

РОЛЬ ИНТЕРЛЕЙКИНА-8 В НЕПОСРЕДСТВЕННОЙ РЕГУЛЯЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ Т-ЛИМФОЦИТОВ

**Меняйло М.Е.¹, Малащенко В.В.¹, Шмаров В.А.¹, Газатова Н.Д.¹,
Мелашченко О.Б.¹, Гончаров А.Г.¹, Селедцова Г.В.², Селедцов В.И.³**

¹ ФГАОУ «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

² ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» СО РАМН,
г. Новосибирск, Россия

³ ФГБУ «Российский научный центр медицинской реабилитации и курортологии» Министерства
здравоохранения РФ, Москва, Россия

Резюме. CD3⁺T-лимфоциты выделяли из мононуклеарных клеток нормальных доноров методом позитивной магнитной сепарации. Показано, что продукция интерлейкина-8 (interleukin-8, IL-8) Т-клетками возрастала в ответ на их активацию частицами, конъюгированными с антителами к молекулам CD3, CD28 и CD2. Исходно рецептор к IL-8 (CXCR1, CD181) экспрессировался на 13,3% Т-лимфоцитов. Активация Т-лимфоцитов приводила к заметному увеличению содержания CD181⁺ клеток среди CD4⁺ наивных Т-лимфоцитов, CD4⁺ терминально-дифференцированных Т-эффекторов и снижению их числа среди CD4⁺ клеток эффекторной памяти. Активацию Т-лимфоцитов оценивали по экспрессии молекулы CD25 (рецептор к IL-2). Установлено, что IL-8 в диапазоне концентраций 0,01-10,0 нг/мл способен снижать активацию как CD4⁺, так и CD4⁺T-клеток эффекторной памяти и терминально-дифференцированных Т-эффекторов, не оказывая при этом существенного влияния на активацию наивных Т-лимфоцитов и Т-клеток центральной памяти. IL-8 усиливал продукцию активированными Т-клетками IL-2, снижал продукцию IL-10 и существенно не влиял на секрецию IFN γ и IL-4. Полученные данные указывают на значимость IL-8 в прямой регуляции адаптивных Т-клеточных реакций.

Ключевые слова: интерлейкин-8, Т-лимфоциты, рецептор к интерлейкину-8, активация лимфоцитов, цитокины, функциональная активность

A ROLE FOR INTERLEUKIN 8 IN DIRECT REGULATION OF T CELL FUNCTIONAL ACTIVITY

**Meniailo M.E.^a, Malashchenko V.V.^a, Shmarov V.A.^a, Gasatova N.D.^a,
Melashchenko O.B.^a, Goncharov A.G.^a, Seledtsova G.V.^b, Seledtsov V.I.^c**

^a I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

^b Research Institute of Clinical Immunology, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences, Novosibirsk,
Russian Federation

^c Russian Research Center of Medical Rehabilitation and Balneotherapy, Moscow, Russian Federation

Abstract. CD3⁺T lymphocytes were isolated from normal donors by positive magnetic separation. Activation of the T cells with particles conjugated with antibodies to CD3, CD28 and CD2 molecules led to substantial

Адрес для переписки:

Меняйло Максим Евгеньевич
ФГАОУ «Балтийский федеральный университет имени
Иммануила Канта»
236016, Россия, г. Калининград, ул. Боткина, 3, комн. 302.
Тел.: 8 (916) 779-41-77, (911) 471-87-04.
E-mail: max89me@yandex.ru

Address for correspondence:

Meniailo Maksim E.
I. Kant Baltic Federal University
236016, Russian Federation, Kaliningrad, Botkin str., 3-302.
Phone: 7 (916) 779-41-77, (911) 471-87-04.
E-mail: max89me@yandex.ru

Образец цитирования:

М.Е. Меняйло, В.В. Малащенко, В.А. Шмаров,
Н.Д. Газатова, О.Б. Мелашченко, А.Г. Гончаров,
Г.В. Селедцова, В.И. Селедцов «Роль интерлейкина-8
в непосредственной регуляции функциональной активности
Т-лимфоцитов» // Медицинская иммунология, 2017. Т. 19,
№ 5. С. 529-536. doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-529-536
© Меняйло М.Е. и соавт., 2017

For citation:

M.E. Meniailo, V.V. Malashchenko, V.A. Shmarov,
N.D. Gasatova, O.B. Melashchenko, A.G. Goncharov,
G.V. Seledtsova, V.I. Seledtsov "A role for interleukin-8 in direct
regulation of T cell functional activity", *Medical Immunology
(Russia)/Meditsinskaya Immunologiya*, 2017, Vol. 19, no. 5,
pp. 529-536. doi: 10.15789/1563-0625-2017-5-529-536
DOI: 10.15789/1563-0625-2017-5-529-536

increase in T cell production of interleukin-8 (IL-8). An interleukin-8 receptor (CXCR1, CD181) was initially expressed in 13.3% of T lymphocytes. Activation of T lymphocytes resulted into a detectable increase of CD181⁺ cell number among CD4⁺ naïve cells and CD4⁺ terminally-differentiated effector cells, and, conversely, into decrease of their number among CD4⁺ effector memory cells. Activation of T lymphocytes was assessed by membrane expression of CD25 molecule (receptor for IL-2). IL-8 (0.01-10.0 ng/ml) was shown to markedly reduce activation of both CD4⁺ and CD4⁺ effector memory T cells, as well as terminally-differentiated T effectors, without significantly affecting activation of naïve T lymphocytes and central memory T cells. IL-8 noticeably increased IL-2 production by activated T cells, caused a reduced IL-10 production, and did not significantly affect the secretion of IFN γ and IL-4. The data obtained suggest a significance of IL-8 for direct regulation of adaptive T cell responses.

