

ИНТЕРФЕРОН-АЛЬФА-ИНДУЦИРОВАННЫЕ ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ И ИХ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ДЕКСАМЕТАЗОНУ

Черных Е.Р., Курочкина Ю.Д., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Тыринова Т.В., Сизиков А.Э., Чумасова О.А., Останин А.А.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Резюме. Дендритные клетки (ДК) играют важную роль в патогенезе ревматоидного артрита (РА) и рассматриваются в качестве новых мишеней терапевтических воздействий. Известно, что при воспалении тканевые ДК нелимфоидных органов могут дифференцироваться из моноцитов. При этом важная роль в дифференцировке и активации ДК при РА, отводится интерферону-альфа. Целью работы является изучение фенотипических и функциональных свойств ДК, генерируемых из моноцитов в присутствии интерферона-альфа (IFN-ДК) у больных РА и оценка их чувствительности к толерогенному действию дексаметазона. В исследование были включены 14 больных РА с умеренной или высокой активностью заболевания, получавших терапию болезнью-модифицирующими препаратами. Контролем служили 20 сопоставимых по полу и возрасту доноров крови. IFN-ДК генерировали из моноцитов путем культивирования адгезивной к пластику фракции мононуклеарных клеток с GM-CSF и IFN α в отсутствие или присутствии дексаметазона (10^{-6} М). IFN-ДК больных РА отличались повышенным содержанием CD14⁺CD83⁻ и сниженным содержанием CD14⁺CD83⁺ клеток, что свидетельствует о задержке созревания ДК. Кроме того, IFN-ДК пациентов характеризовались более высокой экспрессией B7-H1 и TLR2. Фенотипические изменения не оказывали значимого влияния на функциональную активность ДК, в частности их способность продуцировать TNF α , IL-10 и IL-6, стимулировать пролиферацию аллогенных Т-клеток и индуцировать Т-клетки к продукции Th1- и Th2-цитокинов. Генерация ДК в присутствии дексаметазона у больных РА приводила к снижению экспрессии CD83 и CD86, подавлению продукции TNF α и ингибиции аллостимуляторной активности IFN-ДК. Кроме того, дексаметазон угнетал способность ДК активировать Т-клетки к продукции Th1-цитокинов, смещая баланс в сторону Th2-стимулирующей активности. Полученные данные свидетельствуют, что IFN-ДК больных РА сохраняют чувствительность к толерогенному действию дексаметазона. При этом выявленная гетерогенность больных по чувствительности ДК к ингибирующему эффекту дексаметазона может представлять интерес в прогностическом аспекте при проведении пульс-терапии глюкокортикоидами. Полученные результаты также обосновывают возможность использования IFN-ДК в качестве новой клеточной платформы при получении ДК с толерогенными свойствами.

Ключевые слова: дендритные клетки, интерферон- α , дексаметазон, алло-СКЛ, цитокины, ревматоидный артрит

Адрес для переписки:

Курочкина Юлия Дмитриевна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»
630099, Россия, г. Новосибирск, Ядринцевская ул., 14.
Тел.: 8 (383) 236-03-29.
Факс: 8 (383) 222-70-28.
E-mail: ct_lab@mail.ru

Address for correspondence:

Kurochkina Yuliya D.
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
630099, Russian Federation, Novosibirsk,
Yadrintsevskaya str., 14.
Phone: 7 (383) 236-03-29.
Fax: 7 (383) 222-70-28.
E-mail: ct_lab@mail.ru; juli_k@bk.ru

Образец цитирования:

Е.Р. Черных, Ю.Д. Курочкина, О.Ю. Леплина, М.А. Тихонова, Т.В. Тыринова, А.Э. Сизиков, О.А. Чумасова, А.А. Останин «Интерферон-альфа-индуцированные дендритные клетки у больных ревматоидным артритом и их чувствительность к дексаметазону» // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19, № 3. С. 255–266.
doi: 10.15789/1563-0625-2017-3-255-266

© Черных Е.Р. и соавт., 2017

For citation:

E.R. Chernykh, Yu.D. Kurochkina, O.Yu. Leplina, M.A. Tikhonova, T.V. Tyrinova, A.E. Sizikov, O.A. Chumasova, A.A. Ostanin "IFN α -induced dendritic cells in patients with rheumatoid arthritis and their sensitivity to dexamethasone", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2017, Vol. 19, no. 3, pp. 255–266.
doi: 10.15789/1563-0625-2017-3-255-266

DOI: 10.15789/1563-0625-2017-3-255-266

IFN α -INDUCED DENDRITIC CELLS IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS AND THEIR SENSITIVITY TO DEXAMETHASONE

Chernykh E.R., Kurochkina Yu.D., Leplina O.Yu., Tikhonova M.A., Tyrinova T.V., Sizikov A.E., Chumasova O.A., Ostanin A.A.

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. Dendritic cells (DCs) play an important role in pathogenesis of rheumatoid arthritis (RA) and are considered a novel target for immune therapy. Under inflammatory conditions, local dendritic cells of non-lymphoid organs are thought to be differentiated from monocytes. Moreover, DCs differentiation and activation in RA may be largely controlled by interferon-alpha. The aim of the present study was to investigate phenotypic and functional properties of monocyte-derived DCs generated in the presence of interferon-alpha (IFN-DCs) in RA patients, and to specify, whether IFN-DCs are sensitive to a tolerogenic effect of dexamethasone. Fourteen RA patients with moderate-to-high disease activity treated with disease-modifying drugs have been included into the study. Twenty sex- and age-related healthy donors were used as a control. IFN-DCs were generated from monocytes by culturing adherent fraction of mononuclear cells for 5 days with GM-CSF and IFN α in the absence or presence of dexamethasone (10^{-6} M). IFN-DCs from RA patients were characterized by increased numbers of CD14⁺CD83⁻ and lower amounts of CD14⁻CD83⁺ cells, thus presuming a delayed maturation. Furthermore, IFN-DCs from patients were characterized by higher expression of B7-H1 and TLR2. The phenotypic changes did not significantly influence specific functional activities of DCs, in particular, the capacity of DCs to produce TNF α , IL-10, IL-6, to stimulate proliferation of allogeneic T-cells and to activate T-cells for Th1 and Th2 cytokine production. Generation of patients' DCs in presence of dexamethasone caused a decrease in CD83 and CD86 expression, reduced TNF α production, and suppressed allostimulatory activity of the DCs. Moreover, dexamethasone inhibited the ability of DC to stimulate Th1 response, along with shifting the balance towards Th2-stimulating activity. The data obtained provide an evidence that IFN-DCs from RA patients remain sensitive to the tolerogenic effects of dexamethasone. Furthermore, the revealed variations in sensitivity of patient's DCs to dexamethasone-mediated inhibitory effect may be of interest for prediction of therapeutic response to glucocorticoid therapy. Our results also provide an evidence for possible implementation of IFN-DCs as a new cell platform for obtaining tolerogenic DCs.

Keywords: dendritic cells, interferon- α , dexamethasone, allo-MLC, cytokines, rheumatoid arthritis

Введение

Основной патогенеза ревматоидного артрита (РА) является воспалительный аутоиммунный процесс, направленный против антигенов синовиальной оболочки суставов. Поскольку запуск и поддержание аутоиммунных реакций связаны с патологической презентацией собственных антигенов, важная роль в патогенезе РА отводится дендритным клеткам (ДК). ДК способны презентировать антигенспецифическим Т-лимфоцитам человеческий хрящевой гликопротеин [37], а также продуцировать провоспалительные цитокины [38]. И хотя вопрос о причастности ДК к возникновению РА остается открытым, вовлечение этих клеток в поддержание аутоиммунного процесса за счет активации Th1- и Th17-клеток и подавления генерации регуляторных Т-клеток (Treg) находит все больше подтверждений [14, 16].

