, 47}. En particular, los exosomas son las VEs de mayor interés y se las diferencia por su tamaño (comprendido entre 40-100 nm)^{47, 48}. Las EVs pueden aislarse a partir del sobrenadante de cultivo celular, y dado que imitan en parte los efectos de las células de origen, aquellas derivadas de MSCs son consideradas una nueva alternativa terapéutica y un área activa de investigación en medicina regenerativa y nanotecnología⁴⁸⁻⁵⁰.

Otra propiedad atractiva de las MSCs para la aplicación clínica es su empleo en el marco del trasplante alogénico. Debido a que expresan bajos niveles de moléculas de HLA de clase I, no expresan moléculas de HLA de clase II y moléculas co-estimuladoras como B7-1, B7-2, CD40, o CD40 ligando, evita que sean reconocidas por linfocitos T y logran evadir la respuesta inmunitaria⁵¹⁻⁵³. Además, como se mencionó previamente, secretan citocinas con efectos inmunosupresores sobre células de la inmunidad innata y adaptativa^{54, 55}. Asimismo, la plasticidad funcional de las MSCs al sentir el microambiente inflamatorio en

que se encuentra, es otra característica importante para su aplicación terapéutica⁵⁶. En este sentido, si el microambiente es levemente inflamatorio, estas células pueden tener un comportamiento pro-inflamatorio. Sin embargo, en un contexto altamente inflamatorio, desempeñan un importante efecto inmunoregulador⁵⁶. Esta característica es también explotada para modular su perfil funcional a través de la generación de condiciones especiales de cultivo *in vitro*; por ejemplo, la pre-incubación con TGF- β 1 reduce su capacidad inmunosupresora⁵⁷, mientras que la incubación con INF- γ , TNF- α e IL-17 la aumenta⁵⁸.

Finalmente, debido a la capacidad de migrar a sitios de inflamación e injuria, otra potencial aplicación de las MSCs en medicina regenerativa es como vehículo de genes y factores terapéuticos^{35, 36, 50, 59}. Para esto, se puede inducir la sobre-expresión de genes mediante vectores virales o no virales, como así también cargarlas con ARNm o microARN mediante transfección y su posterior administración sistémica⁵⁹. Un ejemplo es el uso de MSCs modificadas genéticamente para sobre-expresar el factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-I) para el tratamiento de la fibrosis hepática en modelos experimentales animales^{6, 50}.

Las múltiples propiedades de las MSCs subrayan su potencial terapéutico en la regeneración de tejidos y el tratamiento de enfermedades inflamatorias. No obstante, es necesario generar más información acerca de los mecanismos involucrados en la regeneración tisular, la fuente óptima para aislarlas, los efectos que ejercen las distintas condiciones de cultivo en el potencial terapéutico y migratorio⁶⁰. A pesar de las preguntas abiertas que aún quedan por responder, estamos observando un aumento significativo en la investigación clínica de estas células para la regeneración de tejidos o para contribuir con la resolución de procesos inflamatorios^{26, 61}.

Ensayos clínicos con células madre mesenquimales

La aplicación de MSCs en un ensayo clínico en humanos se aprobó por primera vez en 1995⁶². Desde entonces, la investigación clínica de MSCs tanto en el ámbito académico como de la industria farmacéutica se ha desarrollado en forma continua. En la actualidad, según la base de datos "clinicaltrials.gov", hay 7661 ensayos clínicos donde se utilizan células madre de distintos tipos, de los cuales 1029 implican el uso de MSCs. Las principales fuentes de estas células son la médula ósea, el tejido adiposo y el cordón umbilical, siendo estas las más estudiadas en los últimos años (<https://celltrials.org/public-cells-data/msc-trials-2011-2018/65>). Entre las enfermedades estudiadas se destacan las cardiovasculares, neurodegenerativas, autoinmunes, trastornos músculo-esqueléticos y articulares, vasculares, hematológicas, oftalmológicas,

