



**scienza attiva<sup>®</sup>**

**Le cellule staminali del**

**midollo osseo**

**Proff. Antonio Uccelli e Giovanni Novi**

**Dipartimento di Neuroscienze, Oftalmologia e Genetica,**

**Università di Genova**

## **Introduzione alle cellule staminali**

Il mondo delle cellule staminali rappresenta un sistema complesso e solo parzialmente conosciuto che, in questi ultimi anni, è studiato con grande interesse dai ricercatori in tutto il mondo anche perché visto come una possibile “arma” terapeutica per affrontare in modo innovativo e, in teoria, più efficace malattie (infiammatorie, degenerative, autoimmuni, tumorali) altrimenti difficilmente trattabili.

Per comprendere le grandi aspettative della scienza medica verso le cellule staminali è necessario capire cosa siano le cellule staminali, quali siano i tipi di staminali verso cui si sta spostando l’attenzione degli studiosi, come si comportino nel nostro organismo e, soprattutto, quali siano le speranze di applicazione nella quotidianità clinica.

Le staminali sono cellule indifferenziate (totipotenti, come la cellula staminale embrionale) o non completamente differenziate (pluripotenti, come le cellule staminali emopoietiche/mesenchimali), la cui esistenza venne postulata dallo scienziato russo Alexander Maksimov nel 1908 e la cui prima osservazione si deve a Joseph Altman nel 1960, in esperimenti sul cervello di animali da laboratorio adulti (porcellino d’india) e, in seguito, a Ernest McCulloch nel 1963, in esperimenti di trapianto di midollo osseo in topi irradiati.

Le staminali sono caratterizzate da due fondamentali proprietà che permettono loro di dare vita, partendo da una cellula madre, a due cellule figlie delle quali una identica alla madre, l’altra diversa e già indirizzata verso il differenziamento. Questa capacità, definita di “divisione asimmetrica”, si basa su due proprietà distinte:

1) **Automantenimento**: proprietà che permette loro di preservarsi in maniera stabile nel tempo; le staminali non differenziate possono riprodursi senza limiti, sono cellule praticamente immortali.

2) **Differenziazione**: proprietà che permette loro di maturare, trasformandosi, in maniera irreversibile, in cellule specializzate con potenzialità riproduttiva limitata (cioè mortali) e soggette a un ricambio continuo: i globuli rossi, per esempio, vivono in media 120 giorni.

### **Emopoiesi e cellule staminali emopoietiche**

Tra i vari tipi di cellule staminali che sono state isolate e caratterizzate finora, troviamo le cellule staminali emopoietiche (HSC), cellule pluripotenti, rotondeggianti, simili ai normali linfociti, residenti, prima della nascita, nel sacco vitellino, nel fegato e nella milza e, dopo la nascita, nel midollo osseo delle ossa lunghe e piatte (ad esempio, femore, tibia, sterno, costole).

Le HSC sono in grado di differenziarsi nelle cellule della componente corpuscolata del sangue (globuli rossi, globuli bianchi e piastrine), in un processo chiamato emopoiesi o ematopoiesi (Figura 1).

La staminale, quando inizia il suo percorso differenziativo, matura in una cellula della linea mieloide (da cui originano i globuli rossi, le piastrine e i granulociti) o in una cellula della linea linfoide (da cui originano i linfociti).