Keywords: interleukin-8, T lymphocytes, interleukin 8 receptor, activation of lymphocytes, cytokines, functional activity

Введение

Интерлейкин-8 (interleukin-8, IL-8, CXCL8) относится к группе СХС хемокинов, состоит из 72 аминокислот, имеет молекулярную массу 8-10 кДа [6]. Продуцентами IL-8 являются моноциты/макрофаги, фибробласты, лимфоциты, клетки эндотелия и гладкой мускулатуры [5, 16]. IL-8 распознается рецепторами CXCR1 и CXCR2, которые экспрессируются на нейтрофилах, моноцитах/макрофагах и Т-лимфоцитах [4, 7, 11]. Данные рецепторы различаются по степени экспрессии и афинности к IL-8, CXCR1 (CD181) связывает только IL-8, тогда как CXCR2 может также распознавать некоторые другие α -хемокины [21, 24]. После взаимодействия рецептора с IL-8 происходит связывание CXCR1 с G-белком, которое приводит к фосфоинозитидному гидролизу, а затем к внутриклеточной мобилизации Ca²⁺, хемотаксису и экзоцитозу. CXCR1 также активирует фосфолипазу С и запускает кислородный взрыв [23]. IL-8 индуцирует хемотаксис гранулоцитов, моноцитов/макрофагов и лимфоцитов в очаг воспаления. Он способен активировать нейтрофилы, стимулируя их дегрануляцию. IL-8 также обладает способностью усиливать выработку провоспалительных цитокинов мононуклеарными клеткам [10, 19, 27]. В современной литературе довольно подробно описана роль IL-8 в естественной иммунной защите. Вместе с тем роль IL-8 в механизмах адаптивного иммуногенеза пока остается малоизученной.

Цель настоящей работы – исследовать прямое влияние IL-8 на экспрессию его рецепторов на Т-лимфоцитах, а также прямые эффекты этого хемокина на активацию Т-клеток и продукцию ими иммунорегуляторных цитокинов.

Материалы и методы

В исследование были включены 14 условно здоровых доноров обоего пола в возрасте от 21 до 35 лет. Материалом для исследования служила гепаринизированная венозная кровь (20 мл), взятая стандартным методом из локтевой вены (BD VacutainerTM, Greiner-bio-one, Австрия).

Выделение мононуклеарных клеток (МНК) проводили посредством центрифугирования

на фикольном градиенте (Ficoll-PaqueTM Premium sterile solution, плотность 1,077 \pm 0,001 g/ml, GE Healthcare, США). Подсчет клеточности проводили на счетчике клеток Z2 (Beckman Coulter, США). Т-лимфоциты (CD3⁺) выделяли методом позитивной магнитной колоночной сепарации (MS Columns, Miltenyi Biotec, Германия) с использованием магнитных частиц, конъюгированных с анти-CD3-антителами (CD3 Micro Beads human, Miltenyi Biotec, Германия), согласно инструкции производителя.

Выделенные Т-клетки культивировали в концентрации 1,0-1,5 \times 10⁶ кл/мл, в бессывороточной среде TexMACS (Miltenyi Biotec, Германия), в 24-луночной планшете, во влажной атмосфере с 5% CO₂, при 37 °С в течение 48 ч в присутствии частиц, конъюгированных с антителами к CD2, CD3 и CD28 (T-Cell Activation/Expansion Kit human, MACS Miltenyi Biotec, Германия) или без них контроле. Рекомбинантный IL-8 (Miltenyi Biotec, Германия) вносили в пробы в разных концентрациях (0,01; 0,1; 1,0; 10,0 нг/мл) одновременно с внесением частиц – активаторов Т-клеток.

Чистоту и жизнеспособность выделенных CD3⁺ клеток оценивали на проточном цитофлуориметре (Accuri C6, BD Biosciences, США) с использованием анти-CD3-антител, конъюгированных с фикоэритрином (eBioscience, США) и раствором PI (пропидиум иодид) (eBioscience, США). Цитометрический анализ Т-лимфоцитов проводили с использованием набора меченых антител: анти-CD4-PerCP, анти-CD181-FITC (eBioscience, США), анти-CD197-PE, анти-CD45RA-APC (BD Pharmingen, США) и анти-CD25-FITC (BioLegend, США). Для повышения точности и учета неспецифического связывания антител при гейтировании использовали изотип-контроли и FMO-контроли. Результаты оценивали на проточном цитофлуориметре (Accuri C6, BD Biosciences, США).

Уровни IL-2, IL-4, IL-8, IL-10 и IFN γ в Т-клеточных супернатантах определяли иммуноферментным методом на автоматическом анализаторе ChemWell 2910 (Awareness Technology, Inc., США) с использованием соответствующих

коммерческих тест-систем (ЗАО «Вектор-Бест», Россия).

