



## PROGRESOS EN GASTROENTEROLOGÍA

# Bases racionales para la terapia celular en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal

Ingrid Ordás, Azucena Salas, Daniel Benítez, Elena Ricart y Julián Panés\*

*Departamento de Gastroenterología, Hospital Clínic, Institut D'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Centro de Investigación Biomédica en Red en el Área temática de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), Barcelona, España*

Recibido el 30 de diciembre de 2009; aceptado el 21 de enero de 2010  
Disponible en Internet el 8 de abril de 2010

### PALABRAS CLAVE

Enfermedad inflamatoria Intestinal;  
Enfermedad de Crohn;  
Colitis ulcerosa;  
Células madre hematopoyéticas;  
Células madre mesenquimales;  
Células dendríticas;  
Trasplante;  
Células T reguladoras

### KEYWORDS

Inflammatory bowel disease;  
Crohn's disease;  
Ulcerative colitis;  
Hematopoietic stem

### Resumen

La optimización en el uso de los tratamientos inmunosupresores y biológicos en el manejo de los pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal puede proporcionar un correcto control de la enfermedad en una proporción significativa de pacientes. Sin embargo, la ausencia de eficacia en un subgrupo de pacientes en los que la cirugía no se puede contemplar como una opción terapéutica válida ha hecho que se planteen nuevas alternativas de tratamiento. La terapia celular, en un intento de «restablecer el sistema inmunológico», está revolucionando la perspectiva de tratamiento para aquellos pacientes con una enfermedad grave refractaria. En la actualidad existen 2 tipos de terapia celular en fase de investigación con resultados preliminares prometedores. La primera consiste en la terapia basada en el trasplante de células madre (hematopoyéticas o mesenquimales) y la segunda consiste en la aplicación de células inmunes tolerogénicas. El trasplante de células madre ya se ha aplicado en humanos en múltiples enfermedades crónicas de base autoinmune o inflamatoria, con resultados positivos. Sin embargo, el tratamiento con células inmunes tolerogénicas se encuentra en la actualidad en una fase más experimental de investigación con modelos animales.

© 2009 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

### Rationale for cell therapy in the treatment of inflammatory bowel disease

#### Abstract

Optimized use of immunosuppressive and biological therapies in the management of patients with inflammatory bowel disease can achieve adequate control of the disease in a substantial proportion of patients. However, the lack of effectiveness in a subgroup of severely affected patients unsuitable for surgery has led to new emerging treatment

\*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jpanes@clinic.ub.es (J. Panés).

cells;  
Mesenchymal stem  
cells;  
Dendritic cells;  
Transplantation;  
Regulatory T cells

options. In an attempt to "restore the immune system", cell therapy is revolutionizing the treatment possibilities for patients with refractory severe disease.

Currently there are two types of cell therapy under investigation with promising preliminary results. The first is based on transplantation of stem cells (hematopoietic or mesenchymal) and the second consists of the application of tolerogenic immune cells. Stem cell transplantation has already been applied in humans in multiple chronic autoimmune or inflammatory diseases, with positive results. However, treatment with tolerogenic immune cells is currently only under investigation in animal models.

