

УДК 616-092

Прямое влияние гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) на функциональные свойства Т-лимфоцитов человека

Газатова Н.Д., Малащенко В.В., Меняйло М.Е., Шмаров В.А.,
Мелашченко О.Б., Морозова Е.М., Гончаров А.Г., Селедцов В.И.

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта» Министерства образования и науки Российской Федерации. 236041, Калининград, ул. Александра Невского, д. 14

Актуальность. Исследовали прямые эффекты гранулоцит-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) человека на функциональную активность субпопуляций Т-лимфоцитов. **Методы.** CD3⁺ Т-лимфоциты были выделены из крови здоровых доноров методом позитивной магнитной сепарации. Т-клетки активировали частицами, конъюгированными с антителами (АТ) к молекулам CD3, CD28 и CD2 человека. Мембранную экспрессию CD3, CD4, CD45RA, CD197, CD25 и CD38 оценивали методом проточной цитофлуориметрии. Содержание интерферона-γ (interferon-γ, IFN-γ), интерлейкина-2 (interleukin-2, IL-2), IL-4 и IL-10 в культуральных супернатантах определяли иммуноферментным методом. **Результаты.** Установлено, что GM-CSF в диапазоне концентраций 0,01–10,0 нг/мл не оказывал существенного влияния на содержание CD25⁺ клеток, среди активированных Т-лимфоцитов. Вместе с тем, GM-CSF в концентрации 0,1–1,0 нг/мл обладал способностью заметно увеличивать содержание CD38⁺ клеток среди наивных Т-клеток (CD45RA⁺/CD197⁺), а также среди Т-клеток центральной памяти (CD45RA⁻/CD197⁺), не оказывая при этом существенного влияния на экспрессию CD38, выявляемую среди эффекторных (CD45RA⁻/CD197⁻) и терминально дифференцированных (CD45RA⁺/CD197⁻) эффекторных Т-клеток. В относительно низкой концентрации (0,01 нг/мл) GM-CSF заметно снижал Т-клеточную продукцию INF-γ, тогда как в высокой концентрации (10,0 нг/мл) усиливал продукцию IL-2 и IL-4, снижая при этом выработку IL-10. **Заключение.** Полученные данные позволяют предположить, что прямые эффекты GM-CSF на функциональную активность Т-клетки могут в значительной степени определяться как ее субпопуляционной принадлежностью, так и концентрацией цитокина в клеточном микроокружении.

Ключевые слова: гранулоцит-макрофагальный колониестимулирующий фактор, Т-клетка, адаптивный иммунитет, CD25, CD38, интерлейкин, интерферон.

Для цитирования: Газатова Н.Д., Малащенко В.В., Меняйло М.Е., Шмаров В.А., Мелашченко О.Б., Морозова Е.М., Гончаров А.Г., Селедцов В.И. Прямое влияние гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) на функциональные свойства Т-лимфоцитов человека. Патогенез. 2018; 16(2): 37–42.

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.02.37-42

Для корреспонденции: Селедцов Виктор Иванович, e-mail: seledtsov@rambler.ru

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке в рамках проекта №17.1896.2014/к от 18 июля 2014 по теме: «Исследование роли гемопоэтических факторов в адаптивной регуляции иммунной памяти».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 17.01.2018

Direct effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) on functional features of human T-lymphocytes

Gazatova N.D., Melashchenko O.B., Menailo M.E., Shmarov V.A.,
Malashchenko V.V., Morozova E.V., Goncharov A.G., Seledtsov V.I.

Immanuel Kant Baltic Federal University, Aleksandra Nevskogo Str. 14, Kaliningrad 236041, Russian Federation

Background. We studied direct effects of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) on the function of T-lymphocyte subpopulations. **Methods.** CD3⁺ T cells were isolated from the blood of healthy donors by positive magnetic separation. Isolated T cells were activated by particles conjugated with antibodies (Abs) to human CD3, CD28, and CD2 molecules. Membrane expression of CD4, CD45RA, CD197, CD25, and CD38 was evaluated by flow cytometry. The contents of interferon-γ (IFN-γ), interleukin-2 (IL-2), IL-4, and IL-10 were determined in culture supernatants by the enzyme immunoassay. **Results.** GM-CSF at concentrations of 0.01–10.0 ng/ml had no significant impact on the content of CD25⁺ cells among activated T lymphocytes. At the same time, GM-CSF at 0.1–1.0 ng/ml was able to noticeably increase the CD38⁺ cell content among both naive CD45RA⁺/CD197⁺ T cells and central memory CD45RA⁻/CD197⁺ T cells, without significantly influencing the CD38 expression on effector CD45RA⁻/CD197⁻ and terminal-differentiated (CD45RA⁺/CD197⁻) effector T cells.

