



Peningkatan Kadar ImunosupresanIDO (Indoleamin 2,3-dioksigenase) pada Supernatan Kultur Sel Punca Mesenkim yang Distimulasi dengan Agregat Immunoglobulin G

(The Elevation Concentration ofIDO (Indoleamine 2,3-Dioxygenase) Immunosupressan in Supernatant of Mesenchymal Stem Cell Stimulated by Immunoglobulin G Agregate)

DIAN RATIH LAKSMITAWATI^{1,2*}, JEANNE ADIWINATA PAWITAN²,
MOHAMAD SADIKIN², CAROLINE TAN SARDJONO^{4,5}

¹Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila, Srengseng Sawah, Jagakarsa Jakarta Selatan, 12640.

²Program Doktor Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

³Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.

⁴Fakultas Kedokteran, Universitas Kristen Maranatha, Bandung.

⁵Stem Cell and Cancer Institute, Jakarta, Indonesia

Diterima 2 Februari 2014, Disetujui 8 Maret 2014

Abstrak: Selama ini sel punca mesenkim telah diketahui mempunyai aktivitas imunosupresan. Secara klinis, sel ini terbukti mampu mengurangi gejala penolakan organ transplan. Pembuktian secara klinis juga sedang dilakukan pada penyakit berbasis inflamasi seperti pada penyakit autoimun yang disebabkan karena kompleks imun, seperti pada lupus eritematosus sistemik (SLE). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan mempelajari efek stimulasi sel punca mesenkim dalam hubungannya dengan efek imunosupresan. Sel punca mesenkim diisolasi dari limbah *liposuction* dan dikarakterisasi berdasarkan molekul permukaannya untuk konfirmasi identitasnya berdasarkan kriteria ISCT. Selanjutnya sel punca mesenkim dikultur dengan penambahan *Heat Aggregated Immunoglobulin Gamma* (HAGG) selama 6 hari. Untuk mengetahui sifat imunosupresannya, dilakukan pemeriksaan kandungan senyawa indoleamin 2,3-dioksigenase (IDO) pada supernatan hasil kultur dengan metode ELISA pada panjang gelombang 450 nm. Hasil menunjukkan bahwa terjadi peningkatan kadar IDO pada kultur dengan stimulasi dibanding tanpa stimulasi sebanyak 16,73-49,5 %. Penelitian ini dapat menjadi dasar ilmiah yang memperkuat penggunaan terapi sel punca mesenkim pada penyakit autoimun berbasis kompleks imun.

Kata kunci: sel punca mesenkim, indoleamin 2,3 dioksigenase (IDO), *heat-aggregated immunoglobulin G* (HAGG).

Abstract: Mesenchymal stem cells have been known to have the nature of suppressing immune response. This cell have been proven to reduce the symptoms of organ transplants rejection. Clinically proofing is also being performed on an autoimmune disease caused by the complex immune such as systemic lupus erythematosus (SLE). This study aimed to know aggregated IgG-stimulating effects of mesenchymal stem cells in relation to IDO secretion, an immunosuppressant agent. Mesenchymal stem cells was isolated from liposuction waste and characterized based on its surface molecule according to ISCT criterias. The confirmed cell culture was used to the next culture by the addition of heat aggregated

* Penulis korespondensi, Hp. 08161315384
e-mail: dianratih.ffup@gmail.com



immunoglobulins gamma (HAGG) for six days. IDO secreted on supernatant culture was collected and assayed by elisa method at 450 nm. The results showed that there was elevated levels of IDO (16.73-49.5%) on culture with HAGG stimulation than without stimulation. This study could be a part of the basic mechanism of the use of mesenchymal stem cell therapies on an autoimmune disease due to immune complex.

Keywords: mesenchymal stem cells, indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO), heat-aggregated immunoglobulin G (HAGG).

PENDAHULUAN

SEL PUNCA telah dikenal mempunyai prospek yang menjanjikan dalam terapi perbaikan jaringan rusak. Sel ini mempunyai kemampuan untuk memperbanyak diri dan berdiferensiasi menjadi berbagai macam sel tergantung pada lingkungan mikronya. Kemampuannya berdiferensiasi menyebabkan sel ini mempunyai prospek untuk digunakan sebagai bahan terapi regenerasi jaringan. Salah satu jenis sel punca yang digunakan untuk terapi regenerasi adalah sel punca mesenkim.