© 2009 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introducción

La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) engloba principalmente 2 entidades clínicas, la colitis ulcerosa (CU) y la enfermedad de Crohn (EC). A pesar de los notables progresos realizados en las últimas décadas en el conocimiento de las causas y los mecanismos implicados en el desarrollo de la EII, la etiología de esta sigue sin estar aclarada. Se postula que para su desarrollo se requiere de la interacción de varios factores genéticos, ambientales (incluyendo la microflora endógena) e inmunológicos, que darían lugar a una respuesta inmune exagerada. El tratamiento actual de la EII comprende el uso de agentes antiinflamatorios no específicos, como los aminosalicilatos, los corticoides, los inmunosupresores y los fármacos anti-TNF. Hasta hace unos años, el objetivo del tratamiento de la EII consistía en inducir y mantener la remisión clínica de los pacientes a largo plazo libre de corticoides. Actualmente, los objetivos del tratamiento son más ambiciosos e incluyen, entre otros, la cicatrización de las lesiones mucosas con la finalidad de disminuir la tasa de complicaciones y la necesidad de cirugía<sup>1</sup>. Sin embargo, a pesar de la creciente utilización y optimización de tratamientos inmunosupresores y biológicos, la necesidad de resección intestinal en la EC se ha mantenido estable en las últimas décadas<sup>2</sup>. Además, existe una proporción de pacientes que no responden a los tratamientos aprobados en la actualidad o que van a perder la respuesta a estos a lo largo del curso evolutivo de la enfermedad. En este subgrupo de pacientes, principalmente con EC, la imposibilidad de ofrecerles una solución quirúrgica debido a la extensión y/o localización de las lesiones representa una necesidad de tratamiento no satisfecha mediante las opciones actualmente disponibles. Por este motivo, son necesarios nuevos enfoques terapéuticos que, en condiciones ideales, deberían poder alterar el curso natural de la enfermedad. La terapia celular, en un intento de «restablecer el sistema inmunológico» está revolucionando la perspectiva de tratamiento para aquellos pacientes con EC en los que la terapia convencional no ha sido eficaz y a los cuales no se les puede ofrecer una alternativa válida de tratamiento quirúrgico. Este tipo de terapias no son aplicables en la actualidad a la CU, puesto que en caso de refractariedad al tratamiento médico se puede recurrir a la cirugía como alternativa terapéutica.

Las propiedades biológicas de las células madre y su capacidad de autorrenovación y regeneración de tejidos, junto con su capacidad inmunomoduladora, han suscitado un enorme interés para el tratamiento de enfermedades graves inmunológicamente mediadas, incluyendo la EC. La terapia celular se puede dividir en dos áreas diferentes: la terapia

con células madre y las terapias con células inmunes tolerogénicas como, por ejemplo, las células dendríticas.

## Terapias con células madre

Las células madre son células indiferenciadas que, a través de la replicación, tienen la capacidad tanto de autorrenovación como de diferenciación en células maduras especializadas<sup>3</sup>. En términos generales, existen 2 tipos de células madre: las células madre embrionarias y las células madre adultas. Estas últimas se encuentran en todos los tejidos del organismo y funcionan como un reservorio para sustituir las células dañadas. En la médula ósea coexisten 2 tipos de células madre, las células madre hematopoyéticas y las células madre mesenquimales, que forman parte de la matriz estructural de la médula ósea, contribuyen a la hematopoyesis y tienen la capacidad de diferenciarse en varias estirpes celulares. Las células progenitoras hematopoyéticas se caracterizan por expresar las glicoproteínas CD34+, CD133+, o ambas. Los criterios establecidos por la Sociedad Internacional de Terapia Celular para definir las células madre mesenquimales son: 1) adherencia al plástico de cultivo; 2) expresión de CD105, CD73 y CD90; 3) ausencia de expresión de marcadores hematopoyéticos, como CD45, CD34, CD14, CD11b, CD19, CD79a y HLA-DR, y 4) capacidad de diferenciarse en osteoblastos, adipocitos y condrocitos<sup>4</sup>.

El fundamento del trasplante con células madre hematopoyéticas consiste en el restablecimiento del sistema inmunológico tras la administración de una quimioterapia, que elimina los linfocitos T autorreactivos y las células memoria, para crear una nueva estirpe de linfocitos tolerantes. El trasplante de células madre hematopoyéticas incluye varias fases:

**Fase de movilización:** en esta fase se estimula la producción y liberación de células madre a la sangre periférica mediante el uso de quimioterapia y factores de crecimiento hematopoyético.

**Aféresis:** a través de una vía venosa, se recolectan las células madre que se han movilizado desde la médula ósea hacia la sangre periférica. Con esta técnica, se logra una cosecha de células madre hematopoyéticas hasta 10 veces mayor que la obtenida de la médula ósea.

**Criopreservación:** después de cada aféresis, las células madre recolectadas son congeladas y almacenadas utilizando sustancias nutritivas para evitar la muerte celular. Este es un procedimiento exclusivo para los trasplantes autólogos.

**Fase de acondicionamiento:** en esta fase se utilizan altas dosis de quimioterapia y anticuerpos antilinfocitos, con el propósito de eliminar el estado inmunológico preexistente

del paciente y crear un espacio en la cavidad medular para la proliferación de las células madre trasplantadas.