GM-CSF at a relatively low concentration (0.01 ng/ml) significantly decreased T-cell production of INF- γ whereas GM-CSF at a high concentration (10.0 ng/ml) detectably enhanced secretion of IL-2 and IL-4 and lowered IL-10 production. **Conclusion.** The results suggest that direct effects of GM-CSF on the T cell function could be largely determined by both its belonging to a subpopulation and the cytokine concentration in the cell microenvironment.

Key words: granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, T cell; adaptive immunity, CD25, CD38, interleukin, interferon.

For citation: Gazatova N.D., Melashchenko O.B., Menailo M.E., Shmarov V.A., Malashchenko V.V., Morozova E.V., Goncharov A.G., Seledtsov V.I. [Direct effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) on functional features of human T-lymphocytes]. *Patogenez [Pathogenesis]*. 2018; 16(2): 37–42 (in Russian)

DOI: 10.25557/2310-0435.2018.02.37-42

For correspondence: Seledtsov Viktor Ivanovich, e-mail: seledtsov@rambler.ru

Funding. The work was done with financial support under the project No. 17.1896.2014/k of July 18, 2014 on «Study of the role of hematopoietic factors in adaptive regulation of immune memory».

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received: 17.01.2018

Введение

Основными клетками-продуцентами GM-CSF являются макрофаги, тучные клетки, фибробласты, эндотелиальные клетки и Т-лимфоциты [1]. Стимуляторами его продукции являются провоспалительные цитокины, в частности IL-1, IL-6, и фактор некроза опухоли альфа (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) [2]. GM-CSF стимулирует рост предшественников гранулоцитов, макрофагов, эозинофилов и мегакариоцитов [3]. Биологическая активность GM-CSF опосредована связыванием с гетеромерными рецепторами, которые экспрессируются на моноцитах, макрофагах, гранулоцитах, лимфоцитах, эндотелиальных клетках и альвеолярных эпителиальных клетках [4]. Рецепторы GM-CSF (GM-CSFR) состоят из α - и β -цепей. β -цепи является общими для рецепторов GM-CSF, IL-3, и IL-5 [5]. Рецептор характеризуется относительно низкой экспрессией на клетке (20–200 на клетку) и высокой аффинностью [6, 7]. Согласно опубликованным данным, рецепторы к GM-CSF могут экспрессироваться на Т-клетках. Мембранная экспрессия этих рецепторов является трудно выявляемой, но функционально значимой [8].

Роль GM-CSF в гемопоэзе и регуляции врожденного иммунитета довольно хорошо изучена. Показана значимость этого цитокина в дифференцировке макрофагов и дендритных клеток и придании им антигенпрезентирующих свойств [9]. Вместе с тем, очень мало известно о прямом влиянии GM-CSF на Т-клеточный иммуногенез. Мы предполагаем, что это влияние может быть весьма значимым и играть заметную роль в развитии иммунопатологических состояний, ассоциированных с избыточной продукцией GM-CSF [10].

Целью данного исследования было охарактеризовать эффекты GM-CSF на активационный статус Т-клеточных субпопуляций и на их способность продуцировать иммунорегуляторные цитокины.

Материалы и методы

Выделение Т-клеток

Было исследовано семнадцать здоровых доноров в возрасте от 18 до 40 лет. Мононуклеарные клетки (МНК) периферической крови выделяли с использованием центрифугирования на градиенте плотности Ficoll-Urografin (1,077 г/мл, GE Healthcare, США). CD3+

Т-лимфоциты выделяли методом колоночной позитивной магнитной сепарации (MS Columns, Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany) с использованием CD3 MicroBeads (CD3 Micro Beads human, Miltenyi Biotec) в соответствии с инструкцией производителя.

Т-клеточные культуры

Изолированные Т-клетки культивировали в концентрации 1,0–1,5 $\times 10^6$ мкл/мл в бессывороточной культуральной среде TexMACSTM (Miltenyi Biotec), с добавлением 2-меркаптоэтанола (10^{-5} М, Acros Organics / Thermo Fisher Scientific, Нью-Джерси, США) в 24-луночных планшетах в увлажненном CO₂-инкубаторе, при 37°C в течение 48 часов. Активация Т-клеток осуществляли частицами MACSiBead, конъюгированных с антителами (АТ) против CD2, CD3 и CD28 человека (набор для активации Т-клеток человека, MACS Miltenyi Biotec). Одновременно с активирующими частицами, в опытные Т-клеточные культуры добавляли человеческий рекомбинантный GM-CSF (Miltenyi Biotec) в указанных ниже концентрациях. В контроле Т-клетки культивировали без GM-CSF.