hepáticas, renales, pulmonares, de la piel, entre otras. De todos estos ensayos, solo 21 se encuentran en un estadio avanzado de estudio (fase III) y, de éstos, sólo 7 han reportado resultados finales (Tabla 1) (Clinicaltrials.gov: -Stem cell/Stem cell mesenchymal/Phase III/Completed-). En este sentido, el primer gran ensayo de fase III con MSCs de médula ósea patrocinado por la compañía farmacéutica *Mesoblast* (en su momento *Prochymal*) fue para el tratamiento de la enfermedad injerto contra huésped (EICH) refractaria a esteroides (NCT00366145). Este ensayo se completó en 2009 y los resultados mostraron una mejora significativa en la respuesta general sólo en niños, lo cual permitió aprobar la primera terapia con MSCs para el tratamiento de EICH pediátrico en Canadá y Japón. Posteriormente, *Mesoblast* lanzó un segundo ensayo (NCT02336230) finalizado en 2018, donde se evaluó el uso de MSCs alogénicas en niños con EICH refractaria a esteroides y también pudo observarse una mejora significativa en la respuesta general^{27, 63, 64}. Actualmente, esta terapia se encuentra en fase de registro en la Administración de Drogas y Alimentos (FDA) en los Estados Unidos. Asimismo, *Mesoblast* en este momento tiene tratamientos en fase III para la enfermedad de Crohn (NCT00482092), insuficiencia cardíaca crónica (NCT02032004), lumbalgia crónica (NCT02412735), y más recientemente, síndrome respiratorio agudo grave causado por infección con coronavirus-19 donde los resultados obtenidos muestran una mejora en la función respiratoria de los pacientes que recibieron MSCs contra placebo (<http://investorsmedia.mesoblast.com/static-files/f7c1b407-e130-4190-9283-620e0fe621a5>). Por otro lado, MSC autólogas de MO previamente acondicionadas *in vitro* para inducir regeneración cardíaca también han sido probadas en un ensayo de fase III por *Celyad* (Bélgica) para el tratamiento de la insuficiencia cardíaca crónica (NCT01768702)^{65, 66}. De forma similar, *TiGenix* patrocinó dos estudios con MSCs autólogas (NCT00475410)⁶⁷ y alogénicas (NCT01541579)⁶⁸ derivadas de tejido adiposo (ASC) para el tratamiento de fístulas perianales complejas en pacientes sin enfermedad inflamatoria intestinal (Tabla 1). En ambos casos, independientemente del origen de las ASC, los que recibieron el tratamiento tuvieron remisiones significativas de las fístulas respecto al placebo. Finalmente, la Comisión Europea aprobó el primer agente farmacéutico de MSCs (Alofisel) para tratar la enfermedad fistular enterocutánea relacionada con enfermedad de Crohn^{69, 70}. Actualmente, además de estos estudios clínicos, *TiGenix* cuenta con 3 ensayos activos en fase III aplicados a enfermedad de Crohn, sepsis grave e infarto agudo de miocardio.

Conclusiones y perspectivas

Los tipos de células más relevantes estudiados como terapias celulares incluyen células adultas como MSCs,