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы IBM SPSS Statistics 20 (Statistical Package for the Social Sciences, США). В качестве средневыворочной характеристики использовали медиану (М), первый и третий квартили ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$). Для оценки статистической достоверности исследуемых данных использовали непараметрический критерий Вилкоксона для зависимых выборок, не подчиняющихся нормальному закону распределения. Различия между выборками считались значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты

Содержание CD3⁺Т-лимфоцитов среди клеток, выделенных из крови методом позитивной магнитной сепарации, было близко к 99,0 (98,6-99,5)%, клеточная жизнеспособность была не менее 95% (рис. 1А-С).

Первоначально мы нашли, что Т-лимфоциты являются продуцентами ИЛ-8. Концентрация ИЛ-8 в супернатантах, полученных от неактивированных клеток, составляла 141,7 (50,0-120,0) пг/мл. Активация Т-лимфоцитов приводила к статистически значимому увеличению содержания в культуральных супернатантах ИЛ-8 до 303,3 (200,0-236,0) пг/мл.

Использованная нами стратегия гейтирования представлена на рисунке 1. Она позволяла идентифицировать CD4⁺-позитивные и CD4⁺-негативные Т-клетки, а среди них CD45RA⁺CD197⁺ (наивные клетки), CD45RA⁺CD197⁺ (клетки центральной памяти), CD45RA⁺CD197⁻ (клетки эффекторной памяти), а также CD45RA⁺CD197⁻ (терминально-дифференцированные эффекторные клетки) [1, 25]. Количество клеток, экспрессирующих рецептор к ИЛ-8 (CD181), а также маркер активации CD25 оценивали в каждой идентифицированной субпопуляции.

Как показано в таблице 1, содержание CD181⁺ клеток среди CD3⁺Т-лимфоцитов составило 13,3 (10,5-15,5)%. Наибольшее число CD181⁺ клеток определялось среди CD4⁺Т-лимфоцитов эффекторной памяти и CD4⁺ терминально-дифференцированных Т-эффекторов. Добавление активатора вызывало достоверное увеличение количества CD181⁺ клеток среди CD4⁺Т-наивных и CD4⁺ терминально-дифференцированных Т-эффекторов. С другой стороны, активация Т-клеток приводила к снижению содержания CD181⁺ клеток среди CD4⁺Т-лимфоцитов эффекторной памяти. Снижение CD181⁺ также было отмечено среди активированных CD4⁺Т-лимфоцитов.

Первоначально мы установили, что ИЛ-8 не способен оказывать значимого влияния на содержание CD181⁺ клеток среди неактивирован-

ных Т-лимфоцитов (данные не представлены). Вместе с тем ИЛ-8, добавленный в культуру в концентрации 10 нг/мл заметно снижал содержание CD181⁺ клеток среди подвергшихся активации CD4⁺ наивных, CD4⁺ эффекторных и CD4⁺ терминально-дифференцированных Т-лимфоцитов (табл. 1).

Молекула CD25 – α -субъединица рецептора ИЛ-2, является общепринятым маркером лимфоидной активации, приводящей к ИЛ-2-зависимой пролиферации лимфоцитов [9, 22].

Согласно полученным нами результатам, ИЛ-8 не оказывал существенного влияния на экспрессию CD25 на неактивированных Т-клетках (данные не представлены). Вместе с тем в концентрации 10,0 нг/мл ИЛ-8 снижал содержание CD25⁺ клеток, как среди CD4⁺, так и среди CD4⁺Т-лимфоцитов. Показано, что ИЛ-8 во всех исследуемых концентрациях (0,01; 0,1; 1,0; 10,0 нг/мл) примерно в 2 раза снижал содержание активированных (CD25⁺) клеток среди CD4⁺Т-клеток эффекторной памяти и терминально-дифференцированных Т-лимфоцитов и при этом не оказывал значимого влияния на активацию CD4⁺ наивных Т-лимфоцитов и CD4⁺Т-клеток центральной памяти. Сходные результаты были получены при исследовании влияния ИЛ-8 на активацию CD4⁺Т-клеток (табл. 2).

Функциональную активность Т-лимфоцитов оценивали по продукции про- (ИЛ-2, IFN γ) и противовоспалительных (ИЛ-4, ИЛ-10) цитокинов. Согласно данным, представленным в таблице 3, ИЛ-8 усиливал продукцию ИЛ-2 активированными Т-клетками. Однако только в концентрациях 0,01 и 10,0 нг/мл это усиление было статистически значимым. С другой стороны, ИЛ-8 обладал способностью снижать продукцию ИЛ-10. Статистически достоверное снижение этого цитокина имело место при концентрации ИЛ-8 0,1 и 10,0 нг/мл. Кроме того, ИЛ-8 демонстрировал тенденцию к снижению продукции ИЛ-4, которая, однако, во всех исследуемых концентрациях ИЛ-8 была статистически недостоверной. Продукция IFN γ активированными Т-клетками под воздействием ИЛ-8 не претерпевала существенных изменений.