Идентификация Т-лимфоцитов

Чистоту и жизнеспособность выделенных CD3+ Т-клеток оценивали с помощью проточной цитометрии с использованием анти-CD3-АТ (клон UCНТ1), конъюгированных с фикоэритрином (PE) (eBioscience, San Diego, CA) в присутствии мембранно-непроницаемого красителя пропидиум иодида (PI) (eBioscience). Субпопуляции Т-клеток анализировали с помощью проточной цитометрии с использованием следующих моноклональных АТ: пероксин хлорофилл (PerCP)-меченные анти-CD4 (клон S3.5), флюоресцеин изотиоцианат (FITC)-меченный анти CD115 (LMM741) (eBioscience), (PE)-меченный анти-CD197 (клон 3D12), аллофикиоанин (APC)-меченный анти-CD45RA (клон HI100) (BD Pharmingen, San Jose, CA) и FITC-меченный анти CD25 (клон BC96) (BioLegend, San Diego, CA). Чтобы оптимизировать стратегию гейтирования и учитывать неспецифическое связывание АТ, мы использовали соответствующие изотип-контроли (ISO MOPC-21 IgG1, κ ; ISO MPC-11, IgG2b, κ) и Fluoscence Minus One Controls (FMO). Цитометрия проводилась на проточном цитометре BD AccuriTM C6 (BD Biosciences, Сан-Хосе, Калифорния, США).

Измерение содержания цитокинов

Уровни IL-2, IL-4, IL-10 и IFN- γ в супернатантах культуры Т-клеток измеряли с использованием коммерческих ИФА-наборов (Vector-Best, Новосибирск, РФ) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматизированном биохимическом и иммуноферментном анализаторе (ChemWell 2910, Awareness Technology, Inc., Палм-Сити, Флорида).

Статистика

Статистический анализ был выполнен с использованием IBM SPSS Statistics for Windows, версия 20.0 (Armonk, NY: IBM Corp). Ни одна из выборок не имела нормального распределения по критерию Колмогорова—Смирнова. Поэтому для сравнения независимых выборок использовался непараметрический критерий Манна—Уитни. Для исследуемых выборок были рассчитаны и представлены медиана (*Me*) с первым и третьим квартилями (*Q1*, *Q3*).

Результаты

Эффекты GM-CSF на Т-клеточную активацию

В исследовании мы использовали алгоритм цитометрического исследования, детально описанный ранее [11–15]. Этот алгоритм позволял идентифицировать CD4⁺ и CD4⁻ Т-клетки, а среди них наивные Т-клетки (CD45RA⁺/CD197⁺), Т-клетки центральной памяти (CD45RA⁻/CD197⁺), Т-клетки эффекторной памяти (CD45RA⁻/CD197⁻) и терминально дифференцированные эффекторные Т-клетки (CD45RA⁺/CD197⁻). Подавляющее большинство CD4-негативных Т-клеток было CD8-положительным. Согласно полученным данным, чистота выделенных из МНК методом позитивной магнитной сепарации Т-клеток, составила 98,6 (94,7; 99,2)%, их исходная жизнеспособность составляла 95,4 (94,1; 99,4)%.

Первоначально мы оценивали прямое влияние GM-CSF на мембранную экспрессию Т-лимфоцитами α -цепи рецептора IL-2 (CD25). Как показано в табл. 1, культивирование Т-клеток с активирующими частицами приводило к выраженному, достоверному приросту CD25⁺-клеток во всех исследованных Т-клеточных субпопуляциях. В этих условиях GM-CSF в диапазоне концентраций 0,1–10,0 нг/мл не оказывал существенного влияния на экспрессию CD25, выявляемую на Т-клетках. Исключением была только минорная субпопуляция терминально дифференцированных CD4-позитивных лимфоцитов, которая показала некоторое снижение содержания CD25⁺ при минимальной концентрации GM-CSF (0,01 нг/мл). Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что GM-CSF не оказывает значимого влияния на активационные процессы в Т-клетках, приводящие к мембранной экспрессии CD25 и делающие Т-клетки чувствительными к костимулирующему действию IL-2.