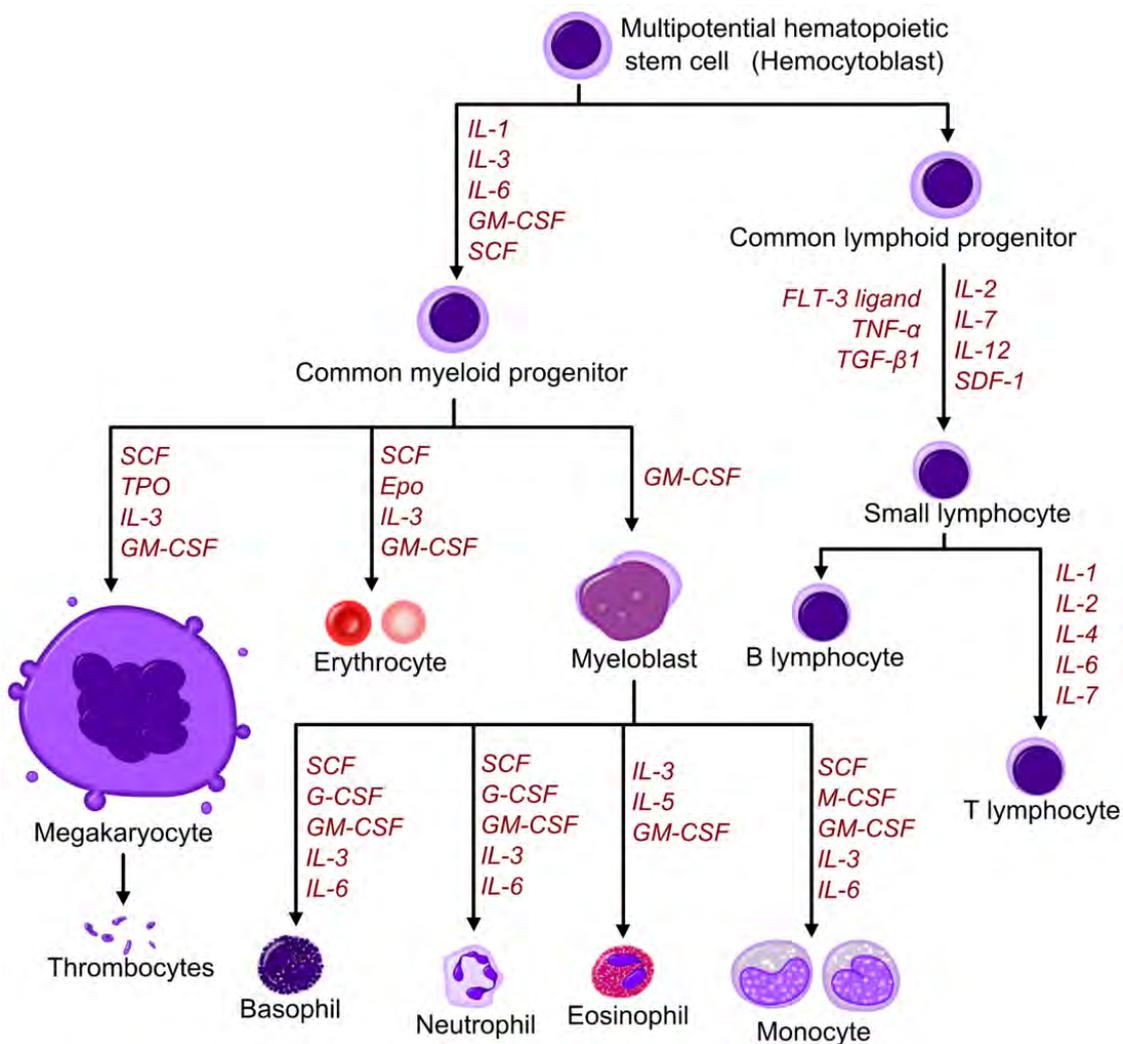
Questo percorso deve essere altamente efficiente (in media vengono prodotte  $10^{11}$ -  $10^{12}$  cellule del sangue quotidianamente) ma al contempo plastico e regolato, in funzione dei cambiamenti nello stato di benessere dell'organismo: per esempio, un'infezione stimolerà il midollo a produrre un numero maggiore di globuli bianchi (granulociti e linfociti), un sanguinamento stimolerà la produzione di globuli rossi e piastrine, etc... L'emopoiesi è regolata dalle caratteristiche del microambiente in cui si sviluppano le staminali, come verrà descritto in seguito, ma subisce anche l'influenza di organi lontani che producono molecole solubili, chiamate citochine emopoietiche, in risposta a stimoli come la mancanza di ossigeno, le infezioni, ecc.. Questi fattori solubili sono in grado, legandosi a specifici recettori sulla membrana delle cellule, di spostare o accelerare la maturazione delle HSC verso un determinato tipo di cellula differenziata. Ad esempio, una persona che vive in montagna, dove la percentuale di ossigeno è più bassa del normale, produrrà nel rene una maggiore quantità di Eritropoietina (Epo) che determinerà una maggior produzione di globuli rossi. Di conseguenza, aumenterà il numero di globuli rossi circolanti, così da facilitare il trasporto di ossigeno ai tessuti periferici. Molti conoscono l'Epo solo per il suo ruolo nel doping sportivo, come agente che incrementa la resistenza alla fatica, piuttosto che per il suo ruolo fisiologico ben più rilevante. Naturalmente, ogni citochina emopoietica produce effetti diversi sulle HSC; questo è possibile grazie all'espressione di particolari proteine (dette fattori di trascrizione) specifiche per ogni linea cellulare e per ogni fase del differenziamento. Questi fattori sono responsabili

dell'attivazione o dell'inattivazione di geni che serviranno alla cellula matura per sopravvivere o per adempiere alle proprie funzioni (come, ad esempio, i geni per l'emoglobina nei globuli rossi).

**Figura 1.** Emopoiesi.

Da un'unica cellula originano tutte le cellule del sangue in un processo complesso, altamente regolato che avviene, tutto o in gran parte, all'interno del midollo osseo. A lato di ogni freccia sono indicate le citochine emopoietiche indispensabili per il differenziamento della staminale verso lo stipite cellulare sottostante.