Обсуждение

Согласно данным, представленным в настоящей работе, Т-лимфоциты способны продуцировать ИЛ-8. Активация Т-лимфоцитов приводила к усилению продукции ИЛ-8. Эти результаты согласуются с ранее опубликованными данными, демонстрирующими продукцию ИЛ-8 активированными CD4⁺Т-клетками [14, 26]. Эти результаты прямо указывают на вовлеченность ИЛ-8 в аутокринную регуляцию функциональной активности Т-лимфоцитов. Очевидно, что значимость этой регуляции может возрастать на периферии, вне лимфоидных органов, в условиях

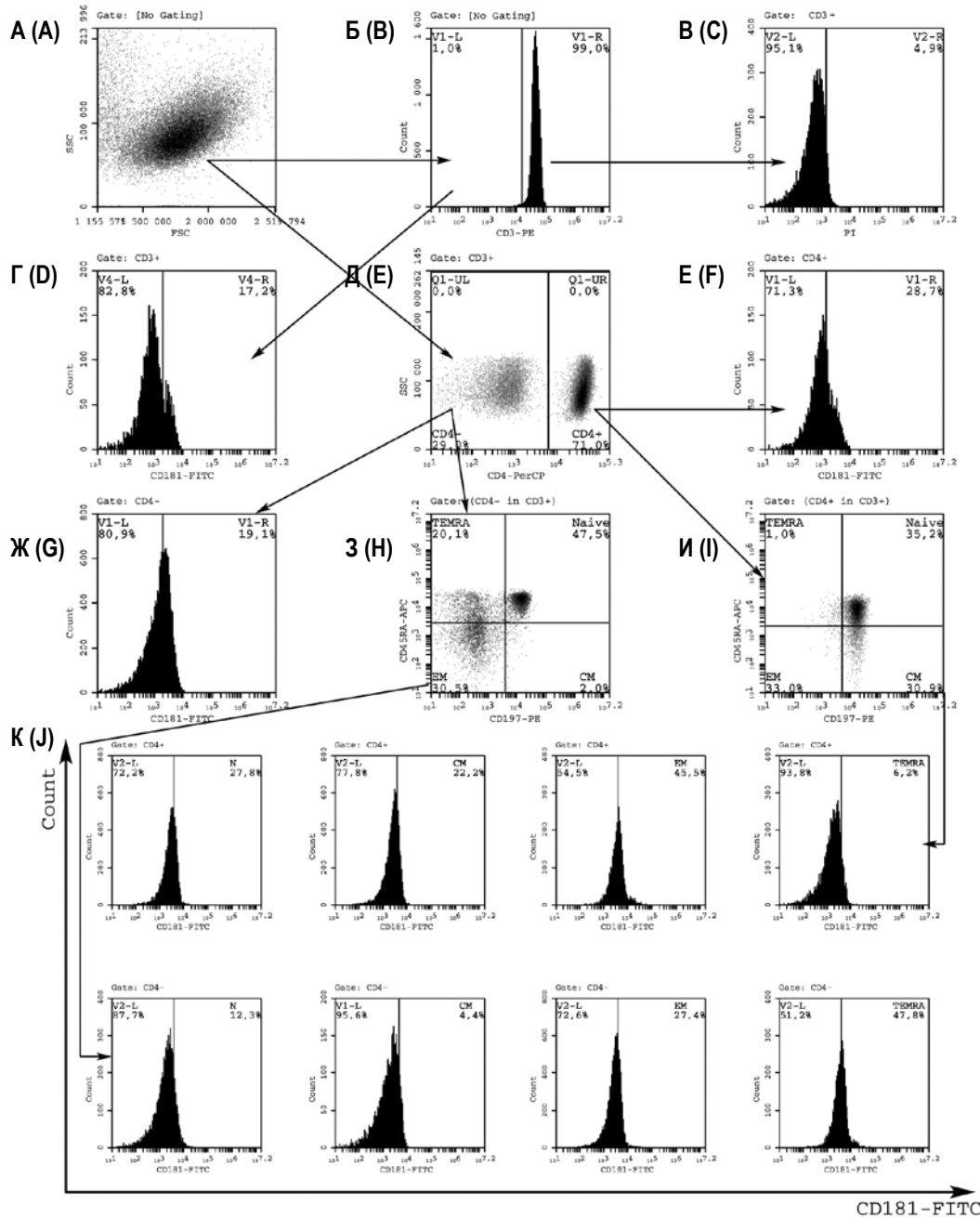


Рисунок 1. Алгоритм цитометрического анализа Т-лимфоцитов при определении CD181+ клеток

Примечание. А) распределение клеток по прямому (FSC) и боковому (SSC) светорассеянию;
 Б) содержание CD3+ клеток;
 В) жизнеспособность клеток, оцениваемая по окрашиванию PI: зона позитива – мертвые, зона негатива – живые;
 Г) содержание CD181+ лимфоцитов среди CD3+ клеток;
 Д) идентификация CD4-позитивных и CD4-негативных клеток. Зона позитива и зона негатива соответственно;
 Е) содержание CD181+ лимфоцитов среди CD4+ клеток;
 Ж) содержание CD181+ лимфоцитов среди CD4- клеток;
 З) идентификация наивных Т-клеток, Т-лимфоцитов центральной памяти, Т-клеток эффекторной памяти и терминально-дифференцированных Т-эффекторов среди CD4+ клеток;
 И) идентификация наивных Т-клеток, Т-лимфоцитов центральной памяти, Т-клеток эффекторной памяти и терминально-дифференцированных Т-эффекторов клеток среди CD4+ клеток;
 К) содержание CD181+ лимфоцитов среди наивных Т-клеток, Т-лимфоцитов центральной памяти и терминально-дифференцированных Т-эффекторов в CD4+ и CD4-Т-субпопуляциях.

Figure 1. Algorithm for cytometric detection of CD181+ cells among the T lymphocyte population.