CD38 — полифункциональная молекула, которая, в частности, участвует в синтезе и гидролизе циклической АДФ-рибозы, регулирующей уровень кальция в клетке. Экспрессия CD38 в большей степени, чем экспрессия CD25, отражает функциональную активность Т-клеток, не связанную с их делением. Данные, представленные в табл. 2, свидетельствовали, что активация Т-клеток приводила к выраженному и достоверному приросту числа CD38⁺ клеток во всех исследованных Т-клеточных субпопуляциях. GM-CSF, добавленный в культуры в диапазоне концентраций от 0,01 до 1 нг/мл, обладал способностью заметно увеличивать содержание CD38⁺ клеток среди как CD4⁻, так и CD4⁺ наивных Т-клеток (CD45RA⁺/CD197⁺) и Т-клеток центральной памяти (CD45RA⁻/CD197⁺). В то же время GM-CSF не оказывал существенного влияния на экспрессию CD38, выявляемую на эффекторных (CD45RA⁻/CD197⁻) и терминально дифференцированных (CD45RA⁺/CD197⁻) эффекторных Т-клетках. Таким образом, чувствительность Т-клетки к прямому действию GM-CSF может зависеть от ее субпопуляционной принадлежности.

Таблица 1

Содержание CD25⁺ (%) клеток в Т-клеточных субпопуляциях (указаны медиана и квартили, *n* = 17)

| Субпопуляция | | Без активации | Активация + GM-CSF (нг/мл) | | | | |
|------------------|---|-------------------|----------------------------|--------------------------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| | | | 0 | 0,01 | 0,10 | 1,00 | 10,00 |
| CD4 ⁺ | CD45RA ⁺ /CD197 ⁺ (наивные клетки) | 0,0 (0,0; 0,1) | 4,9 (1,1; 9,4) | 5,1 (0,9; 8,1) | 5,7 (0,6; 10,3) | 6,9 (1,0; 9,3) | 5,1 (0,7; 9,2) |
| | CD45RA ⁻ /CD197 ⁺ (клетки центральной памяти) | 0,1 (0,0; 0,8) | 10,8 (1,9; 16,3) | 11 (2,0; 17,3) | 13,0 (2,1; 17,2) | 12,7 (2,3; 18,9) | 12,6 (2,6; 15,5) |
| | CD45RA ⁻ /CD197 ⁻ (клетки эффекторной памяти) | 0,7 (0,1; 4,1) | 40,2 (26,5; 47,4) | 34,2 (6,7; 44,3) | 38,0 (7,9; 45,9) | 39,1 (9,2; 46,3) | 40,4 (8,4; 46,0) |
| | CD45RA ⁺ /CD197 ⁻ (терминально дифференцированные эффекторные клетки) | 0,4 (0,0; 4,4) | 48,7 (29,9; 64,0) | 32,9* (3,9; 55,3) | 35,3 (4,3; 60,4) | 40,4 (7,1; 59,7) | 45,0 (2,7; 60,9) |
| CD4 ⁻ | CD45RA ⁺ /CD197 ⁺ (наивные клетки) | 0,1 (0,0; 0,1) | 7,1 (4,4; 15,4) | 6,2 (1,95; 17,8) | 12,3 (3,0; 17,0) | 10,7 (2,4; 20,4) | 10,4 (2,8; 16,4) |
| | CD45RA ⁻ /CD197 ⁺ (клетки центральной памяти) | 0,1 (0,0; 0,6) | 29,8 (27,8; 39,2) | 24,9 (15,5; 35,9) | 27,3 (20,9; 35,8) | 37,6 (22,2; 37,7) | 31,1 (18,1; 40,3) |
| | CD45RA ⁻ /CD197 ⁻ (клетки эффекторной памяти) | 0,9 (0,6; 1,4) | 48,9 (35,6; 68,7) | 46,8 (34,2; 60,6) | 48,7 (32,0; 65,56) | 46,6 (34,4; 66,1) | 49,2 (33,8; 66,3) |
| | CD45RA ⁺ /CD197 ⁻ (терминально дифференцированные эффекторные клетки) | 0,6 (0,3; 1,2) | 31,0 (25,6; 39,4) | 29,0 (13,5; 40,1) | 32,3 (14,3; 40,9) | 31,1 (14,4; 42,1) | 31,1 (16,8; 44,3) |

