

## ПОДДЕРЖАНИЕ CD4<sup>+</sup> ЦЕНТРАЛЬНЫХ И ЭФФЕКТОРНЫХ КЛЕТОК ПАМЯТИ В НОРМЕ И В МОДЕЛИ ВОСПАЛЕНИЯ *IN VITRO*

Блинова Е.А.<sup>1</sup>, Колерова А.В.<sup>1</sup>, Балясников В.Е.<sup>2</sup>, Козлов В.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и фундаментальной иммунологии», г. Новосибирск, Россия

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Россия

**Резюме.** В организме ключевым фактором для выживания и поддержания CD4<sup>+</sup> центральных (Тсм) и эффекторных (Тем) клеток памяти является ИЛ-7. При многих аутоиммунных заболеваниях детектируется повышенный уровень ИЛ-7 в сыворотке крови, очаге воспаления, что ставит вопрос об участии данного гомеостатического фактора в выживании Т-клеток памяти, в том числе аутореактивных, в условиях воспаления.

Целью исследования явилось изучение механизмов поддержания CD4<sup>+</sup>Т-клеток памяти в норме и в условиях воспаления. Мы разработали модель воспаления *in vitro*, основанную на индукции провоспалительных цитокинов, и оценили влияние ИЛ-7 на сортированные популяции CD4<sup>+</sup>Тсм и Тем в норме и в модели воспаления *in vitro*. ИЛ-7 способствовал сохранению CD4<sup>+</sup>Тсм во всех вариантах культур. В отсутствие контакта с прилипающей фракцией пролиферативный ответ Тсм и Тем на ИЛ-7 был немного снижен как в норме, так и в условиях воспаления. Что говорит о меньшей чувствительности Т-клеток памяти к контактам с МНС и, возможно, необходимости в дополнительных сигналах для полноценной стимуляции ИЛ-7. В пользу данного утверждения свидетельствуют и данные об экспрессии CD127 и CD132: в отсутствие контакта с МНС доля CD127<sup>+</sup>CD132<sup>+</sup> клеток уменьшалась в обеих субпопуляциях CD4<sup>+</sup> клеток памяти. В культурах *in vitro* ИЛ-7 способствовал снижению экспрессии CD127 и увеличению экспрессии CD132 на CD4<sup>+</sup>Тсм и Тем.

Мы охарактеризовали CD4<sup>+</sup>Тсм и Тем по аффинности Т-клеточного рецептора (ТКР), используя уровень экспрессии CD5. Известно, что клетки с высокой аффинностью ТКР к собственным антигенам обладают более высокой экспрессией CD5. Тсм содержали большее количество CD5<sup>high</sup> клеток по сравнению с Тем. В культурах ИЛ-7 способствовал поддержанию высокого уровня экспрессии CD5 на Тсм, который был сопоставим с уровнем экспрессии в периферической крови. Высокая экспрессия CD5 на Тем наблюдалась при добавлении ИЛ-7 в модели воспаления *in vitro*. В отсутствие контакта с МНС число CD5<sup>high</sup> среди CD4<sup>+</sup>Тсм и Тем снижалось.

Таким образом, CD4<sup>+</sup>Тсм клетки с высоким родством к аутологичным антигенам, возможно, зависимы от наличия гомеостатических факторов, в частности ИЛ-7, и контакта с антигенпрезентирующими клетками (АПК). В условиях воспаления не было выявлено изменений в механизме поддержания CD4<sup>+</sup>Тсм, в отличие от CD4<sup>+</sup>Тем. Менее зависимые от ИЛ-7 в обычных условиях, CD4<sup>+</sup>CD5<sup>high</sup>Тем клетки накапливались в условиях воспаления в присутствии ИЛ-7.

**Ключевые слова:** центральные Т-клетки памяти, эффекторные Т-клетки памяти, ИЛ-7, рецептор для ИЛ-7, CD5, провоспалительные цитокины, модель воспаления *in vitro*

### Адрес для переписки:

Блинова Елена Андреевна  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
клинической и фундаментальной иммунологии»  
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.  
Тел.: 8 (383) 227-01-35.  
Факс: 8 (383) 222-70-28.  
E-mail: blinovaelena-85@yandex.ru

### Address for correspondence:

Blinova Elena A.  
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology  
630099, Russian Federation, Novosibirsk,  
Yadrintsevskaya str., 14.  
Phone: 7 (383) 227-01-35.  
Fax: 7 (383) 222-70-28.  
E-mail: blinovaelena-85@yandex.ru

### Образец цитирования:

Е.А. Блинова, А.В. Колерова, В.Е. Балясников, В.А. Козлов «Поддержание CD4<sup>+</sup> центральных и эффекторных клеток памяти в норме и в модели воспаления *in vitro*» // Медицинская иммунология, 2020. Т. 22, № 5. С. 837-846.  
doi: 10.15789/1563-0625-IVM-1975  
© Блинова Е.А. и соавт., 2020

### For citation:

E.A. Blinova, A.V. Kolerova, V.E. Kolerova, V.A. Kozlov "In vitro maintaining of CD4<sup>+</sup> central and effector memory cells in normal and inflammatory conditions", Medical Immunology (Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2020, Vol. 22, no. 5, pp. 837-846.  
doi: 10.15789/1563-0625-IVM-1975  
DOI: 10.15789/1563-0625-IVM-1975

## IN VITRO MAINTAINING OF CD4<sup>+</sup> CENTRAL AND EFFECTOR MEMORY CELLS IN NORMAL AND INFLAMMATORY CONDITIONS

Blinova E.A.<sup>a</sup>, Kolerova A.V.<sup>a</sup>, Kolerova A.V.<sup>b</sup>, Kozlov V.A.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>b</sup> Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

**Abstract.** IL-7 is a key factor for the survival and maintenance of CD4<sup>+</sup> central (Tcm) and effector (Tem) memory cells in the whole body. In many autoimmune diseases, an elevated level of IL-7 is detected in blood serum and at the site of inflammation, thus suggesting participation of this homeostatic factor in the survival of memory T cells, including auto-reactive clones, in inflammatory disorders. The aim of the study was to investigate the mechanisms of maintaining CD4<sup>+</sup> memory T cells under normal and inflammatory conditions. We developed an *in vitro* model of inflammation, based on induction of pro-inflammatory cytokines, and then evaluated the effects of IL-7 upon purified sorted populations of CD4<sup>+</sup>Tcm and Tem under normal conditions and *in vitro* inflammatory model. IL-7 treatment promoted maintenance of CD4<sup>+</sup>Tcm phenotype in all variants of cultures. In the absence of contact with adherent cell fraction, the IL-7-induced proliferation of Tcm and Tem was slightly reduced, both under normal and inflammatory conditions, thus suggesting low sensitivity of memory T cells to contacts with MHC, and, probably, a requirement for additional signals to provide complete stimulation with IL-7. The last suggestion is also supported by data about CD127 and CD132 expression, i.e., in the absence of contact with MHC, the proportion of CD127<sup>+</sup>CD132<sup>+</sup> cells was decreased in both subpopulations of CD4<sup>+</sup> memory cells. Upon *in vitro* cultures, IL-7 contributed to decreased expression of CD127, and increased expression of CD132 on CD4<sup>+</sup>Tcm and Tem.