У больных РА в синовиальной ткани и жидкости выявляется достаточно большое количество ДК, часто локализованных в центре Т-клеточных кластеров [35]. Эти ДК имеют зрелый активированный фенотип, экспрессируют МНС II класса, костимуляторные молекулы, молекулы адгезии, хемокиновые рецепторы и стимулируют преимущественно Th1/провоспалительный ответ. Присутствие в синовиальной жидкости/ткани активированных ДК может быть обусловлено их миграцией из циркуляции и активацией под действием содержащихся в синовиальной жидкости цитокинов (IL-1, IL-6, TNF α , GM-CSF, IL-8) и коллагена [5, 6, 24, 33]. Кроме того, ДК могут дифференцироваться из локализованных в синовиальной ткани ранних миелоидных предшественников [31].

Важно отметить, что существенным источником тканевых ДК в нелимфоидных органах являются моноциты [25]. Культивирование мо-

ноцитов *in vitro* с GM-CSF и IL-4 приводит к генерации ДК (IL4-ДК), которые у больных РА обладают сходством с тканевыми ДК [35]. Исследования ДК моноцитарного происхождения у больных РА показали, что IL4-ДК отличаются повышенной продукцией Th1/провоспалительных цитокинов и хемокинов [26, 27, 28]. С другой стороны, обнаружено, что в отличие от доноров IL4-ДК больных проявляют резистентность к некоторым ингибиторным сигналам [26].

Наряду с IL-4 мощными индукторами созревания моноцитов в ДК являются интерфероны I типа [9]. Уровень интерферонов I типа (IFN α , IFN β) при аутоиммунной патологии повышен [29, 30]. Поскольку при РА отмечается низкое содержание IL-4 в синовиальной жидкости и сыворотке крови [5, 20], созревание моноцитов в ДК может в значительной степени контролироваться IFN α . Тем не менее, свойства IFN α -индуцированных ДК (IFN-ДК) у больных РА не охарактеризованы. Учитывая, что ДК являются мишенями терапевтических воздействий у больных РА, важным вопросом является также оценка чувствительности IFN-ДК к действию глюкокортикоидов, входящих в стандарты лечения РА и обладающих способностью индуцировать толерогенный фенотип ДК. Таким образом, целью работы явилось изучение у больных РА фенотипических и функциональных свойств ДК, генерируемых из моноцитов в присутствии IFN α , и оценка их чувствительности к толерогенному действию дексаметазона.

Материалы и методы

В исследование были включены 14 пациентов с РА: 12 женщин и 2 мужчин в возрасте от 32 до 68 лет (медиана 54 года) и 20 сопоставимых по полу и возрасту здоровых доноров. Диагностика РА проводилась в соответствии с критериями Американской коллегии ревматологов (ACR/EULAR, 2010). На момент включения в исследование давность заболевания составляла в среднем 69 мес. Все пациенты получали лечение болезнью-модифицирующими препаратами в виде монотерапии или в сочетании с нестероидными противовоспалительными препаратами и имели умеренную или высокую активность заболевания (медиана DAS28 составляла 5,5). Забор крови и все иммунологические исследования проводили после получения письменного информированного согласия.

Венозную кровь забирали в вакутейнерные пробирки с гепарином (Becton Dickinson). Мононуклеарные клетки (МНК) из венозной крови выделяли методом градиентного центрифугирования на фиколле-верографине. Далее клетки 2-кратно отмывали и для получения фракции

адгезивных клеток инкубировали в 6-луночных пластиковых планшетах (Nunclon, Дания) в течение 1 часа в среде RPMI-1640 (Sigma-Aldrich), дополненной 0,3 мг/мл L-глутамина, 5 мМ HEPES-буфера, 100 мкг/мл гентамицина и 5% сыворотки плодов коровы (FCS, БиолоТ, Санкт-Петербург). Неприлипающую к пластику фракцию МНК далее удаляли, а адгезивные клетки (90-94% CD14⁺ моноциты) продолжали культивировать при 37 °С в CO₂-инкубаторе в полной культуральной среде в присутствии GM-CSF (40 нг/мл, Sigma-Aldrich) и IFN α (1000 Ед/мл, Роферон-А, Roche, Швейцария). Для индукции созревания ДК на 4 сутки вносили липополисахарид (LPS, 10 мкг/мл, LPS E.colli0114:B4, Sigma-Aldrich) и продолжали культивирование в течение последующих 24 часов. Генерацию IFN-ДК проводили в отсутствие (контрольные культуры) и в присутствии дексаметазона (10⁻⁶ М), который добавляли на 3 сутки.

Фенотипический анализ ДК проводили методом проточной цитофлуориметрии (FACSCalibur, Becton Dickinson, США) с использованием FITC- или PE-меченных моноклональных анти-CD14, -CD83, -CD86, -HLA-DR, -TLR-2, -B7H1 антител (BD PharMingen, США). Оценивали относительное количество позитивных клеток, а также уровень экспрессии поверхностных маркеров по средней интенсивности флуоресценции (СИФ).

Концентрацию цитокинов TNF α , IL-10, IFN γ и IL-6 в супернатантах соответствующих клеточных культур оценивали методом ИФА, используя коммерческие тест-системы («Вектор-Бест», г. Новосибирск).

Аллостимуляторную активность IFN-ДК оценивали в смешанной культуре лимфоцитов (СКЛ). В качестве отвечающих клеток использовали МНК доноров (0,1 × 10⁶/лунку), которые культивировали в 96-луночных круглодонных планшетах в среде RPMI-1640 в присутствии 10% инактивированной сыворотки крови доноров АВ(IV) группы при 37 °С в CO₂-инкубаторе. Стимуляторами служили аллогенные IFN-ДК в соотношении МНК:ДК = 10:1. Пролиферативный ответ оценивали на 5 сут. радиометрически по включению ³H-тимидина (1 мкКю/лунку), вносимого за 18 ч до окончания культивирования. Индекс влияния ДК (ИВ) в алло-СКЛ рассчитывали как отношение пролиферативного ответа МНК в присутствии ДК к уровню спонтанной пролиферации МНК.

Способность IFN-ДК активировать Th1- и Th2-клетки также оценивали в алло-СКЛ (как описано выше). Культуральные супернатанты собирали на 5 сут., и измеряли концентрацию

Th1- (IFN γ) и Th2- (IL-6) цитокинов методом ИФА.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0. Данные представлены в виде медианных значений (Me), квартильного диапазона (25-75% квартили) и диапазона минимальных и максимальных значений. Для выявления значимых различий сравниваемых показателей использовали непараметрические критерии: U-критерий Манна–Уитни и W-критерий Вилкоксона для парных выборок. Корреляционный анализ проводили с помощью ранговой корреляции Спирмена (Rs). Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Как видно из данных таблицы 1, у здоровых доноров LPS-активированные ДК, генерируемые из моноцитов в присутствии IFN α , характеризуются промежуточной степенью зрелости. Об этом свидетельствует сохраняющаяся экспрессия CD14 в сочетании с достаточно высокой экспрессией костимуляторных молекул (CD86) и HLA-DR антигенов, а также наличие на части IFN-ДК маркера зрелости CD83, что согласуется с данными литературы [9]. Генерируемые *in vitro* IFN-ДК больных РА отличаются 2-кратным увеличением относительного содержания CD14⁺ клеток и уровня экспрессии на них данного маркера, а так же достоверным снижением количества CD83⁺ клеток.