Примечание. * — *p* < 0,05 в сравнении с Т-клетками, активированными в отсутствие GM-CSF (выделено жирным шрифтом)

Как показано в табл. 3, активация T-лимфоцитов стимулировала выработку этими клетками IL-2, INF- γ , IL-4 и IL-10. IL-2 является основным ростовым фактором для T-лимфоцитов. Продукция INF- γ характеризует провоспалительную активность T-хелперных клеток 1 типа. IL-4 продуцируется T-хелперными клетками 2 типа, активность которых может иметь противовоспалительную направленность. IL-10 вырабатывается иммуносупрессорными регуляторными T-клетками. Согласно полученным результатам, GM-CSF в максимальной концентрации (10 нг/мл) достоверно усиливал T-клеточную продукцию IL-2 и IL-4, и одновременно снижал секрецию IL-10 активированными T-лимфоцитами. Интересно, что в минимальной концентрации (0,01 нг/мл) GM-CSF был способен снижать T-клеточную продукцию INF- γ . Таким образом, влияние GM-CSF на T-клеточную продукцию иммунорегуляторных цитокинов может в значительной степени зависеть от концентрации этого цитокина в клеточном микроокружении.

GM-CSF считается провоспалительным цитокином, играющим наряду с IL-17 важную роль в развитии аутоиммунного воспаления [16]. Свою провоспалительную активность GM-CSF в основном осуществляет через дифференцирующие и активирующие воздействия на макрофаги и гранулоциты. GM-CSF играет ключевую роль в дифференцировке макрофагов в дендритные клетки и придании им антигенпрезентирующих свойств [9]. Однако этим влияние GM-CSF на адаптивный иммунитет не ограничивается. Согласно данным, представленным в настоящей работе, этот цитокин может прямо способствовать ассоциированной с экспрессией CD38 активации относительно низкодифференцированных T-клеток. Эти клетки способны мигрировать в лимфоидную ткань и подвергаться там размножению при наличии соответствующих антигенных стимулов. С другой стороны, GM-CSF не усиливал экспрессию CD25 (α -цепь рецептора IL-2) и не повышал чувствительность T-клеток к действию IL-2, который является основным ростовым фактором для T-лимфоцитов. Отсюда, можно предполагать, что пози-

Таблица 2
Содержание CD38⁺ (%) клеток в T-клеточных субпопуляциях (указаны медиана и квартили, n = 17)

| Субпопуляция | | Без активации | Активация + GM-CSF (нг/мл) | | | | |
|------------------|---|----------------------|----------------------------|----------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| | | | 0 | 0,01 | 0,10 | 1,00 | 10,00 |
| CD4 ⁺ | CD45RA ⁺ /CD197 ⁺ (наивные клетки) | 23,4 (15,5; 30,5) | 47,1 (29,1-62,7) | 49,5 (39,8; 66,4) | 51,0 (36,0; 67,5) | 50,8* (41,5; 63,3) | 49,9 (35,7; 61,6) |
| | CD45RA ⁻ /CD197 ⁺ (клетки центральной памяти) | 9,1 (7,1; 12,8) | 28,6 (24,3; 29,9) | 29,1 (24,6; 32,6) | 31,3* (27,6; 32,3) | 29,1 (25,8; 33,4) | 28,9* (25,7; 30,0) |
| | CD45RA ⁻ /CD197 ⁻ (клетки эффекторной памяти) | 3,7 (2,2; 5,3) | 14,2 (10,3-19,0) | 15,5 (9,8; 20,0) | 15,7 (9,7; 21,1) | 16,8 (11,0; 20,9) | 15,1 (11,1; 19,5) |
| | CD45RA ⁺ /CD197 ⁻ (терминально дифференцированные эффекторные клетки) | 8,3 (5,7; 15,2) | 40,3 (29,8; 51,0) | 45,7 (37,6; 54,6) | 47,1 (38,6; 55,5) | 44,2 (38,1; 53,4) | 42,3 (36,9; 54,6) |
| CD4 ⁻ | CD45RA ⁺ /CD197 ⁺ (наивные клетки) | 9,5 (5,3; 24,4) | 25,7 (19,2; 37,6) | 28,6 (22,6; 38,1) | 29,3* (22,5; 40,6) | 26,5 (21,0; 38,8) | 24,6 (21,8; 37,5) |
| | CD45RA ⁻ /CD197 ⁺ (клетки центральной памяти) | 12,6 (9,6; 18,4) | 25,4 (17,7; 33,3) | 26,0 (19,8; 34,3) | 26,9* (21,7; 34,0) | 26,3 (19,1; 33,9) | 23,8 (19,6; 29,2) |
| | CD45RA ⁻ /CD197 ⁻ (клетки эффекторной памяти) | 2,8 (1,7; 4,9) | 8,0 (4,9; 10,2) | 6,3 (5,4; 10,0) | 8,1 (5,5; 11,8) | 8,0 (5,0; 10,0) | 7,3 (4,6; 10,6) |
| | CD45RA ⁺ /CD197 ⁻ (терминально дифференцированные эффекторные клетки) | 6,7 (2,4; 8,9) | 15,4 (11,7; 18,9) | 15,5 (12,7; 22,3) | 16,8 (14,9–22,3) | 17,1 (15,1; 19,5) | 15,4 (13,8; 21,5) |