We have evaluated the CD4<sup>+</sup>Tcm and Tem populations by affinity of T cell receptor (TCR), using the level of CD5 expression. T cells with high TCR affinity for self-antigens are known to have higher expression of CD5. In comparison to Tem, the Tcm contained more CD5<sup>high</sup> cells. In cultures, IL-7 promoted a high level of CD5 expression on Tcm, which was comparable to levels observed in peripheral blood cells. High CD5 expression on Tem was observed after stimulation with IL-7 in the *in vitro* inflammatory model. In the absence of contact with MHC, the number of CD5<sup>high</sup> cells decreased among CD4<sup>+</sup>Tem and Tcm.

Thus, CD4<sup>+</sup>Tcm cells with high affinity for autologous antigens are probably dependent on the presence of homeostatic factors, in particular, IL-7, and contacts with antigen-presenting cells (APCs). Under conditions of inflammation, no changes were revealed in the mechanism of maintaining CD4<sup>+</sup>Tcm, in contrast to CD4<sup>+</sup>Tem. Being less dependent on IL-7 under normal conditions, CD4<sup>+</sup>CD5<sup>high</sup>Tem are accumulated in the presence of IL-7 under *in vitro* inflammatory conditions.

**Keywords:** central memory T cells, effector memory T cells, IL-7, IL-7 receptor, CD5, proinflammatory cytokines, inflammation model *in vitro*

Данная работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект РНФ № 18-75-00068).

### Введение

Образование Т-клеток памяти происходит в ответ на антигенную стимуляцию во вторичных лимфоидных органах. В результате клетки приобретают способность мигрировать в органы и ткани организма, продуцировать спектр цитокинов, осуществляя эффекторную функцию напрямую или опосредовано, через активацию клеток врожденного иммунного ответа. Большая часть эффекторных Т-клеток при этом гибнет, а циркулирующие долгоживущие Т-клетки памяти формируют иммунологическую память. На сегодняшний день Т-клетки памяти представляют гетерогенную популяцию. В зависимости от экс-

прессии поверхностных маркеров Т-клетки памяти принято разделять на [9]:

– центральные (CD45RO<sup>+</sup>CCR7<sup>+</sup>CD62L<sup>+</sup>, Tcm), которые способны рециркулировать в лимфоидных органах, секретировать IL-2;

– эффекторные (CD45RO<sup>+</sup>CCR7<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>, Tem), которые экспрессируют хемокины для миграции в органы и ткани, продуцируют эффекторные цитокины, перфорин, гранзимы;

– терминально дифференцированные клетки памяти (CD45RA<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup>CD62L<sup>-</sup>);

– редкую субпопуляцию стволовых клеток памяти (CD45RA<sup>+</sup>CCR7<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>), которая является переходной между наивными Т-клетками и основными субпопуляциями клеток памяти и имеет способность к длительному поддержанию в организме.

В процессах выживания, поддержания, как и гомеостатической пролиферации Т-клеток, веду-

шую роль играет IL-7, в большей степени от него зависят наивные CD4<sup>+</sup> лимфоциты, CD4<sup>+</sup>Tcm и Tem клетки [5, 8, 12]. Поддерживающий эффект IL-7 обеспечивается его связыванием с высокоаффинной  $\alpha$ -цепью рецептора к IL-7 (IL-7R $\alpha$ , CD127) и запуском сигнального пути, который начинается с активации тирозинкиназ Jak1 и Jak3, связанных с  $\alpha$ -цепью и общей  $\gamma$ -цепью (CD132). В результате происходит фосфорилирование и димеризация транскрипционного фактора STAT5, который мигрирует в ядро и регулирует транскрипцию генов [15].

В последнее время исследователи отмечают вовлеченность гомеостатического фактора IL-7 в патогенезе аутоиммунных заболеваний. Прямое действие IL-7 на Т-клетки способствует продукции преимущественно цитокинов Th1- и Th17-типа [13]. Данный цитокин обеспечивает Т-зависимую активацию макрофагов, дендритных клеток и В-клеток, что сопровождается увеличением экспрессии дифференцировочных факторов, хемокинов, адгезивных и костимуляторных молекул, катаболических ферментов [4]. Кроме того, высказывается предположение, что аутореактивные клоны Т-клеток могут поддерживаться IL-7, что в результате приводит к хроническому течению аутоиммунного заболевания.

При многих аутоиммунных заболеваниях уровень IL-7 повышен в сыворотке крови [25], а при ревматоидном артрите его концентрация существенно увеличена в синовиальной жидкости [6, 20]. При этом у пациентов с аутоиммунной патологией наблюдается накопление Т-клеток памяти. Так, согласно литературным данным, количество центральных клеток памяти CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>CD62L<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>CD45RA<sup>-</sup>CD62L<sup>+</sup> повышено у пациентов с ревматоидным артритом по сравнению с донорами, в то время как число терминально дифференцированных эффекторных клеток памяти остается на уровне донорских значений [14]. Все эти данные дают основание предполагать, что механизмы поддержания Т-клеток в условиях воспаления могут иметь отличия. Поэтому **целью данной работы** было исследование влияния IL-7 на поддержание, пролиферацию CD4<sup>+</sup> центральных и эффекторных клеток памяти в норме и в условиях воспаления *in vitro*.

## Материалы и методы

В исследование вошли 15 условно-здоровых доноров (мужчин и женщин), в возрасте от 28 до 58 лет (средний возраст – 48±2,7 лет). Набор доноров в группу осуществлялся после подписания информированного согласия.

### Получение и культивирование клеток периферической крови

Выделение мононуклеарных клеток (МНК) осуществляли методом центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографина ( $\rho = 1,082$  г/л) (BioClot GmbH, Германия). При-

липающую фракцию получали путем культивирования выделенных МНК в чашке Петри в среде RPMI-1640 (ООО «ПанЭко»), дополненной гентамицином (50 мкг/мл, ООО «Дальхимфарм»), тиенамом (25 мкг/мл, Merck Sharp & Dohme Corp., США) и 10% FCS (HyClone, США) (полная культуральная среда), в течение 1 часа во влажной атмосфере с 5% CO<sub>2</sub> при 37 °С. Неприлипающую фракцию клеток аккуратно собирали и использовали для последующей сортировки на CD4<sup>+</sup> центральные и эффекторные клетки памяти. При отработке модели неприлипающую фракцию без сортировки использовали для культивирования с прилипающей фракцией.

Прилипающую фракцию переносили в лунки 24-луночных планшетов trans-well (BioFill, Китай) с культурными вставками и культивировали в объеме 0,5 мл в полной культуральной среде в отсутствие и присутствии липополисахарида LPS 055:b5 (Sigma, США) в конечной концентрации 10 мкг/мл. Оптимальное время для культивирования составило 18-20 часов.

Клетки прилипающей фракции собирали, центрифугировали и удаляли супернатант. После чего клетки сокультивировали с сортированными CD4<sup>+</sup> центральными или эффекторными клетками памяти в 24-луночных планшетах trans-well (BioFill, Китай) с культурными вставками в условиях наличия/отсутствия контакта в присутствии или отсутствии IL-7 (50 нг/мл, PeproTech, США) в течение 6 дней во влажной атмосфере с 5%-ным CO<sub>2</sub> при 37 °С. Схематично дизайн эксперимента представлен на рисунке 1.