Одновременная оценка экспрессии CD14 и CD83 молекул на IFN-ДК доноров показала, что преобладающая часть CD14⁺ клеток не несет CD83, также как и основная часть CD83⁺ клеток не экспрессирует CD14. Соответственно, ДК с коэкспрессией CD14 и CD83 представляют минорную субпопуляцию (Me 5,5%). Среди IFN-ДК больных РА количество CD14⁺CD83⁺ также составляет в среднем 5,0%, тогда как относительное содержание CD14⁺CD83⁻ клеток достигает 60% (против 21% у доноров, $p_U = 0,01$), а количество CD14⁻CD83⁺ клеток достоверно снижено, что свидетельствует о нарушении дифференцировки/созревания ДК.

По сравнению с донорами IFN-ДК больных РА отличаются также повышенным содержанием клеток, экспрессирующих маркеры, ассоциированные с толерогенной активностью: TLR-2 и B7-H1 (PD-1L). Причем в отношении B7-H1⁺ клеток различия были статистически значимы. Вместе с тем по экспрессии маркеров, участвующих в костимуляции и антигенной презентации (CD86 и HLA-DR), IFN-ДК больных и доноров были сопоставимы между собой.

Чтобы выяснить, насколько изменения фенотипа сказываются на функциональной активности ДК, далее были исследованы цитокин-секреторная и аллостимуляторная активность IFN-ДК, а также их способность индуцировать Т-клетки к продукции Th1- и Th2-цитокинов в алло-СКЛ.

ТАБЛИЦА 1. ФЕНОТИП IFN-ДК БОЛЬНЫХ РА И ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ

TABLE 1. PHENOTYPE OF IFN-DCs FROM RA PATIENTS AND HEALTHY DONORS

Маркер Cell marker	Количество клеток (%) Cell count (%)		P_U	СИФ (фл. ед.) MFI (fl. units)		P_U
	Доноры Donors (n = 13)	Больные РА RA patients (n = 10)		Доноры Donors (n = 13)	Больные РА RA patients (n = 10)	
CD14 ⁺	34 (15-51)	65 (44-81)	0,008	52 (45-66)	98 (67-167)	0,01
CD83 ⁺	16 (12-20)	8,5 (6-23)	0,037	52 (23-93)	42 (29-61)	0,87
CD14 ⁺ CD83 ⁻	21 (9-43)	60 (30-76)	0,01			
CD14 ⁻ CD83 ⁺	5,5 (3-11)	5,0 (5-14)	0,58			
CD14 ⁺ CD83 ⁺	9,5 (8-17)	3,0 (0,3-6)	0,002			
CD86 ⁺	60 (16-74)	49 (39-70)	0,82	86 (67-145)	86 (68-158)	0,79
HLA-DR ⁺	77 (72-91)	75 (60-81)	0,43	135 (61-511)	129 (62-334)	0,9
TLR2 ⁺	35 (12-51)	51 (27-73)	0,3	71 (36-106)	57 (38-80)	0,82
B7-H1 ⁺	57 (39-64)	77 (56-84)	0,04	109 (41-127)	66 (35-92)	0,2

Примечание. Процент позитивных клеток и средняя интенсивность флюоресценции поверхностных маркеров представлены в виде медианных значений. В скобках – интерквартильный диапазон. p_U – критерий Манна–Уитни.

Note. Percentage of positive cells and mean fluorescence intensity of surface markers are presented as median values, interquartile range shown in brackets. P_U , Mann–Whitney U-test.

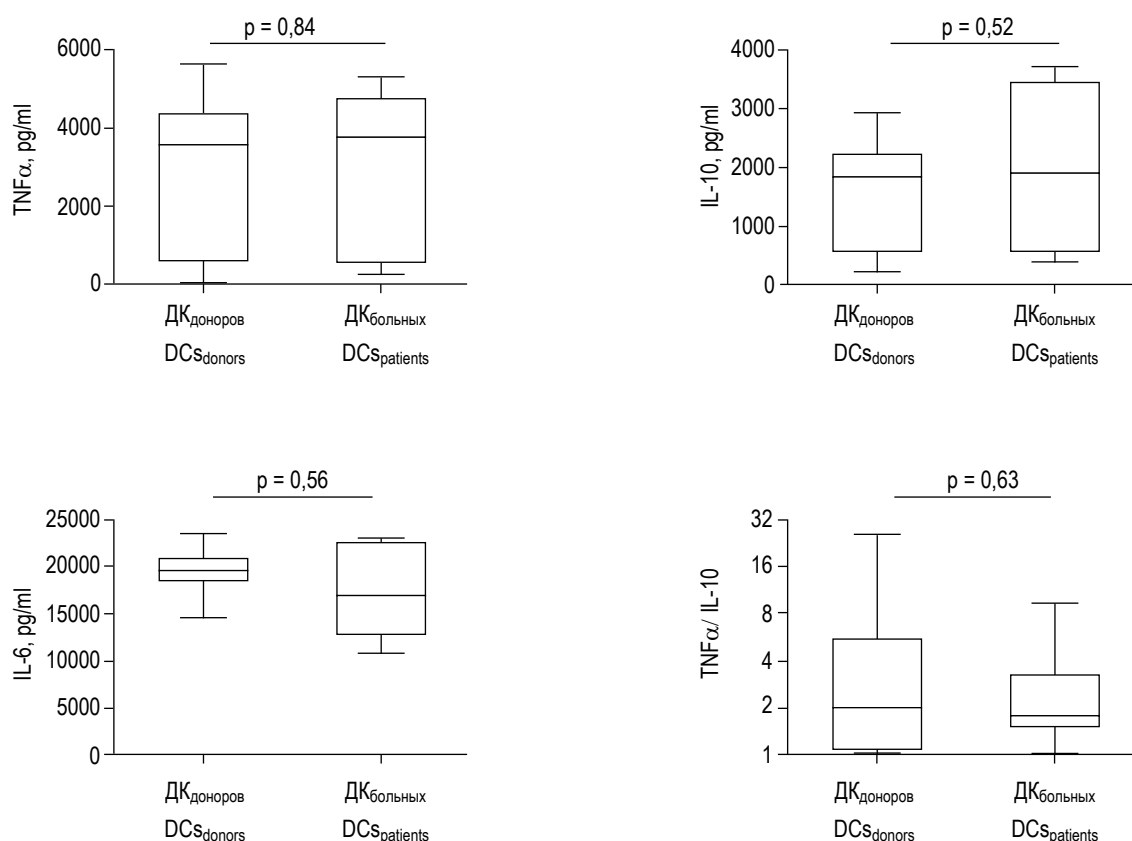


Рисунок 1. Продукция цитокинов IFN-ДК доноров (n = 9) и больных РА (n = 5)

Примечание. Данные по продукции цитокинов (пкг/мл), также индекс соотношения TNFα/IL-10 (расч. ед.) представлены в виде медиан (сплошная горизонтальная линия), интерквартильного диапазона, диапазона минимальных и максимальных значений. p – U-критерий Манна-Уитни.