А) cell distribution by forward and side light scatter (resp., FSC and SSC);
 Б) CD3+ cell contents;
 В) cell viability evaluated by PI staining: positive area, dead cells; negative area, live cells;
 Г) CD181+ lymphocyte contents among CD3+ cells;
 Д) CD4+ versus CD4- cell identification (positive and negative areas, respectively);
 Е) CD181+ contents among CD4+ cells;
 Ж) CD181+ lymphocyte contents among CD4- cells;
 З) identification of naive T cells, central memory T lymphocytes, effector memory T cells, and terminally differentiated T effectors among CD4+ cells;
 И) identification of naive T cells, central memory T lymphocytes, effector memory T cells, and terminally differentiated T effectors among CD4- cells;
 К) contents of CD181+ lymphocytes among naive T cells, central memory T lymphocytes, effector memory T cells, and terminally differentiated T effectors in CD4+ and CD4- T subpopulations.

ТАБЛИЦА 1. CD181⁺ (%) КЛЕТКИ СРЕДИ CD4⁺ И CD4⁺Т-ЛИМФОЦИТОВ

TABLE 1. CD181⁺ (%) CELLS AMONG CD4⁺ AND CD4⁺T LYMPHOCYTES

Субпопуляция Subpopulation	Без активации Without activation	Активация Activation	Активация + IL-8 (10,0 нг/мл) Activation + IL-8 (10.0 ng/ml)
CD4 ⁺	10,5 (7,2-14,6)	15,5* (13,2-16,6)	16,5 (15,4-17,5)
CD4⁺ наивные клетки CD4 ⁺ naïve cells	26,5 (25,4-29,0)	37,0* (33,8-38,7)	37,5 (33,7-41,2)
CD4⁺ клетки центральной памяти CD4 ⁺ central memory cells	22,2 (21,7-29,4)	23,8 (18,6-28,2)	20,2 (14,5-25,1)
CD4⁺ клетки эффекторной памяти CD4 ⁺ effector memory cells	44,5 (39,1-45,3)	29,9* (26,8-32,7)	33,9 (29,5-34,2)
CD4⁺ терминально-дифференцированные эффекторы CD4 ⁺ terminally differentiation effector cells	5,6 (3,6-7,1)	10,4* (6,9-13,9)	7,9 (7,2-15,0)
CD4 ⁻	15,5 (14,9-21,1)	25,7* (14,9-26,6)	21,0 (15,9-22,8)
CD4⁻ наивные клетки CD4 ⁻ naïve cells	14,2 (12,0-20,8)	15,5 (9,7-18,2)	8,9** (8,2-9,9)
CD4⁻ клетки центральной памяти CD4 ⁻ central memory cell	1,8 (1,4-1,9)	1,4 (1,0-3,3)	2,7 (1,7-3,1)
CD4⁻ клетки эффекторной памяти CD4 ⁻ effector memory cells	28,3 (26,4-29,7)	28,4 (19,8-28,9)	22,0** (16,5-26,6)
CD4⁻ терминально-дифференцированные эффекторы CD4 ⁻ terminally differentiation effector cells	54,4 (51,0-57,7)	60,2 (52,0-64,4)	45,1** (40,7-52,4)

Примечание. * $p < 0,05$ – в сравнении с пробами без активатора; ** $p < 0,05$ – в сравнении с пробами с активатором. Здесь и далее данные представлены в виде медианы, в скобках первый и третий квартили.

Note. * $p < 0.05$, compared with samples without activation; ** $p < 0.05$, compared with samples with activation. Here and further data was presented as median, and first, and third quartiles.

дефицита вспомогательных и иммунорегуляторных клеток.

Согласно представленным данным, содержание клеток, экспрессирующих рецептор к IL-8 составляет 13,3 (10,5-15,5)%. В целом эти результаты согласуются с литературными данными [8]. Интересно, что наибольшее содержание CD181⁺ клеток было отмечено среди покоящихся CD4⁺Т-клеток эффекторной памяти и среди CD4⁻терминально-дифференцированных Т-эффекторов, которые характеризуются высокой степенью зрелости. Эти клетки не обладают миграционной тропностью к лимфоидным органами, по-видимому, не вносят существенный вклад в генерацию долговременной иммунной памяти. Следует, однако, иметь в виду, что активация Т-лимфоцитов может индуцировать экспрессию CD181 на относительно низкодифференциро-

ванных Т-лимфоцитах, способных мигрировать в лимфоидные органы и там подвергаться клональной экспансии [12]. Отсюда можно предполагать участие IL-8 в механизмах, регулирующих формирование долговременной иммунной памяти. Это предположение согласуется с ранее опубликованными данными, показавшими, что IL-8 способен индуцировать экспрессию CD181 на активированных CD8⁺Т-лимфоцитах центральной памяти [13]. В нашей работе мы показали разнонаправленное влияние IL-8 на экспрессию CD181, выявляемую на разных Т-клеточных субпопуляциях. Возможно, это связано с интернализацией рецептора после его связывания с IL-8 [18, 20].