### Сортировка CD4<sup>+</sup> центральных и эффекторных клеток памяти

Популяции CD4<sup>+</sup> центральных и эффекторных клеток памяти получали из неприлипающей фракции МНК методом магнитной сортировки, используя частицы, колонки и необходимое оборудование компании Miltenyi Biotec (США). CD4<sup>+</sup>45RO<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup> (эффекторные, Tem) клетки памяти получали с помощью негативной магнитной сортировки, CD4<sup>+</sup>45RO<sup>+</sup>CCR7<sup>+</sup> (центральные, Tcm) клетки памяти получали в 2 этапа: сначала проводили негативную сортировку CD4<sup>+</sup>45RO<sup>+</sup> клеток, потом – позитивную сортировку из них CCR7<sup>+</sup> клеток. Часть выделенных клеток окрашивали моноклональными антителами против CD4, CD45 и CCR7, которые указаны в панели 1 ниже, и проводили цитометрический анализ. Чистоту сортировки определяли из гейта CD4<sup>+</sup> лимфоцитов. Для CD4<sup>+</sup> центральных клеток памяти чистота сортировки в среднем составила 87±4,9%, для CD4<sup>+</sup> эффекторных клеток памяти – 79±2,5%. Перед сокультивированием с прилипающей фракцией отсортированные клетки окрашивали витальным красителем CFSE (4 мкМ, Molecular probe, США) для последующей



оценки пролиферативного ответа клеток памяти на IL-7.

#### Определение концентрации IL-1 $\beta$ и TNF $\alpha$

Продукцию провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  определяли в супернатантах культур с прилипающей фракцией, стимулированной и нестимулированной LPS, методом иммуноферментного анализа. Для определения использовали диагностические наборы АО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск), основанные на «сэндвич»-варианте твердофазного ИФА, и включающие калибровочные образцы. Супернатанты от стимулированных LPS культур перед проведением анализа разбавляли в 10 раз средой RPMI-1640. Величину оптической плотности в лунках измеряли спектрофотометром Multimode Reader TriStar LB 941 (Berthold Technologies, Germany) при длине волны 450 нм, в качестве референса использовалась длина волны 620 нм. Определение проводили в дублях, поэтому результат представлял среднее арифметическое значение, полученное из 2 лунок.

#### Проточная цитофлуориметрия

Клетки периферической крови и клетки после культивирования окрашивали конъюгированными с флуорохромами моноклональными антителами к поверхностным маркерам CD4<sup>+</sup>Tcm и Tem,  $\alpha$ -цепи рецептора для IL-7, общей  $\gamma$ -цепи, лимфоцитарному рецептору CD5. Использовались следующие панели: 1. CD4-PE (ООО «Сорбент»), CD45RO-PE/Cy7 (BioLegend, США), CD197(CCR7)-APC/Cy7 (BioLegend, США), CD127-PerCP/Cy5.5 (BioLegend, США), CD132-APC (BioLegend, США), 2. с использованием антител BioLegend (США) CD4-PerCP/Cy5.5, CD45RO-APC, CD197(CCR7)-APC/Cy7, CD5-PE/Cy7. Окрашивание проводили комбинацией антител согласно протоколу, рекомендованному производителем. Фенотипирование клеточных

популяций и исследование пролиферативной активности проводили на клеточном анализаторе FACS CantoII (Becton Dickinson, США) с использованием программного обеспечения FACS Diva 6.1 (Becton Dickinson, США).

Анализ пролиферативной активности на IL-7 заключался в определении относительного числа пролиферирующих клеток, окрашенных CFSE, по уровню их флуоресценции и не включал в себя пик неделящихся клеток.

#### Статистическая обработка

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica 6.0 (Statsoft, США). Поскольку распределение показателей не всегда соответствовало нормальному распределению, согласно критерию Шапиро–Уилка, применялись методы непараметрической статистики. Для сравнения связанных переменных использовали парный критерий Вилкоксона, а для оценки несвязанных переменных – критерий Манна–Уитни. Выявленные отличия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ .

## Результаты

#### Разработка модели воспаления *in vitro*

На первом этапе работы была разработана модель воспаления *in vitro*, которая основана на обработке прилипающей фракции МНК липополисахаридом (LPS) с целью индукции продукции провоспалительных цитокинов (рис. 1). Мы подобрали оптимальное время для активации прилипающей фракции МНК, чтобы продукция провоспалительных цитокинов сохранялась при последующем сокультивировании с Т-клетками памяти. Время активации прилипающей фракции МНК LPS составило 18–20 часов. Согласно данным литературы, пик продукции провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  приходится на первые 24 часа после активации [1]. Мы определили содержание IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  в супернатантах культур без стимуляции и со стимуляцией LPS. Под действием LPS уровень продукции IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$  увеличивался в супернатантах культур с прилипающей фракцией почти в 10 раз относительно нестимулированных культур (рис. 2).

Для тестирования модели были проведены эксперименты на 5 донорах без сортировки (то есть с МНК), в которых определяли содержание наивных Т-клеток и клеток памяти, а также число пролиферирующих клеток каждой субпопуляции в присутствии и отсутствие IL-7. При раздельном культивировании клеток под влиянием IL-7 наблюдалось достоверное увеличение числа CD4<sup>+</sup>Tcm и снижение терминально дифференцированных CD4<sup>+</sup>45RO<sup>+</sup>CCR7<sup>-</sup> клеток памяти относительно клеток, культивированных без разделения со стимуляцией IL-7 (табл. 1). Предобработка прилипающей фракции МНК LPS с целью индукции продукции провоспалительных

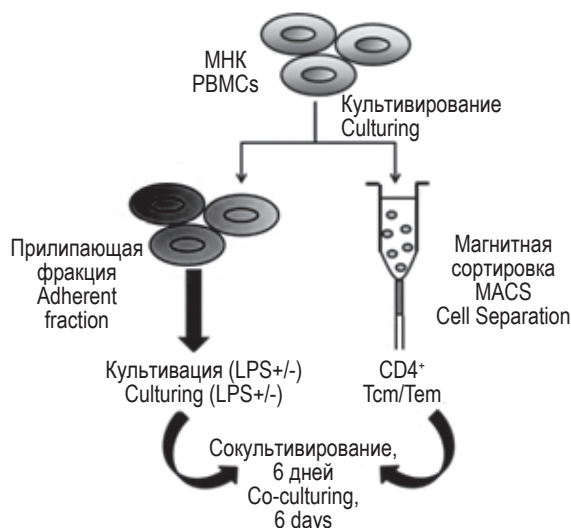


Рисунок 1. Дизайн эксперимента

Figure 1. Design of experiment

цитокинов также приводила к повышению доли CD4<sup>+</sup>Tcm в культурах в присутствии IL-7.

В отсутствие контакта с АПК CD4<sup>+</sup>Tcm больше пролиферировали в ответ на IL-7, чем в обычных условиях (табл. 1). Вследствие индивидуальной чувствительности клеток доноров на стимуляцию LPS и гомеостатическим фактором, а также малой выборки разница между клетками, предварительно обработанными и не обработанными LPS, носила характер тенденции.

Таким образом, в культурах *in vitro* в условиях действия провоспалительных цитокинов происходит накопление CD4<sup>+</sup>Tcm.