Epo: eritropoietina, Tpo: trombopoietina, SCF: stem cell factor, IL: interleuchina, GM-CSF: fattore stimolante le colonie granulocitarie e monocitarie, G-CSF: fattore stimolante le colonie granulocitarie, M-CSF: fattore stimolante le colonie monocitarie



## Il microambiente delle HSC: la nicchia emopoietica

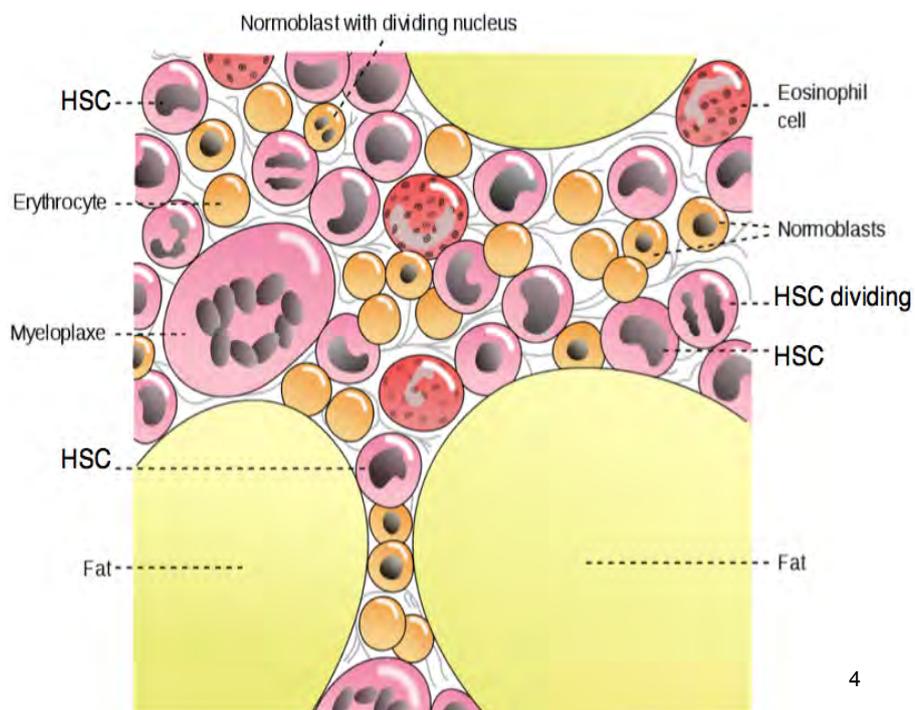
Le popolazioni di cellule staminali emopoietiche si organizzano in “nicchie”, specifiche zone anatomiche nel midollo osseo che regolano le modalità con cui le cellule staminali partecipano alla genesi del tessuto emopoietico, al suo mantenimento e alla sua “riparazione”. La nicchia difende le cellule staminali dall'eccessivo consumo mentre protegge l'ospite (l'uomo) da una loro proliferazione incontrollata.

La nicchia emopoietica costituisce un'unità base essenziale che bilancia la risposta delle cellule staminali in funzione delle necessità dell'organismo. In particolari casi, è possibile che la nicchia causi malattia portando ad aberrazioni delle funzioni delle staminali stesse o di altre strutture.

La nicchia emopoietica ha una composizione quanto mai complessa, non essendo costituita solo da cellule emopoietiche, da cellule parzialmente differenziate derivanti dalle staminali e dall'impalcatura ossea del midollo, ma anche da cellule stromali (cellule di sostegno), da osteoblasti (cellule responsabili della costruzione dell'osso), da cellule adipose (che costituiscono il grasso del midollo osseo), da cellule endoteliali (che costituiscono i vasi sanguigni) e da una fitta rete di molecole proteiche che consentono l'adesione fra i vari tipi cellulari (adesione intercellulare) e fra le cellule e l'impalcatura del midollo.

Gli scienziati attualmente stanno studiando le varie componenti della nicchia e stanno cercando di replicare questo microambiente sia in vitro (in colture cellulari), sia in vivo (in animali da laboratorio). La grande attenzione rivolta verso la nicchia emopoietica è dovuta al fatto che la conoscenza dei complessi meccanismi alla base di questa struttura, e quindi alla base del differenziamento e dell'automantenimento cellulare, potrebbero aprire la strada a terapie rigenerative per la cura di malattie umane.

**Figura 2.** La nicchia emopoietica. Le HSC sono circondate da numerosi tipi diversi di cellule e da una matrice extracellulare molto complessa (non rappresentata)