В настоящей работе мы показали способность IL-8 избирательно снижать оцениваемую по экспрессии CD25 активацию высокодиффе-

ТАБЛИЦА 2. СОДЕРЖАНИЕ CD25⁺ (%) КЛЕТОК СРЕДИ CD4⁺ И CD4-T-ЛИМФОЦИТОВ

TABLE 2. CD25⁺ (%) CELLS CONTENT AMONG CD4⁺ AND CD4-T LYMPHOCYTES

Субпопуляция Subpopulation	Без активации Without activation	Активация + IL-8 (нг/мл) Activation + IL-8 (ng/ml)				
		0,0	0,01	0,1	1,0	10,0
CD4 ⁺	0,1 (0-0,2)	6,0* (2,6-14,4)	6,5 (1,8-13,3)	6,0 (2,0-14,1)	7,1 (1,5-14,5)	4,6** (1,8-12,6)
CD4 ⁺ наивные клетки CD4 ⁺ naïve cells	0,0 (0,0-0,1)	3,3* (1,4-5,1)	4,3 (1,3-5,7)	3,5 (1,8-8,0)	3,8 (1,9-8,9)	3,5 (1,1-6,8)
CD4 ⁺ клетки центральной памяти CD4 ⁺ central memory cells	0,05 (0-0,2)	9,2* (5,4-11,5)	10,3 (4,7-18,7)	9,9 (6,1-17,4)	11,3 (8,3-20,4)	10,1 (4,2-15,5)
CD4 ⁺ клетки эффектор-ной памяти CD4 ⁺ effector memory cells	0,35 (0,1-0,9)	21,9* (6,9-44,4)	10,7** (4,9-38,4)	11,7** (5,3-42,1)	11,7** (4,2-42,2)	9,5** (6,3-41,0)
CD4 ⁺ терминально-дифференцированные эффекторы CD4 ⁺ terminally differentiation effector cells	0,0 (0,0-0,9)	27,1* (6,1-55,9)	12,9** (2,7-51,0)	11,4** (4,4-50,2)	9,7** (1,9-45,7)	12,7** (5,4-48,8)
CD4 ⁻	0,2 (0,1-0,4)	19,3* (1,5-30,6)	20,5 (5,8-27,2)	22,0 (4,4-27,4)	21,1 (6,2-28,8)	18,1** (4,5-25,7)
CD4 ⁻ наивные клетки CD4 ⁻ naïve cells	0,0 (0,0-0,1)	13,9* (5,6-15,3)	13,4 (11,7-16,2)	14,8 (11,0-16,2)	14,6 (14,1-16,7)	11,4 (11,2-11,8)
CD4 ⁻ клетки центральной памяти CD4 ⁻ central memory cells	0,0 (0,0-0,1)	29,7* (11,5-36,4)	28,9 (4,3-39,8)	26,6 (2,9-40,1)	25,2 (7,5-41,0)	24,1 (3,2-40,0)
CD4 ⁻ клетки эффектор-ной памяти CD4 ⁻ effector memory cells	0,45 (0,2-0,7)	29,8* (8,2-53,9)	8,2** (6,5-52,2)	10,4** (6,1-56,4)	9,5** (6,4-53,7)	14,3** (5,8-52,9)
CD4 ⁻ терминально-дифференцированные эффекторы CD4 ⁻ terminally differentiation effector cells	0,4 (0,1-0,7)	17,7* (9,4-28,4)	16,0 (6,6-29,6)	14,9** (6,6-29,6)	13,7** (4,2-30,7)	13,7** (9,1-27,6)

Примечание. См. примечание к таблице 1.
Note. See note to table 1.

ренцированных CD197-T-клеток, утративших способность мигрировать в лимфоидные органы и подвергаться там размножению. Эти данные указывают на возможную прямую вовлеченность IL-8 в негативную регуляцию локальных T-клеточных реакций [2]. На такую вовлеченность могут также указывать ранее опубликованные данные о способности регуляторных CD4⁺FoxP3⁺T-клеток вырабатывать IL-8 [17], которая резко возрастает в ответ на их активацию [3]. В свете представленных данных можно предполагать, что IL-8, наряду с IL-10 и TGF-β, способен опосредовать иммуносупрессивный эффект регуляторных T-клеток. Однако, это предположение входит в прямое противоречие с нашими данными, демонстрирующими пози-

тивный эффект IL-8 на T-клеточную продукцию IL-2 и негативный эффект на секрецию IL-10. Мы также заметили, что IL-8 свойственна тенденция снижать осуществляемую активированными T-клетками продукцию IL-4. Такая тенденция была также описана ранее [15]. Таким образом, IL-8 способен оказывать разнонаправленное влияние на активацию и функциональную деятельность разных T-клеточных субпопуляций. Мы предполагаем, что, с одной стороны, IL-8 мог бы препятствовать развитию избыточных T-клеточных реакций на периферии, с другой – он мог бы способствовать развитию адаптивных T-клеточных процессов, формирующих иммунную память.

ТАБЛИЦА 3. ПРОДУКЦИЯ ЦИТОКИНОВ Т-ЛИМФОЦИТАМИ (пг/мл)

TABLE 3. PRODUCTION OF CYTOKINES BY T LYMPHOCYTES (pg/ml)

Цитокин Cytokine	Без активации Without activation	Активация + IL-8 (нг/мл) Activation + IL-8 (ng/ml)				
		0,0	0,01	0,1	1,0	10,0
IL-2	< 10	500* (158-1215)	702** (253-1314)	620 (236-1245)	662 (233-1331)	619** (218-1488)
IFN γ	< 10	3402,7* (1775-4479)	2992,5 (1134-5556)	1620 (1061-7620)	3781 (1187-7203)	4430 (694-7057)
IL-4	< 2	13,9* (3,4-41,8)	6,9 (3,6-15,0)	8,4 (4,8-12,9)	9,0 (3,3-33,3)	9,3 (5,1-17,2)
IL-10	< 5	439,8* (194,4-728,8)	504,8 (219,4-612,6)	385,65** (233,6-607,8)	458,25 (233,7-657,0)	285,9** (185,4-683,5)

Примечание. См. примечание к таблице 1.

Note. See note to table 1.

Список литературы / References

1. Кудрявцев И.В. Т-клетки памяти: основные популяции и стадии дифференцировки // Российский иммунологический журнал, 2014. Т. 8 (17), № 4. С. 947-964. [Kudryavtsev I.V. Memory T cells: major populations and stages of differentiation. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2014, Vol. 8 (17), no. 4, pp. 947-964. (In Russ.)]
2. Меняйло М.Е., Малащенко В.В., Шмаров В.А., Газатова Н.Д., Тодосенко Н.М., Мелашенко О.Б., Гончаров А.Г., Селедцов, В.И. Прямое влияние интерлейкина-8 на активацию Т-клеток // Российский иммунологический журнал, 2016. Т. 10, № 2. С. 174-178. [Meniailo M.E., Malashchenko V.V., Shmarov V.A., Gazatova N.D., Todosenko N.M., Melashchenko O.B., Goncharov A.G., Seledov V.I. The direct influence of interleukin-8 on T-cell activation. *Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal = Russian Journal of Immunology*, 2016, Vol. 10, no. 2, pp. 174-178. (In Russ.)]
3. Akhade A.S., Qadri A. T-cell receptor activation of human CD4⁺ T cells shifts the innate TLR response from CXCL8^{hi}IFN γ ^{null} to CXCL8^{lo}IFN γ ^{hi}. *European Journal of Immunology*, 2015, Vol. 45, no. 9, pp. 2628-2637.
4. Becker S., Quay J., Koren H.S., Haskill J.S. Constitutive and stimulated MCP-1, GRO alpha, beta, and gamma expression in human airway epithelium and bronchoalveolar macrophages. *Am. J. Physiol.*, 1994, Vol. 266, no. 3, pp. L278-L286.
5. Bickel M. The role of interleukin-8 in inflammation and mechanisms of regulation. *J. Periodontol.*, 1993, Vol. 64, no. 5, pp. 456-460.
6. Brat D.J., Bellail A.C., van Meir E.G. The role of interleukin-8 and its receptors in gliomagenesis and tumoral angiogenesis. *Neurooncol.*, 2005, Vol. 7, no. 2, pp. 122-133.
7. Casilli F., Bianchini A., Gloaguen I., Biordi L., Alesse E., Festuccia C., Cavalieri B., Strippoli R., Cervellera M.N., Di Bitondo R., Ferretti E., Mainiero F., Bizzarri C., Colotta F., Bertini R. Inhibition of interleukin-8 (CXCL8/IL-8) responses by repertaxin, a new inhibitor of the chemokine receptors CXCR1 and CXCR2. *Biochem. Pharmacol.*, 2005, Vol. 69, no. 3, pp. 385-394.
8. Chuntharapai A., Lee J., Hebert C.A., Kim K.J. Monoclonal antibodies detect different distribution patterns of IL-8 receptor A and IL-8 receptor B on human peripheral blood leukocytes. *J. Immunol.*, 1994, Vol. 152, no. 12, pp. 5682-5688.
9. Clausen J., Vergeiner B., Enk M., Petzer A.L., Gastl G., Gunsilius E. Functional significance of the activation-associated receptors CD25 and CD69 on human NK-cells and NK-like T-cells. *Immunobiology*, 2003, Vol. 207, no. 2, pp. 85-93.
10. de Oliveira S., Reyes-Aldasoro C.C., Candel S., Renshaw S.A., Mulero V., Calado A. Cxcl8 (IL-8) mediates neutrophil recruitment and behavior in the zebrafish inflammatory response. *J. Immunol.*, 2013, Vol. 190, no. 8, pp. 4349-4359.
11. Dixit N., Simon S. I. Chemokines, selectins and intracellular calcium flux: temporal and spatial cues for leukocyte arrest. *Front. Immunol.*, 2012, Vol. 3, no. 188.
12. Francis J.N., Jacobson M.R., Lloyd C.M., Sabroe I., Durham S.R., Till S.J. CXCR1⁺ CD4⁺ T cells in human allergic disease. *J. Immunol.*, 2004, Vol. 172, no. 1, pp. 268-273.
13. Gasser O., Missiou A., Eken C., Hess C. Human CD8⁺ T cells store CXCR1 in a distinct intracellular compartment and up-regulate it rapidly to the cell surface upon activation. *Blood*, 2005, Vol. 106, no. 12, pp. 3718-3724.
14. Gesser B., Deleuran B., Lund M., Vestergaard C., Lohse N., Deleuran M., Jensen S.L., Pedersen S.S., Thestrup-Pedersen K., Larsen C.G. Interleukin-8 induces its own production in CD4⁺ T lymphocytes: a process regulated by interleukin 10. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1995, Vol. 210, no. 3, pp. 660-669.
15. Gesser B., Lund M., Lohse N., Vestergaard C., Matsushima K., Sindet-Pedersen S., Larsen C.G. IL-8 induces T cell chemotaxis, suppresses IL-4, and up-regulates IL-8 production by CD4⁺ T cells. *J. Leukoc. Biol.*, 1996, Vol. 59, no. 3, pp. 407-411.