#### Участие IL-7 в поддержании CD4<sup>+</sup> центральных и эффекторных клеток памяти в норме и в условиях воспаления *in vitro*

При культивировании процентное содержание сортированных популяций CD4<sup>+</sup>Tcm достоверно не изменялось. В отличие от Tcm доля Tem клеток снижалась примерно до 50% в присутствии IL-7.

Ответ Т-клеток памяти на IL-7 варьировал у различных индивидуумов. В целом Tcm обладали лучшей пролиферативной активностью в ответ на IL-7, чем Tem-клетки: достоверно больше была доля пролиферирующих клеток, а также клетки совершили большее число делений (табл. 2). Клеточные контакты с АПК прилипающей фракции способствовали лучшей пролиферации Tcm как в обычных условиях, так и в условиях воспаления (предобработки LPS). Однако достоверных отличий по отвечаемости Tcm на IL-7 в норме и модели воспаления *in vitro* не было выявлено (4,9% пролиферирующих клеток против 5,9% клеток). Под действием IL-7 уровень пролиферации Tem имел тенденцию к снижению в отсутствие контакта с МНС, тем не менее предобработка LPS в этих условиях напротив увеличивала число пролиферирующих клеток.

Таким образом, можно сказать, что IL-7 способствует поддержанию CD4<sup>+</sup>Tcm и Tem в отсутствие контакта с МНС, в то же время степень пролиферации клеток снижается, возможно, из-за недостаточной их активации при отсутствии дополнительных костимулирующих сигналов. В модели воспаления *in vitro* наблюдалось изменение необходимых требований для поддержания Tem: происходило усиление пролиферативного ответа на IL-7 в отсутствие контакта с МНС. Для Tcm механизм поддержания в условиях воспаления остался прежним.

#### Экспрессия рецептора к IL-7 и CD5 на CD4<sup>+</sup> центральных и эффекторных клетках памяти в норме и в модели воспаления *in vitro*

Поскольку действие IL-7 напрямую связано с присутствием на поверхности Т-клеток рецептора для IL-7 (IL-7R), мы оценили, как изменяется экспрессия α-цепи рецептора к IL-7 и общей γ-цепи в культурах в норме и в условиях воспаления. При культивировании без стимуляции (к

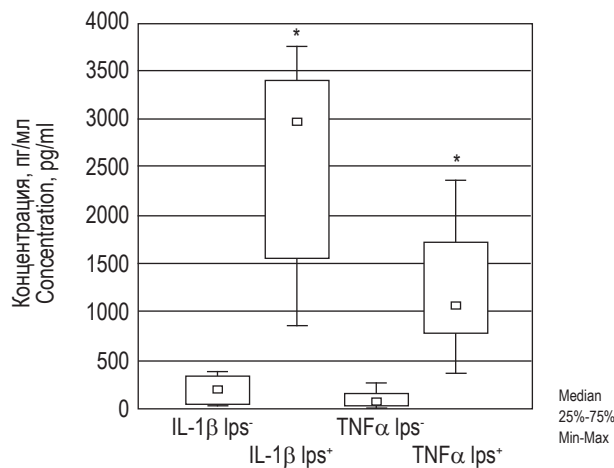


Рисунок 2. Уровень спонтанной (lps<sup>-</sup>) и LPS-индуцированной (lps<sup>+</sup>) продукции IL-1β и TNFα в супернатантах культур прилипающей фракции МНК здоровых доноров (n = 8)

Примечание. \* – достоверные отличия по сравнению со спонтанной продукцией (парный тест Вилкоксона), p < 0,05.

Figure 2. Level of spontaneous (lps<sup>-</sup>) and LPS-induced (lps<sup>+</sup>) production of IL-1β and TNFα in supernatants of adherent fraction of PBMCs from healthy donors (n = 8)

Note. \*, significant differences compared to spontaneous production (paired Wilcoxon test), p < 0.05.

значительно увеличилось содержание Tcm и Tem, экспрессирующих α-цепь IL-7R, а также число двойных позитивных по CD127 и CD132 клеток по сравнению с Tcm- и Tem-клетками периферической крови (рис. 3). Стимуляция IL-7 приводила к снижению числа CD127-позитивных клеток среди обеих популяций CD4<sup>+</sup> клеток памяти, при этом достоверно увеличивалось соотношение CD132<sup>+</sup> лимфоцитов.

В отсутствие контакта с МНС доля CD127<sup>+</sup>CD132<sup>+</sup>Tcm- и Tem-клеток достоверно снижалась по сравнению с клетками, культивированными без разделения мембраной. Данные изменения наблюдались как при предварительной обработке прилипающей фракции LPS, так и без нее. В модели воспаления *in vitro* не было выявлено отличий по уровню экспрессии CD127 и CD132 на Tcm-клетках в присутствии IL-7 по сравнению с нормой. Однако предобработка LPS способствовала увеличению числа CD127<sup>+</sup>CD132<sup>+</sup> клеток среди Tem почти в 2 раза.

Для косвенной характеристики аффинности ТКР к собственным антигенам мы использовали молекулу CD5. Все Т-клетки экспрессируют CD5, но самая высокая экспрессия CD5 (CD5<sup>high</sup>) характерна для клеток с большим сродством ТКР к аутологичным пептидам [2].

В нашем исследовании Tcm имели более высокую экспрессию CD5, чем Tem (рис. 4). Тем не

**ТАБЛИЦА 1. СОДЕРЖАНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ CD4<sup>+</sup> КЛЕТОК ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ И ЧИСЛО ПРОЛИФЕРИРУЮЩИХ КЛЕТОК В КУЛЬТУРАХ *IN VITRO* (n = 5), Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

TABLE 1. PROPORTION OF DIFFERENT CD4<sup>+</sup> SUBSETS FROM HEALTHY DONORS AND NUMBER OF PROLIFERATED CELLS IN CULTURES *IN VITRO* (n = 5), Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

	Субпопуляционный состав CD4 <sup>+</sup> лимфоцитов Content of CD4 <sup>+</sup> subsets				Число пролиферирующих клеток Proliferated cells			
	Tn, %	Tcm, %	Tem, %	Temra, %	Tn, %	Tcm, %	Tem, %	Temra, %
k_lps-	44,7 (32,6-52,8)	14,9 (14,8-25,9)	25,2 (17,4-32,3)	5,3 (4,5-9,6)	1,6 (1,5-1,9)	3,7 (1,7-4,5)	2,1 (1,0-2,2)	1,5 (1,4-2,6)
k_lps+	45,2 (41,1-53,2)	18,1 (14,2-24,8)	23,6 (19,7-25,9)	5,3 (4,0-11,9)	2,3 (1,9-2,4)	4,7 (3,4-5,4)	2,1 (1,9-2,3)	1,9 (0,8-1,9)
IL-7 lps-	51,9 (43,0-55,1)	20,8 (13,0-27,6)	22,6 (18,2-24,4)	6,4 (4,6-14,3)	2,8 (2,5-3,5)	9,7 (6,7-11,0)	3,7 (3,5-3,9)	2,9 (2,4-3,3)
IL-7 lps+	52,8 (48,6-53,9)	25,6 (12,5-27,6) <sup>#</sup>	21,7 (18,5-22,8)	5,9 (4,3-13,9)	3,9 (2,9-4,3)	10,1 (8,6-14,2)	5,7 (5,0-11,9)	3,3 (3,2-3,8)
IL-7_tr lps-	53,1 (52,7-53,9)	22,1 (14-34) <sup>#</sup>	19 (14,1-19,7) <sup>*</sup>	4,8 (3,8-10,0) <sup>#</sup>	3,4 (3,2-3,6)	13,9 (12,8-20,9) <sup>#</sup>	7,9 (5,1-11,1)	4,1 (3,9-5,8)
IL-7_tr lps+	54,3 (51,8-55,6)	19,3 (13,4-33,7)	18 (15,8-18,6) <sup>*</sup>	4,5 (4,3-9,9) <sup>#</sup>	4,6 (2,8-4,7)	18,9 (13,9-20,8)	10,3 (8,8-14,6)	3,7 (3,7-6,6)