Figure 1. Cytokine production by IFN-DCs from healthy donors (n = 9) and RA patients (n = 5)

Note. Data on cytokine production (pg/mL), and TNFα/IL-10 ratio (estim. units) are presented as a median (solid horizontal line), interquartile ranges, minimal and maximal values. P values were determined by the Mann-Whitney U-test.

Оценка содержания про- и противовоспалительных цитокинов в супернатантах культур IFN-ДК доноров и больных РА показала, что IFN-ДК больных продуцируют схожие уровни TNFα, IL-6 и IL-10 и не отличаются от доноров по соотношению TNFα/IL-10 (рис. 1). При этом следует отметить, что больные РА были сопоставимы с донорами по количеству генерируемых ДК ($0,08 \times 10^6/1$ млн МНК для здоровых доноров и $0,10 \times 10^6/1$ млн МНК для больных РА, $p_U = 0,3$).

Способность ДК стимулировать пролиферативный ответ Т-лимфоцитов на аллоантигены в СКЛ может рассматриваться в качестве интегрального показателя их функциональной активности. Из данных, представленных на рисунке 2, видно, что в целом по группе обследованных больных РА уровень индуцированной пролиферации в алло-СКЛ и индексы влияния IFN-ДК значимо не отличаются от значений здоровых

доноров ($p_U = 0,28$ и $0,57$ соответственно). Тем не менее, в 44% случаев (4/9 больных РА) аллостимуляторная активность IFN-ДК была снижена (пролиферативный ответ Т-клеток в алло-СКЛ выходил за границу нормативного квартильного диапазона). Корреляционный анализ выявил наличие прямой взаимосвязи между аллостимуляторной активностью IFN-ДК и содержанием CD83⁺ клеток ($r_s = 0,7$; $p = 0,004$). В то же время показатели пролиферации в алло-СКЛ и ИВ_{ДК} обратно коррелировали с количеством TLR2⁺ клеток ($r_s = -0,54$; $p = 0,07$ и $-0,61$; $p = 0,036$ соответственно). С этой точки зрения сниженная аллостимуляторная активность IFN-ДК у части больных может объясняться уменьшением относительного количества CD83⁺ и возрастанием доли TLR2⁺ клеток.

Чтобы выяснить, отличаются ли IFN-ДК больных РА по способности активировать Th1-

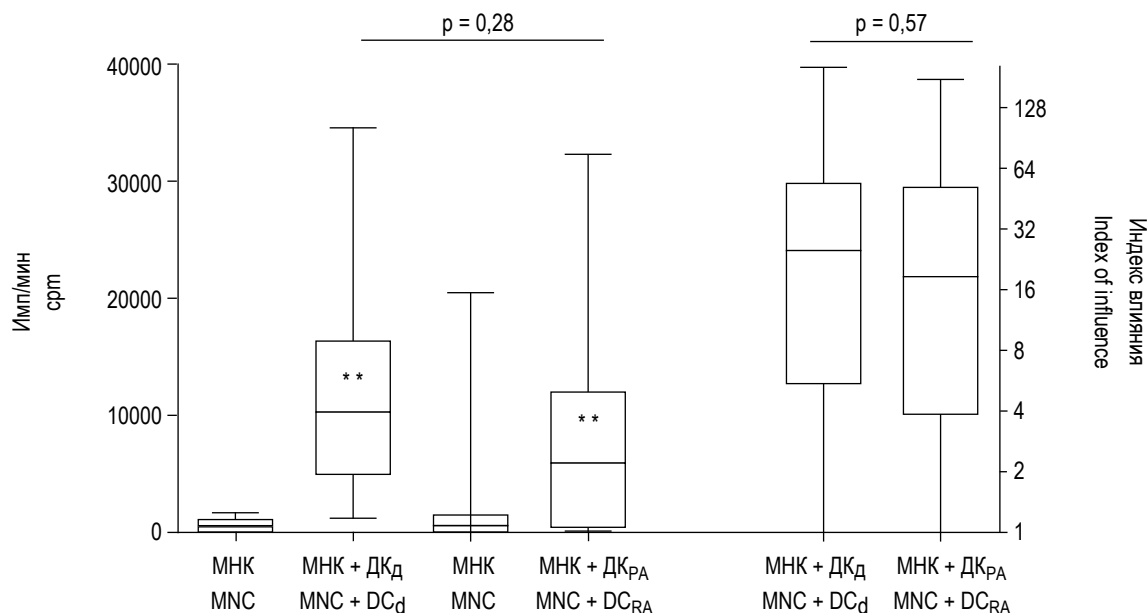


Рисунок 2. Стимуляторная активность IFN-ДК доноров (n = 10) и больных РА (n = 9) в алло-СКЛ

Примечание. Данные по пролиферации (имп/мин) МНК в отсутствие IFN-ДК (МНК), а также в присутствии аллогенных IFN-ДК здоровых доноров (МНК + ДКД) и больных РА (МНК + ДКРА) представлены в виде медиан (сплошная горизонтальная линия), интерквартильного диапазона, диапазона минимальных и максимальных значений. По правой оси ординат представлены индексы влияния (расч. ед.) IFN-ДК в алло-СКЛ. ** – $p < 0,01$ – достоверность различия с пролиферацией МНК в отсутствие IFN-ДК (U-критерий Манна–Уитни).

Figure 2. Stimulatory activity of IFN-DCs from healthy donors (n = 10) and RA patients (n = 9) in allo-MLC

Note. The data on MNC proliferation (cpm) in the absence of IFN-DCs (MNC), as well as in presence of allogeneic IFN-DCs from healthy donors (MNC + DCD) and RA patients (MNC + DCRA) are presented as medians (solid horizontal line), interquartile range, minimal and maximal values. On the right hand, Y axis represents the influence index (estim. units) of IFN-DCs in allo-MLC test. **, $P < 0.01$, the differences are statistically significant versus MNC proliferation in the absence of IFN-DCs (Mann–Whitney U-test).

и Th2-клетки, было исследовано содержание Th1- (IFN γ) и Th2- (IL-6) цитокинов в супернатантах 5-суточной алло-СКЛ, индуцированной ДК доноров и больных РА (табл. 2). IFN-ДК доноров эффективно стимулировали продукцию как Th1-, так и Th2-цитокинов, что проявлялось возрастанием уровня IFN γ (в среднем с 10 до 1280 пкг/мл, $p_U < 0,001$) и IL-6 (в среднем с 230 до 9920 пкг/мл, $p_U < 0,001$) по сравнению с культурами МНК в отсутствие ДК. Медианные значения индексов влияния ДК для IFN γ и IL-6 составляли, соответственно, 134 и 42 расч. ед., свидетельствуя о более выраженной Th1-стимулирующей активности IFN-ДК здоровых доноров ($p_w = 0,017$). IFN-ДК больных РА также эффективно стимулировали секрецию Th1-/Th2-цитокинов в алло-СКЛ, поскольку индексы влияния ДК больных на продукцию IFN γ и IL-6 значимо не отличались от донорских значений. Тем не менее, средний уровень определяемых цитокинов был несколько ниже: 960 против 1280 пкг/мл для IFN γ

(↓ на 25%, $p_U = 0,87$) и 8560 против 9920 пкг/мл для IL-6 (↓ на 14%, $p_U = 0,053$). Но поскольку индекс влияния ДК больных РА на продукцию IFN γ почти в 3 раза превышал таковой для IL-6 (101 против 37 расч.ед., $p_w = 0,015$), можно заключить, что IFN-ДК у больных РА, так же как и у здоровых доноров, характеризовались преобладающей Th1-стимулирующей активностью.