Selain mempunyai kemampuan untuk berdiferensiasi, sel punca mesenkim juga memiliki sifat imunologi yang istimewa yaitu hipoimunogenik dan mampu mensupresi sistem imun (imunopresi). Sifatnya yang hipoimunogenik menyebabkan sel tersebut mempunyai prospek untuk digunakan secara alogenik (berbeda individu) sehingga dapat menjamin ketersediaan bahan sel yang dibutuhkan untuk pasien yang membutuhkan⁽¹⁾.

Beberapa penelitian telah dilaporkan untuk menjelaskan mekanisme imunopresi sel punca mesenkim. Melalui penelitian *in vitro* disebutkan bahwa aktivitas imunopresi ini disebabkan karena sekresi faktor terlarut oleh sel punca mesenkim. Faktor terlarut tersebut diantaranya adalah indoleamin 2,3-dioksigenase (IDO)⁽²⁾; enzim yang memecah substrat triptofan menjadi metabolit kinurenin, sehingga sel mengalami deplesi triptofan sebagai nutrisinya^(3,4).

Secara *in vivo*, aktivitas imunomodulasi (imunopresi) dari sel punca mesenkim diujikan pada hewan model *Experimental Autoimmune Encephalitis* (EAE)^(5, 6) juga pada penyakit *Graft versus Host Disease* (GvHD)^(7,8,9), *Crohn disease*, *multiple sclerosis*, diabetes melitus tipe I dan lupus eritematosus sistemik (SLE). Sebagian besar dari jenis penyakit tersebut adalah penyakit autoimun. Pada umumnya, hasil uji klinik pada berbagai penyakit tersebut dilaporkan memberikan perbaikan terhadap skor penyakit.

Melalui penelitian terdahulu diketahui bahwa sel punca dapat mensekresikan IDO ke dalam lingkungannya bila terinduksi oleh IFN γ ^(3, 4, 10). Selain IFN γ , dilaporkan juga bahwa IgG dapat menginduksi

ekspresi receptor Fc γ ⁽¹¹⁾. Berdasarkan hal tersebut, ingin diketahui pula apakah stimulasi dengan IgG menyebabkan sel punca mesenkim menghasilkan faktor terlarut IDO.

Penelitian ini berkonsep pada kejadian penyakit autoimun yang berbasis pada autoimun. Dalam tubuh penderita terdapat banyak autoimun, bila ke dalam tubuh penderita tersebut diberikan sel punca mesenkim maka apakah akan dapat diusahakan terjadinya imunopresi sehingga gejala inflamasi penyakit tersebut akan dapat dikurangi. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi informasi dasar penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan sel punca mesenkim pada penyakit autoimun.

BAHAN DAN METODE

BAHAN. Sel hasil isolasi dari jaringan lemak (*Adipose-Derived Stem Cell/ADSC*) yang merupakan limbah hasil operasi *liposuction* dengan metode konvensional. Jaringan lemak tersebut diperoleh dari beberapa rumah sakit yang bekerja sama dengan laboratorium *Stem Cell and Cancer Institute* (SCI). Protokol pengambilan sampel dan perlakukannya telah dibahas dan disetujui oleh komisi etik *Stem Cell and Cancer Institute Institutional Review Board*.

Antibodi yang digunakan untuk karakterisasi molekul permukaan sel punca mesenkim yaitu *antihuman antibody*: CD105-PE (abcam 53321-100), HLA-DR-PE (abcam 23901), CD73-PE (BD550257), CD 19-PE (abcam 1168-500), CD14-FITC (abcam 28061-100), CD45-FITC (BD 555482), CD34-FITC (BD 348053) dengan isotipnya masing-masing.

Medium kultur yang digunakan adalah *Mesencult Basal Medium* (*Stem Cell Technology* 5401), *Mesencult stimulatory supplement* (*Stem Cell Technology* 5402), penisilin streptomisin (Sigma P0781), *Fetal Bovine Serum* (FBS) (Gibco 26140), *Dulbecco's modified Eagle's* (DMEM) (Gibco 12800). Untuk mengukur IDO digunakan kit *Human Indoleamine 2,3-dioxygenase* (IDO) (Uscn Life Science E1547Hu). Sebagai stimulan adalah *human gamma globulin* (hIgG) (Gammaraas immune globulin IV 5%, Shanghai RAAS).