Примечание. k – контроль без стимуляции; lps- – прилипающая фракция МНК предварительно не была обработана LPS; lps+ – прилипающая фракция МНК предварительно была обработана LPS. IL-7\_tr означает, что прилипающая и неприлипающая фракции культивировались отдельно. Tn – наивные Т-клетки, Tcm – центральные Т-клетки памяти, Tem – эффекторные Т-клетки памяти, Temra – терминально-дифференцированные Т-клетки памяти. \* – достоверное отличие по сравнению с контролем без стимуляции k\_lps-, p < 0,05; # – достоверное отличие по сравнению со стимуляцией IL-7, p < 0,05.

Note. k, culture without stimulation; lps-, untreated adherent fraction of PBMCs; lps+, pretreated with LPS adherent fraction of PBMCs. IL-7\_tr, adherent fraction of PBMCs and memory T cells cultured in trans-wells. Tn, naive T cells; Tcm, central memory T cells; Tem, effector memory T cells; Temra, effector memory re-expressing CD45RA. \*, significant differences compared to cells without stimulation k\_lps-, p < 0.05; #, significant differences compared to cells stimulated with IL-7, p < 0.05.

**ТАБЛИЦА 2. ЧИСЛО ПРОЛИФЕРИРУЮЩИХ CD4<sup>+</sup> ЦЕНТРАЛЬНЫХ И ЭФФЕКТОРНЫХ КЛЕТОК ПАМЯТИ В ОТВЕТ НА IL-7 В НОРМЕ И МОДЕЛИ ВОСПАЛЕНИЯ *IN VITRO*, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)**

TABLE 2. NUMBER OF PROLIFERATED CD4<sup>+</sup> CENTRAL AND EFFECTOR MEMORY CELLS UNDER IL-7 IN NORM AND IN THE INFLAMMATORY MODEL *IN VITRO*, Me (Q<sub>0,25</sub>-Q<sub>0,75</sub>)

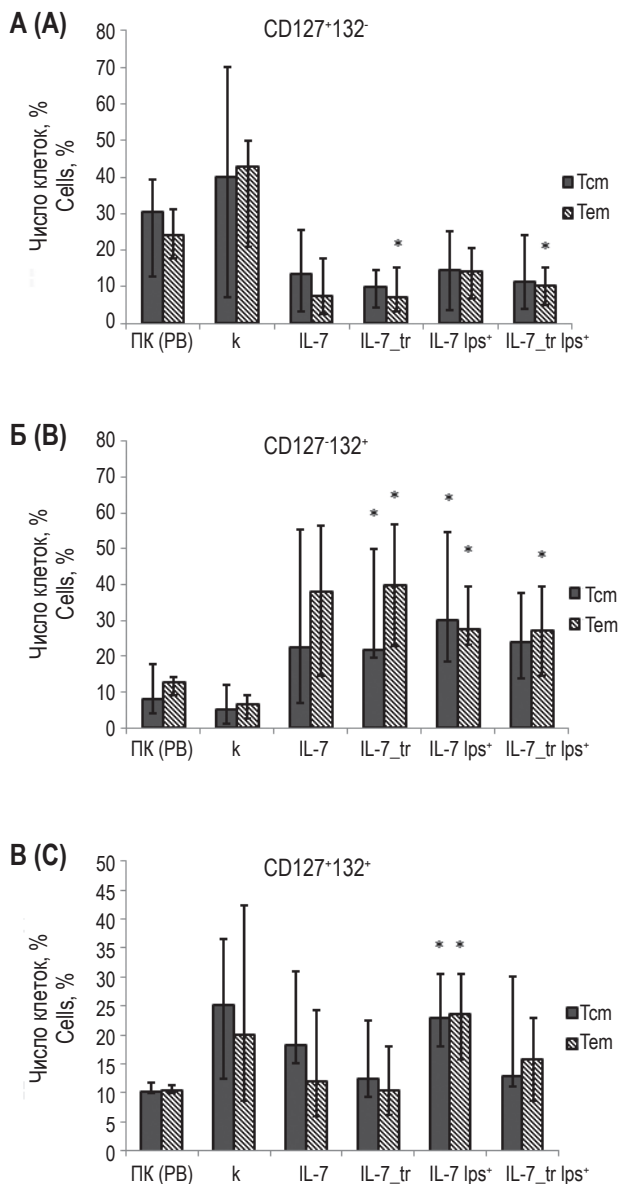
	Число пролиферирующих клеток Proliferated cells	
	CD4 <sup>+</sup> Tcm, %	CD4 <sup>+</sup> Tem, %
k	0,5 (0,2-3,6)	1,9 (1,0-9,1)
IL-7	4,9 (2,2-6,7) <sup>*</sup>	2,1 (1,1-6,5)
IL-7_tr	2,2 (1,6-7,4)	1,2 (0,7-6,7)
IL-7 lps+	5,9 (4,9-6,8) <sup>*</sup>	1,9 (0,9-2,7)
IL-7_tr lps+	3,0 (2,3-7,4)	2,6 (1,4-5,3)

Примечание. k – контроль без стимуляции; lps+ – прилипающая фракция МНК предварительно была обработана LPS. IL-7\_tr означает, что прилипающая и неприлипающая фракции культивировались отдельно. \* – достоверное отличие по сравнению с контролем без стимуляции k, p < 0,05.

Note. k, culture without stimulation; lps+, pretreated with LPS adherent fraction of PBMCs; IL-7\_tr, adherent fraction of PBMCs and memory T cells cultured in trans-wells. \*, significant differences compared to cells without stimulation k, p < 0.05.

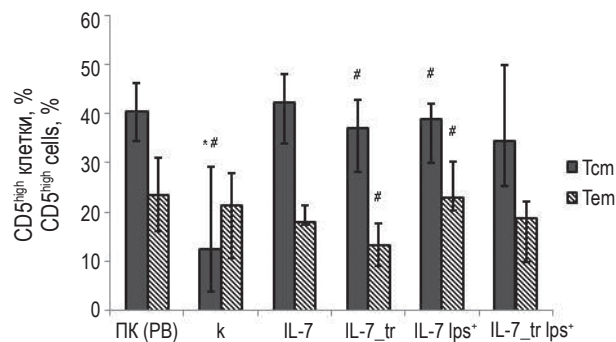
менее в культурах без стимуляции уровень экспрессии данного маркера сохранялся на Tem, тогда как среди Tcm число CD5<sup>high</sup> клеток снижалось более чем в 2 раза. При этом стимуляция IL-7 поддерживала уровень экспрессии CD5, сопоста-

вимый с уровнем экспрессии в периферической крови только на Tcm клетках. Можно предположить, что CD4<sup>+</sup>Tcm-клетки с высоким сродством к аутологичным антигенам зависимы от наличия гомеостатических факторов, в частности IL-7.