TABLA 1.— Ensayos clínicos en fase avanzada

Ensayo clínico/ patrocinante	Tipo de MSCs	Enfermedad en estudio	Resultados informados	Cita
NCT00366145 / Mesoblast	MSCs-MO alogénicas	EICH refractaria a esteroides	Aumento en la RG sólo en niños (64% respuestas positivas)	Martin et al ⁶³ Kurtzberg et al ⁶⁴
NCT02336230 / Mesoblast	MSCs-MO alogénicas	EICH refractaria a esteroides en niños	Aumento en la RG (68% vs. 40% placebo)	No publicado
NCT00482092 y NCT01233960 / Mesoblast	MSCs-MO alogénicas	Enfermedad de Crohn	N/D	No publicado
NCT02032004 / Mesoblast	MSCs-MO alogénicas	Insuficiencia cardíaca	N/D	No publicado
NCT02412735 / Mesoblast	MSCs-MO alogénicas	Lumbalgia	N/D	No publicado
NCT01768702 / Celyad	MSCs-MO autólogas	Insuficiencia cardíaca	Mejora en fracción de eyección (p = 0.006 vs. control)	Bartunek et al ⁶⁵ Teerlink et al ⁶⁶
NCT00475410 y NCT01020825 / TiGenix	MSCs-TA autólogas / alogénicas	Fístulas perianales	Cicatrización de fístula en el 50% de los pacientes al año de tratamiento.	Herreros et al ⁶⁷
TiGenix	MSCs-TA alogénicas	Sepsis grave	N/D	No publicado
TiGenix	MSCs-TA alogénicas	Infarto agudo de miocardio	N/D	No publicado
NCT01541579 / Alofisel	MSCs-TA alogénicas	Fistular enterocutánea (Enfermedad de Crohn)	Cicatrización de fístula en el 51% vs. 36% placebo Aprobación AEM	Panés et al ⁶⁸

EICH: enfermedad de injerto contra huésped; MO: médula ósea; TA: tejido adiposo; N/D: no disponible; RG: respuesta general, definida como mejora de al menos una etapa en la gravedad de la EICH aguda en un órgano sin deterioro en ningún otro órgano, o desaparición de cualquier signo de EICH de todos los órganos; AEM: Agencia Europea de Medicamentos

HSCs o embrionarias como VSEL e iPSCs. Las MSCs superan gran parte de las limitaciones de los otros tipos celulares y tienen un gran potencial terapéutico dado su efecto parácrino mediado por la secreción de múltiples factores, su capacidad migratoria hacia los sitios de lesión y sus propiedades inmunomoduladoras. A pesar de los avances científicos alcanzados en el área, solo un número muy limitado de aplicaciones ha llegado al mercado y están, por ende, al alcance del paciente. La falta de procedimientos estandarizados, junto con los problemas de regulación y seguridad, presentan un obstáculo importante en la maduración de la terapia con MSCs. No hay duda de que las terapias celulares son parte del futuro de la medicina clínica pero antes de que ello sea posible, se requieren definir protocolos estandarizados para el aislamiento, manipulación, expansión *in*

vitro y administración. Por último son necesarios estudios pre-clínicos y clínicos a gran escala que incluyan series extensas de casos generando información clínica sólida acerca del uso de las MSCs.

Conflicto de intereses: Ninguno para declarar

Bibliografía

1. Suman S, Domingues A, Ratajczak J, et al. Potential clinical applications of stem cells in regenerative medicine. *Adv Exp Med Biol* 2019; 1201: 1-22.
2. Ratajczak MZ, Bujko K, Wojakowski W. Stem cells and clinical practice: New advances and challenges at the time of emerging problems with induced pluripotent stem cell therapies. *Pol Arch Intern Med* 2016; 126: 879-90.
3. Han Y, Li X, Zhang Y, et al. Mesenchymal Stem Cells for Regenerative Medicine. *Cells* 2019; 8: 886.