Ранее нами было показано, что, подобно ДК, генерируемым в присутствии IL-4, IFN-ДК под действием глюкокортикоидов приобретают толерогенные свойства [1]. Чтобы оценить чувствительность ДК больных РА к действию дексаметазона, на завершающем этапе исследовали влияние дексаметазона на фенотип и функциональную активность IFN-ДК пациентов (табл. 3). Дексаметазон-модифицированные IFN-ДК (ДК_{DEX}) отличались от интактных клеток (ДК_{ИНТ}) достоверным снижением относительного содержания CD83⁺ клеток и выраженным трендом к снижению доли CD86⁺ клеток ($p_w = 0,07$). В попу-

ТАБЛИЦА 2. СПОСОБНОСТЬ IFN-ДК БОЛЬНЫХ РА АКТИВИРОВАТЬ Т-КЛЕТКИ К ПРОДУКЦИИ Th1- И Th2-ЦИТОКИНОВ В АЛЛО-СКЛ

TABLE 2. ABILITY OF IFN-DCs FROM RA PATIENTS TO ACTIVATE T CELLS FOR Th1 AND Th2 CYTOKINE PRODUCTION IN ALLO-MLC

Цитокин Cytokine	Продукция цитокинов в алло-СКЛ (пг/мл) Cytokine production in allo-MLC (pg/mL)		p _U	Индекс влияния (расч. ед) Influence index (estim. units)		p _U
	IFN-ДК доноров IFN-DCs from donors	IFN-ДК больных РА IFN-DCs from RA patients		IFN-ДК доноров IFN-DCs from donors	IFN-ДК больных РА IFN-DCs from RA patients	
IFN γ	1280 (710-1500)	960 (590-1740)	0,87	134 (75-158)	101 (62-182)	0,45
IL-6	9920 (9280-10690)	8560 (6780-9280)	0,053	42 (39-46)	37 (29-40)	0,62

Примечание. МНК культивировали в присутствии аллогенных IFN-ДК здоровых доноров (n = 13) и больных РА (n = 12). Концентрацию IFN γ и IL-6 в 5-суточных супернатантах алло-СКЛ оценивали с помощью ИФА. Данные представлены в виде медианных значений и интерквартильного диапазона (в скобках). p_U – U-критерий Манна–Уитни.

Note. MNC were cultured over 5 days in presence of allogeneic IFN-DCs from healthy donors (n = 13) and patients with RA (n = 12). IFN γ and IL-6 concentrations in allo-MLC supernates were measured by ELISA technique. The data are presented as median values and interquartile ranges (in brackets). P, Mann–Whitney U-test.

ляции ДК_{DEX} было также повышено количество CD14⁺ и TLR2⁺ клеток, однако эти изменения не были статистически значимы. Экспрессия B7-H1 и HLA-DR молекул под действием дексаметазона не менялась.

Дексаметазон оказывал заметный эффект на цитокин-секреторную и аллостимуляторную активность IFN-ДК больных РА. Так, под влиянием дексаметазона снижалась способность ДК продуцировать провоспалительные цитокины: TNF α в 7 раз (с 3780 до 510 пкг/мл, p_w = 0,007) и IL-6 в 1,7 раза (с 16960 до 9900 пкг/мл, p_w = 0,07). Однако характер продукции IL-10 при этом значимо не менялся. В результате индекс соотношения TNF α /IL-10 снижался в 4 раза (с 1,6 до 0,4 расч. ед.). Очевидно, под влиянием дексаметазона в популяции IFN-ДК больных РА доминируют клетки с противовоспалительной/супрессорной активностью.

Генерация IFN-ДК в присутствии дексаметазона также сопровождалась подавлением их аллостимуляторной активности, что проявлялось 2-кратным снижением пролиферативного ответа Т-клеток в алло-СКЛ в присутствии ДК_{DEX} по сравнению с интактными IFN-ДК. Характерно, что интенсивность пролиферации в алло-СКЛ коррелировала с фенотипом ДК_{DEX}, в частности находилась в прямой взаимосвязи с относительным содержанием CD83⁺ клеток (r_s = 0,75; p = 0,002) и в обратной – с количеством TLR2⁺ клеток (r_s = -0,71; p = 0,02).

Наконец, обработка IFN-ДК больных РА дексаметазоном приводила к выраженному угнетению их Th1-стимулирующей активности в алло-СКЛ. Так, уровень продукции IFN γ в СКЛ, стимулированной ДК_{DEX}, снижался в 16 раз по сравнению с культурами, индуцированными интактными ДК (с 960 до 60 пкг/мл, p_w = 0,001). Соответственно, снижался и индекс влияния ДК_{DEX} на секрецию IFN γ . В то же время обработка IFN-ДК больных РА дексаметазоном не влияла на их Th2-стимулирующую активность, поскольку характер продукции IL-6 значимо не менялся в сравнении с культурами, стимулированными интактными ДК. Индекс соотношения IL-6/IFN γ при этом увеличивался более чем в 10 раз, в среднем с 7,9 до 93 расч. ед. (p_w = 0,023). Можно заключить, что дексаметазон-модифицированные IFN-ДК больных РА сдвигают Th1→Th2 баланс в сторону Т-хелперов 2 типа, главным образом за счет угнетения активности Th1-клеток, а не вследствие активации Th2-клеток.

Влияние дексаметазона на фенотип и функции IFN-ДК здоровых доноров было исследовано нами ранее [1]. Проведенный сравнительный анализ показал, что ДК_{DEX} больных РА и доноров обладали одинаково низкой аллостимуляторной и Th1-стимулирующей активностью (данные не представлены). Однако, дексаметазон-модифицированные IFN-ДК у больных РА отличались повышенным содержанием CD14⁺ клеток (Me 81 против 57% у доноров, p_U = 0,06) и досто-

ТАБЛИЦА 3. ВЛИЯНИЕ ДЕКСАМЕТАЗОНА НА ФЕНОТИП И ФУНКЦИИ IFN-ДК БОЛЬНЫХ РА
TABLE 3. THE EFFECT OF DEXAMETHASONE ON PHENOTYPE AND FUNCTIONS OF IFN-DCs FROM RA PATIENTS

Параметр Parameter	IFN-ДК больных РА IFN-DCs of patients with RA						p _w
	Интактные (ДК _{ИНТ}) Non-treated (DC _{ИНТ})			Дексаметазон-модифицированные (ДК _{ДЕХ}) Dexamethasone-treated (DC _{ДЕХ})			
	Медиана Median	Q _{0,25} -Q _{0,75}	n	Медиана Median	Q _{0,25} -Q _{0,75}	n	
Фенотип (%) Phenotype (%)							
CD14 ⁺	65	44-81	10	81	62-92	10	0,34
CD83 ⁺	8,5	6-23	10	7,9	4-18	10	0,02
CD86 ⁺	49	39-70	10	41	28-68	10	0,07
HLA-DR ⁺	75	60-81	10	77	28-88	10	0,75
TLR2 ⁺	51	27-73	10	67	54-76	10	0,50
B7-H1 ⁺	77	56-84	10	70	61-76	10	0,13
Продукция цитокинов (пкг/мл) Cytokine production (pg/mL)							
TNF α	3780	850-4230	5	510	250-900	5	0,007
IL-6	16960	14680-22180	5	9900	8780-19000	5	0,07
IL-10	1900	1110-2700	5	2040	1890-2190	5	0,61
TNF α /IL-10	1,6	1,44-3,41	5	0,4	0,12-1,03	5	0,13
Стимуляторная активность в алло-СКЛ Stimulatory activity in allo-MLC							
Пролиферация (имп/мин) Proliferation (cpm)	7980	3700-13440	9	3940	930-6060	9	0,009
ИБ (расч. ед.) Influence index (calc. units)	25,5	4,6-47	9	9,9	3,7-28	9	0,009
Th1-/Th2-стимулирующая активность в алло-СКЛ Th1/Th2 stimulatory activity in allo-MLC testing							
IFN γ (pg/mL)	960	590-1740	12	60	30-270	12	0,001
ИБ (расч. ед.) Influence index (calc. units)	101	62-182	12	6,0	3,4-28	12	0,001
IL-6 (pg/mL)	8560	6780-9280	12	7710	6260-9610	12	0,31
ИБ (расч. ед.) Influence index (estim. units)	37	29-40	12	33	27-41	12	0,31
IL-6/IFNγ (расч. ед.) IL-6/IFN γ (estim. units)	7,9	2,5-15	12	93	28-275	12	0,023