**Рисунок 3. Экспрессия CD127 и CD132 на CD4<sup>+</sup> центральных и эффекторных клетках памяти в периферической крови и культурах *in vitro***  
Примечание. А – число CD127<sup>+</sup>CD132<sup>+</sup> клеток. Б – число CD127<sup>+</sup>CD132<sup>+</sup> клеток. В – число CD127<sup>+</sup>CD132<sup>+</sup> клеток. ПК – периферическая кровь; k – контроль без стимуляции; lps<sup>+</sup> – прилипающая фракция МНК предварительно была обработана LPS. IL-7\_tr означает, что прилипающая и неприлипающая фракции культивировались отдельно. \* – достоверные отличия по сравнению с клетками памяти периферической крови, p < 0,05.

Figure 3. CD127 and CD132 expression on CD4<sup>+</sup> central and effector memory cells in peripheral blood and cultures *in vitro*  
Note. A, proportion of CD127<sup>+</sup>CD132<sup>+</sup> cells. B, proportion of CD127<sup>+</sup>CD132<sup>+</sup> cells. C, proportion of CD127<sup>+</sup>CD132<sup>+</sup> cells. PB, peripheral blood; k, culture without stimulation; lps<sup>+</sup>, pretreated with LPS adherent fraction of PBMCs. IL-7\_tr, adherent fraction of PBMCs and memory T cells cultured in trans-wells. \*, significant differences compared to cells from peripheral blood, p < 0.05.



**Рисунок 4. Число CD5<sup>high</sup> клеток среди CD4<sup>+</sup> центральных и эффекторных клеток памяти в периферической крови и культурах *in vitro***

Примечание. ПК – периферическая кровь; k – контроль без стимуляции; lps<sup>+</sup> – прилипающая фракция МНК предварительно была обработана LPS. IL-7\_tr означает, что прилипающая и неприлипающая фракции культивировались отдельно. \* – достоверные отличия по сравнению с клетками памяти периферической крови, p < 0,05; # – достоверное отличие по сравнению со стимуляцией IL-7, p < 0,05.

Figure 4. Content of CD5<sup>high</sup> cells among CD4<sup>+</sup> central and effector memory cells in peripheral blood and in cultures *in vitro*  
Note. PB, peripheral blood; k, culture without stimulation; lps<sup>+</sup>, pretreated with LPS adherent fraction of PBMCs. IL-7\_tr, adherent fraction of PBMCs and memory T cells cultured in trans-wells. \*, significant differences compared to cells from peripheral blood, p < 0.05; #, significant differences compared to cells stimulated with IL-7, p < 0.05.

Раздельное культивирование клеток с использованием культуральных вставок способствовало достоверному снижению числа CD5<sup>high</sup> клеток среди обеих популяций CD4<sup>+</sup> клеток памяти. Активация прилипающей фракции LPS приводила к разнонаправленному действию на Tcm и Tem клетки с высокой экспрессией CD5. Доля CD5<sup>high</sup> лимфоцитов среди Tem снижалась в условиях действия провоспалительных факторов (39% против 42,4%). Тогда как наблюдалось поддержание CD5<sup>high</sup> Tem под действием IL-7 в условиях воспаления *in vitro* наравне с уровнем в периферической крови.

Таким образом, было установлено, что клетки с высоким сродством ТКР к аутологичным антигенам чувствительны к наличию контакта с АПК. Кроме того, в условиях воспаления обеспечивается лучшее поддержание Tem клеток с высокой экспрессией CD5.

## Обсуждение

Известно, что IL-7Rα экспрессирован на наивных Т-клетках и Т-клетках памяти [21]. В процессе активации и дифференцировки Т-клеток уровень мембранной экспрессии рецептора регулируется, что влияет на способность клеток отвечать на IL-7 [21]. После встречи с антигеном наивные Т-клетки дифференцируются в эффек-



торные Т-лимфоциты и утрачивают экспрессию IL-7R $\alpha$ . Однако при переходе эффекторных Т-клеток в пул клеток памяти экспрессия IL-7R $\alpha$  возобновляется, что обеспечивает их длительное поддержание в организме [21]. В данной работе мы провели исследование пролиферативной активности CD4<sup>+</sup>Tcm и Tem, динамику экспрессии субъединиц рецептора к IL-7 и молекулы CD5 в ответ на IL-7 *in vitro* в норме и под действием провоспалительных факторов. Tcm обладали достоверно большей пролиферативной активностью в ответ на IL-7, чем Tem, что согласуется с полученными ранее данными. В литературе сообщалось, что в центральных клетках памяти при стимуляции IL-2 и IL-7 *in vitro* детектируется более высокий уровень фосфорилированного STAT5 [18], что может говорить в пользу большего ответа данной популяции на IL-7. Отсутствие контактов с антигенпрезентирующими клетками снижало уровень пролиферации в ответ на IL-7 в обеих субпопуляциях клеток памяти. В условиях воспаления *in vitro* достоверных изменений по числу пролиферирующих на IL-7 Т-клеток памяти не было выявлено. Исключением стали Tem, которые, напротив, увеличили пролиферативную активность в условиях воспаления и отсутствия контакта с МНС.

По уровню экспрессии CD127 субпопуляции CD4<sup>+</sup> клеток памяти достоверно не отличались. Стимуляция IL-7 приводила к снижению числа CD127-позитивных Tcm- и Tem-клеток. Показано, что в процессе связывания IL-7 с IL-7R $\alpha$  образуется комплекс, который подвергается интернализации внутрь клетки и последующей протеосомной и лизосомальной деградации; трансдукция сигнала от данного комплекса негативно регулирует экспрессию гена IL-7R $\alpha$  [10]. Таким образом, после активации IL-7 Т-клетки утрачивают поверхностную экспрессию CD127, что препятствует в дальнейшем связыванию с данным цитокином. Механизм такой негативной обратной связи регулирует чрезмерную стимуляцию Т-клеток.

В модели воспаления *in vitro* при добавлении IL-7 увеличилась доля CD127<sup>+</sup>CD132<sup>+</sup>Tem, однако, влияния на экспрессию субъединиц IL-7R Tcm под действием провоспалительных факторов не было выявлено. Интересно, что по данным литературы, обнаруженное у пациентов с сахарным диабетом 1 типа увеличение экспрессии  $\gamma$ -цепи и IL-7R $\alpha$  на CD4<sup>+</sup> клетках памяти воздействовало на передачу сигналов от рецептора и продукцию цитокинов эффекторными Т-клетками [23]. Отсутствие контактов с АПК приводило к снижению содержания CD127<sup>+</sup>CD132<sup>+</sup> клеток в обеих субпопуляциях Т-клеток памяти, что может говорить о необходимости в дополнительном сигнале при стимуляции IL-7.