4. Liu S, Zhou J, Zhang X, et al. Strategies to optimize adult stem cell therapy for tissue regeneration. *Int J Mol Sci* 2016; 17: 982.
5. Buzhor E, Leshansky L, Blumenthal J, et al. Cell-based therapy approaches: The hope for incurable diseases. *Regen Med* 2014; 9: 649-72.
6. Fiore EJ, Bayo JM, Garcia MG, et al. Mesenchymal stromal cells engineered to produce IGF-I by recombinant adenovirus ameliorate liver fibrosis in mice. *Stem Cells Dev* 2015; 24: 791-801.
7. Blau HM, Brazelton TR, Weimann JM. The evolving concept of a stem cell: Entity or function? *Cell* 2001; 105: 829-41.
8. Kumar B, Madabushi SS. Identification and isolation of mice and human hematopoietic stem cells. *Methods Mol Biol* 2018, 1842: 55-68.
9. Mills JC, Stanger BZ, Sander M. Nomenclature for cellular plasticity: are the terms as plastic as the cells themselves? *EMBO J* 2019; 38: 1-5.
10. Kopp JL, Grompe M, Sander M. Stem cells versus plasticity in liver and pancreas regeneration. *Nat Cell Biol* 2016; 18: 238-45.
11. Carpenter MK, Rao MS. Concise Review: Making and using clinically compliant pluripotent stem cell lines. *Stem Cells Transl Med* 2015; 4: 381-8.
12. English K, Wood KJ. Immunogenicity of embryonic stem cell-derived progenitors after transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2011; 16: 90-5.
13. O. Manilay J, L. Thompson H. Embryonic stem cell-derived hematopoietic stem cells: Challenges in development, differentiation, and immunogenicity. *Curr Top Med Chem* 2011; 11: 1621-37.
14. Ratajczak MZ, Marycz K, Poniewierska-Baran A, et al. Very small embryonic-like stem cells as a novel developmental concept and the hierarchy of the stem cell compartment. *Adv Med Sci* 2014; 59: 273-80.
15. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 2006; 126: 663-76.
16. Wernig M, Meissner A, Foreman R, et al. In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. *Nature* 2007; 448: 318-24.
17. Villa-Diaz LG, Ross AM, Lahann J, et al. Concise review: The evolution of human pluripotent stem cell culture: From feeder cells to synthetic coatings. *Stem Cells* 2013; 31: 1-7.
18. Garber K. RIKEN suspends first clinical trial involving induced pluripotent stem cells. *Nat Biotechnol* 2015; 33: 890-1.
19. Yoshihara M, Hayashizaki Y, Murakawa Y. Genomic instability of iPSCs: Challenges towards their clinical applications. *Stem Cell Rev Rep* 2017; 13: 7-16.
20. Liang G, Zhang Y. Genetic and epigenetic variations in iPSCs: Potential causes and implications for application. *Cell Stem Cell* 2013; 13: 149-59.
21. Tapia N, Schöler HR. Molecular obstacles to clinical translation of iPSCs. *Cell Stem Cell* 2016; 19: 298-309.
22. Walia B, Satija N, Tripathi RP, et al. Induced pluripotent stem cells: Fundamentals and applications of the reprogramming process and its ramifications on regenerative medicine. *Stem Cell Rev Rep* 2012; 8: 100-15.
23. Bellin M, Marchetto MC, Gage FH, et al. Induced pluripotent stem cells: The new patient? *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012; 13: 713-26.
24. Paik DT, Chandry M, Wu JC. Patient and disease-specific induced pluripotent stem cells for discovery of personalized cardiovascular drugs and therapeutics. *Pharmacol Rev* 2020; 72: 320-42.