Alat. *Flow cytometer* BD FACS Calibur dengan *CellQuest Pro software* dan *Microplate reader*

(Benchmark plus, BIORAD).

METODE. Isolasi dan Kultur Sel Punca Mesenkim. Jaringan lemak didapatkan sebagai limbah hasil operasi *liposuction* di beberapa rumah sakit yang bekerja sama dengan laboratorium SCI. Jaringan lemak diisolasi dengan metode yang diadopsi dari Zuk, dkk. dan telah dimodifikasi oleh Sardjono, dkk.^(12,13). Singkatnya, jaringan lemak yang telah dicacah dan dicuci dengan *Phosphat Buffer Salin* (PBS) didigesti dengan larutan 0,075% kolagenase tipe I (Sigma) menggunakan *orbital shaker* pada suhu 37 °C selama 30 menit atau sampai bagian lemak terlihat seperti bubur halus. Setelah digesti selesai maka dilakukan netralisasi aktivitas kolagenase dengan cara menambahkan medium *Dulbecco's modified Eagle's* (DMEM) (Gibco 12800)10% *Fetal Bovine Serum* (FBS)(Gibco 26140). Hasil digesti kemudian disentrifugasi pada 600 x g selama 10 menit dan pelet disuspensikan kembali dalam DMEM 10% FBS dan disaring menggunakan saringan steril 100 µm. Sel hasil isolasi yang berada di dalam filtrat dihitung dengan hemasitometer menggunakan teknik *trypan blue dye exclusion*.

Sel hasil isolasi ditanam dalam cawan kultur dengan kerapatan sel 1-4 x 10⁴ sel/cm² dalam medium *Mesencult Basal Medium* (*Stem Cell Technology* 5401) yang telah mengandung *Mesencult stimulatory supplement* (*Stem Cell Technology* 5402) 1% penisilin streptomisin (Sigma P0781). Cawan kultur diinkubasi pada 37 °C, 5% CO₂ sampai sel mencapai kerapatan 70%. Subkultur dilakukan dengan lebih dahulu melepaskan sel dengan menggunakan larutan 0,25% tripsin EDTA (Sigma T4049).

Karakterisasi Molekul Permukaan. Sebanyak minimal 10⁵ sel dalam 25 µL PBS 2% FBS dimasukkan dalam tabung khusus (FACS *tube* Becton Dickinson 352054) kemudian masing-masing tabung ditambahkan antibodi monoklonal untuk karakterisasi molekul permukaan, kemudian diinkubasi dalam suhu 4 °C dalam gelap selama 15 menit. Setelah itu suspensi sel dicuci dengan penambahan PBS 2% FBS sebanyak 500 µL dan disentrifugasi dengan kecepatan 300 x g, 10 menit, suhu 4 °C. Pelet yang didapat disuspensikan kembali dengan 300 µL PBS 2% FBS. Pengukuran dilakukan dengan *flowcytometer* atau FACS Calibur, Becton Dickinsons 3 argon laser 488 nm) dilakukan dalam 5000 hitungan menggunakan perangkat lunak *Cell-Quest-pro software*. Analisis dilakukan dengan menghitung persentase sel yang mempunyai petanda sesuai dengan antibodi yang ditambahkan.

Pembuatan Heat Aggregated Immunoglobuline Gamma (IgG) (HAGG)⁽¹⁴⁾. Sejumlah tertentu larutan *human gamma globulin* (hIgG) (Gammaraas) kadar 8 mg/mL diinkubasi pada suhu 63 °C di dalam penangas air selama 1 jam. Segera setelah itu larutan didinginkan dalam penangas es. Ke dalam larutan tersebut ditambahkan PEG 8000 sehingga konsentrasi PEG dalam larutan HAGG menjadi 1%. Campuran PEG dengan HAGG kemudian diinkubasi dalam penangas es selama 30 menit. Setelah itu campuran PEG-HAGG disentrifugasi selama 1 menit dengan kecepatan 3000 g, supernatan dibuang dan pelet dikumpulkan. Pelet kemudian dicuci menggunakan cairan pencuci PEG 1%. Pada tahap akhir pelet disuspensikan kembali dengan PBS sampai didapatkan suspensi stok.