В научном сообществе продолжительное время преобладала гипотеза о конститутивной экс-

прессии Т-лимфоцитами общей  $\gamma$ -цепи, и до сих пор остается невыясненным механизм регуляции ее экспрессии на транскрипционном уровне [24]. Тем не менее, в нескольких исследованиях было показано увеличение экспрессии  $\gamma$ -цепи после активации, опосредованной сигналом через Т-клеточный рецептор, инфекционным агентом, а также после стимуляции цитокинами [11, 16, 22]. В нашем исследовании стимуляция IL-7 также приводила к увеличению экспрессии CD132 на CD4<sup>+</sup>Tcm и Tem. Показано, что быстрое повышение числа молекул CD132 на поверхности Т-клетки после активации связано с транслокацией внутриклеточного запаса белкового рецептора на поверхность мембраны [3].

Таким образом, мы установили, что в условиях воспаления механизм поддержания CD4<sup>+</sup>Tcm схож с таковым в физиологических условиях. Тогда как механизм поддержания CD4<sup>+</sup>Tem в условиях действия провоспалительных факторов имеет небольшие отличия. Кроме того, несмотря на то, что для гомеостаза Т-клеток памяти контакт с МНС не является необходимым требованием, в нашем исследовании он обеспечивал более высокий уровень пролиферации центральных и эффекторных Т-клеток памяти и долю CD127<sup>+</sup>CD132<sup>+</sup> клеток.

На следующем этапе мы исследовали влияние воспалительного окружения и IL-7 на потенциально аутореактивные Т-клетки, т.е. Т-клетки с повышенным сродством к собственным антигенам, которые мы определяли по экспрессии CD5. Молекула CD5 представляет собой мембранный гликопротеин, ассоциированный с ТКР, который обладает разнообразными функциями. Так, было показано, что CD5 опосредует выживание тимоцитов в тимусе во время селекции, а также Т-клеток на периферии [7, 17, 26]. Наиболее привлекающая внимание исследователей функция CD5 – негативная регуляция сигнала через ТКР, при этом уровень экспрессии CD5 на поверхности Т-клетки коррелирует со степенью сродства ТКР к комплексу МНС-собственный пептид [2]. Следовательно, потенциально аутореактивные Т-клетки обладают более высокой экспрессией CD5. В нашем исследовании мы показали, что среди CD4<sup>+</sup>Tcm периферической крови большее количество клеток с высокой экспрессией CD5, чем среди CD4<sup>+</sup>Tem. В культурах *in vitro* IL-7 способствовал поддержанию высокой экспрессии CD5 на Tcm в обычных условиях и на Tem в условиях действия провоспалительных факторов. Отсутствие контакта с МНС негативно влияло на экспрессию CD5 на обеих субпопуляциях CD4<sup>+</sup> клеток памяти. В экспериментальной модели по переносу клонов Т-клеток с высокой и умеренной экспрессией CD5 (LLO56 и LLO118 соответственно) дефицитным по МНС II класса мышам также наблюдалось снижение экспрессии CD5. Что, по-видимому, связано с динамичной регуля-



цией данной молекулы сигналами от комплекса МНС-собственный пептид [19]. Кроме того, авторы высказывают предположение, что сложные взаимодействия ТКР с МНС, опосредованный CD5 «тюнинг» сигнала играют важную роль в определении уровня ответа Т-клетки на стимулы (собственные или чужеродные антигены) и в передаче базального сигнала внутрь клетки, что влияет на функциональные характеристики CD4<sup>+</sup> лимфоцита. Эти индивидуальные особенности CD4<sup>+</sup> лимфоцитов закладываются в тимусе на этапе селекции.

Таким образом, в нашем исследовании было показано, что IL-7 способствует поддержанию CD4<sup>+</sup>Tcm и Tem с высокой экспрессией CD5, что можно рассматривать в качестве одного из механизмов поддержания ауто-реактивных Т-клеточных клонов при аутоиммунной патологии.

## Заключение

В разработанной нами модели воспаления *in vitro*, основанной на индукции LPS провоспалительных цитокинов клетками прилипающей фракции, было показано, что механизм поддержания CD4<sup>+</sup>Tcm при участии IL-7 реализуется так же, как в норме. Однако для популяции CD4<sup>+</sup>Tem в условиях действия провоспалительных факторов наблюдалось увеличение числа активирован-

ных CD127<sup>+</sup>CD132<sup>+</sup> клеток и CD5<sup>high</sup> клеток, усиление пролиферативной активности в ответ на IL-7 при отсутствии контакта с МНС, что может говорить об изменениях механизма поддержания данной популяции.

В целом полученные данные о снижении пролиферативного ответа на IL-7, снижении экспрессии CD132 и высокой экспрессии CD5 в отсутствие контакта с прилипающей фракцией говорят о том, что происходит недостаточная активация Tcm и Tem. Возможно, это является не столько следствием отсутствия взаимодействия с МНС, а также отсутствием контакта с ко-стимуляторными молекулами, которые также присутствуют на АПК и обеспечивают дополнительные сигналы при активации Т-клеток.

Нами впервые установлено, что IL-7 способствует сохранению CD4<sup>+</sup>Tcm- и Tem-клеток, высокоэкспрессирующих CD5, что можно рассматривать в качестве механизма поддержания клеток с высокой аффинностью ТКР к аутологичным антигенам, в том числе аутореактивных.

## Благодарности

Авторы выражают благодарность Пашкиной Е.А., научному сотруднику лаборатории клинической иммунопатологии НИИФКИ за практические рекомендации в проведении иммуноферментного анализа.

## Список литературы / References

1. Демьянов А.В., Котов А.Ю., Симбирцев А.С. Диагностическая ценность исследования уровней цитокинов в клинической практике // Цитокины и воспаление, 2003. Т. 2, № 3. С. 20-35. [Demyanov A.V., Kotov A.Yu., Simbircev A.S. Diagnostic value of cytokine studies in clinical practice. *Tsitokiny i vospalenie = Cytokines and Inflammation*, 2003, Vol. 2, no. 3, pp. 20-35. (In Russ.)]
2. Azzam H.S., Grinberg A., Lui K., Shen H., Shore E.W., Love P.E. CD5 expression is developmentally regulated by T cell receptor (TCR) signals and TCR avidity. *J. Exp. Med.*, 1998, Vol. 188, no. 12, pp. 2301-2311.
3. Bani L., David D., Moreau J.L., Cayota A., Nakarai T., Ritz J., Thèzy J. Expression of the IL-2 receptor gamma subunit in resting human CD4 T lymphocytes: mRNA is constitutively transcribed and the protein stored as an intracellular component. *Int. Immunol.*, 1997, Vol. 9, no. 4, pp. 573-580.
4. Bikker A., Hack C.E., Lafeber F.P., van Roon J.A. Interleukin-7: a key Mediator in T cell-driven autoimmunity, inflammation, and tissue destruction. *Curr. Pharm. Des.*, 2012, Vol. 18, no. 16, pp. 2347-2356.
5. Caserta S., Zamoyska R. Memories are made of this: synergy of T cell receptor and cytokine signals in CD4(+) central memory cell survival. *Trends Immunol.*, 2007, Vol. 28, no. 6, pp. 245-248.
6. Churchman S.M., Ponchel F. Interleukin-7 in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*, 2008, Vol. 47, no. 6, pp. 753-759.
7. Friedlein G., El Hage F., Vergnon I., Richon C., Saulnier P., Lecluse Y., Caignard A., Boumsell L., Bismuth G., Chouaib S., Mami-Chouaib F. Human CD5 protects circulating tumor antigenspecific CTL from tumor-mediated activation-induced cell death. *J. Immunol.*, 2007, Vol. 178, no. 11, pp. 6821-6827.
8. Fry T.J., Connick E., Fallon J., Lederman M.M., Liewehr D.J., Spritzler J., Steinberg S.M., Wood L.V., Yarchoan R., Zuckerman J., Landay A., Mackall C.L. A potential role for interleukin-7 in T-cell homeostasis. *Blood*, 2001, Vol. 97, no. 10, pp. 2983-2990.
9. Gattinoni L., Speiser D.E., Lichterfeld M., Bonini C. T memory stem cells in health and disease. *Nat. Med.*, 2017, Vol. 23, no. 1, pp. 18-27.
10. Henriques C.M., Rino J., Nibbs R.J., Graham G.J., Barata J.T. IL-7 induces rapid clathrin-mediated internalization and JAK3-dependent degradation of IL-7Ralpha in T cells. *Blood*, 2010, Vol. 115, no. 16, pp. 3269-3277.
11. Hong C., Luckey M.A., Ligons D.L., Waickman A.T., Park J.Y., Kim G.Y., Keller H.R., Etzensperger R., Tai X., Lazarevic V., Feigenbaum L., Catalfamo M., Walsh S.T.R., Park J.-H. Activated T cells secrete an alternatively spliced form of common gamma-chain that inhibits cytokine signaling and exacerbates inflammation. *Immunity*, 2014, Vol. 40, no. 6, pp. 910-923.

