

ОСОБЕННОСТИ ФЕНОТИПА ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК, ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ ИЗ МОНОЦИТОВ КРОВИ, У БОЛЬНЫХ РАКОМ ПОЧКИ

Савченко А.А.^{1,2}, Борисов А.Г.^{1,2}, Кудрявцев И.В.^{3,4,5}, Гвоздев И.И.¹,
Мошев А.В.¹

¹ ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“, обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера», г. Красноярск, Россия

² ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

³ ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

⁴ ФГАУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет», г. Владивосток, Россия

⁵ ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Целью исследования явилось изучение особенностей фенотипа дендритных клеток (ДК), дифференцированных из моноцитов периферической крови, у больных раком почки (РП). Обследовано 28 больных РП (Т3N0M0, светлоклеточный тип) в возрасте 40–55 лет до хирургического лечения и 31 практически здоровый человек аналогичного возрастного диапазона. Незрелые ДК (нДК) генерировали из моноцитов крови путем культивирования в течение 5 суток с GM-CSF и IFN α . Активацию ДК (аДК) индуцировали внесением в среду инкубации лизата опухолевых клеток и TNF α с последующей инкубацией в течение 48 часов. Фенотипирование ДК различной степени зрелости проводили методом проточной цитометрии. Обнаружено, что при дифференцировке моноцитов в нДК у больных РП формируется клеточный пул с высоким уровнем костимуляторной активности за счет увеличения количества клеток с высоким уровнем экспрессии рецепторов CD80 и CD86. При этом в клеточной культуре остается значительное количество недифференцированных моноцитов и клеток с промежуточным фенотипом (CD14⁺CD83⁺). У больных РП в клеточной культуре формируется повышенное (по сравнению с контрольными значениями) количество нДК с фенотипом CD83⁺CD80^{high}CD86^{high}HLA-DR⁺. Однако уровень экспрессии HLA-DR-рецептора на CD83⁺CD80^{high}CD86^{high} нДК у больных РП снижен. Следовательно, данный тип ДК обладает высокой костимуляторной и слабой антигенпрезентирующей активностью. При созревании (активации) ДК у больных РП сохраняется значительное количество недифференцированных моноцитов в клеточной культуре, но при снижении содержания клеток с фенотипом CD14⁺CD83⁺. Предположительно часть клеток с фенотипом CD14⁺CD83⁺ при дополнительной антигенной и цитокиновой нагрузке созрела до уровня аДК. Зрелые ДК у больных РП характеризуются слабой костимуляторной и антигенпрезентирующей активностью за счет снижения экспрессии маркеров CD83 и CD86. При созревании количество ДК с различным уровнем экспрессии CD80 в культуре клеток у здоро-

Адрес для переписки:

Кудрявцев Игорь Владимирович
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. академика
Павлова, 12.
Тел.: 8 (812) 234-29-29.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Address for correspondence:

Kudryavtsev Igor V.
Scientific Research Institute of Experimental Medicine
197376, Russian Federation, St. Petersburg,
Acad. Pavlov str., 12.
Phone: 7 (812) 234-29-29.
E-mail: igorek1981@yandex.ru

Образец цитирования:

А.А. Савченко, А.Г. Борисов, И.В. Кудрявцев,
И.И. Гвоздев, А.В. Мошев «Особенности фенотипа
дендритных клеток, дифференцированных
из моноцитов крови, у больных раком почки»
// Медицинская иммунология, 2018. Т. 20, № 2.
С. 215–226. doi: 10.15789/1563-0625-2018-2-215-226
© Савченко А.А. и соавт., 2018

For citation:

A.A. Savchenko, A.G. Borisov, I.V. Kudryavtsev, I.I. Gvozdev,
A.V. Moshev "Phenotypic peculiarities of dendritic cells
differentiated from blood monocytes in patients with kidney
cancer", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya
Immunologiya, 2018, Vol. 20, no. 2, pp. 215–226.
doi: 10.15789/1563-0625-2018-2-215-226
DOI: 10.15789/1563-0625-2018-2-215-226

вых людей и больных РП выравнивается, но при РП меньше формируется аДК с высокоактивным фенотипом (CD83⁺CD80^{high}CD86^{high} и CD83⁺CD80^{high}CD86^{high}HLA-DR⁺). Более того, при онкологии аДК с фенотипом CD83⁺CD80^{high}CD86^{high} слабее экспрессируют рецепторы для проявления костимуляторной и антигенпрезентирующей активности. Различия в фенотипе нДК и аДК у здоровых людей и больных РП могут определяться различиями в фенотипе и функциональной активности моноцитов крови и иммунодепрессивными факторами, синтезируемые опухолью.

Ключевые слова: дендритные клетки, моноциты, рак почки, фенотип, костимулирующие молекулы, презентация антигена

PHENOTYPIC PECULIARITIES OF DENDRITIC CELLS DIFFERENTIATED FROM BLOOD MONOCYTES IN PATIENTS WITH KIDNEY CANCER

Savchenko A.A.^{a, b}, Borisov A.G.^{a, b}, Kudryavtsev I.V.^{c, d, e}, Gvozdev I.I.^a,
Moshev A.V.^a

^a Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russia

^b Krasnoyarsk V.F. Voino-Yasenetsky State Medical University, Krasnoyarsk, Russia

^c Research Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation

^d Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

^e First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, Department of Immunology, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract. The aim of the study was to investigate the phenotypic features of dendritic cell (DCs) differentiated from peripheral blood monocytes in patients with kidney cancer (KC). The study involved 28 patients with KC (T3N0M0, clear cell type) before surgical treatment at the age of 40-55 years and 31 healthy age-matched people. Immature DCs (IDCs) were generated from blood monocytes by culturing for 5 days with GM-CSF and IFN α . Activation of the DCs (MDCs) was induced by incubation with tumor cell lysate and TNF α followed by incubation for 48 hours. Phenotyping of DCs at different maturity degrees was carried out by the method of flow cytometry. It was found that the monocytes differentiated into IDCs formed a cellular pool with a high level of costimulatory activity in patients with KC, by increasing number of cells with a high level of CD80 and CD86 receptor expression. In this case, a significant amount of undifferentiated monocytes and cells with an intermediate phenotype (CD14⁺CD83⁺) remained in the cell culture. In KC patients, the cell culture formed an increased number of IDCs with the CD83⁺CD80^{high}CD86^{high}HLA-DR⁺ phenotype (in comparison with the control values). However, expression level of the HLA-DR receptor on CD83⁺CD80^{high}CD86^{high}-IDCs in patients with KC was reduced. Therefore, this type of DCs has a high costimulatory and weak antigen-presenting activity. Maturation (activation) of DCs from patients with KC was accompanied by retained amounts of undifferentiated monocytes in cell culture associated with decreased contents of cells with CD14⁺CD83⁺ phenotype. Presumably, a part of cells with the CD14⁺CD83⁺ phenotype and additional antigenic and cytokine load matured to the level of MDCs. Mature DCs in patients with KC are characterized by weak costimulatory and antigen presenting activity, due to decreased expression of CD83 and CD86 markers. Upon maturation, the amount of DCs with different levels of CD80 expression in cell culture in healthy people and in patients with RP is equalized, but the MDCs with a highly active phenotype (CD83⁺CD80^{high}CD86^{high} и CD83⁺CD80^{high}CD86^{high}HLA-DR⁺) are formed with KC cells to lesser degree. Moreover, MDCs with CD83⁺CD80^{high}CD86^{high} phenotype in tumor patients show weaker expression of receptors providing costimulatory and antigen-presenting activity. The differences in the IDCs and MDCs phenotype between healthy people and KC patients may be determined by different features of phenotype and functional activity in blood monocyte populations as well as immunosuppressive factors synthesized by the tumor.

Keywords: dendritic cells, monocytes, kidney cancer, phenotype, costimulatory molecules, antigen presentation

Введение

Дендритные клетки (ДК) являются профессиональными антигенпрезентирующими клетками, играющими центральную роль в осуществлении противоопухолевого иммунитета [1, 24, 29]. Благодаря высокой экспрессии антигенов главного комплекса гистосовместимости I и II класса, ко-стимуляторных молекул (CD80 и CD86) и продукции широкого спектра цитокинов и хемокинов, ДК обладают способностью активировать «наивные» Т-лимфоциты и индуцировать антиген-специфический иммунный ответ. Данный механизм позволил, на основе разработанных технологий дифференцировки моноцитов периферической крови в ДК, получать дендритноклеточные вакцины, используемые для лечения различных онкологических и инфекционных заболеваний [18, 22, 26].

Функциональная активность ДК, дифференцированных из моноцитов периферической крови, может во многом зависеть от функционального состояния самих моноцитов и от эффекторных и регуляторных процессов в иммунной системе, которые формируются в процессе развития иммуноопосредованных заболеваний. Доказано, что развитие опухоли в организме обуславливает ингибирование противоопухолевого иммунитета, которое реализуется через нарушение соотношения эффекторных и регуляторных субпопуляций Т-лимфоцитов, синтеза супрессирующих цитокинов и снижение активности эффекторных реакций [1, 20, 32]. Ранее нами установлено, что у больных раком почки (РП) в периферической крови повышается количество CD14^{low}CD16⁺ моноцитов, выявляется дисбаланс в экспрессии активационных маркеров и снижается интенсивность респираторного взрыва [4]. Все это указывает на изменение внутриклеточного гомеостаза моноцитов и их функциональных возможностей.

Таким образом, **целью исследования** явилось изучение особенностей фенотипа дендритных клеток, дифференцированных из моноцитов периферической крови, у больных РП.

Материалы и методы

На базе КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер имени А.И. Крыжановского» обследованы больные РП (Т3N0M0, светлоклеточный тип) в возрасте 40-55 лет до хирургического лечения (n = 28). Диагноз «РП» у всех больных верифицирован гистологически. В качестве контрольной группы был обследован 31 практически здоровый человек аналогичного возрастного диапазона.

Мононуклеарные клетки выделяли из гепаринизированной венозной крови центрифугированием в градиенте плотности Histopaque®-1077 (Sigma-Aldrich, США) (p = 1,077). Моноциты выделяли на чашках Петри (ЗАО «Олданс», Россия) путем прилипания к пластику в среде RPMI-1640 в присутствии 10% аутологичной сыворотки. Дифференцировка моноцитов в незрелые ДК (нДК) осуществлялась в течение 5 суток при 37 °С в CO₂-инкубаторе (Sanyo, Япония) во флаконах для культивирования (Greiner Bio One, Германия), в среде RPMI-1640, содержащей 10% аутологичной сыворотки и 100 мкг/мл гентамицина, в присутствии GM-CSF (50 нг/мл, Sigma-Aldrich, США) и IFNα (100 Ед/мл, Sigma-Aldrich, США). Активацию (созревание) ДК (аДК) индуцировали внесением в среду инкубации лизата опухолевых клеток (100 мкг/мл) и TNFα (25 нг/мл, Sigma-Aldrich, США) с последующей инкубацией в течение 48 часов.

Для приготовления лизата опухолевых клеток использовали фрагмент опухоли (1 см³), который механически гомогенизировали в забуференном физиологическом растворе и трижды центрифугировали при +4 °С и 400 g в течение 2 минут (Eppendorf Centrifuge 5804R, Германия) для удаления конгломератов ткани. Супернатант замораживался при температуре -80 °С без криопротекторов и проводился через 3 цикла быстрого замораживания-оттаивания. Полученный гомогенат центрифугировали при 2000 g 15 минут. В супернатанте по методу Брэдфорда измеряли концентрацию белка и замораживали для дальнейшего использования при -80 °С. В культуральную среду для активации ДК у больных РП вносился аутологичный лизат опухолевых клеток, у лиц контрольной группы – сливной лизат опухолевых клеток.

Фенотипирование ДК различной степени зрелости проводили методом проточной цитометрии с использованием моноклональных антител (Beckman Coulter, США), меченных FITC (fluorescein isothiocyanate), PE или RD1 (phycoerythrin), ECD (phycoerythrin-TexasRed-X), PC5 (phycoerythrin-cyanin 5) и PC7 (phycoerythrin-cyanin 7) в следующей панели: CD80-FITC/CD86-PE/HLA-DR-ECD/CD83-PC5/CD14-PC7. Распределение антител по каналам флуоресценции проводили в соответствии с принципами формирования панелей для многоцветных цитофлуориметрических исследований [2]. Пробоподготовку осуществляли по стандартной методике [19]. Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре FC-500 (Beckman Coulter, США) [17]. В каждой пробе анализировали не менее 50000 ДК. Определяли

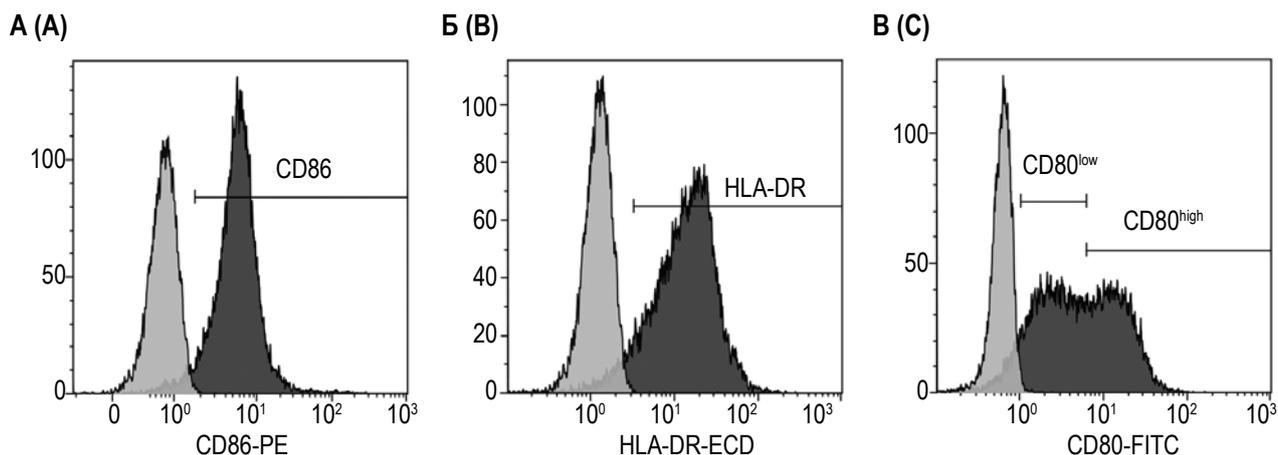


Рисунок 1. Фенотипирование дендритных клеток после инкубации и дифференцировки в условиях *in vitro*

Примечание. Гистограммы А-В: по оси абсцисс – экспрессия CD86, HLA-DR и CD80 (черным) соответственно; по оси ординат – количество проанализированных клеток. Серым – интенсивность флуоресценции антител изотипического контроля, конъюгированных с PE, ECD и FITC соответственно. Гистограмма В – пример выявления дендритных клеток с низкой ($CD83^+CD80^{low}$) и высокой ($CD83^+CD80^{high}$) экспрессией CD80.

Figure 1. Immune phenotyping of *in vitro* differentiated dendritic cells

Note. Histograms A-C: X-axis, Log fluorescence intensity for CD86, HLA-DR and CD80 antibodies, respectively; Y-axis, relative number of cells.

Grey and black lines indicate the immunofluorescence intensity of $CD14^{neg}CD83^{pos}$ cells stained with an isotypic control (stained with PE, ECD and FITC, respectively) and test antibodies (A-C – cells were stained with anti-human CD86, HLA-DR and CD80 antibodies, respectively). Histogram B shows a representative example of low ($CD83^+CD80^{low}$) and high ($CD83^+CD80^{high}$) expression of CD80 by *in vitro* differentiated dendritic cells.

ДК с фенотипом $CD14^-CD83^+$. Дальнейшее гейтирование и подсчет клеток проходили относительно данного фенотипа. По средней интенсивности флуоресценции (MFI – Mean Fluorescence Intensity) оценивались уровни экспрессии поверхностных рецепторов.

Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Описание выборки производили с помощью подсчета медианы (Me) и интерквартильного размаха в виде 1 и 3 квартилей ($Q_{0,25}-Q_{0,75}$). Достоверность различий между показателями независимых выборок оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни (Mann–Whitney U-test). Достоверность различий в динамике лечения определяли по критерию Вилкоксона (Wilcoxon matched pairs test). Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., 2007).

Результаты

Выход нДК с фенотипом $CD14^-CD83^+$ у больных РП составил 17,9% (12,0% – 37,0%), у лиц контрольной группы – 14,2% (8,3% – 21,6%).

У больных РП в клеточной культуре 0,35% (0,08% – 0,99%) клеток оставалось с фенотипом $CD14^+CD83^-$, что значительно выше ($p = 0,034$), чем у лиц контрольной группы (0,07% [0,04% – 0,16]). Кроме того, через 5 суток инкубации в клеточной культуре у больных РП обнаружено 16,4% (10,5% – 23,0%) клеток с фенотипом $CD14^+CD83^+$, что также значительно превышает ($p = 0,009$) количество клеток с данным фенотипом у лиц контрольной группы (5,0% [3,8% – 7,2%]).

При исследовании фенотипа нДК обнаружено, что в обеих группах обследуемых наблюдается высокий выход нДК, экспрессирующих молекулы CD80 и CD86 (табл. 1). Однако, если CD86 и HLA-DR экспрессируются на ДК в виде единого пика (рис. 1 А, Б соответственно), то экспрессия молекулы CD80 на ДК у лиц контрольной группы и больных РП распределяется на два пика (рис. 1В). В дальнейшем это наблюдение позволило выделить ДК с низкой ($CD83^+CD80^{low}$) и высокой ($CD83^+CD80^{high}$) экспрессией CD80 (рис. 1В, области « $CD80^{low}$ » и « $CD80^{high}$ » соответственно). Обнаружено, что в культуре нДК при РП снижено относительно контрольных значений количество $CD83^+CD80^{low}$ клеток и повышено содержание $CD83^+CD80^{high}$ клеток. Также у больных РП повышен уровень $CD83^+CD80^{high}CD86^{high}$ нДК.

Подобные же особенности выявляются при определении содержания $CD83^+CD80^{low}$ и $CD83^+CD80^{high}$ нДК, экспрессирующих HLA-DR-

ТАБЛИЦА 1. ФЕНОТИП НЕЗРЕЛЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК (В %), ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ *IN VITRO* ИЗ МОНОЦИТОВ КРОВИ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 1. PHENOTYPE OF IMMATURE DENDRITIC CELLS (IN %) DIFFERENTIATED *IN VITRO* FROM BLOOD MONOCYTES, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Parameters	Контроль Control n = 31	Больные РП KC Patients n = 28	p
CD83 ⁺ CD80 ⁺	95,3 (93,8-98,2)	97,3 (92,8-98,4)	
CD83 ⁺ CD80 ^{low}	73,2 (62,2-76,7)	25,1 (16,9-47,2)	< 0,001
CD83 ⁺ CD80 ^{high}	20,0 (13,1-22,1)	52,2 (39,1-56,3)	0,004
CD83 ⁺ CD86 ⁺	99,6 (98,5-99,9)	100,0 (99,9-100,0)	
CD83 ⁺ CD80 ^{high} CD86 ^{high}	6,8 (5,8-10,1)	17,6 (13,8-27,4)	< 0,001
CD83 ⁺ HLA-DR ⁺	99,5 (99,4-99,9)	99,8 (99,5-99,9)	
CD83 ⁺ CD80 ^{low} HLA-DR ⁺	72,9 (61,8-76,7)	25,0 (16,9-47,2)	< 0,001
CD83 ⁺ CD80 ^{high} HLA-DR ⁺	17,1 (13,1-22,1)	51,2 (38,9-53,9)	0,003
CD83 ⁺ CD80 ^{high} CD86 ^{high} HLA-DR ⁺	6,8 (5,8-10,1)	17,6 (13,8-27,4)	< 0,001
CD83 ⁺ CD80 ^{low} CD86 ⁺	73,0 (62,2-76,2)	25,0 (16,9-47,2)	< 0,001
CD83 ⁺ CD80 ^{high} CD86 ⁺	20,0 (13,1-22,1)	52,2 (39,1-56,3)	0,004

и CD86-рецепторы (см. табл. 1). Установлено, что у больных РП количество CD83⁺CD80^{low}HLA-DR⁺ и CD83⁺CD80^{low}CD86⁺ клеток снижено относительно контрольных значений, тогда как уровни CD83⁺CD80^{high}HLA-DR⁺ и CD83⁺CD80^{high}CD86⁺ клеток повышены. Также при РП в 2,6 раза увеличивается содержание CD83⁺CD80^{high}CD86^{high}HLA-DR⁺ нДК.

При исследовании уровней экспрессии антигенов (по MFI) на поверхности нДК обнаружено, что у больных РП на CD83⁺ клетках интенсивней по сравнению с контролем экспрессирован маркер CD80 (табл. 2). В 2,0 раза повышена экспрессия HLA-DR-рецептора на поверхности CD83⁺CD80^{low} нДК при РП. CD83⁺CD80^{high} нДК у больных РП интенсивнее экспрессируют CD80-, CD86- и HLA-DR-рецепторы. В то же время CD83⁺CD80^{high}CD86^{high} клетки у больных РП слабее экспрессируют рецептор HLA-DR.

Выход аДК с фенотипом CD14⁻CD83⁺ у больных РП составил 28,6% (16,0% – 57,0%), у лиц контрольной группы – 22,1% (19,2% – 41,0%). При этом выход ДК при РП в культуре при активации повышается (p = 0,017). В клеточной культуре при активации ДК у больных РП относительно контрольных значений повышается количество клеток с фенотипом CD14⁻CD83⁺ (p = 0,004) по сравнению с контрольными значениями (0,05% [0,01% – 0,10%]). На данном этапе культивирования в обследуемых группах отсутствуют различия по содержанию клеток с фенотипом CD14⁺CD83⁺: у больных РП – 5,5% (4,7% – 10,9%), у лиц контрольной группы – 7,4% (4,6% – 13,2%). Однако при активации ДК

у больных РП количество клеток с данным фенотипом снижается (p = 0,041).

При исследовании особенностей фенотипа аДК обнаружено, что при РП снижено содержание в клеточной культуре CD83⁺CD80⁺, CD83⁺CD80^{high}CD86^{high} и CD83⁺CD80^{high}CD86^{high}HLA-DR⁺ клеток (табл. 3). При этом у лиц контрольной группы в процессе созревания ДК в 2,3 раза снижается содержание CD83⁺CD80^{low} клеток (p = 0,043) и в 2,3 раза увеличивается уровень CD83⁺CD80^{high} ДК (p = 0,042). У лиц данной группы при созревании повышается содержание ДК с фенотипом CD83⁺CD80^{high}CD86^{high}HLA-DR⁺ (p = 0,037). Выявляется снижение уровней содержания CD83⁺CD80^{low}HLA-DR⁺ и CD83⁺CD80^{high}HLA-DR⁺ клеток (p = 0,043 и p = 0,039 соответственно). Также у лиц контрольной группы при созревании ДК понижается уровень CD83⁺CD80^{low}CD86⁺ клеток и повышается количество CD83⁺CD80^{high}CD86⁺ ДК. У больных РП в процессе созревания в культуре ДК в культуре снижается количество CD83⁺CD80^{high}CD86^{high} (p = 0,012) и CD83⁺CD80^{high}CD86^{high}HLA-DR⁺ клеток (p = 0,012).

Изучение уровней экспрессии исследуемых маркеров на аДК позволило установить, что у больных РП по сравнению с контрольными значениями на CD83⁺ клетках слабее экспрессированы рецепторы CD83 и CD86 (табл. 4). При РП на CD80^{low} аДК повышается экспрессия CD80, тогда как на CD80^{high} и CD80^{high}CD86^{high} клетках понижается экспрессия HLA-DR-маркера.

В процессе созревания ДК также меняется экспрессия исследуемых маркеров. Так, у лиц

ТАБЛИЦА 2. УРОВНИ ЭКСПРЕССИИ АНТИГЕНОВ НА НЕЗРЕЛЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТКАХ (в о.е.), ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ *IN VITRO* ИЗ МОНОЦИТОВ КРОВИ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 2. THE LEVELS OF ANTIGEN EXPRESSIONS ON IMMATURE DENDRITIC CELLS (in r.u.) DIFFERENTIATED *IN VITRO* FROM BLOOD MONOCYTES, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Parameters	Контроль Control n = 31	Больные РП KC patients n = 28	p
на CD83⁺ клетках on CD83⁺ cells			
CD80	4,26 (2,22-4,56)	5,57 (4,85-6,86)	0,008
CD83	8,64 (6,94-10,60)	9,84 (8,05-10,80)	
CD86	17,90 (15,80-19,90)	16,50 (15,30-17,90)	
HLA-DR	21,00 (14,20-22,40)	29,20 (26,30-36,20)	
на CD80^{low} клетках on CD80^{low} cells			
CD80	1,54 (1,20-2,23)	1,92 (1,87-1,97)	
CD83	5,71 (4,65-9,21)	8,42 (6,99-9,49)	
CD86	6,58 (3,75-9,96)	7,73 (6,70-9,66)	
HLA-DR	13,30 (7,68-15,50)	26,80 (20,50-30,00)	0,007
на CD80^{high} клетках on CD80^{high} cells			
CD80	4,75 (3,80-6,60)	6,80 (5,67-7,75)	0,049
CD83	6,44 (5,01-10,30)	7,41 (6,35-8,43)	
CD86	6,04 (4,78-7,38)	8,40 (7,82-12,60)	0,007
HLA-DR	9,79 (5,23-14,50)	21,80 (16,00-23,40)	0,017
на CD80^{high}CD86^{high} клетках on CD80^{high}CD86^{high} cells			
CD80	7,62 (3,34-8,29)	7,71 (7,00-9,80)	
CD83	78,40 (70,20-115,00)	60,60 (46,60-79,80)	
CD86	12,10 (5,55-19,50)	11,20 (9,17-11,90)	
HLA-DR	126,00 (125,00-221,00)	44,20 (35,20-70,90)	< 0,001

контрольной группы на CD83⁺ клетках в 1,4 раза увеличивается экспрессия CD80-рецептора (p = 0,044), на поверхности CD80^{high} клеток в 4,5 раза повышается экспрессия HLA-DR-рецептора (p < 0,001), тогда как на CD80^{high}CD86^{high} клетках в 1,7 раза понижается уровень экспрессии CD83- (p = 0,040) и в 1,2 раза – HLA-DR-маркера (p = 0,042).

У больных РП обнаружено, что в процессе созревания ДК в культуре снижается экспрессия CD83- (p = 0,003) и HLA-DR-рецептора (p = 0,008) на поверхности CD83⁺ клеток. У лиц данной группы на CD80^{low} клетках слабее экспрессированы молекулы CD83 (p = 0,037), CD86 (p = 0,012) и HLA-DR (p = 0,017). Кроме того, при РП на CD80^{high} клетках также слабее экспрессированы рецепторы CD83 (p = 0,036), CD86 (p = 0,012) и HLA-DR (p = 0,043).

Обсуждение

Особенность состояния иммунной системы при развитии опухоли в организме определяется различными процессами. Во-первых, это формирование, активация и перераспределение (миграция) в организме всех клеток иммунной системы, участвующих в инициации и развитии противоопухолевого иммунитета [5, 7, 28]. И, во-вторых, развитие «защитной» реакции со стороны опухоли, реализующейся в изменении антигенной структуры малигнизированных клеток, синтезом различных цитокинов и других биологически активных веществ, что приводит к ингибированию противоопухолевого иммунитета на различных этапах развития иммунной реакции [1, 20, 33]. Ключевую роль в иммунной системе осуществляют ДК, являющиеся профессиональными анти-

ТАБЛИЦА 3. ФЕНОТИП ЗРЕЛЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК (В %), ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ *IN VITRO* ИЗ МОНОЦИТОВ КРОВИ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 3. PHENOTYPE OF MATURE DENDRITIC CELLS (IN %) DIFFERENTIATED *IN VITRO* FROM BLOOD MONOCYTES, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Parameters	Контроль Control n = 31	Больные РП KC patients n = 28	p
CD83 ⁺ CD80 ⁺	99,5 (98,7-99,7)	96,9 (91,3-99,2)	0,013
CD83 ⁺ CD80 ^{low}	31,8 (16,3-40,7)	47,4 (10,6-60,4)	
CD83 ⁺ CD80 ^{high}	45,3 (26,5-55,9)	37,4 (30,5-73,7)	
CD83 ⁺ CD86 ⁺	99,9 (99,7-100,0)	99,8 (99,3-99,9)	
CD83 ⁺ CD80 ^{high} CD86 ^{high}	13,8 (6,6-35,0)	7,3 (5,2-9,7)	0,044
CD83 ⁺ HLA-DR ⁺	99,8 (99,2-99,9)	99,7 (98,8-99,7)	
CD83 ⁺ CD80 ^{low} HLA-DR ⁺	31,6 (16,2-40,3)	47,3 (10,5-60,3)	
CD83 ⁺ CD80 ^{high} HLA-DR ⁺	46,4 (35,2-67,9)	36,9 (30,4-70,8)	
CD83 ⁺ CD80 ^{high} CD86 ^{high} HLA-DR ⁺	13,8 (6,6-35,0)	7,3 (5,2-9,7)	0,025
CD83 ⁺ CD80 ^{low} CD86 ⁺	31,7 (14,9-40,6)	47,0 (10,6-60,4)	
CD83 ⁺ CD80 ^{high} CD86 ⁺	44,9 (26,5-55,9)	37,3 (30,5-73,7)	

ТАБЛИЦА 4. УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ АНТИГЕНОВ НА ЗРЕЛЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТКАХ (в о.е.), ДИФФЕРЕНЦИРОВАННЫХ *IN VITRO* ИЗ МОНОЦИТОВ КРОВИ, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

TABLE 4. THE LEVELS OF ANTIGEN EXPRESSIONS ON MATURE DENDRITIC CELLS (in r.u.) DIFFERENTIATED *IN VITRO* FROM BLOOD MONOCYTES, Me (Q_{0,25}-Q_{0,75})

Показатели Parameters	Контроль Control n = 31	Больные РП KC patients n = 28	p
на CD83⁺ клетках on CD83⁺ cells			
CD80	5,77 (4,94-7,29)	4,57 (3,93-7,15)	
CD83	8,00 (6,95-10,65)	5,24 (4,12-7,09)	0,021
CD86	20,65 (13,70-41,80)	8,95 (8,59-12,40)	0,001
HLA-DR	15,15 (9,67-22,80)	14,35 (9,62-21,50)	
на CD80^{low} клетках on CD80^{low} cells			
CD80	1,52 (1,41-1,87)	1,90 (1,79-2,43)	0,043
CD83	5,71 (4,87-6,33)	4,65 (3,23-6,22)	
CD86	5,71 (3,97-6,77)	4,01 (3,30-5,12)	
HLA-DR	10,50 (7,61-11,90)	13,55 (7,99-18,40)	
на CD80^{high} клетках on CD80^{high} cells			
CD80	5,35 (4,89-8,81)	6,11 (5,09-7,11)	
CD83	6,41 (5,36-7,15)	4,93 (3,99-6,53)	
CD86	6,44 (5,22-8,10)	6,54 (5,78-6,77)	
HLA-DR	44,47 (25,07-55,33)	12,40 (8,25-15,10)	0,027
на CD80^{high}CD86^{high} клетках on CD80^{high}CD86^{high} cells			
CD80	6,25 (4,63-8,42)	7,00 (6,76-7,87)	
CD83	46,85 (30,05-59,15)	37,95 (26,30-85,20)	
CD86	14,35 (9,19-19,25)	11,80 (9,92-14,80)	
HLA-DR	101,80 (76,40-116,50)	47,60 (34,10-88,00)	0,041

генпрезентирующими клетками, инициирующими развитие реакций адаптивного иммунитета на различные антигены, в том числе и противоопухолевые [3, 11, 27]. Однако в ряде работ отмечается, что генерация ДК из моноцитов периферической крови осуществляется недостаточно эффективно: формируются ДК со сниженными функциональными свойствами. Доказано ингибирующее влияние VEGF (фактор роста эндотелия сосудов) на созревание ДК и экспрессию активационных молекул на их поверхности [1, 21]. В исследовании Liu W.H. и соавт. (2013) показано, что рецепция интерлейкина-10 ДК приводила к снижению уровня экспрессии таких молекул, как CD80, CD86, OX62, MHC-II и CD11b [16]. В предыдущем исследовании нами установлено, что у больных РП в периферической крови изменяется соотношение субпопуляций моноцитов, а также снижается количество моноцитов, экспрессирующих HLA-DR-антиген, и повышается число клеток с экспрессией CD64 [13]. Соответственно, можно предположить, что изменение фенотипа моноцитов крови у больных РП повлияет на особенность фенотипа ДК.

CD83 является основным маркером ДК, по которому осуществлялась их идентификация. CD83 (HB15) представляет собой одноцепочечный гликопротеин типа I с массой 43 кД, член суперсемейства иммуноглобулинов [23, 25]. Данный рецептор ДК принимает участие в антигенпрезентации и, соответственно, инициации иммунного ответа. Выход нДК в клеточной культуре при дифференцировке моноцитов крови у больных РП соответствовал контрольным значениям. Однако при РП в 5 раз больше в культуре клеток остается недифференцированных моноцитов (CD14⁺CD83⁻). Подобный феномен также продемонстрирован в работе Grange C. и соавт. (2015), где отмечается, что клеточные везикулы, выделяемые РП, ингибируют дифференцировку моноцитов в ДК [12]. Кроме того, в клеточной культуре у больных РП также значительно выше содержание клеток с промежуточным фенотипом – CD14⁺CD83⁺. Клетки с данным фенотипом описаны в ряде работ, хотя характеристика их функциональной активности и неоднозначна. Так, в исследовании Prechtel A.T., Steinkasserer A. (2007) клетки с фенотипом CD14⁺CD83⁺ характеризуются нДК [25]. В то же время в исследовании Di Ruschio T. и соавт. (2003) отмечено, что в кратковременной культуре дифференцировки моноцитов повышен выход клеток с коэкспрессией CD14- и CD83-рецепторов, которые способны осуществлять процессинг антигенов и инициировать реакции адаптивного иммунитета [10].

Фенотип ДК также был охарактеризован определением экспрессии еще 3-х маркеров: CD80, CD86 и HLA-DR. CD80 (B7-1, B7 и BB1) и CD86 (B7-2, B70 и Ly-58) представляют собой гликопротеины, принадлежащие к суперсемейству иммуноглобулинов, с массой, соответственно, 60 и 80 кДа. Доказано, что взаимодействие CD80 и CD86 на ДК с CD28 обеспечивает мощный костимуляторный сигнал для активации Т-лимфоцитов, тогда как их взаимодействие с CTLA-4 обеспечивает ингибирующий сигнал для Т-клеток [9, 31]. HLA-DR (антиген главного комплекса гистосовместимости II класса) является гетеродимерным гликопротеином, который экспрессируется на многих типах клеток иммунной системы, для ДК является критическим для осуществления эффективной антигенпрезентации [6, 8]. Содержание нДК с экспрессией CD80-, CD86- и HLA-DR-рецепторов в клеточных культурах у лиц контрольной группы и больных РП не различалось и приближалось к 100%. Однако при РП у нДК выявлялся более высокий уровень экспрессии CD80, чем в контроле.

В то же время при анализе количества нДК с низким и высоким уровнем экспрессии CD80 обнаружено, что у больных РП в клеточной культуре повышено количество нДК с высокой экспрессией CD80 и снижен уровень CD83⁺CD80^{low} клеток. Соответственно данному соотношению клеток с низким и высоким уровнем экспрессии CD80 у больных РП наблюдается повышение количества нДК с фенотипами CD83⁺CD80^{high}HLA-DR⁺ и CD83⁺CD80^{high}CD86⁺ относительно контрольных значений, но при снижении процентного содержания CD83⁺CD80^{low}HLA-DR⁺ и CD83⁺CD80^{low}CD86⁺ клеток. Также при РП в культуре клеток повышается относительное содержание нДК с фенотипами CD83⁺CD80^{high}CD86^{high} и CD83⁺CD80^{high}CD86^{high}HLA-DR⁺. При этом установлено, что у больных РП нДК с фенотипом CD80⁺CD80^{low} с большей активностью экспрессируют HLA-DR-рецептор, тогда как на поверхности CD83⁺CD80^{high} нДК наблюдается повышенный уровень экспрессии CD80-, CD86- и HLA-DR-молекул. В то же время при РП на поверхности нДК с фенотипом CD83⁺CD80^{high}CD86^{high} относительно контрольных значений снижен уровень экспрессии HLA-DR-рецептора.

В целом можно заключить, что при индукции дифференцировки моноцитов периферической крови больных РП формируется пул нДК с более высоким уровнем функциональной активности. Данная особенность реализуется в повышении относительного количества клеток с высоким уровнем экспрессии костимулирующих молекул

и увеличении уровня экспрессии на поверхности нДК костимулирующих рецепторов. В то же время при РП $CD83^+CD80^{high}CD86^{high}$ нДК значительно слабее экспрессируют HLA-DR-маркер. Следовательно, на фоне опухолевого роста дифференцированные из моноцитов крови нДК с наиболее высоким уровнем костимуляторной активности обладают низкой антигенпрезентирующей активностью. Кроме того, имеется ряд исследований, в которых доказывается, что нДК обладают выраженной толерогенной активностью [15, 30, 33].

В клеточной культуре при активации ДК у больных РП остается повышенное количество недифференцированных моноцитов ($CD14^+CD83^+$), но при снижении относительного содержания клеток с промежуточным фенотипом ($CD14^+CD83^+$). У лиц контрольной группы при дифференцировке моноцитов в ДК наблюдается равный выход нДК и аДК, тогда как при РП выход аДК значительно выше, чем нДК. По-видимому, часть клеток с фенотипом $CD14^+CD83^+$ при дополнительной антигенной и цитокиновой нагрузке созревала до уровня аДК. Однако аДК у больных РП слабее экспрессируют CD83- и CD86-маркеры, что определяет более слабый костимуляторный и антигенпрезентирующий сигнал. Необходимо отметить, что сниженный уровень экспрессии костимуляторных молекул на поверхности аДК связывают с повышением вероятности развития метастазов при онкологических заболеваниях [14].

При созревании ДК у лиц контрольной группы в клеточной культуре снижается относительное содержание клеток с фенотипом $CD83^+CD80^{low}$ и повышается с фенотипом $CD83^+CD80^{high}$. Соответственно, меняется относительное количество клеток с фенотипами $CD83^+CD80^{low}CD86^+$ и $CD83^+CD80^{high}CD86^+$. В то же время у больных РП в клеточной культуре при созревании ДК относительное содержание $CD83^+CD80^{low}$, $CD83^+CD80^{high}$, $CD83^+CD80^{low}CD86^+$ и $CD83^+CD80^{high}CD86^+$ практически не меняется, что приводит к выравниванию количества аДК в культурах у здоровых людей и больных РП. При этом в клеточной культуре у больных РП снижается процентное количество аДК, экспрессирующих CD80. Особенностью аДК у больных РП также является более высокий уровень экспрессии CD80 на $CD83^+CD80^{low}$ клетках и сниженный уровень экспрессии HLA-DR на $CD83^+CD80^{high}$ клетках. Более того, у больных РП в процессе созревания на поверхности аДК с фенотипами $CD83^+CD80^{low}$ и $CD83^+CD80^{high}$ снижаются уровни экспрессии таких молекул, как CD83, CD86 и HLA-DR. У лиц контрольной группы в процес-

се созревания ДК уровень экспрессии HLA-DR-рецептора на $CD83^+CD80^{high}$ аДК повышается.

В клеточной культуре у больных РП снижается процентное содержание высокоактивных фракций аДК с фенотипами $CD83^+CD80^{high}CD86^{high}$ и $CD83^+CD80^{high}CD86^{high}HLA-DR^+$. $CD83^+CD80^{high}CD86^{high}$ клетки у больных также слабее экспрессируют HLA-DR-маркер. В целом, несмотря на то, что у лиц контрольной группы $CD83^+CD80^{high}CD86^{high}$ аДК при созревании стали слабее экспрессировать молекулы CD83 и HLA-DR, у больных РП аДК обладают значительно более слабой костимуляторной и антигенпрезентирующей активностью.

Таким образом, при дифференцировке моноцитов в нДК у больных РП формируется клеточный пул с высоким уровнем костимуляторной активности за счет увеличения количества клеток с высоким уровнем экспрессии рецепторов CD80 и CD86. При этом в клеточной культуре остается значительное количество недифференцированных моноцитов и клеток с промежуточным фенотипом ($CD14^+CD83^+$). У больных РП в клеточной культуре формируется повышенное (по сравнению с контрольными значениями) количество нДК с фенотипом $CD83^+CD80^{high}CD86^{high}HLA-DR^+$. Однако уровень экспрессии HLA-DR-рецептора на $CD83^+CD80^{high}CD86^{high}$ нДК у больных РП снижен. Следовательно, данный тип ДК обладает высокой костимуляторной и слабой антигенпрезентирующей активностью. При созревании (активации) ДК у больных РП сохраняется значительное количество недифференцированных моноцитов в клеточной культуре, но при снижении содержания клеток с фенотипом $CD14^+CD83^+$. Предположительно часть клеток с фенотипом $CD14^+CD83^+$ при дополнительной антигенной и цитокиновой нагрузке созрела до уровня аДК. Зрелые ДК у больных РП характеризуются слабой костимуляторной и антигенпрезентирующей активностью за счет снижения экспрессии маркеров CD83 и CD86. При созревании количество ДК с различным уровнем экспрессии CD80 в культуре клеток у здоровых людей и больных РП выравнивается, но при РП меньше формируется аДК с высокоактивным фенотипом ($CD83^+CD80^{high}CD86^{high}$ и $CD83^+CD80^{high}CD86^{high}HLA-DR^+$). Более того, при онкологии аДК с фенотипом $CD83^+CD80^{high}CD86^{high}$ слабее экспрессируют рецепторы для проявления костимуляторной и антигенпрезентирующей активности. Различия в фенотипе нДК и аДК у здоровых людей и больных РП могут определяться различиями в фенотипе и функциональной активности моноцитов крови и иммунодепрессивными факторами, синтезируемые опухолью.

Список литературы / References

1. Кескинов А.А., Щурин М.Р., Бухман В.М., Шпрах З.С. Влияние секретируемых опухолью веществ на дендритные клетки при раке // Российский биотерапевтический журнал, 2017. Т. 16, № 1. С. 12-23. [Keskinov A.A., Shhurin M.R., Buhman V.M., Shprah Z.S. Impact of tumor-derived factors on dendritic cells in cancer. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal = Russian Biotherapeutic Journal*, 2017, Vol. 16, no. 1, pp. 12-23. (In Russ.)]
2. Кудрявцев И.В., Субботовская А.И. Опыт измерения параметров иммунного статуса с использованием шести-цветного цитофлуориметрического анализа // Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 1. С. 19-26. [Kudryavtsev I.V., Subbotovskaya A.I. Application of six-color flow cytometric analysis for immune profile monitoring. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, Vol. 17, no. 1, pp. 19-26. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2015-1-19-26.
3. Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Тыринова Т.В., Алямкина Е.А., Богачев С.С., Останин А.А., Черных Е.Р. Функциональная активность $IFN\alpha$ - и $IL-4$ -индуцированных дендритных клеток человека: сравнительное исследование // Медицинская иммунология, 2014. Т. 16, № 1. С. 43-52. [Leplina O.Yu., Tikhonova M.A., Tyrinova T.V., Alyamkina E.A., Bogachev S.S., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Functional activity of $IFN\alpha$ - and $IL-4$ -induced human dendritic cells: a comparative study. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2014, Vol. 16, no. 1, pp. 43-52. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2014-1-43-52.
4. Савченко А.А., Борисов А.Г., Модестов А.А., Мошев А.В., Кудрявцев И.В., Тоначева О.Г., Кошчев В.Н. Фенотипический состав и хемилюминесцентная активность моноцитов у больных почечноклеточным раком // Медицинская иммунология, 2015. Т. 17, № 2. С. 141-150. [Savchenko A.A., Borisov A.G., Modestov A.A., Moshev A.V., Kudryavtsev I.V., Tonacheva O.G., Koshcheev V.N. Monocytes subpopulations and chemiluminescent activity in patients with renal cell carcinoma. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2015, Vol. 17, no. 2, pp. 141-150. (In Russ.)] doi:10.15789/1563-0625-2015-2-141-150.
5. Савченко А.А., Модестов А.А., Мошев А.В., Тоначева О.Г., Борисов А.Г. Цитометрический анализ НК- и NKT-клеток у больных почечноклеточным раком // Российский иммунологический журнал, 2014. Т. 8 (17), № 4. С. 1012-1018. [Savchenko A.A., Modestov A.A., Moshev A.V., Tonacheva O.G., Borisov A.G. Cytometric analysis of NK- and NKT-cells in patients with renal cell carcinoma. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal = Russian Immunological Journal*, 2014, Vol. 8 (17), no. 4, pp. 1012-1018. (In Russ.)]
6. Bari R., Hartford C., Chan W.K., Vong Q., Li Y., Gan K., Zhou Y., Cheng C., Kang G., Shurtleff S., Turner V., Pui C.H., Downing J.R., Leung W. Genome-wide single-nucleotide polymorphism analysis revealed SUFU suppression of acute graft-versus-host disease through downregulation of HLA-DR expression in recipient dendritic cells. *Sci. Rep.*, 2015, Vol. 5, p. 11098.
7. Battaglia S., Muhitch J.B. Unmasking targets of antitumor immunity via high-throughput antigen profiling. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2016, Vol. 42, pp. 92-97.
8. Ciudad M.T., Sorvillo N., van Alphen F.P., Catalán D., Meijer A.B., Voorberg J., Jaraquemada D. Analysis of the HLA-DR peptidome from human dendritic cells reveals high affinity repertoires and nonconventional pathways of peptide generation. *J. Leukoc. Biol.*, 2017, Vol. 101, no. 1, pp. 15-27.
9. da Cunha A., Antoniazzi Michelin M., Cândido Murta E.F. Phenotypic profile of dendritic and T cells in the lymph node of Balb/C mice with breast cancer submitted to dendritic cells immunotherapy. *Immunol. Lett.*, 2016, Vol. 177, pp. 25-37.
10. Di Pucchio T., Lapenta C., Santini S.M., Logozzi M., Parlato S., Belardelli F. $CD2^+/CD14^+$ monocytes rapidly differentiate into $CD83^+$ dendritic cells. *Eur. J. Immunol.*, 2003, Vol. 33, no. 2, pp. 358-367.
11. Gardner A., Ruffell B. Dendritic cells and cancer immunity. *Trends Immunol.*, 2016, Vol. 37, no. 12, pp. 855-865.
12. Grange C., Tapparo M., Tritta S., Deregibus M.C., Battaglia A., Gontero P., Frea B., Camussi G. Role of HLA-G and extracellular vesicles in renal cancer stem cell-induced inhibition of dendritic cell differentiation. *BMC Cancer*, 2015, Vol. 15, p. 1009.
13. Jakubzick C.V., Randolph G.J., Henson P.M. Monocyte differentiation and antigen-presenting functions. *Nat. Rev. Immunol.*, 2017, Vol. 17, no. 6, pp. 349-362.
14. Jia J., Wang Z., Li X., Wang Z., Wang X. Morphological characteristics and co-stimulatory molecule (CD80, CD86, CD40) expression in tumor infiltrating dendritic cells in human endometrioid adenocarcinoma. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 2012, Vol. 160, no. 2, pp. 223-227.
15. Wang Y. Immune tolerance of mice allogenic tooth transplantation induced by immature dendritic cells. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, 2015, Vol. 8, no. 4, pp. 5254-5262.
16. Liu W.H., Liu J.J., Wu J., Zhang L.L., Liu F., Yin L., Zhang M.M., Yu B. Novel mechanism of inhibition of dendritic cells maturation by mesenchymal stem cells via interleukin-10 and the JAK1/STAT3 signaling pathway. *PLoS ONE*, 2013, Vol. 8, no. 1, e55487. doi: 10.1371/journal.pone.0055487.
17. Luider J.I., Cyfra M., Johnson P., Auer I. Impact of the new Beckman Coulter Cytomics FC 500 5-color flow cytometer on a regional flow cytometry clinical laboratory service. *Lab. Hematol.*, 2004, Vol. 10, pp. 102-108.
18. Macri C., Dumont C., Johnston A.P., Mintern J.D. Targeting dendritic cells: a promising strategy to improve vaccine effectiveness. *Clin. Transl. Immunology*, 2016, Vol. 5, no. 3, p. e66.

19. Maecker H., McCoy P., Nussenblatt R. Standardizing immunophenotyping for the human immunology project. *Nat. Rev. Immunol.*, 2012, Vol. 12, pp. 191-200.
20. Maglioco A., Machuca D.G., Badano M.N., Nannini P., Camerano G.V., Costa H., Meiss R., Ruggiero R.A., Giordano M., Dran G.I. B cells inhibit the antitumor immunity against an established murine fibrosarcoma. *Oncol. Lett.*, 2017, Vol. 13, no. 5, pp. 3225-3232.
21. Ni Y.H., Wang Z.Y., Huang X.F., Shi P.H., Han W., Hou Y.Y., Hua Z.C., Hu A.Q. Effect of siRNA-mediated downregulation of VEGF in Tca8113 cells on the activity of monocyte-derived dendritic cells. *Oncol. Lett.*, 2012, Vol. 3, no. 4, pp. 885-892.
22. Okamoto M., Kobayashi M., Yonemitsu Y., Koido S., Homma S. Dendritic cell-based vaccine for pancreatic cancer in Japan. *World J. Gastrointest. Pharmacol. Ther.*, 2016, Vol. 7, no. 1, pp. 133-138.
23. Oreshkova N., Wichgers Schreur P.J., Spel L., Vloet R.P., Moormann R.J., Boes M., Kortekaas J. Nonspreading rift valley fever virus infection of human dendritic cells results in downregulation of CD83 and full maturation of bystander cells. *PLoS ONE*, 2015, Vol. 10, no. 11, e0142670. doi: 10.1371/journal.pone.0142670.
24. Pfirschke C., Siwicki M., Liao H.W., Pittet M.J. Tumor microenvironment: no effector T cells without dendritic cells. *Cancer Cell*, 2017, Vol. 31, no. 5, pp. 614-615.
25. Prechtel A.T., Steinkasserer A. CD83: an update on functions and prospects of the maturation marker of dendritic cells. *Arch. Dermatol. Res.*, 2007, Vol. 299, no. 2, pp. 59-69.
26. Reardon D.A., Mitchell D.A. The development of dendritic cell vaccine-based immunotherapies for glioblastoma. *Semin. Immunopathol.*, 2017, Vol. 39, no. 2, pp. 225-239.
27. Seyfizadeh N., Muthuswamy R., Mitchell D.A., Nierkens S., Seyfizadeh N. Migration of dendritic cells to the lymph nodes and its enhancement to drive anti-tumor responses. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.*, 2016, Vol. 107, pp. 100-110.
28. Tan P., He L., Han G., Zhou Y. Optogenetic immunomodulation: shedding light on antitumor immunity. *Trends Biotechnol.*, 2017, Vol. 35, no. 3, pp. 215-226.
29. Veglia F., Gabrilovich D.I. Dendritic cells in cancer: the role revisited. *Curr. Opin. Immunol.*, 2017, Vol. 45, pp. 43-51.
30. Xie J., Lin Y.K., Wang K., Che B., Li J.Q., Xu X., Han F., Liang D.H. Induced immune tolerance of autoantigen loaded immature dendritic cells in homogenic lupus mice. *Genet. Mol. Res.*, 2014, Vol. 13, no. 1, pp. 1251-1262.
31. Yan F., Cai L., Hui Y., Chen S., Meng H., Huang Z. Tolerogenic dendritic cells suppress murine corneal allograft rejection by modulating CD28/CTLA-4 expression on regulatory T cells. *Cell. Biol. Int.*, 2014, Vol. 38, no. 7, pp. 835-848.
32. Zhang H., Xie Y., Li W., Chibbar R., Xiong S., Xiang J. CD4(+) T cell-released exosomes inhibit CD8(+) cytotoxic T-lymphocyte responses and antitumor immunity. *Cell. Mol. Immunol.*, 2011, Vol. 8, no. 1, pp. 23-30.
33. Zhang L., Xia C.Q. PD-1/PD-L1 Interaction maintains allogeneic immune tolerance induced by administration of ultraviolet B-irradiated immature dendritic cells. *J. Immunol. Res.*, 2016, 2419621. doi: 10.1155/2016/2419621.

Авторы:

Савченко А.А. — д.м.н., профессор, руководитель лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера»; заведующий кафедрой физиологии ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

Борисов А.Г. — к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточно-молекулярной физиологии и патологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера»; доцент кафедры инфекционных болезней ФГБОУ ВО «Красноярский государственный медицинский университет имени проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения РФ, г. Красноярск, Россия

Authors:

Savchenko A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Laboratory of Molecular and Cellular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; Head, Department of Physiology, V.F. Voino-Yasenetsky State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

Borisov A.G., PhD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Molecular and Cellular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences; Assistant Professor, Department of Infections, V.F. Voino-Yasenetsky State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

Кудрявцев И.В. — к.б.н., старший научный сотрудник ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; ГБОУ ВПО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения РФ, Санкт-Петербург; ФГАОУ ВПО «Дальневосточный федеральный университет», г. Владивосток, Россия

Kudryavtsev I.V., PhD (Biology) Senior Research Associate, Research Institute of Experimental Medicine, St. Petersburg, Russian Federation; First St. Petersburg State I. Pavlov Medical University, Department of Immunology, St. Petersburg; Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

Гвоздев И.И. — младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера», г. Красноярск, Россия

Gvozdev I.I., Junior Research Associate, Laboratory of Molecular and Cellular Physiology and Pathology, Laboratory of Molecular and Cellular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Мошев А.В. — младший научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр „Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук“», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера», г. Красноярск, Россия

Moshev A.V., Junior Research Associate, Laboratory of Molecular and Cellular Physiology and Pathology, Laboratory of Molecular and Cellular Physiology and Pathology, Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk Research Center, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russian Federation

Поступила 05.07.2017
Принята к печати 22.09.2017

Received 05.07.2017
Accepted 22.09.2017