Gambar 1. Tahapan proses penetapan kadar IDO dalam supernatan kultur sel punca mesenkim.

Stimulasi Kultur. Sebanyak 5×10^3 sel/cm² ditanam dalam cawan kultur berdiameter 10 cm, menggunakan medium Mesencult lengkap. Kultur diinkubasi selama 1 jam agar memberi kesempatan bagi sel mesenkim untuk melekat pada dasar kultur, kemudian ditambahkan HAGG konsentrasi 200 µg/mL sebagai stimulan. Kultur diinkubasi selama 6 hari. Supernatan hasil kultur dikumpulkan untuk kemudian dilakukan pengukuran kadarIDO. Sebagai kontrol dilakukan juga kultur sel yang tidak distimulasi.

Analisis IDO pada Supernatan Kultur. Pengukuran jumlah IDO yang kemungkinan disekresi oleh sel diukur dengan teknik *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) menggunakan kit *Human Indoleamine 2,3-dioxygenase* (IDO) (Uscn Life Science E1547Hu). Semua pereaksi dipersiapkan dengan prosedur seperti tertera dalam manual kit. Terlebih dahulu dibuat kurva standard dengan konsentrasi IDO 0; 1,56; 3,12; 6,25; 12,5; 25; 50 dan 100 IU/mL, kemudian dilanjutkan dengan pengukuran supernatan sel yang distimulasi HAGG dan yang tidak distimulasi HAGG. Serapan diukur dengan alat *microplate reader* pada panjang gelombang 450 nm. Alur penelitian selengkapnya disajikan pada Gambar 1.

HASIL DAN PEMBAHASAN

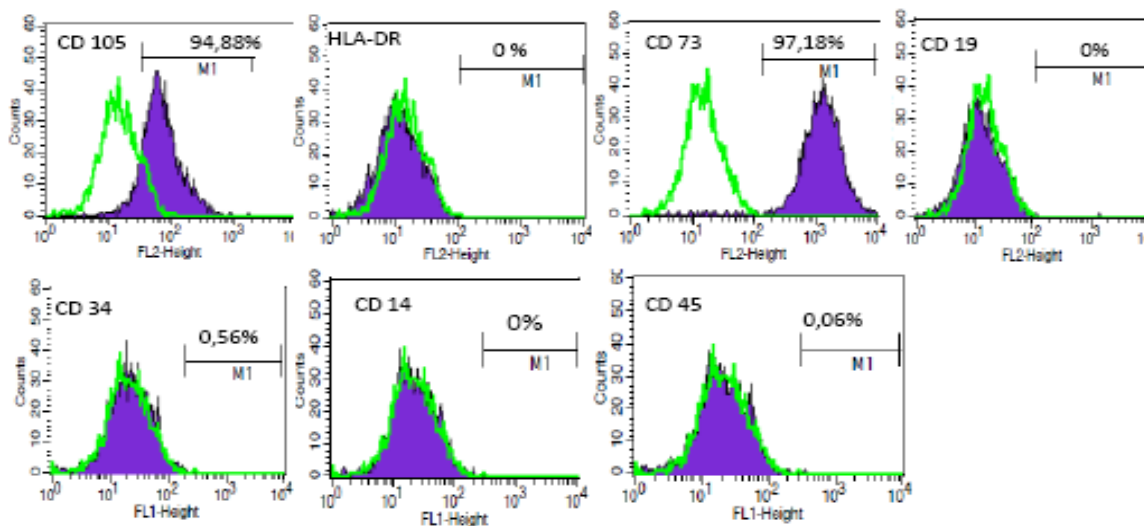
Dari Gambar 2 terlihat bahwa ekspresi CD105 dan CD73 tinggi yaitu di atas 90% sedangkan ekspresi HLA-DR, CD14, CD19, CD34 dan CD45 di bawah 2%. Profil ini sesuai dengan ketentuan sel punca mesenkim negatif dari *International Society of*

Celuller Therapy (ISCT). Menurut ISCT, sel punca mesenkim positif mengekspresikan CD105(endoglin), CD73 (*ecto 5'-nucleotidase*) tetapi negatif terhadap CD19, CD14, CD34, CD45 dan HLA-DR, yang merupakan penanda sel hematopoetik dan endotel.

Konsentrasi IDO dalam Supernatan Kultur. Efek stimulasi sel dapat dilihat dengan melakukan analisis terhadap molekul yang kemungkinan disekresikan ke dalam supernatan kultur. Pada percobaan ini ingin dilihat apakah stimulasi ASC berpengaruh pada sekresi IDO di supernatan kultur. Hasil pengujian memperlihatkan terjadinya peningkatan konsentrasi IDO pada kultur yang distimulasi dibanding dengan tanpa stimulasi (Gambar 3).

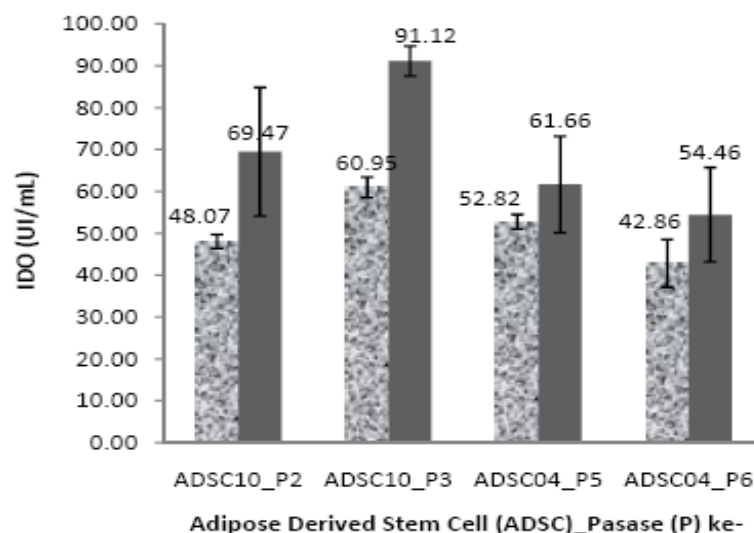
Pada pengujian IDO ini digunakan 2 macam sampel dari 2 donor yaitu ASC04 pasase 5 dan 6, serta ASC10 pasase 2 dan 3. Peningkatan kadar IDO berkisar antara 16,73–49,5%, dengan perincian untuk masing-masing kultur ADSC10_P2, ADSC10_P3, ADSC4_P5, ADSC4_P6 berturut-turut peningkatannya sebesar 44,52%, 49,50%, 16,74% dan 27,06%.

IDO merupakan salah satu faktor terlarut yang disekresi oleh sel punca mesenkim. IDO adalah enzim yang substratnya adalah asam amino triptofan. Triptofan adalah asam amino yang sangat dibutuhkan pada proliferasi sel. Depleksi triptofan menyebabkan aktivitas proliferasi sel terhambat. Mekanisme IDO ini banyak dihubungkan dengan aktivitas immunosupresan sel punca mesenkim. Kokultur sel punca mesenkim dengan sel limfosit CD4⁺ dan CD8⁺ ataupun dengan *Periferal Blood Mononuclear Cell* (PBMC) yang



Gambar 2. Identitas molekul permukaan sel punca mesenkim hasil isolasi dari jaringan lemak.

Keterangan: Sumbu X, intensitas fluoresensi dari sel yang mengikat antibodi anti-CD yang terkonjugasi dengan senyawa berfluoresensi (FL-1, mendeteksi fluoresensi yang ditimbulkan oleh konjugat FITC, FL-2 mendeteksi fluoresensi konjugat phycoerythrin/PE). Sumbu Y, menunjukkan hitungan sel. M: penanda positif (sel yang positif mempunyai penanda tertentu). Data ini adalah dari sampel ASC04 pasase 2. Data angka dalam persen telah dikurangi dengan persen *background staining* menggunakan antibodi kontrol isotipe. Kurva warna ungu memperlihatkan sel dengan antibodi anti-penanda, kurva garis hijau memperlihatkan sel dengan antibodi kontrol isotipe.



Gambar 3. Konsentrasi IDO pada supernatan kultur dengan stimulasi HAGG.

Keterangan: Sel punca yang berasal dari jaringan lemak (*Adipose-derived Stem Cell/ADSC*) yang digunakan pada penelitian ini berasal dari 2 sumber /donatur lemak ke 10 (ADSC10) dan ke 4 (ADSC4). Dari sumber tersebut yang digunakan sebagai sampel adalah pasase sel ke 2 (P2) dan ke 3 (P3) serta ke 5 (P5) dan ke 6 (P6). Kadar IDO pada kultur tanpa stimulasi diperlihatkan dengan grafik yang diarsir motif profil (▨), kultur yang distimulasi HAGG 200 µg/mL dengan arsiran penuh (■).

diaktivasi baik dengan *phytohaemagglutinin* (PHA) ataupun dengan *Mixed Lymphocyte Culture* dapat menekan proliferasi limfosit tersebut⁽¹⁵⁾. Peranan IDO banyak mendasari mekanisme pemberian sel punca mesenkim dalam menurunkan gejala *Graft versus Host Disease* (GvHD)⁽¹⁶⁾.

IDO adalah substansi yang banyak dilaporkan sebagai senyawa yang bertanggung jawab dalam menyebabkan efek immunosupresan sel punca mesenkim. Sebagian besar penelitian IDO pada sel punca mesenkim membahas bahwa sekresi IDO dipengaruhi oleh IFN γ ^(3, 17). Penelitian terdahulu memperlihatkan bahwa sekresi IDO juga akan terstimulasi bila di dalam kultur *in vitro* terdapat interferon (IFN) γ . Stimulasi oleh IFN γ mampu meningkatkan sekresi IDO sebanyak 68,81%-112,21%⁽¹⁰⁾. Pada penelitian ini ingin dilihat pula apakah pemberian agregat IgG juga menyebabkan peningkatan IDO. Agregat IgG pada penelitian ini dibuat sebagai model kompleks imun pada penderita autoimun, dimana kompleks imun terdapat dalam tubuh penderita. Apabila ke dalam tubuh penderita ini dimasukkan sejumlah sel punca mesenkim, apakah sekresi IDOnya akan meningkat. Untuk mengetahui jawaban tersebut maka dirancang penelitian seperti ini. Hasil menunjukkan bahwa ada bukti *in vitro* bahwa HAGG dapat menstimulasi sekresi IDO pada supernatan kultur. Hal ini menjadi dasar untuk mengetahui lebih lanjut apakah respon imun yang teraktivasi pada kejadian autoimun dapat diredam.

IDO adalah enzim intraseluler yang mengandung gugus hem dengan berat molekul 45 kDa⁽¹⁸⁾. Mellor, dkk. menyatakan bahwa tidak diketahui keberadaan

bentuk IDO yang disekresi atau ekstraseluler⁽¹⁹⁾. Namun disebutkan bahwa IDO disekresi oleh sel punca mesenkim⁽²⁰⁾ dan sel epitel kelenjar uterus⁽²¹⁾. IDO menguraikan asam amino triptofan melalui jalur kinurenin. Penurunan jumlah triptofan karena degradasi oleh IDO menyebabkan penghambatan aktivasi sel T. Studi melakukan penambahan triptofan dalam medium dapat mengembalikan proliferasi sel T kembali demikian juga pemberian penghambat IDO dapat mengembalikan kemampuan proliferasi sel T tersebut^(2, 22). IDO banyak terekspresi pada jaringan dan beberapa jenis sel.

IDO mempunyai efek parakrin⁽²³⁾. Terdapat 2 hipotesis yang menjelaskan efek IDO dalam meregulasi sistem imun, yaitu menyebabkan depleksi triptofan yang menyebabkan menurunnya proliferasi sel T dan meningkatkan metabolit kinurenin yang menyebabkan sel T mengalami apoptosis. Kondisi tersebut menyebabkan regulasi naik dari *general control nonderepressible 2* (GCN2) yang merupakan molekul sinyal yang menyebabkan sel T merespon lingkungan stres akibat depleksi triptofan karena IDO⁽²⁴⁾. Secara *in vitro*, IDO dapat menyebabkan sel T *native* CD4⁺ berdiferensiasi menjadi sel T reg Foxp3⁺⁽²⁵⁾. Sebaliknya, sel Treg juga dapat memicu tingginya ekspresi IDO pada percobaan *in vitro* sel dendritik mencit⁽²⁶⁾. IDO memiliki efek immunosupresi yang bersifat lokal⁽²⁷⁾. Oleh karena itu, ekspresi IDO pada sel punca mesenkim memberi nilai tambah karena sel punca mesenkim juga memiliki kemampuan 'homing' sehingga efek immunosupresi dapat lebih terarah ke jaringan yang dituju⁽²⁸⁾.

SIMPULAN

Stimulasi sel punca mesenkimal dengan agregat IgG 200 µg/mL dapat meningkatkan konsentrasiIDO pada 6 hari kultur dibanding dengan kultur tanpa stimulasi. Peningkatan konsentrasiIDO karena stimulasi agregat IgG dapat menjadi dasar untuk penelitian lanjutan dalam rangka mencari mekanisme guna meemantapkan penggunaan sel punca mesenkim sebagai terapi penyakit autoimun khususnya yang berbasis kompleks imun.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih yang sebesar-besarnya kepada *Stem Cell and Cancer Institute* atas penggunaan fasilitas laboratorium dan Beasiswa Pendidikan Pasca Sarjana (BPPS) dari Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi (Ditjen DIKTI) atas bantuan dana penelitian serta kepada para dokter dan donatur yang telah membantu pengadaan sampel jaringan lemak manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Bianco P, Robey PG, Simmons PJ. Mesenchymal stem cells: Revisiting history, concepts and assays. *Cell Stem Cell*. 2008. 2(4):313-9.
- Meisel R, Zibert A, Laryea M, Gobel U, Daubener W, Dilloo D. Human bone marrow stromal cells inhibit allogeneic T-cell responses by indoleamine 2,3-dioxygenase-mediated tryptophan degradation. *Blood*. 2004. 103(12):4619-21.
- DelaRosa O, Lombardo E, Beraza A, Mancheno-Corvo P, Ramirez C, Menta R, et al. Requirement of IFN-gamma-mediated indoleamine 2,3-dioxygenase expression in the modulation of lymphocyte proliferation by human adipose-derived stem cells. *Tissue Eng Part A*. 2009. (10):2795-806.
- Ryan JM, Barry F, Murphy JM, Mahon BP. Interferon- β does not break, but promotes the immunosuppressive capacity of adult human mesenchymal stem cells. *Clin Exp Immunol*. 2007. 149(2):353-63.
- Kassis I, Grigoriadis N, Gowda-Kurkalli B, Mizrachi-Kol R, Ben-Hur T, Slavin S, et al. Neuroprotection and immunomodulation with mesenchymal stem cells in chronic experimental autoimmune encephalomyelitis. *Arch Neurol*. 2008. 65(6):753-61.
- Rafei M, Birman E, Forner K, Galipeau J. Allogeneic mesenchymal stem cells for treatment of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Mol Ther*. 2009. 17(10):1799-803.
- Auletta JJ, Cooke KR. Bone marrow transplantation: new approaches to immunosuppression and management of acute graft-versus-host disease. *Curr Opin Pediatr*. 2009. 21(1):30-8.
- Joseph RW, Couriel DR, Komanduri KV. Chronic graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation: challenges in prevention, science, and supportive care. *J Support Oncol*. 2008. 6(8):361-72.
- Kovacs-Bankowski M, Streeter PR, Mauch KA, Frey MR, Raber A, van't Hof W, et al. Clinical scale expanded adult pluripotent stem cells prevent graft-versus-host disease. *Cell Immunol*. 2009. 255(1-2):55-60.
- Laksmiawati D, Sardjono C, Pawitan J, Sadikin M, Sandra F. Secretion of indoleamine 2,3-dioxygenase, an immunomodulatory substance, by adipose-derived mesenchymal stem cell. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*. 2010. 1(2):92-8.
- Paul WEM, editor. *Fundamental immunology*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2008.
- Zuk PA, Zhu M, Mizuno H, Huang J, Futrell JW, Katz AJ, et al. Multilineage cells from human adipose tissue: Implications for cell-based therapies. *Tissue Eng*. 2001. 7(2):211-28.
- Sardjono C, Setiawan M, Frisca, Saputra V, Aniko G, Sandra F. Application of a modified method for stem cell isolation from lipoaspirates in a basic lab. *Medical Journal of Indonesia*. 2009. 18(2):91-6.
- Tan Sardjono C, Mottram PL, van de Velde NC, Powell MS, Power D, Slocombe RF, et al. Development of spontaneous multisystem autoimmune disease and hypersensitivity to antibody-induced inflammation in Fc γ receptor IIa-transgenic mice. *Arthritis Rheum*. 2005. 52(10):3220-9.
- Gieseke F, Schutt B, Viebahn S, Koscielniak E, Friedrich W, Handgretinger R, et al. Human multipotent mesenchymal stromal cells inhibit proliferation of PBMCs independently of IFN γ signaling and IDO expression. *Blood*. 2007. 110(6):2197-200.
- Bartholomew A SC, Siatkas M et al. Mesenchymal stem cell suppress lymphocyte proliferation in vitro and prolong skin graft survival *in vivo*. *Exp Hematology*. 2002.30:42-8.
- Yanez R, Lamana ML, Garcia-Castro J, Colmenero I, Ramirez M, Bueren JA. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells have *in vivo* immunosuppressive properties applicable for the control of the graft-versus-host disease. *Stem Cells*. 2006. 24(11):2582-91.
- Okamoto R, Yajima T, Yamazaki M, Kanai T, Mukai M, Okamoto S, et al. Damaged epithelia regenerated by bone marrow-derived cells in the human gastrointestinal tract. *Nat Med*. 2002. 8(9):1011-7.
- Mellor AL, Munn DH. IDO expression by dendritic cells: Tolerance and tryptophan catabolism. *Nat Rev Immunol*. 2004. 4(10):762-74.
- Ge W, Jiang J, Arp J, Liu W, Garcia B, Wang H. Regulatory T-cell generation and kidney allograft tolerance induced by mesenchymal stem cells associated with indoleamine 2,3-dioxygenase expression. *Transplantation*. 2010. 90(12):1312-20.
- Sedlmayr P, Blaschitz A, Wintersteiger R, Semlitsch M, Hammer A, MacKenzie CR, et al. Localization of indoleamine 2,3-dioxygenase in human female reproductive organs and the placenta. *Mol Hum Reprod*. 2002. 8(4):385-91.



Vol 12, 2014

Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia 56

22. Spaggiari GM, Capobianco A, Abdelrazik H, Becchetti F, Mingari MC, Moretta L. Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: Role of indoleamine 2,3-dioxygenase and prostaglandin E2. *Blood*. 2008. 111(3):1327-33.
23. Meirelles Lda S, Fontes AM, Covas DT, Caplan AI. Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2009. 20(5-6):419-27.
24. Curti A, Trabanelli S, Salvestrini V, Bacarani M, Lemoli RM. The role of indoleamine 2,3-dioxygenase in the induction of immune tolerance: Focus on hematology. *Blood*. 2009. 113(11):2394-401.
25. Fallarino F, Grohmann U, You S, McGrath BC, Cavener DR, Vacca C, *et al.* The combined effects of tryptophan starvation and tryptophan catabolites down-regulate T cell receptor zeta-chain and induce a regulatory phenotype in naive T cells. *J Immunol*. 2006. 176(11):6752-61.
26. Liu XQ, Wang X. Indoleamine 2,3-dioxygenase in tumor induced tolerance. *Chin Med J (Engl)*. 2009. 122(24):3072-7.
27. Jalili RB, Forouzandeh F, Bahar MA, Ghahary A. The immunoregulatory function of indoleamine 2,3 dioxygenase and its application in allotransplantation. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2007. 6(4):167-79.
28. Yagi H, Soto-Gutierrez A, Parekkadan B, Kitagawa Y, Tompkins RG, Kobayashi N, *et al.* Mesenchymal stem cells: Mechanisms of immunomodulation and homing. *Cell Transplant*. 2010.19(6):667-79.