Примечание. * – p < 0,05 в сравнении с T-клетками, активированными в отсутствии GM-CSF (выделено жирным шрифтом)

Таблица 3
Содержание цитокинов в T-клеточных супернатантах (пг/мл) (указаны медиана и квартили, n = 17)

| Цитокин | Без активации | Активация + GM-CSF (нг/мл) | | | | |
|---------------|---------------|----------------------------|---|----------------------------|---|---|
| | | 0 | 0,01 | 0,10 | 1,00 | 10,00 |
| IL-2 | <10 | 590,0 (121,0; 869,5) | 580,0 (96,0; 987,5) | 540,0 (106,0; 1034,5) | 468,0* (244,0; 1120,0) | 614,0* (272,0; 1142,0) |
| INF- γ | <10 | 5094,0 (4039,8; 9688,3) | 2652,0* (2290,0; 5530,0) | 3312,0 (2524,0; 7669,5) | 5764,0 (3941,5; 9071,5) | 6276,0 (3716,0; 9346,0) |
| IL-4 | <2 | 11,6 (5,4; 29,5) | 7,1 (0,5; 30,6) | 7,4 (2,4; 31,5) | 8,8 (4,6; 31,6) | 13,9* (10,8; 30,8) |
| IL-10 | <5 | 620,6 (484,8; 870,9) | 528,9 (452,7; 668,4) | 509,4 (430,2; 732,3) | 512,1 (366,9; 934,8) | 452,4* (322,2; 769,5) |

Примечание. * – p < 0,05 в сравнении с T-клетками, активированными в отсутствии GM-CSF (выделено жирным шрифтом)

тивное воздействие GM-CSF на генерацию иммунной Т-клеточной памяти, скорее всего, опосредуется его влиянием на антиген презентующий процесс, а не прямыми воздействиями на Т-клетки. Данные, характеризующие эффекты GM-CSF на Т-клеточную продукцию иммунорегуляторных цитокинов, могут свидетельствовать о том, что этот цитокин потенциально способен играть не только позитивную, но и негативную роль в развитии адаптивных иммунных реакций. Негативную роль в регуляции адаптивных Т-клеточных реакций играют миелиодные клеточные супрессоры, на дифференцировку которых GM-CSF оказывает ключевое влияние. Поэтому, на наш взгляд, терапевтические подходы, связанные с блокадой активности этого цитокина (например, специфическими АТ) могут быть не эффективны или малоэффективны в лечении антиген-индуцированных хронических воспалительных процессов.

Многонаправленность действия GM-CSF как на врожденные, так и на адаптивные иммунные реакции требует большой осторожности в его терапевтическом применении.

Выводы

Прямые эффекты GM-CSF на функциональную активность Т-клетки в значительной степени определяются как ее субпопуляционной принадлежностью, так и концентрацией цитокина в клеточном микроокружении.

GM-CSF является одним из важных факторов активации для врожденного иммунитета, в дополнение к этому он, по-видимому, способствует регуляции чрезмерных воспалительных реакций. GM-CSF не играет существенной роли в механизме поддержания долговременной иммунной памяти посредством размножения антиген-реактивных Т-лимфоцитов, однако оказывает CD38-опосредованное влияние на Т-клетки локализованные или мигрирующие в центральные лимфоидные органы.

Список литературы

1. Cousins D.J., Staynov D.Z., Lee T.H. Regulation of interleukin-5 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor expression. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994, 150 (5 Pt. 2): 50-53. DOI: 10.1164/ajrccm/150.5_Pt_2.S50
2. Schwager I., Jungi T.W. Effect of human recombinant cytokines on the induction of macrophage procoagulant activity. *Blood.* 1994, 83: 152-160.
3. Burgess A.W., Camakaris J., Metcalf D. Purification and properties of colony-stimulating factor from mouse lung-conditioned medium. *J. Biol. Chem.* 1977, 252: 1998-2003.
4. Griffin J.D., Cannistra S.A., Sullivan R., Demetri G.D., Ernst T.J., Kanakura Y. The biology of GM-CSF: regulation of production and interaction with its receptor. *Int. J. Cell Cloning.* 1990, 8(1): 35-45. DOI: 10.1002/stem.5530080705
5. Miyajima A. Molecular structure of the IL-3, GM-CSF and IL-5 receptors. *Int. J. Cell Cloning.* 1992, 10(3): 126-134. DOI: 10.1002/stem.5530100302
6. Elliott M.J., Vadas M.A., Eglinton J.M., Park L.S., To L.B., Cleland L.G., Clark S.C., Lopez A.F. Recombinant human interleukin-3 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor show common biological effects and binding characteristics on human monocytes. *Blood.* 1989, 74(7): 2349-2359.
7. Onetto-Pothier N., Aumont N., Haman A., Bigras C., Wong G.G., Clark S.C., De Lean A., Hoang T. Characterization of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor on the blast cells of acute myeloblastic leukemia. *Blood.* 1990, 75(1): 59-66.

8. Wada H., Noguchi Y., Marino M.W., Dunn A.R., Old L.J. T cell functions in granulocyte/macrophage colony-stimulating factor deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997, 94(23): 12557-12561.

9. Wolkow P.P., Gebbska A., Korbut R. In vitro maturation of monocyte-derived dendritic cells results in two populations of cells with different surface marker expression, independently of applied concentration of interleukin-4. *Int. Immunopharmacol.* 2018, 57: 165-171. DOI: 10.1016/j.intimp.2018.02.015

10. Hamilton J.A., Anderson G.P. GM-CSF Biology. *Growth Factors.* 2004, 22(4): 225-231. DOI: 10.1080/08977190412331279881

11. Кудрявцев И.В. Т-клетки памяти: основные популяции и стадии дифференцировки. *Российский иммунологический журнал.* 2014, 8(4) 947-964.

12. 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; 36: 277-281. DOI: 10.1016/j.intimp.2016.05.006

13. Shmarov V.A., Malashchenko V.V., Meniailo M.E., Gazatova N.D., Todosenko N.M., Melashchenko O.B., Goncharov A.G., Seledtsov V.I. Direct effects of interleukin-7 on the function of human T cells in vitro. *Eur. Cytokine Netw.* 2016, 27(4): 102-107. DOI: 10.1684/ecnc.2016.0385

14. Malashchenko V.V., Meniailo M.E., Shmarov V.A., Gazatova N.D., Melashchenko O.B., Goncharov A.G., Seledtsova G.V., Seledtsov V.I. Direct anti-inflammatory effects of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on activation and functional properties of human T cell subpopulations in vitro. *Cell Immunol.* 2018, 325: 23-32. DOI: 10.1016/j.cellimm.2018.01.007

15. Meniailo M.E., Malashchenko V.V., Shmarov V.A., Gazatova N.D., Melashchenko O.B., Goncharov A.G., Seledtsova G.V., Seledtsov V.I. Direct effects of interleukin-8 on growth and functional activity of T lymphocytes. *Int. Immunopharmacol.* 2017, 50: 178-185. DOI: 10.1016/j.intimp.2017.06.023

16. Mosabbir A.A., Qudrat A., Truong K. Engineered cell migration to lesions linked to autoimmune disease. *Biotechnol. Bioeng.* 2018, 115(4): 1028-1036. DOI:10.1002/bit.26523