25. Hung SSC, Khan S, Lo CY, et al. Drug discovery using induced pluripotent stem cell models of neurodegenerative and ocular diseases. *Pharmacol Ther* 2017; 177: 32-43.
26. Pittenger MF, Discher DE, Péault BM, et al. Mesenchymal stem cell perspective: cell biology to clinical progress. *npj Regen Med* 2019; 4: 22.
27. Galipeau J, Sensébé L. Mesenchymal Stromal Cells: Clinical challenges and therapeutic opportunities. *Cell Stem Cell* 2018; 22: 824-33.
28. Mitalipov S, Wolf D. Totipotency, pluripotency and nuclear reprogramming. *Adv Biochem Eng Biotechnol* 2009; 114: 185-99.
29. Condic ML. Totipotency: What it is and what it is not. *Stem Cells Dev* 2014; 23: 796-812.
30. Musarò A, Giacinti C, Pelosi L, et al. Stem cell-mediated muscle regeneration and repair in aging and neuromuscular diseases. *Eur J Histochem* 2007; 51: 35-44.
31. Visvader JE, Clevers H. Tissue-specific designs of stem cell hierarchies. *Nat Cell Biol* 2016; 18: 349-55.
32. Lv FJ, Tuan RS, Cheung KMC, et al. Concise review: The surface markers and identity of human mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2014; 32: 1408-19.
33. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006; 8: 315-7.
34. Nauta AJ, Fibbe WE. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood* 2007; 110: 3499-506.
35. Bayo J, Marrodán M, Aquino JB, et al. The therapeutic potential of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells on hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2014; 34: 330-42.
36. Fiore EJ, Mazzolini G, Aquino JB. Mesenchymal stem/stromal cells in liver fibrosis: Recent findings, old/new caveats and future perspectives. *Stem Cell Rev Rep* 2015; 11: 586-97.
37. Hass R, Kasper C, Böhm S, et al. Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): A comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC. *J cell commun signal* 2011; 9: 12.
38. Mushahary D, Spittler A, Kasper C, et al. Isolation, cultivation, and characterization of human mesenchymal stem cells. *Cytometry Part A* 2018; 93: 19-31.
39. Mahla RS. Stem cells applications in regenerative medicine and disease therapeutics. *Int J Cell Biol* 2016; 2016: 1-24.
40. De Miguel MP, Prieto I, Moratilla A, et al. Mesenchymal stem cells for liver regeneration in liver failure: From experimental models to clinical trials. *Stem Cells Intl* 2019; 2019: 1-12.
41. Wu LJ, Chen ZY, Wang Y, et al. Organoids of liver diseases: From bench to bedside. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 1913-27.
42. Ratajczak MZ, Ratajczak J. Extracellular microvesicles as game changers in better understanding the complexity of cellular interactions—From bench to clinical applications. *Am J Med Sci* 2017; 354: 449-52.
43. Fiore EJ, Domínguez LM, Bayo J, et al. Taking advantage of the potential of mesenchymal stromal cells in liver regeneration: Cells and extracellular vesicles as therapeutic strategies. *World J Gastroenterol* 2018; 24: 2427-40.
44. Kusuma GD, Carthew J, Lim R, et al. Effect of the microenvironment on mesenchymal stem cell paracrine signaling: Opportunities to engineer the therapeutic effect. *Stem Cells Dev* 2017; 26: 617-31.
45. Harrell CR, Fellabaum C, Jovicic N, et al. Molecular mechanisms responsible for therapeutic potential of mesenchymal stem cell-derived secretome. *Cells* 2019; 8: 467.