12. Lenz D.C., Kurz S.K., Lemmens E., Schoenberger S.P., Sprent J., Oldstone M.B., Homann D. IL-7 regulates basal homeostatic proliferation of antiviral CD4<sup>+</sup> T cell memory. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, Vol. 101, no. 25, pp. 9357-9362.
13. Leung S., Liu X., Fang L., Chen X., Guo T., Zhang J. The cytokine milieu in the interplay of pathogenic Th1/Th17 cells and regulatory T cells in autoimmune disease. *Cell. Mol. Immunol.*, 2010, Vol. 7, no. 3, pp. 182-189.
14. Maldonado A., Mueller Y.M., Thomas P., Bojczuk P., O'Connors C., Katsikis P.D. Decreased effector memory CD45RA<sup>+</sup>CD62L<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup> T cells and increased central memory CD45RA<sup>-</sup>CD62L<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T cells in peripheral blood of rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Res. Ther.*, 2003, Vol. 5, no. 2, pp. R91-R96.
15. Mazzucchelli R., Durum S.K. Interleukin-7 receptor expression: intelligent design. *Nat. Rev. Immunol.*, 2007, Vol. 7, no. 2, pp. 144-154.
16. Nakarai T., Robertson M.J., Streuli M., Wu Z., Ciardelli T.L., Smith K.A., Ritz J. Interleukin 2 receptor gamma chain expression on resting and activated lymphoid cells. *J. Exp. Med.*, 1994, Vol. 180, no. 1, pp. 241-251.
17. Ordoñez-Rueda D., Lozano F., Sarukhan A., Raman C., Garcia-Zepeda E.A., Soldevila G. Increased numbers of thymic and peripheral CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> cells in the absence of CD5 signaling. *Eur. J. Immunol.*, 2009, Vol. 39, no. 8, pp. 2233-2247.
18. Paukku K., Silvennoinen O. STATs as critical mediators of signal transduction and transcription: lessons learned from STAT5. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 2004, Vol. 15, no. 6, pp. 435-455.
19. Persaud S.P., Parker C.R., Lo W.L., Weber K.S., Allen P.M. Intrinsic CD4<sup>+</sup> T cell sensitivity and response to a pathogen are set and sustained by avidity for thymic and peripheral complexes of self peptide and MHC. *Nat. Immunol.*, 2014, Vol. 15, no. 3, pp. 266-274.
20. Pickens S.R., Chamberlain N.D., Volin M.V., Pope R.M., Talarico N.E., Mandelin A.M. 2nd, Shahrara S. Characterization of interleukin-7 and interleukin-7 receptor in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 2011, Vol. 63, no. 10, pp. 2884-2893.
21. Read K.A., Powell M.D., McDonald P.W., Oestreich K.J. IL-2, IL-7, and IL-15: multistage regulators of CD4(+) T helper cell differentiation. *Exp. Hematol.*, 2016, Vol. 44, no. 9, pp. 799-808.
22. Saxon S.C., Zaunders J.J., Zanetti G., King E.M., Merlin K.M., Smith D.E., Stanley K.K., Cooper D.A., Kelleher A.D. Increased plasma interleukin-7 level correlates with decreased CD127 and increased CD132 extracellular expression on T cell subsets in patients with HIV-1 infection. *J. Infect. Dis.*, 2006, Vol. 193, no. 4, pp. 505-514.
23. Seyfarth J., Mütze N., Antony Cruz J., Kummer S., Reinauer C., Mayatepek E., Meissner T., Jacobsen M. CD4<sup>+</sup> T-cells with high common  $\gamma$  chain expression and disturbed cytokine production are enriched in children with type-1 diabetes. *Front. Immunol.*, 2019, Vol. 10, 820. doi: 10.3389/fimmu.2019.00820.
24. Waickman A.T., Park J.Y., Park J.H. The common gamma-chain cytokine receptor: tricks-and-treats for T cells. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2016, Vol. 73, no. 2, pp. 253-269.
25. Wang X.S., Li B.Z., Hu L.F., Wen P.F., Zhang M., Pan H.F., Ye D.Q. Perspectives of the relationship between IL-7 and autoimmune diseases. *Clin. Rheumatol.*, 2013, Vol. 32, no. 12, pp. 1703-1709.
26. Zhou X.Y., Yashiro-Ohtani Y., Toyoo-Oka K., Park C.S., Tai X.G., Hamaoka T. and Fujiwara H. CD5 costimulation up-regulates the signaling to extracellular signal-regulated kinase activation in CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> thymocytes and supports their differentiation to the CD4 lineage. *J. Immunol.*, 2000, Vol. 164, no. 3, pp. 1260-1268.

---

**Авторы:**

**Блинова Е.А.** — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и фундаментальной иммунологии», г. Новосибирск, Россия

**Колерова А.В.** — аспирант лаборатории клинической иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и фундаментальной иммунологии», г. Новосибирск, Россия

**Балысников В.Е.** — студент ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет», г. Новосибирск, Россия

**Козлов В.А.** — д.м.н., профессор, академик РАН, заведующий лабораторией клинической иммунопатологии, научный консультант ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и фундаментальной иммунологии», г. Новосибирск, Россия

---

**Authors:**

**Blinova E.A.**, PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Clinical Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

**Kolerova A.V.**, Postgraduate Student, Laboratory of Clinical Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

**Balyasnikov V.E.**, Student, Novosibirsk State Medical University, Novosibirsk, Russian Federation

**Kozlov V.A.**, PhD, MD (Medicine), Professor, Full Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Clinical Immunopathology, Scientific Advisor, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

---

Поступила 20.03.2020

Отправлена на доработку 30.04.2020

Принята к печати 29.06.2020

---

Received 20.03.2020

Revision received 30.04.2020

Accepted 29.06.2020