References

1. Cousins D.J., Staynov D.Z., Lee T.H. Regulation of interleukin-5 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor expression. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 1994, 150 (5 Pt. 2): 50-53. DOI: 10.1164/ajrccm/150.5_Pt_2.S50
2. Schwager I., Jungi T.W. Effect of human recombinant cytokines on the induction of macrophage procoagulant activity. *Blood.* 1994, 83: 152-160.
3. Burgess A.W., Camakaris J., Metcalf D. Purification and properties of colony-stimulating factor from mouse lung-conditioned medium. *J. Biol. Chem.* 1977, 252: 1998-2003.
4. Griffin J.D., Cannistra S.A., Sullivan R., Demetri G.D., Ernst T.J., Kanakura Y. The biology of GM-CSF: regulation of production and interaction with its receptor. *Int. J. Cell Cloning.* 1990, 8(1): 35-45. DOI: 10.1002/stem.5530080705
5. Miyajima A. Molecular structure of the IL-3, GM-CSF and IL-5 receptors. *Int. J. Cell Cloning.* 1992, 10(3): 126-134. DOI: 10.1002/stem.5530100302
6. Elliott M.J., Vadas M.A., Eglinton J.M., Park L.S., To L.B., Cleland L.G., Clark S.C., Lopez A.F. Recombinant human interleukin-3 and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor show common biological effects and binding characteristics on human monocytes. *Blood.* 1989, 74(7): 2349-2359.
7. Onetto-Pothier N., Aumont N., Haman A., Bigras C., Wong G.G., Clark S.C., De Lean A., Hoang T. Characterization of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor on the blast cells of acute myeloblastic leukemia. *Blood.* 1990, 75(1): 59-66.
8. Wada H., Noguchi Y., Marino M.W., Dunn A.R., Old L.J. T cell functions in granulocyte/macrophage colony-stimulating factor deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997, 94(23): 12557-12561.
9. Wolkow P.P., Gebbska A., Korbut R. In vitro maturation of monocyte-derived dendritic cells results in two populations of cells with different surface marker expression, independently of applied concentration of interleukin-4. *Int. Immunopharmacol.* 2018, 57: 165-171. DOI: 10.1016/j.intimp.2018.02.015
10. Hamilton J.A., Anderson G.P. GM-CSF Biology. *Growth Factors.* 2004, 22(4): 225-231. DOI: 10.1080/08977190412331279881

11. Kudryavtsev I.V. [Memory T cells: major populations and stages of differentiation]. *Rossiiskii immunologicheskii zhurnal [Russian Journal of Immunology]*. 2014, 8(4) 947-964. (in Russian)

12. Todosenko N.M., Shmarov V.A., Malashchenko V.V., Menaiilo 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; 36: 277-281. DOI: 10.1016/j.intimp.2016.05.006

13. Shmarov V.A., Malashchenko V.V., Menaiilo M.E., Gazatova N.D., Todosenko N.M., Melashchenko O.B., Goncharov A.G., Seledtsov V.I. Direct effects of interleukin-7 on the function of human T cells in vitro. *Eur. Cytokine Netw.* 2016, 27(4): 102-107. DOI: 10.1684/ecn.2016.0385

14. Malashchenko V.V., Menaiilo M.E., Shmarov V.A., Gazatova N.D., Melashchenko O.B., Goncharov A.G., Seledtsova G.V., Seledtsov V.I. Direct anti-inflammatory effects of granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) on activation and functional properties of human T cell subpopulations in vitro. *Cell Immunol.* 2018, 325: 23-32. DOI: 10.1016/j.cellimm.2018.01.007

15. Menaiilo M.E., Malashchenko V.V., Shmarov V.A., Gazatova N.D., Melashchenko O.B., Goncharov A.G., Seledtsova G.V., Seledtsov V.I. Direct effects of interleukin-8 on growth and functional activity of T lymphocytes. *Int. Immunopharmacol.* 2017, 50: 178-185. DOI: 10.1016/j.intimp.2017.06.023

16. Mosabbir A.A., Qudrat A., Truong K. Engineered cell migration to lesions linked to autoimmune disease. *Biotechnol. Bioeng.* 2018, 115(4): 1028-1036. DOI:10.1002/bit.26523

Сведения об авторах

Газатова Наталья Динисламовна — научный сотрудник центра медицинских биотехнологий Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта» Министерства образования и науки Российской Федерации

Малашенко Владимир Владимирович — инженер-исследователь центра медицинских биотехнологий Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта» Министерства образования и науки Российской Федерации

Меняйло Максим Евгеньевич — младший научный сотрудник центра медицинских биотехнологий Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта» Министерства образования и науки Российской Федерации

Шмаров Вячеслав Анатольевич — младший научный сотрудник центра медицинских биотехнологий Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта» Министерства образования и науки Российской Федерации

Мелашенко Ольга Борисовна — научный сотрудник центра медицинских биотехнологий Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта» Министерства образования и науки Российской Федерации

Гончаров Андрей Геннадьевич — кандидат медицинских наук, доцент, директор центра медицинских биотехнологий Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта» Министерства образования и науки Российской Федерации

Селедцов Виктор Иванович — доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник центра медицинских биотехнологий Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта» Министерства образования и науки Российской Федерации