46. Théry C, Zitvogel L, Amigorena S. Exosomes: Composition, biogenesis and function. *Nat Rev Immunol* 2002; 2: 569-79.
47. Lötvall J, Hill AF, Hochberg F, et al. Minimal experimental requirements for definition of extracellular vesicles and their functions: A position statement from the International Society for Extracellular Vesicles. *J Extracell Vesicles* 2014; 3: 26913.
48. Ha D, Yang N, Nadihe V. Exosomes as therapeutic drug carriers and delivery vehicles across biological membranes: current perspectives and future challenges. *Acta Pharm Sin B* 2016; 6: 287-96.
49. Armstrong JPK, Holme MN, Stevens MM. Re-Engineering extracellular vesicles as smart nanoscale therapeutics. *ACS Nano* 2017; 11: 69-83.
50. Fiore E, Domínguez LM, Bayo J, et al. Human umbilical cord perivascular cells-derived extracellular vesicles mediate the transfer of IGF-I to the liver and ameliorate hepatic fibrogenesis in mice. *Gene Ther* 2020; 27: 62-73.
51. Prockop DJ, Youn Oh J. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): Role as guardians of inflammation. *Mol Ther* 2012; 20: 14-20.
52. Le Blanc K, Ringdén O. Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience. *J Intern Med* 2007; 262: 509-25.
53. Le Blanc K, Samuelsson H, Lönnies L, et al. Generation of immunosuppressive mesenchymal stem cells in allogeneic human serum. *Transplantation* 2007; 84: 1055-9.
54. Ullah I, Subbarao RB, Rho GJ. Human mesenchymal stem cells - Current trends and future prospective. *Biosci Rep* 2015; 35: 1-18.
55. P. De Miguel M, Fuentes-Julian S, Blazquez-Martinez A, et al. Immunosuppressive properties of mesenchymal stem cells: Advances and applications. *Curr Mol Med* 2012; 12: 574-91.
56. Wang Y, Chen X, Cao W, et al. Plasticity of mesenchymal stem cells in immunomodulation: Pathological and therapeutic implications. *Nat Immunol* 2014; 15: 1009-16.
57. Xu C, Yu P, Han X, et al. TGF- β promotes immune responses in the presence of mesenchymal stem cells. *J Immunol* 2014; 192: 103-9.
58. Han X, Yang Q, Lin L, et al. Interleukin-17 enhances immunosuppression by mesenchymal stem cells. *Cell Death Differ* 2014; 21: 1758-68.
59. Krueger TEG, Thorek DLJ, Denmeade SR, et al. Concise Review: Mesenchymal stem cell-based drug delivery: The Good, the Bad, the Ugly, and the Promise. *Stem Cells Transl Med* 2018; 7: 651-63.
60. Hoogduijn MJ, Betjes MGH, Baan CC. Mesenchymal stromal cells for organ transplantation: Different sources and unique characteristics? *Curr Opin Organ Transplant* 2014; 19: 41-6.
61. Wei X, Yang X, Han ZP, et al. Mesenchymal stem cells: A new trend for cell therapy. *Acta Pharmacol Sin* 2013; 34: 747-54.
62. Lazarus HM, Haynesworth SE, Gerson SL, et al. Ex vivo expansion and subsequent infusion of human bone marrow-derived stromal progenitor cells (mesenchymal progenitor cells): Implications for therapeutic use. *Bone Marrow Transplant* 1995; 16: 557-64.
63. Martin PJ, Uberti JP, Soiffer RJ, et al. Prochymal improves response rates in patients with steroid-refractory acute graft versus host disease (SR-GVHD) involving the liver and gut: Results Of A Randomized, Placebo-Controlled, Multicenter Phase III Trial In GVHD. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16: S169-70.
64. Kurtzberg J, Prasad V, Grimley MS, et al. Allogeneic human mesenchymal stem cell therapy (Prochymal®) as a rescue agent for severe treatment resistant GVHD in pediatric patients. *Biol Blood Marrow Transplant* 2010; 16: S169.
65. Bartunek J, Behfar A, Dolatabadi D, et al. Cardiopoietic stem cell therapy in heart failure: The C-CURE (cardiopoietic stem cell therapy in heart failURE) multicenter randomized trial with lineage-specified biologics. *J Am Coll Cardiol* 2013; 61: 2329-38.
66. Bartunek J, Davison B, Sherman W, et al. Congestive Heart Failure Cardiopoietic Regenerative Therapy (CHART-1) trial design. *Eur J Heart Fail* 2016; 18: 160-8.
67. Herreros MD, Garcia-Arranz M, Guadalajara H, et al. Autologous expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex cryptoglandular perianal fistulas: A phase III randomized clinical trial (FATT 1: Fistula advanced therapy trial 1) and long-term evaluation. *Dis Colon Rectum* 2012; 55: 762-72.
68. Panés J, García-Olmo D, Van Assche G, et al. Long-term efficacy and safety of stem cell therapy (Cx601) for complex perianal fistulas in patients with Crohn's Disease. *Gastroenterology* 2018; 154: 1334-42.
69. Phinney DG, Galipeau J, Krampera M, et al. MSCs: Science and trials. *Nat Med* 2013; 19: 812.
70. Galipeau J. The mesenchymal stromal cells dilemma-does a negative phase III trial of random donor mesenchymal stromal cells in steroid-resistant graft-versus-host disease represent a death knell or a bump in the road? *Cytotherapy* 2013; 15: 2-8.