Примечание. p_w – W-критерий Вилкоксона для связанных выборок.

Note. p, Wilcoxon-matched pairs (W-test).

верно более высокой продукцией ИЛ-10 (Me 2040 против 1020 пкг/мл у доноров, $p_U = 0,03$). Можно предположить, что IFN-ДК больных РА более чувствительны к толерогенному эффекту глюкокортикоидов, чем ДК здоровых доноров.

Обсуждение

В настоящем исследовании впервые охарактеризованы свойства ДК, генерируемых из моноцитов в присутствии IFN α , у больных РА. Сравнительный анализ показал, что IFN-ДК больных РА отличаются от ДК здоровых доноров повышенной экспрессией CD14 и сниженной экспрессией CD83 за счет увеличения доли CD14⁺CD83⁻ и снижения доли CD14⁺CD83⁺ клеток, что свидетельствует о задержке созревания. Кроме того, IFN-ДК пациентов характеризуются повышенной экспрессией TLR2 (на уровне тенденции) и значимым возрастанием B7-H1, ассоциированных с толерогенными свойствами ДК [4, 34]. Эти фенотипические изменения не сказываются критично на способности IFN-ДК больных продуцировать про- и противовоспалительные цитокины, стимулировать пролиферацию аллогенных Т-лимфоцитов и индуцировать Т-клетки к продукции Th1- и Th2-цитокинов в алло-СКЛ. По всем вышеперечисленным параметрам ДК больных РА значимо не отличались от IFN-ДК доноров. Некоторое снижение аллостимуляторной и Th1-/Th2-стимулирующей активности IFN-ДК у больных РА было статистически недостоверным.

Данные о фенотипических и функциональных свойствах ДК моноцитарного происхождения при РА немногочисленны и касаются исключительно ДК, генерируемых в присутствии ИЛ-4. В целом ИЛ4-ДК больных РА схожи с ДК доноров по экспрессии CD14, CD80, CD86, CD83, HLA-DR и TLR-2 за исключением повышенной экспрессии CD32 (Fc- γ PIR) на незрелых ДК [11, 26]. Незрелые ИЛ4-ДК больных также не отличаются от ДК доноров по продукции провоспалительных (ИЛ-1 β , ИЛ-6, TNF α), Th1- (ИЛ-12, IFN γ) и Th2- (ИЛ-10) цитокинов. В то же время для зрелых ИЛ4-ДК больных РА характерна повышенная продукция провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, TNF α) и ИЛ-10, а также ряда хемокинов (CCL18, CCL19, CCL17). Причем стимуляция ДК больных через Fc- γ PIR подавляет продукцию ИЛ-6 и TNF α , что свидетельствует о преобладающей экспрессии Fc- γ PIRb (но не Fc- γ PIRa), который обеспечивает негативный сигналинг в отношении продукции провоспалительных цитокинов [26, 27, 28]. Показано также, что более высокий уровень продукции ИЛ-6/ИЛ-23 ДК больных обуславливает их повышенную способность индуцировать Th17 [8]. Полученные нами результаты несколько расходятся с данно-

ми литературы о фенотипической схожести зрелых ИЛ4-ДК у больных РА и доноров, что может быть обусловлено различиями ДК, генерированных в присутствии IFN α и ИЛ-4 по степени зрелости и ряду функциональных свойств [15]. С другой стороны, полученные нами данные о схожей продукции цитокинов IFN-ДК больных РА и доноров согласуются с данными литературы [28] в отношении незрелых ИЛ4-ДК.

Вторым важным моментом в настоящей работе является оценка влияния дексаметазона на IFN-ДК больных РА. Учитывая, что при аутоиммунных заболеваниях IFN α играет важную роль в дифференцировке моноцитов в ДК и поддержании активированного статуса циркулирующих ДК [3, 10], IFN-ДК могут являться мишенями глюкокортикоидной терапии, активно используемой в лечении РА. Ранее нами показано, что IFN-ДК доноров (аналогично ИЛ4-ДК) чувствительны к толерогенному действию дексаметазона [1]. В настоящем исследовании продемонстрировано, что обработка дексаметазоном IFN-ДК больных РА также изменяет их фенотипические и функциональные свойства. В частности, дексаметазон значимо ингибирует экспрессию CD83 и в виде выраженного тренда – CD86 – достоверно подавляет продукцию ДК TNF α и в виде тенденции – ИЛ-6 – снижает аллостимуляторную активность и способность IFN-ДК индуцировать Т-клетки к продукции Th1-цитокинов, смещая баланс в сторону Th2-стимулирующей активности.

Следует отметить, что эффект дексаметазона на уровне индивидуальных значений характеризуется выраженной разнородностью. Например, супрессорный эффект в отношении аллостимуляторной активности ДК варьирует от 8 до 93%. Не исключено, что оценка чувствительности IFN-ДК больных РА к действию дексаметазона может иметь значение в прогнозе эффективности лечения при проведении пульс-терапии глюкокортикоидами.

Наш интерес к IFN-ДК и их чувствительности к дексаметазону обусловлен также возможностью создания толерогенных ДК-вакцин. В настоящее время показано, что толерогенные ДК функционируют как негативные регуляторы аутореактивных Т-клеток [36], обладают терапевтическим потенциалом, и их применение открывает новые возможности в лечении РА [2, 22, 32, 39]. Дексаметазон, ингибируя NF- κ B зависимую дифференцировку и созревание ДК [7, 19], позволяет индуцировать толерогенные ДК со стабильным фенотипом. Кроме того, дексаметазон, будучи лекарственным препаратом, может быть использован для получения толерогенных ДК-вакцин в полном соответствии с GMP стандартами [11, 12]. Учитывая также данные о более высокой ми-

грационной активности IFN-ДК по сравнению с ИЛ4-ДК [23], модифицированные дексаметазоном IFN-ДК могут рассматриваться в качестве новой клеточной платформы для получения толерогенных ДК-вакцин. Действительно, ДК_{DEX} у больных РА, так же как и у здоровых доноров [1], характеризуются одинаково высокой экспрессией TLR2, низкой продукцией TNF α , а также низкой аллостимуляторной и Th1-стимулирующей активностью. При этом ДК_{DEX} у больных РА отличались от клеток доноров более высокой продукцией ИЛ-10 ($p_U = 0,03$).