*Infusión de las células madre o trasplante:* en el caso del trasplante autólogo, las células madre son descongeladas para ser posteriormente reinfundidas al paciente a través de un catéter venoso central durante un periodo de 15–20 min. En el trasplante alogénico, las células se infunden inmediatamente después de la aféresis del donante.

El reporte de casos anecdóticos en pacientes con EC que presentaban una remisión sostenida de su enfermedad, tras ser sometidos a un trasplante de células madre hematopoyéticas por un proceso neoplásico, sugirió que esta podría ser una terapia eficaz para un subgrupo seleccionado de pacientes con EC refractaria. Concretamente, fue en 1993 cuando se reportó el primer caso de un paciente con EC sometido a un trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas por un linfoma, en el que se consiguió una remisión muy prolongada de su EC<sup>5–7</sup>.

El trasplante de células madre puede ser alogénico (las células provienen de otro individuo, consanguíneo o no) o autólogo (las células provienen del mismo individuo). Teóricamente, el trasplante alogénico debería estar asociado a una mayor probabilidad de curación, puesto que se produce una reacción de «injerto contra huésped», que eliminaría las presuntas células T causantes de la enfermedad que podrían haber sobrevivido a la fase de acondicionamiento<sup>8</sup>. Sin embargo, debido a la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH), el trasplante alogénico se asocia con una mayor morbilidad y mortalidad. Por este motivo, la mayoría de los trasplantes realizados en las enfermedades inflamatorias y autoinmunes son autólogos. El trasplante autólogo se puede realizar con un régimen de acondicionamiento mieloablativo o no mieloablativo<sup>9</sup>. En el primero, se utilizan tratamientos específicos que destruyen la médula ósea por completo, lo que resulta en una insuficiencia medular irreversible si no se reinfunden las células madre hematopoyéticas. Después de un régimen no mieloablativo, la recuperación hematopoyética se puede producir sin la infusión de las células madre; sin embargo, el trasplante posterior de células madre proporciona un apoyo y acorta la mielosupresión inducida por la quimioterapia<sup>10</sup>. El argumento esencial a favor de los regímenes no mieloablativos es que la mortalidad relacionada con este tratamiento debe ser muy baja o nula para enfermedades no malignas, habiéndose descrito una mortalidad inferior al 1% con este tipo de régimen. El estándar de tratamiento en la fase de acondicionamiento no mieloablativo incluye la utilización de ciclofosfamida y globulina antitumoral.

Hasta la fecha se han reportado 2 series de pacientes con EC tratados con trasplante autólogo de células madre como indicación primaria para la EII. La primera corresponde a un estudio fase I realizado en Chicago, en el que se incluyeron 12 pacientes con EC activa (moderada-grave) refractaria a los tratamientos convencionales incluyendo los anti-TNF<sup>11</sup>. Once de los 12 pacientes trasplantados entraron en remisión clínica sostenida, sin precisar tratamiento para el mantenimiento de la remisión, y tras un seguimiento medio de 18,5 meses, tan solo un paciente desarrolló recurrencia de la enfermedad. La segunda serie corresponde a un estudio fase I–II, llevado a cabo en Milán, en el que se incluyeron 4 pacientes de similares características, consiguiendo la remisión clínica en los 4 pacientes a los 3 meses, y la

remisión clínica sostenida tras un período medio de seguimiento de 16,5 meses en un 75% de los pacientes<sup>12</sup>. En ambas series, la mortalidad reportada es nula. En el primer estudio, se observó respuesta de los síntomas de la EC tras la administración de los fármacos empleados en la fase de movilización, mientras que en el segundo estudio se reportó un empeoramiento clínico de los pacientes en esta fase. Actualmente, en Europa se está llevando a cabo un estudio aleatorizado que evalúa la eficacia del trasplante autólogo de células madre en la EC refractaria (Autologous Stem Cell Transplantation for Crohn's Disease Trial). En este estudio, los pacientes son aleatorizados a recibir el trasplante al cabo de un mes de la fase de movilización, o al año, con el propósito de evaluar si el trasplante añade algún beneficio al efecto de la inmunosupresión utilizada para la movilización.

Aunque el trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas ofrece resultados prometedores para el tratamiento de la EC refractaria, este sigue siendo un tratamiento experimental no exento de posibles complicaciones que deja esta opción como alternativa para un número considerablemente reducido de pacientes, en los que la enfermedad no es susceptible de ser controlada mediante resección quirúrgica.

Recientemente, en el seno de la terapia celular basada en el uso de células madre y con un enfoque menos agresivo, se está aplicando el trasplante (autólogo o alogénico) de células madre mesenquimales para el tratamiento de enfermedades como la esclerosis múltiple, la EICH y la EC.

Las células mesenquimales se pueden obtener de cualquier tejido conectivo, incluyendo la médula ósea y el tejido adiposo. Estas células se caracterizan por poseer un fenotipo no inmunogénico y, por lo tanto, su uso en trasplantes alogénicos podría no requerir de inmunosupresión previa.

La capacidad pluripotente de las células mesenquimales (pueden diferenciarse en múltiples estirpes celulares), su relativa facilidad para expandirse en cultivo, así como sus propiedades inmunomoduladoras hacen que este tipo de células madre sea una prometedora fuente para promover la regeneración de tejidos dañados in vivo<sup>13</sup>. En modelos animales se ha observado que tras el trasplante de células mesenquimales, estas poseen la capacidad de migrar hacia los tejidos dañados. Si bien los mecanismos subyacentes a la migración de estas células no se han aclarado, la evidencia sugiere que tanto las quemoquinas como sus receptores y las moléculas de adhesión estarían implicados en este proceso. Las células mesenquimales ejercen importantes funciones inmunomoduladoras, siendo capaces de regular la respuesta inmune innata, que juega un papel clave en la patogénesis de la EC. En particular, las células mesenquimales inhiben la diferenciación de las células dendríticas, la activación de células T, la proliferación de células B y la quimiotaxis<sup>14–17</sup>. Se ha observado que las células mesenquimales obtenidas de tejido adiposo ejercen un efecto inmunosupresor in vitro, inhibiendo la proliferación celular periférica de células mononucleares y la producción de IFN- $\gamma$ , mientras que incrementan la secreción de IL-10<sup>18</sup>. Una de las ventajas que ofrecen las células mesenquimales procedentes de tejido adiposo frente a las procedentes de la médula ósea es que las primeras son más fácilmente accesibles para su obtención.

Uno de los posibles riesgos del trasplante con células mesenquimales es la diferenciación ectópica de estas células, que podría dar lugar a tipos celulares no deseados, así como la posibilidad del crecimiento de tumores. A pesar de que estas son cuestiones muy importantes que deben ser cuidadosamente consideradas, la evidencia científica hasta la fecha apoya la evaluación de la terapia celular, en particular el trasplante de células mesenquimales, en el tratamiento de casos refractarios de EC. En humanos, disponemos de resultados recientes alentadores de un estudio fase II, multicéntrico, aleatorizado y controlado con placebo, que ha evaluado la eficacia y seguridad de la administración local de células mesenquimales provenientes de adipocitos para el tratamiento de fístulas perianales complejas, incluyendo pacientes con y sin EC<sup>19</sup>.

## Terapias con células inmunes tolerogénicas

El éxito de las terapias basadas en el trasplante de células madre hematopoyéticas en el tratamiento de enfermedades autoinmunes e inflamatorias ha llevado a considerar el potencial terapéutico que podría tener la administración de poblaciones seleccionadas de células inmunes para alterar el curso natural de la enfermedad<sup>20</sup>. En la EC, en la que se ha involucrado una pérdida de tolerancia frente a las bacterias comensales para el desarrollo de la enfermedad, estaría justificado probar la eficacia de este tipo de terapias celulares. En modelos experimentales de autoinmunidad, EICH y trasplante, 2 enfoques de terapia con células inmunes han mostrado resultados prometedores. Estos incluyen la administración de células T reguladoras (Treg) y células dendríticas tolerogénicas. Las células Treg son fundamentales para la prevención de la autoinmunidad y el mantenimiento de la autotolerancia<sup>21</sup>, y existe una fuerte evidencia de su efecto protector en modelos murinos de autoinmunidad. En particular, las células CD4+CD25+ son capaces de revertir la progresión de la enfermedad en un modelo animal de inflamación intestinal<sup>22</sup>. A pesar de los resultados experimentales prometedores, la administración de células Treg en humanos para el tratamiento de enfermedades de base autoinmune requiere resolver todavía muchas cuestiones para garantizar la reproducibilidad y seguridad de este procedimiento. Una cuestión que limita la aplicabilidad de células Treg in vivo es si realmente es necesaria una población de estas células «antígeno-específica», o si una población policlonal sería suficiente para lograr efectos beneficiosos. Las células Treg actúan sobre las células dendríticas promoviendo una respuesta tolerogénica de estas y previniendo su maduración y la activación de poblaciones efectoras. Sin embargo, en un ambiente inflamatorio como el que presentan los pacientes con EC activa, las células dendríticas podrían presentar ya un fenotipo maduro resistente a los efectos supresores de las células Treg. En base a esto, cabría pensar que la aplicación de células Treg en pacientes con EC debería ser administrada en períodos de remisión clínica para facilitar su efecto sobre las células dendríticas inmaduras, promoviendo un estado de tolerancia y prevención de las recaídas.

Una alternativa al tratamiento con células Treg sería la administración de células dendríticas tolerogénicas. Estas pueden generarse in vitro con la utilización de vitamina D,

dexametasona, péptido intestinal vasoactivo o IL-10<sup>23</sup>. Las células dendríticas tolerogénicas difieren de las maduras en que las primeras presentan una menor expresión de moléculas coestimuladoras y producen una menor cantidad de citocinas proinflamatorias, mientras que promueven la producción de IL-10. La eficacia de estas células tolerogénicas para impulsar la tolerancia in vivo ha sido demostrada en modelos experimentales de colitis<sup>24</sup>. Sin embargo, el potencial papel terapéutico de esta terapia celular en humanos requiere de la realización de estudios diseñados específicamente para evaluar este objetivo. El beneficio de la infusión de células dendríticas tolerogénicas en la EC dependerá de su capacidad para migrar a la mucosa intestinal o tejidos linfoides asociados e inhibir la respuesta inmune proinflamatoria.

## Conclusiones

La etiología precisa de la EC no se conoce con exactitud, pero para su desarrollo se requiere una alteración en el sistema inmune innato, que provoca una pérdida de tolerancia frente a gérmenes habitualmente no patógenos de la flora bacteriana comensal. En el proceso de reconocimiento bacteriano, están implicadas las células presentadoras de antígeno (células dendríticas), que provocan una activación de los linfocitos T, generando en la EC una respuesta inflamatoria inadecuada.

Existe un subgrupo de pacientes con EC especialmente difíciles de tratar, ya sea porque han perdido la respuesta a los tratamientos médicos disponibles o porque, debido a la localización y extensión de las lesiones, la alternativa quirúrgica implicaría una resección intestinal que podría dar lugar a complicaciones nutricionales severas y a un deterioro importante de su calidad de vida. Es este subgrupo de pacientes el que podría beneficiarse de las nuevas alternativas de terapia celular en desarrollo.

La administración de células madre, ya sea hematopoyéticas o mesenquimales, bajo las condiciones apropiadas y en pacientes seleccionados, puede proporcionar una mejoría notable en pacientes con EC refractaria. Sin embargo, son necesarios más ensayos clínicos y un mayor seguimiento a largo plazo de los pacientes sometidos a estos tratamientos para determinar con exactitud la metodología más apropiada y los efectos adversos de estos procedimientos.

Tras el trasplante autólogo de células madre en la EC pueden producirse recaídas de la enfermedad; por lo tanto, esta terapia no debe considerarse curativa, sino más bien como un tratamiento con capacidad para modificar la historia natural de la enfermedad. Finalmente y para concluir, remarcar que las terapias celulares no están exentas de toxicidad y efectos secundarios, por lo que es imprescindible seleccionar muy bien a los pacientes que vayan a someterse a estos tratamientos.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

1. Allez M, Lemann M, Bonnet J, Cattan P, Jian R, Modigliani R. Long term outcome of patients with active Crohn's disease exhibiting extensive and deep ulcerations at colonoscopy. *Am J Gastroenterol.* 2002;97:947–53.
2. Cosnes J, Nion-Larmurier I, Beaugerie L, Afchain P, Tiret E, Gendre JP. Impact of the increasing use of immunosuppressants in Crohn's disease on the need for intestinal surgery. *Gut.* 2005;54:237–41.
3. Burt RK, Loh Y, Pearce W, Beohar N, Barr WG, Craig R, et al. Clinical applications of blood-derived and marrow-derived stem cells for nonmalignant diseases. *JAMA.* 2008;299:925–36. Review.
4. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy.* 2006;8:315–7.
5. Lopez-Cubero SO, Sullivan KM, McDonald GB. Course of Crohn's disease after allogeneic marrow transplantation. *Gastroenterology.* 1998;114:433–40.
6. Kashyap A, Forman SJ. Autologous bone marrow transplantation for non-Hodgkin's lymphoma resulting in long-term remission of coincidental Crohn's disease. *Br J Haematol.* 1998;103:651–2.
7. Drakos PE, Nagler A, Or R. Case of Crohn's disease in bone marrow transplantation. *Am J Hematol.* 1993;43:157–8.
8. Marmont AM. Immunoablation followed or not by hematopoietic stem cells as an intense therapy for severe autoimmune diseases. New perspectives, new problems. *Haematologica.* 2001;86:337–45.
9. Burt RK, Marmont A, Oyama Y, Slavin S, Arnold R, Hiepe F, et al. Randomized controlled trials of autologous hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases: the evolution from myeloablative to lymphoablative transplant regimens. *Arthritis Rheum.* 2006;54:3750–60.
10. Statkute L, Verda L, Oyama Y, Traynor A, Villa M, Shook T, et al. Mobilization, harvesting and selection of peripheral blood stem cells in patients with autoimmune diseases undergoing autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2007;39:317–29.
11. Oyama Y, Craig RM, Traynor AE, Quigley K, Statkute L, Halverson A, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with refractory Crohn's disease. *Gastroenterology.* 2005;128:552–63.
12. Cassinotti A, Annaloro C, Ardizzone S, Onida F, Della Volpe A, Clerici M, et al. Autologous haematopoietic stem cell transplantation without CD34+ cell selection in refractory Crohn's disease. *Gut.* 2008;57:211–7.
13. Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol.* 2008;8:726–36.
14. Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood.* 2005;105:1815–22.
15. Jiang XX, Zhang Y, Liu B, Zhang SX, Wu Y, Yu XD, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. *Blood.* 2005;105:4120–6.
16. Beyth S, Borovsky Z, Mevorach D, Liebergall M, Gazit Z, Aslan H, et al. Human mesenchymal stem cells alter antigen-presenting cell maturation and induce T-cell unresponsiveness. *Blood.* 2005;105:2214–9.
17. Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, Giunti D, Cappiello V, Cazzanti F, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood.* 2006;107:367–72.
18. Gonzalez-Rey E, Anderson P, González MA, Rico L, Büscher D, Delgado M. Human adult stem cells derived from adipose tissue protect against experimental colitis and sepsis. *Gut.* 2009;58:929–39.
19. Garcia-Olmo D, Herreros D, Pascual I, Pascual JA, Del-Valle E, Zorrilla J, et al. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula: a phase II clinical trial. *Dis Colon Rectum.* 2009;52:79–86.
20. Salas A, Ricart E, Panés J. Cell therapies for inflammatory bowel diseases. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2009;3:321–4.
21. Kim JM, Rasmussen JP, Rudensky AY. Regulatory T cells prevent catastrophic autoimmunity throughout the lifespan of mice. *Nat Immunol.* 2007;8:191–7.
22. Mottet C, Uhlig HH, Powrie F. Cutting edge: cure of colitis by CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Immunol.* 2003;170:3939–43.
23. Suci-Foca N, Berloco P, Cortesini R. Tolerogenic dendritic cells in cancer, transplantation, and autoimmune diseases. *Hum Immunol.* 2009;70:277–80.
24. Gonzalez-Rey E, Delgado M. Therapeutic treatment of experimental colitis with regulatory dendritic cells generated with vasoactive intestinal peptide. *Gastroenterology.* 2006;131:1799–811.