16. Hedges J.C., Singer C.A., Gerthoffer W.T. Mitogen-activated protein kinases regulate cytokine gene expression in human airway myocytes. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*, 2000, Vol. 23, no. 1, pp. 86-94.
17. Himmel M.E., Crome S.Q., Ivison S., Piccirillo C., Steiner T.S., Levings M.K. Human CD4⁺ FOXP3⁺ regulatory T cells produce CXCL8 and recruit neutrophils. *European Journal of Immunology*, 2011, Vol. 41, no. 2, pp. 306-312.
18. Jones S.A., Wolf M., Qin S., Mackay C.R., Baggiolini, M. Different functions for the interleukin 8 receptors (IL-8R) of human neutrophil leukocytes: NADPH oxidase and phospholipase D are activated through IL-8R1 but not IL-8R2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, Vol. 93, no. 13, pp. 6682-6686.
19. Kohidai L., Csaba G. Chemotaxis and chemotactic selection induced with cytokines (IL-8, Rantes and TNF- α) in the unicellular *Tetrahymena pyriformis*. *Cytokine*, Vol. 10, no. 7, pp. 481-486.
20. L'Heureux G.P., Bourgoin S., Jean N., McColl S.R., Naccache P.H. Diverging signal transduction pathways activated by interleukin-8 and related chemokines in human neutrophils: interleukin-8, but not NAP-2 or GRO alpha, stimulates phospholipase D activity. *Blood*, 1995, Vol. 85, no. 2, pp. 522-532.
21. Lippert U., Zachmann K., Henz B.M., Neumann C. Human T lymphocytes and mast cells differentially express and regulate extra- and intracellular CXCR1 and CXCR2. *Exp. Dermatol.*, 2004, Vol. 13, no. 8, pp. 520-525.
22. Murphy K., Travers P., Walport M. *Janeway's Immunobiology*. New York: Garland Science, 2011. 888 p.
23. Nasser M.W., Raghuwanshi S.K., Grant D.J., Jala V.R., Rajarathnam K., Richardson R.M. Differential activation and regulation of CXCR1 and CXCR2 by CXCL8 monomer and dimer. *J. Immunol.*, 2009, Vol. 183, no. 5, pp. 3425-3432.
24. Raghuwanshi S.K., Su Y., Singh V., Haynes K., Richmond A., Richardson R.M. The chemokine receptors CXCR1 and CXCR2 couple to distinct G protein-coupled receptor kinases to mediate and regulate leukocyte functions. *J. Immunol.*, 2012, Vol. 289, no. 6, pp. 2824-2832.
25. Todosenko N.M., Shmarov V.A., Malashchenko V.V., Meniailo M.E., Melashchenko O.B., Gazatova N.D., Goncharov A.G., Seledtsov V.I. Erythropoietin exerts direct immunomodulatory effects on the cytokine production by activated human T-lymphocytes. *Int. Immunopharmacol.*, 2016, Vol. 36, pp. 277-281.
26. Wechsler A.S., Gordon M.C., Dendorfer U., LeClair K.P. Induction of IL-8 expression in T cells uses the CD28 costimulatory pathway. *J. Immunol.*, 1994, Vol. 153, no. 6, pp. 2515-2523.
27. Zheng M., Sun G., Cai S., Mrowietz U. T-lymphocyte chemotaxis to IL-8 in patients with psoriasis *in vitro*. *Chin. Med. J.*, 1998, Vol. 111, no. 2, pp. 166-168.

Авторы:

Меняйло М.Е. — младший научный сотрудник ФГАОУ «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Малащенко В.В. — младший научный сотрудник ФГАОУ «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Шмаров В.А. — младший научный сотрудник ФГАОУ «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Газатова Н.Д. — научный сотрудник ФГАОУ «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Мелашченко О.Б. — научный сотрудник ФГАОУ «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Гончаров А.Г. — к.м.н., директор Центра медицинских биотехнологий ФГАОУ «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», г. Калининград, Россия

Селедцова Г.В. — д.м.н., заведующая лабораторией клеточных биотехнологий ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» СО РАМН, г. Новосибирск, Россия

Селедцов В.И. — д.м.н., профессор, заведующий отделом диагностических технологий ФГБУ «Российский научный центр медицинской реабилитации и курортологии» Министерства здравоохранения РФ, Москва, Россия

Authors:

Meniailo M.E., Junior Research Associate, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Malashchenko V.V., Junior Research Associate, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Shmarov V.A., Junior Research Associate, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Gizatova N.D., Research Associate, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Melashchenko O.B., Research Associate, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Goncharov A.G., PhD (Medicine), Director, Center of Medical Biotechnologies, I. Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

Seledtsova G.V., PhD, MD (Medicine), Head, Laboratory of Cellular Biotechnology, Research Institute of Clinical Immunology, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

Seledtsov V.I., PhD, MD (Medicine), Professor, Head, Department of Diagnostic Technologies, Russian Research Center of Medical Rehabilitation and Balneotherapy, Moscow, Russian Federation

Поступила 30.03.2017
Принята к печати 02.05.2017

Received 30.03.2017
Accepted 02.05.2017