Следует отметить, что повышенная экспрессия TLR2 является одним из характерных признаков толерогенных ДК. ДК с высокой экспрессией TLR-2 в ответ на стимуляцию LPS активно секретируют ИЛ-10, тогда как продукция TNF α и IFN γ остается на низком уровне. Кроме того, TLR-2 молекула играет важную роль в активации регуляторных Т-клеток, супрессии ИЛ-23, Th17- и Th1-опосредованного иммунного ответа [4, 17]. Действительно, согласно нашим данным, способность ДК_{DEX} больных РА стимулировать пролиферацию Т-клеток в алло-СКЛ находилась в обратной связи с содержанием TLR2⁺ клеток ($r_s = -0,71$; $p = 0,02$).

Согласно данным литературы, ИЛ4-ДК у больных РА могут иметь селективную дефектность в чувствительности к толерогенным сигналам. Так, при индукции толерогенных ДК путем активации через PSGL-1 (селектином Р), ДК больных не способны индуцировать CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺Treg, тогда как при индукции ИЛ-10 сохраняют такую способность [8]. Также показано, что, в отличие от ДК доноров, стимуляция ИЛ4-ДК больных ИЛ-13 не приводит к усилению Fc- γ IRb, проводящего ингибирующий сигнал в отношении продукции провоспалительных цитокинов ДК [26, 28]. Наше исследование имеет ряд ограничений, в частности в нем не изучалась способность ДК к индукции апоптоза/анергии Т-лимфоцитов и генерации регуляторных Т-клеток, а также не оценивалось влияние дексаметазона на способность ДК стимулировать Th17-ответ. Вместе с тем, учитывая повышенную генерацию Th17 [21] и дефицит Treg [13] при РА, анализ вышеперечисленных функций ДК у больных РА представляет безусловный интерес как с точки зрения раскрытия патогенетической значимости ДК, так и перспектив применения толерогенных ДК в лечении РА и является предметом дальнейших исследований.

Список литературы / References

1. Курочкина Ю.Д., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Тыринова Т.В., Баторов Е.В., Сизиков А.Э., Останин А.А., Черных Е.Р. Влияние дексаметазона на интерферон- α -индуцированную дифференцировку моноцитов в дендритные клетки // *Медицинская иммунология*, 2016, Т. 18, № 4, с. 347-356. [Kurochkina Yu.D., Leplina O.Yu., Tikhonova M.A., Tyrinova T.V., Batorov E.V., Sizikov A.E., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Effect of dexamethasone on interferon- α -induced differentiation of monocytes to dendritic cells. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2016, Vol. 18, no. 4, pp. 347-356. (In Russ.) doi: 10.15789/1563-0625-2016-4-347-356
2. Ahmed M.S., Bae Y.S. Dendritic cell-based immunotherapy for rheumatoid arthritis: from bench to bedside. *Immune Netw.*, 2016, Vol. 16, no. 1, pp. 44-51.
3. Blanco P., Palucka A.K., Gill M., Pascual V., Banchereau J. Induction of dendritic cell differentiation by IFN-alpha in systemic lupus erythematosus. *Science*, 2001, Vol. 294, no. 5546, pp. 1540-1543.
4. Chamorro S. TLR triggering on tolerogenic dendritic cells results in TLR2 up-regulation and a reduced proinflammatory immune program. *J. Immunol.*, 2009, Vol. 183, no. 5, pp. 2984-2994.
5. Chen K., Wang J.M., Yuan R., Yi X., Li L., Gong W., Yang T., Li L., Su S. Tissue-resident dendritic cells and diseases involving dendritic cell malfunction. *Int. Immunopharmacol.*, 2016, Vol. 34, pp.1-15.
6. Chen E., Keystone E.C., Fish E.N. Restricted cytokine expression in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 1993, Vol. 36, no. 7, pp. 901-910.
7. Coutinho A.E., Chapman K.E. The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2011, Vol. 335, no. 1, pp. 2-13.
8. Estrada-Capetillo L., Hernandez-Castro B., Monsivais-Urenda A., Alvarez-Quiroga C., Layseca-Espinosa E., Abud-Mendoza C., Baranda L., Urzainqui A., Sanchez-Madrid F., Gonzalez-Amaro R. Induction of Th17 lymphocytes and Treg cells by monocyte-derived dendritic cells in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Clin. Dev. Immunol.*, 2013, Vol. 2013, Article ID 584303, 9 p.
9. Gessani S., Conti L., Del Cornò M., Belardelli F. Type I interferons as regulators of human antigen presenting cell functions. *Toxins (Basel)*, 2014, Vol. 6, no. 6, pp. 1696-1723.
10. Gottenberg J.E., Chiochia G. Dendritic cells and interferon-mediated autoimmunity. *Biochimie*, 2007, Vol. 89, no. 6-7, pp. 856-871.
11. Harry R.A., Anderson A.E., Isaacs J.D., Hilkens C.M. Generation and characterization of therapeutic tolerogenic dendritic cells for rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2010, Vol. 69, no. 11, pp. 2042-2050.
12. Hilkens C.M.U., Isaacs J.D. Tolerogenic dendritic cells in clinical practice. *Open Arthritis Journal*, 2010, Vol. 3, pp. 8-12.