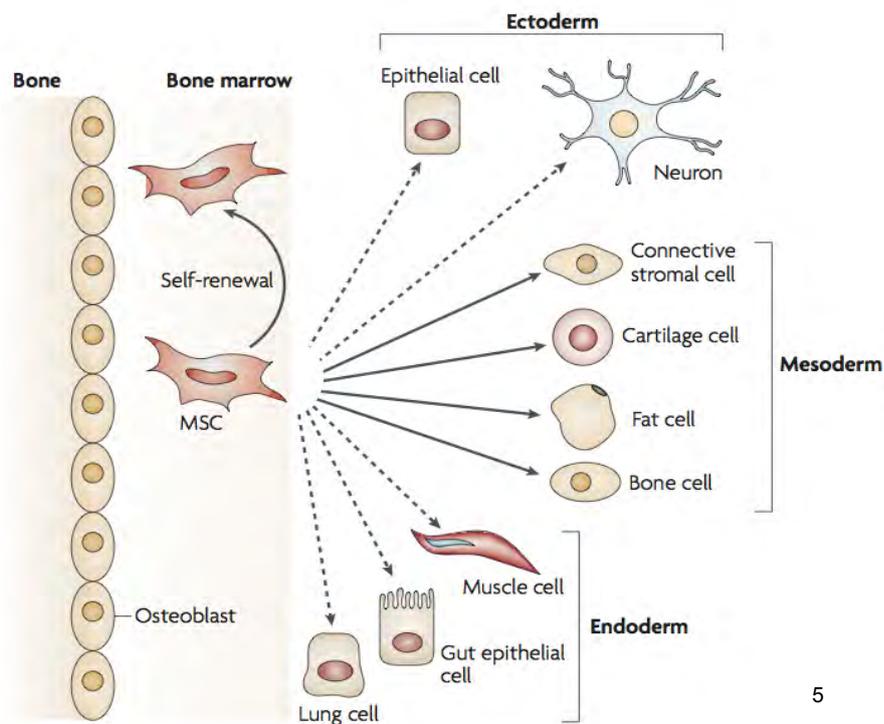


### Le cellule staminali mesenchimali

Le cellule staminali mesenchimali (MSC) sono cellule pluripotenti, di forma stellata, presenti in molti distretti del nostro organismo che si differenziano dalle HSC per alcune importanti caratteristiche: le capacità transdifferenziative, le proprietà anti infiammatorie/immunomodulanti e la funzione neuroprotettiva. Inoltre, sono proprio le MSC che gestiscono il microambiente della nicchia emopoietica favorendo da una parte la sopravvivenza delle HSC nel midollo ma al contempo mantenendole in uno stato di quiescenza. Inoltre contribuiscono alla regolazione dei processi che governano il processo differenziativo delle HSC.

Per quanto riguarda la transdifferenziazione, questa proprietà, evidenziata per il momento solo in animali da esperimento, permette alle MSC di differenziarsi in cellule molto specifiche saltando da un cammino differenziativo ad un altro. (Figura 3). Per capire meglio è utile fare un esempio: se il processo differenziativo normale permette alle MSC di differenziarsi in fibroblasti (cellule che producono l'impalcatura della maggior parte dei tessuti), condroblasti (cellule che formano la cartilagine), adipoblasti (cellule costituenti il tessuto adiposo) e in osteoblasti (cellule indispensabili nella genesi dell'osso), ossia cellule di tipo mesodermico, la transdifferenziazione consente alle MSC di differenziarsi anche in neuroni e cellule epiteliali, tipi cellulari ectodermici, in miociti (cellule muscolari), enterociti (cellule dell'apparato digerente) e pneumociti (cellule che costituiscono gli alveoli del polmone), cellule di tipo endodermico. E' come se un seme di arancio che normalmente è in grado di dare vita a un albero di arance, transdifferenziandosi, diventasse capace, in particolari "terreni", di generare anche un albero di albicocche o di ciliegie.

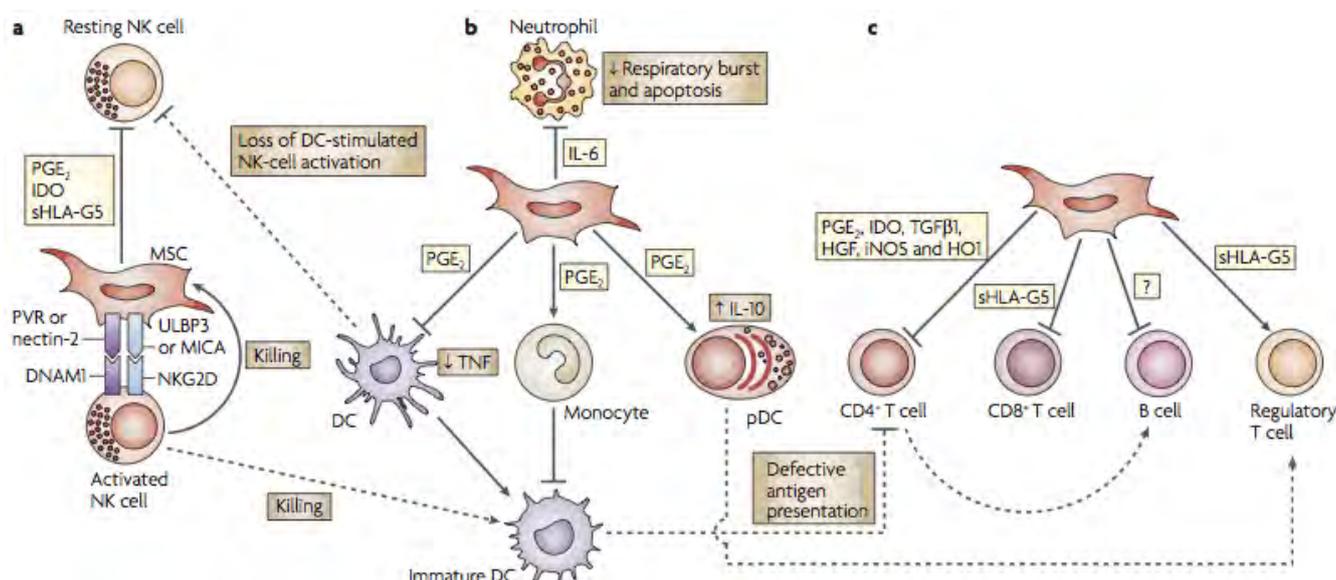
**Figura 3.** Possibili percorsi differenziativi delle MSC: le linee continue indicano il percorso differenziativo "tradizionale", le linee tratteggiate indicano le possibili vie transdifferenziative.



La capacità transdifferenziativa delle MSC in vivo sembrerebbe essere molto modesta se non del tutto assente e l'eventuale ruolo di questo processo in un individuo sano o malato rimane ancora oscuro. Sebbene la ricerca in questo settore sia ancora in una fase iniziale e molti aspetti del fenomeno debbano essere chiariti, le osservazioni condotte fino ad oggi consentono di ipotizzare straordinarie possibilità terapeutiche, mai immaginate in passato.

La seconda proprietà delle MSC, quella forse al momento più interessante, è la capacità di esercitare un effetto anti-infiammatorio e immunomodulante (Figura 4). L'infiammazione è quel processo che permette all'organismo di mettere in atto meccanismi di difesa in risposta ad eventi dannosi e di attivare successivamente i processi di riparazione dei tessuti. Naturalmente, in un soggetto sano l'infiammazione non deve essere contrastata per non esporre l'individuo a potenziali danni. Al contrario, in alcune malattie, è possibile che l'infiammazione si attivi in risposta a stimoli che non dovrebbero normalmente essere considerati dannosi; in questi casi, molto spesso, è proprio l'infiammazione che causa i danni maggiori, portando all'attivazione del sistema immunitario (con un meccanismo che coinvolge anche un aumento dell'emopoiesi mediata da citochine come IL-1 e IL-6, Figura 1) e quindi al danno tissutale. Quest'alterazione del processo infiammatorio avviene, per esempio, nella sclerosi multipla, dove, con un meccanismo non ancora chiarito, l'infiammazione del sistema nervoso centrale porta all'attivazione del sistema immunitario, al danneggiamento della guaina che avvolge i neuroni e quindi ai sintomi della malattia.

**Figura 4.** Effetti immunomodulanti delle MSC. e cellule Mesenchimali bloccano l'attivazione dei linfociti B e T ma facilitano quella dei linfociti regolatori (cellule che sorvegliano sul sistema immunitario); inoltre, bloccano o rallentano l'attivazione dei linfociti da parte di altre cellule, dette cellule dendritiche (in figura DC). L'immunomodulazione MSC mediata inibisce anche i neutrofili e, indirettamente, le cellule NK quiescenti. A lato di ogni freccia sono indicate le citochine che influenzano il processo di immunomodulazione..

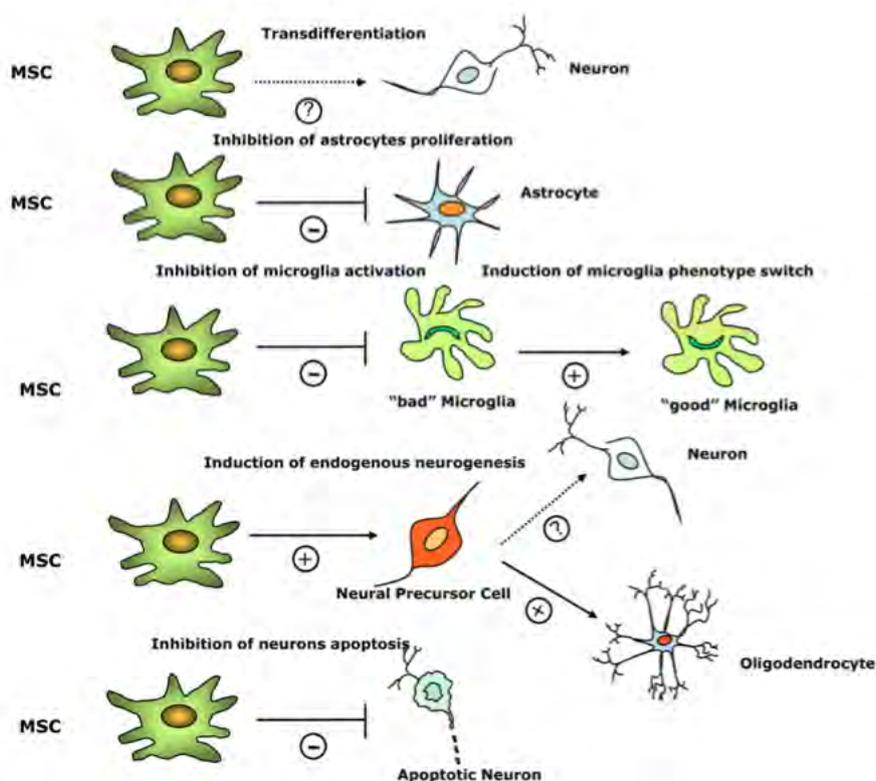


Le MSC non solo sono in grado di esercitare una funzione anti infiammatoria, ma hanno anche un ruolo immunomodulante, funzione che garantisce loro il controllo diretto sul sistema immunitario bloccandone l'attivazione.

Il meccanismo con cui ciò avviene è veramente molto complesso e differente per ogni tipo di cellula con cui la MSC interagisce; quello che però sta emergendo è che le MSC, per esercitare il loro ruolo immunomodulante, non avrebbero bisogno di "avvicinarsi" alle cellule bersaglio ma sarebbero in grado, mediante il rilascio di fattori solubili, solo parzialmente noti, di bloccare a distanza le cellule immunitarie e l'infiammazione. Questo potrebbe spiegare come, dopo somministrazione di cellule staminali mesenchimali nel sangue periferico, sia possibile osservarne gli effetti sul sistema nervoso centrale che queste cellule riescono a raggiungere in modo limitatissimo.

L'ultima ma non meno importante caratteristica delle MSC è l'attività neuro protettiva (Figura 5). Normalmente, quando una cellula viene esposta a un danno (noxa), se non viene uccisa o non viene danneggiata in modo irreparabile, tenta di attivare meccanismi riparativi per ritornare alla normalità. Questo è vero solo per alcuni organi; infatti, nel sistema nervoso centrale, quando una cellula è danneggiata, a causa della complessità della cellula neurale e, più in generale, del sistema nervoso centrale stesso, la riparazione è molto spesso rallentata oppure bloccata completamente.

**Figura 5.** Effetti neuroprotettivi delle MSC. Le linee tratteggiate indicano che mancano evidenze scientifiche a supporto del fenomeno



In esperimenti sui topi è stato osservato che le MSC sono in grado di produrre molecole solubili che facilitano la riparazione cellulare e/o indurre le cellule di sostegno del sistema nervoso centrale, dette cellule gliali, a proteggere i neuroni danneggiati. Sembra anche che le MSC riescano a bloccare le cellule addette alla rimozione dei neuroni danneggiati, impedendo la formazione di una cicatrice.

Non è inoltre da escludere la capacità delle MSC di transdifferenziarsi in cellule nervose o di attivare la produzione di nuovi neuroni o cellule di sostegno, che possano sostituire le cellule perse, a partire da precursori locali (chiamate cellule staminali neurali) presenti nel cervello.

### **Impieghi terapeutici**

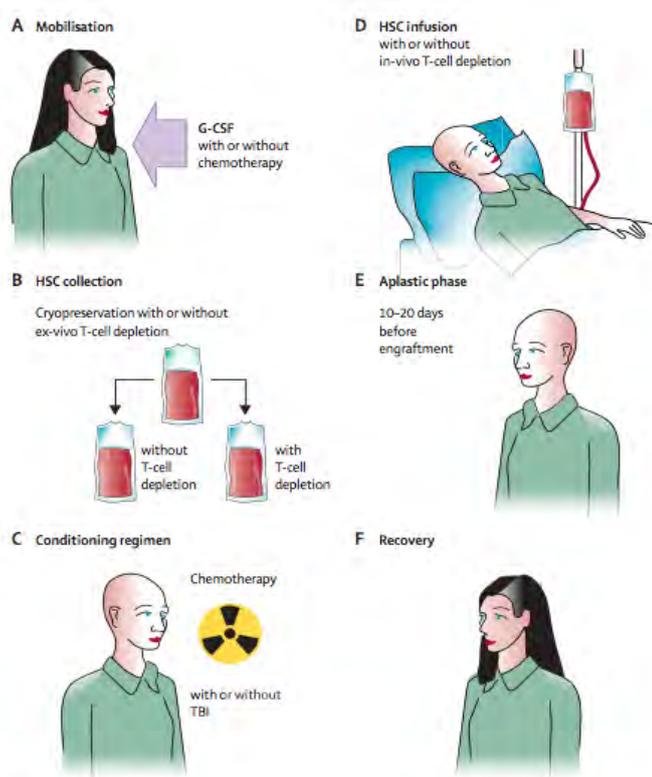
L'uso delle staminali a scopi terapeutici è una delle grandi promesse della medicina moderna. Il primo tentativo di trapianto di midollo osseo si deve a un medico francese (Georges Mathè) che tentò di curare alcuni tecnici di un impianto nucleare il cui midollo osseo era stato danneggiato dall'esposizione accidentale alle radiazioni nel 1959; purtroppo il tentativo non ebbe buon esito. Soltanto 10 anni dopo nell'Università del Minnesota grazie a Robert Alan Good si riuscì ad effettuare il primo trapianto su un bambino di 5 anni affetto da una rara immunodeficienza che lo avrebbe portato alla morte in 5 anni. Il dottor Good è oggi ritenuto il "fondatore" della moderna immunologia.

Le staminali emopoietiche, usate quindi nei trapianti di midollo, sono sfruttate da molto tempo nel campo dell'emato-oncologia per il trattamento di alcune condizioni altrimenti mortali come leucemie, anemie emolitiche molto gravi o immunodeficienze congenite. In queste patologie il trapianto di HSC isolate da un donatore compatibile permette la ricostruzione del sistema immunitario, dopo che quello malato, per esempio nel caso di una leucemia o di un linfoma, è stato eliminato attraverso l'uso di terapie immunosoppressive a base di chemioterapici. In questo caso si parla di allotrapianto. In altri casi, è possibile utilizzare le HSC dello stesso paziente che diventa pertanto donatore oltre che ricevente del trapianto, sempre dopo che il sistema immunitario malato è stato eliminato (autotrapianto) (Figura 6).

Nel caso dell'allotrapianto i possibili benefici in termini di guarigione sono ovviamente assai maggiori rispetto all'autotrapianto poichè il nuovo sistema immunitario origina da un donatore "sano". Tuttavia, i rischi correlati con la procedura sono molto elevati a causa della possibilità che il nuovo sistema immunitario, qualora non provenga da un donatore parzialmente compatibile (non-HLA identico), non sia capace di riconoscere i tessuti del ricevente come propri e pertanto sviluppi una risposta immunologica contro l'organismo ricevente. In questo caso, si parla di malattia da

trapianto verso l'ospite che deve essere trattata con farmaci immunosoppressori e può essere ancora più rischiosa, talora letale, della malattia che ha condotto al trapianto stesso. L'autotrapianto, al contrario, è meno rischioso ma, allo stesso tempo, offre minori possibilità di efficacia terapeutica data l'elevata possibilità di recidive in relazione alla possibilità che le HSC autologhe abbiano insita la potenzialità di sviluppare nuovamente la malattia emato-oncologica (per es. la leucemia) che ha condotto al trapianto.

**Figura 6.** Autotrapianto di HSC



In alcuni centri, le cellule staminali emopoietiche autologhe vengono utilizzate per trattare anche patologie autoimmuni (come la sclerosi multipla). Sebbene queste terapie abbiano solitamente una grande efficacia, il mondo scientifico è molto cauto sull'uso delle HSC in caso di malattie non mortali (anche se fortemente disabilitanti) in considerazione dei rischi correlati con la procedura, in particolar modo nel caso di allotrapianto. Naturalmente, questo discorso non è valido per le patologie emato-oncologiche dove il trapianto rimane spesso l'unica terapia salvavita.

Quella che si sta profilando all'orizzonte è probabilmente una seconda rivoluzione nel campo delle cellule staminali. Nonostante la ricerca sulle mesenchimali sia ancora nella sua infanzia, sono già in corso studi finalizzati a testare le MSC nell'uomo per la cura di numerose malattie, comprese quelle autoimmuni come la sclerosi multipla.

Alcuni studi hanno dimostrato che il co-trapianto di staminali emopoietiche e mesenchimali può aumentare notevolmente le possibilità di successo del trapianto stesso riducendo i rischi della

malattia da trapianto verso l'ospite e favorendo la ricostituzione immunologica. Questo fenomeno è probabilmente dovuto al fatto che le mesenchimali, così come fanno nella nicchia emopoietica, forniscono un adeguato supporto alle HSC facilitandone quindi l'adattamento al nuovo ospite.

Altri impieghi terapeutici delle MSC includono il loro uso nella terapia delle malattie dovute a un'alterazione del sistema immunitario come la sclerosi multipla. In questo contesto, è probabile che l'effetto immunomodulante delle MSC blocchi l'(auto)aggressione del sistema immunitario nei confronti del sistema nervoso centrale e l'effetto neuroprotettivo favorisca la sopravvivenza e la riparazione dei tessuti danneggiati, probabilmente senza che entri in gioco l'effetto transdifferenziativo.

Anche altre malattie autoimmuni come l'artrite reumatoide (malattia che colpisce le articolazioni causando una riduzione anche permanente dei movimenti) potrebbero beneficiare delle proprietà immunomodulanti e anti infiammatorie delle MSC, così come malattie in cui un processo degenerativo è innescato da un fenomeno d'ischemia dei tessuti come l'ictus e l'infarto. In queste condizioni patologiche è probabile che le MSC svolgano il loro effetto attraverso il rilascio di molecole ad azione anti-infiammatoria, anti-apoptotica, anti-ossidante e con effetti trofici in grado di favorire, in certe condizioni, la sopravvivenza e la riparazione dei tessuti (Tabella 1).

**Tabella 1.** Studi effettuati su animali con le MSC e risultati ottenuti

Disease	Species	Target organ	Mechanism of MSC effects	Route of MSC administration
Co-transplantation with human HSCs	Sheep	Haematopoietic organs	Support engraftment and increased haematopoiesis	Systemic
Myocardial infarction	Mouse	Heart	Generation of new myocytes and vascular structures	Local
Skin-graft rejection	Monkey	Skin	Inhibition of T cells	Systemic
Stroke	Rat	CNS	Release of trophic factors and induction of neurogenesis	Systemic
Melanoma	Mouse	Skin	Inhibition of tumour-specific T cells by CD8 <sup>+</sup> T cells	Local
Acute renal failure	Rat	Kidney	Inhibition of pro-inflammatory cytokine production and induction of anti-apoptotic and trophic factors	Systemic
EAE	Mouse	CNS	Inhibition of myelin-specific T cells and induction of peripheral tolerance	Systemic
Diabetes	Mouse	Pancreas and renal glomeruli	Induction of local progenitor cells and inhibition of macrophage infiltration	Systemic
EAE	Mouse	CNS	Inhibition of production of myelin-specific antibodies and encephalitogenic T cells; decreased axonal loss	Systemic
Rheumatoid arthritis	Mouse	Joint	Inhibition of T cells and of production of pro-inflammatory cytokines; induction of regulatory T cells	Systemic
Retinal degeneration	Rat	Eye	Decreased retinal degeneration through anti-apoptotic and trophic molecules	Local
Acute lung injury	Mouse	Lung	Inhibition of production of pro-inflammatory cytokines	Systemic
Acute lung injury	Mouse	Lung	Inhibition of production of pro-inflammatory cytokines and increased production of IL-10	Local
Acute renal failure	Mouse	Kidney	Tubular-cell regeneration through IGF1 secretion	Systemic
Myocardial infarction	Rat	Heart	Anti-apoptotic and mitogenic effect by the WNT-related molecule SFRP2	Local
Hepatic failure	Rat	Liver	Inhibition of leukocyte invasion through the release of cytokines and chemokines	MSC-conditioned medium
Diabetes	Mouse	Pancreas	Induction of local progenitors and inhibition of $\beta$ -cell-specific T cells	Systemic

## Dove va la ricerca?

La ricerca nel campo delle staminali del midollo osseo non si ferma ed è quanto mai attiva e articolata. In particolare, prendendo come esempio le cellule staminali emopoietiche e mesenchimali, la ricerca si sta concentrando su: (i) lo studio delle interazioni all'interno della nicchia emopoietica (ma non solo) con l'intento di comprendere meglio la biologia di queste cellule e favorirne l'uso clinico attraverso la comprensione dei meccanismi d'azione, (ii) lo studio della loro capacità d'integrazione e interazione, dopo il trapianto, con i tessuti danneggiati e (iii) l'analisi del loro profilo di rischio a scopo trapiantologico.

In campo neurologico, la ricerca sulle cellule staminali si sta focalizzando sia sulle HSC che sulle MSC. Nonostante le prime vengano utilizzate con discreto successo come terapia "semi definitiva" nella sclerosi multipla, sono ancora poco chiari i meccanismi attraverso i quali questo trattamento terapeutico agisce. Per esempio, è importante capire se l'intensa chemio-radioterapia preparatoria al trapianto sia essa stessa responsabile del successo terapeutico come conseguenza di una profonda immunosoppressione oppure se il trapianto possa portare alla generazione di un nuovo sistema immunitario più tollerante nei confronti dei potenziali autoantigeni.

Le MSC non sono ancora entrate nell'uso clinico routinario, ma in diversi centri specializzati, sia in Italia che all'estero, sono incominciati o stanno per iniziare sperimentazioni cliniche per saggiarne la sicurezza e l'efficacia terapeutica. In particolar modo, si cercherà di comprendere la loro capacità di modulare il sistema immunitario, proteggere il sistema nervoso ed eventualmente, possibilità remota ma non da escludere, riparare il tessuto neurale danneggiato.

Dai risultati di questi studi, sarà possibile valutare se le terapie con cellule staminali possano avere un impiego clinico su più ampia scala nel trattamento di malattie neurodegenerative.

### **Bibliografia:**

- Chiesa S, Morbelli S, Morando S, Massollo M, Marini C, Bertoni A, Frassoni F, Bartolomé ST, Sambuceti G, Traggiati E, Uccelli A. 2011 Mesenchymal stem cells impair in vivo T-cell priming by dendritic cells. Proc Natl Acad Sci U S A. **108**(42):17384-17389
- Mancardi GL, Saccardi R 2008 Autologous haematopoietic stem-cell transplantation in multiple sclerosis . Lancet Neurol **17**(7):622-636

- Perasso L., Cogo C.E., Giunti D., Gandolfo C., Ruggeri P., Uccelli A., and Balestrino M. 2010. Systemic administration of mesenchymal stem cells increases neuron survival after global cerebral ischemia in vivo (2VO). *Neural. Plast.* 2010:534925.
- Uccelli A., Benvenuto F, Laroni A, Giunti D. 2011. Neuroprotective features of mesenchymal stem cells. *Best. Pract. Res. Clin. Haematol.* **24**(1):59-64
- Uccelli A., Moretta L., and Pistoia V. 2008. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat. Rev. Immunol.* **8**(9):726-736.
- Scadden D.T. 2006. The stem-cell niche as an entity of action. *Nature.* **441**(7097):1075-1079.