13. van Roon J.A.G., Hartgring S.A.Y., van der Wurff-Jacobs K.M.G., Bijlsma J.W.J., Lafeber F.P.J.G. Numbers of CD25⁺Foxp3⁺ T cells that lack the IL-7 receptor are increased intra-articularly and have impaired suppressive function in RA patients. *Rheumatology*, 2010, Vol. 49, no. 6, pp. 2084-2089.
14. Khan S., Greenberg J.D., Bhardwaj N. Dendritic cells as targets for therapy in rheumatoid arthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2009, Vol. 5, no. 10, pp. 566-571.
15. Leplina O.Yu., Tyrinova T.V., Tikhonova M.A., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Interferon alpha induces generation of semi-mature dendritic cells with high pro-inflammatory and cytotoxic potential. *Cytokine*, 2015, Vol. 71, no. 1, pp. 1-7.
16. Liu J., Cao X. Regulatory dendritic cells in autoimmunity: a comprehensive review. *J. Autoimmun.*, 2015, Vol. 63, pp. 1-12.
17. Manicassamy S., Ravindran R., Deng J., Oluoch H., Denning T.L., Kasturi S.P., Rosenthal K.M., Evavold B.D., Pulendran B. Toll-like receptor 2-dependent induction of vitamin A-metabolizing enzymes in dendritic cells promotes T regulatory responses and inhibits autoimmunity. *Nat. Med.*, 2009, Vol. 15, no. 4, pp. 401-409.
18. Martin C.A., Carsons S.E., Kowalewski R., Bernstein D., Valentino M., Santiago-Schwarz F. Aberrant extracellular and dendritic cell (DC) surface expression of heat shock protein (hsp)70 in the rheumatoid joint: possible mechanisms of hsp/DC-mediated cross-priming. *J. Immunol.*, 2003, Vol. 171, no. 11, pp. 5736-5742.
19. Matasic R., Dietz A.B., Vuk-Pavlovic S. Dexamethasone inhibits dendritic cell maturation by redirecting differentiation of a subset of cells. *J. Leukoc. Biol.*, 1999, Vol. 66, no. 6, pp. 909-914.
20. Miossec P., Naviliat A., Duput-d'Angeac A., Sany J., Banchereau J. Low levels of interleukin-4 and high levels of transforming growth factor beta in rheumatoid synovitis. *Arthr. Rheum.*, 1999, Vol. 33, pp. 1180-1187.
21. Aerts N.E., De Knop K.J., Leysen J., Ebo D.G., Bridts C.H., Weyler J.J., Stevens W.J., De Clerck L.S. Increased IL-17 production by peripheral T helper cells after tumour necrosis factor blockade in rheumatoid arthritis is accompanied by inhibition of migration associated chemokine receptor expression. *Rheumatology (Oxford)*, 2010, Vol. 49, no. 12, pp. 2264-2272.
22. Ning B., Wei J., Zhang A., Gong W., Fu J., Jia T., Yang S.Y. Antigen-specific tolerogenic dendritic cells ameliorate the severity of murine collagen-induced arthritis. *PLoS One*, 2015, Vol. 10. doi: 10.1371/journal.pone.0131152
23. Parlato S., Santini S.M., Lapenta C., Di Pucchio T., Logozzi M., Spada M., Giammarioli A.M., Malorni W., Fais S., Belardelli F. Expression of CCR-7, MIP-3beta, and Th-1 chemokines in type I IFN-induced monocyte-derived dendritic cells: importance for the rapid acquisition of potent migratory and functional activities. *Blood*, 2001, Vol. 98, no. 10, pp. 3022-3029.
24. Pettit A.R., Thomas R. Dendritic cells: the driving force behind autoimmunity in rheumatoid arthritis? *Immunol. Cell. Biol.*, 1999, Vol. 77, no. 5, pp. 420-427.
25. Qu C., Brinck-Jensen N.S., Zang M., Chen K. Monocyte-derived dendritic cells: targets as potent antigen-presenting cells for the design of vaccines against infectious diseases. *Int. J. Infect. Dis.*, 2014, Vol. 19, pp. 1-5.
26. Radstake T.R., Nabbe K.C., Wenink M.H., Roelofs M.F., Oosterlaar A., van Lieshout A.W., Barrera P., van Lent P.L., van den Berg W.B. Dendritic cells from patients with rheumatoid arthritis lack the interleukin 13 mediated increase of FcRII expression, which has clear functional consequences. *Ann. Rheum. Dis.*, 2005, Vol. 64, pp. 1737-1743.
27. Radstake T.R., van der Voort R., ten Brummelhuis M., de Waal Malefijt M., Looman M., Figdor C.G., van den Berg W.B., Barrera P., Adema G.J. Increased expression of CCL18, CCL19, and CCL17 by dendritic cells from patients with rheumatoid arthritis, and regulation by Fc gamma receptors. *Ann. Rheum. Dis.*, 2005, Vol. 64, no. 3, pp. 359-367.
28. Radstake T.R., van Lent P.L., Pesman G.J., Blom A.B., Sweep F.G., Ronnelid J., Adema G.J., Barrera P., van den Berg W.B. High production of proinflammatory and Th1 cytokines by dendritic cells from patients with rheumatoid arthritis, and down regulation upon Fc gamma triggering. *Ann. Rheum. Dis.*, 2004, Vol. 63, no. 6, pp. 696-702.
29. Rodriguez-Carrio J., de Paz B., Lypez P., Prado C., Alperi-Lopez M., Ballina-Garcia F.J., Suarez A. IFN α serum levels are associated with endothelial progenitor cells imbalance and disease features in rheumatoid arthritis patients. *PLoS One.*, 2014, Vol. 9, no. 1, doi: 10.1371/journal.pone.0086069.
30. Ronnblom L., Eloranta M.L. The interferon signature in autoimmune diseases. *Curr. Opin. Rheumatol.*, 2013, Vol. 25, no. 2, pp. 248-253.
31. Santiago-Schwarz F., Anand P., Liu S., Carsons S.E. Dendritic cells (DCs) in rheumatoid arthritis (RA): progenitor cells and soluble factors contained in RA synovial fluid yield a subset of myeloid DCs that preferentially activate Th1 inflammatory-type responses. *J. Immunol.*, 2001, Vol. 167, no. 3, pp. 1758-1768.
32. Schinnerling K., Soto L., Garcia-Gonzalez P., Catalan D., Aguillyn J.C. Skewing dendritic cell differentiation towards a tolerogenic state for recovery of tolerance in rheumatoid arthritis. *Autoimmun. Rev.*, 2015, Vol. 14, no. 6, pp. 517-527.
33. Schultz H.S., Guo L., Keller P., Fleetwood A.J., Sun M., Guo W., Ma C., Hamilton J.A., Björkdahl O., Berchtold M.W., Panina S. OSCAR-collagen signaling in monocytes plays a proinflammatory role and may contribute to the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Eur. J. Immunol.*, 2016, Vol. 46, no. 4, pp. 952-963.
34. Selenko-Gebauer N., Majdicht J., Szekeres A., Höfler G., Guthann E., Korthäuer U., Zlabinger G., Steinberger P., Pickl W.F., Stockinger H., Knapp W., Stöckl J. B7-H1 (Programmed Death-1 Ligand) on dendritic cells is involved in the induction and maintenance of T cell anergy. *J. Immunol.*, 2003, Vol. 170, no. 7, pp. 3637-3644.

35. Thomas R., MacDonald K.P., Pettit A.R., Cavanagh L.L., Padmanabha J., Zehntner S. Dendritic cells and the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *J. Leukoc. Biol.*, 1999, Vol. 66, no. 2, pp. 286-292.
36. Torres-Aguilar H., Aguilar-Ruiz S.R., Gonzalez-Perez G., Munguia R., Bajaca S., Meraz-Rios M.A., Sanchez-Torres C. Tolerogenic dendritic cells generated with different immunosuppressive cytokines induce antigen-specific anergy and regulatory properties in memory CD4⁺ T cells. *J. Immunol.*, 2010, Vol. 184, no. 4, pp. 1765-1775.
37. Tsark E.C., Wang W., Teng Y.C., Arkfeld D., Dodge G.R., Kovats S. Differential MHC class II-mediated presentation of rheumatoid arthritis autoantigens by human dendritic cells and macrophages. *J. Immunol.*, 2002, Vol. 169, no. 11, pp. 6625-6633.
38. Wenink M.H., Han W., Toes R.E., Radstake T.R. Dendritic cells and their potential implication in pathology and treatment of rheumatoid arthritis. *Handb. Exp. Pharmacol.*, 2009, Vol. 188, pp. 81-98.
39. Zhao Y., Zhang A., Du H., Guo S., Ning B., Yang S. Tolerogenic dendritic cells and rheumatoid arthritis: current status and perspectives. *Rheumatol. Int.*, 2012, Vol. 32, no. 4, pp. 837-844.

Авторы:

Черных Е.Р. — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заведующая лабораторией клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Курочкина Ю.Д. — аспирант лаборатории клеточной иммунотерапии, врач-ревматолог клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Леплина О.Ю. — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Тихонова М.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Тыринова Т.В. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Сизиков А.Э. — к.м.н., заведующий отделением ревматологии Клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Чумасова О.А. — к.м.н., врач-ревматолог отделения ревматологии клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Останин А.А. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Chernykh E.R., PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Kurochkina Yu.D., Postgraduate Student, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Physician (Rheumatology), Immunopathology Clinics, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Leplina O. Yu., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Tikhonova M.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Tyrinova T.V., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Sizikov A.E., PhD (Medicine), Head, Rheumatology Department, Immunopathology Clinics, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Chumasova O.A., PhD (Medicine), Physician (Rheumatology), Immunopathology Clinics, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Ostanin A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Main Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation