

УДК 616-092

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

Газатова Н.Д., Малащенко В.В., Меняйло М.Е., 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<sup>+</sup> 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- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), интерлейкина-2 (IL-2), IL-4, и IL-10 в культуре супернатантов определяли с помощью иммуноанализа. **Результаты.** Установлено, что GM-CSF в диапазоне концентраций 0,01-10,0 нг/мл не оказывал существенного влияния на содержание CD25<sup>+</sup> клеток, среди активированных Т-лимфоцитов. Вместе с тем, GM-CSF в концентрации 0,1 и 1,0 нг/мл обладал способностью заметно увеличивать содержание CD38<sup>+</sup> клеток среди наивных CD45RA<sup>+</sup>/CD197<sup>+</sup> Т-клеток, а также среди CD45RA<sup>-</sup>/CD197<sup>+</sup> Т-клеток центральной памяти, не оказывая при этом существенного влияния на экспрессию CD38, выявляемую среди эффекторных CD45RA<sup>-</sup>/CD197<sup>-</sup> и терминально дифференцированных CD45RA<sup>+</sup>/CD197<sup>-</sup> эффекторных Т-клеток. В относительно низкой концентрации (0,01 нг/мл) GM-CSF заметно снижал Т-клеточную продукцию INF- $\gamma$ , 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 предполагают, что GM-CSF способен поддерживать активацию относительно низкодифференцированных Т-клеток, не оказывая при этом значимого влияния на активацию высоко дифференцированных Т-клеток.

**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., Мелашченко О.Б., Морозова Е.М., Гончаров А.Г., Селедцов В.И. Прямое влияние гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) фактора на функциональные свойства Т-лимфоцитов человека. Патогенез. 2018; 16(4): 37-42

**DOI:** 10.25557/2310-0435.2018.04.37-42

**Для корреспонденции:** Селедцов Виктор Иванович, email: seledtsov@rambler.ru

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

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила:** 02.07.2008

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

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

Immanuel Kant Baltic Federal University,  
A. Nevskogo str. 14, Kaliningrad 236041, Russian Federation

**Background.** We investigated direct effects of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) on the functionality of T-lymphocyte subsets. **Methods.** CD3<sup>+</sup> T cells were isolated from the blood of healthy donors by positive magnetic separation. The isolated T cells were activated with particles conjugated with antibodies (Abs) to human CD3, CD28, and CD2 molecules. The membrane expression of CD3, CD4, CD45RA, CD197, CD25, and CD38 was evaluated by flow cytometry. Contents of interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), interleukin-2 (IL-2), IL-4, and IL-10 in culture supernatants were determined by the enzyme immunoassay.

**Results.** GM-CSF at 0.01-10.0 ng/ml had no significant effect on the content of CD25<sup>+</sup> cells among activated T lymphocytes. At the same time, GM-CSF at 0.1-1.0 ng/ml was able to noticeably increase the content of CD38<sup>+</sup> cells among both naive CD45RA<sup>+</sup>/CD197<sup>+</sup> T cells and central memory CD45RA<sup>-</sup>/CD197<sup>+</sup> T cells without affecting the CD38 expression on effector CD45RA<sup>-</sup>/CD197<sup>-</sup> and terminally differentiated CD45RA<sup>+</sup>/CD197<sup>-</sup> effector T cells. At a relatively low concentration (0.01 ng/ml), GM-CSF significantly decreased T-cell production of INF- $\gamma$  whereas at a high concentration (10.0 ng/ml), GM-CSF detectably enhanced the secretion of IL-2 and IL-4 while lowering IL-10 production. **Conclusion.** The findings suggest that GM-CSF is capable of supporting the activation of relatively low-differentiated T cells without significantly affecting the activation of highly differentiated T cells.

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

**For citation:** Gazatova N.D., Melashchenko O.B., Menaiilo 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 properties of human T lymphocytes]. *Patogeneis [Pathogenesis]*. 2018; 16(4): 37-42 (In Russian).

**DOI:** 10.25557/2310-0435.2018.04.37-42

**For correspondence:** Seledtsov Viktor Ivanovich, email: seledtsov@rambler.ru

**Funding.** The work was supported by Project # 17.1896.2014 / k dated July 18, 2014 on the topic: «Study of the Role of Hematopoietic Factors in the Adaptive Regulation of Immune Memory».

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

**Received:** 02.07.2008

## Введение

Гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор (GM-CSF) стимулирует рост и дифференцировку гранулоцитарных и макрофагальных клеток и играет важную роль в регуляции как врожденных, так и адаптивных иммунных реакций. GM-CSF вырабатывается не только в органах центрального гемопоза, но и на периферии. Выработка этого цитокина резко возрастает в тканях, подвергшихся воспалению, что предполагает его вовлеченность в регуляцию иммунных процессов на периферии. Продукентами GM-CSF являются макрофаги (Мф), тучные клетки, фибробласты, эндотелиальные клетки и Т-лимфоциты [1, 2]. Продукция GM-CSF возрастает под воздействием провоспалительных цитокинов, таких как интерлейкин-1 (interleukin-1, IL-1), IL-6, и фактор некроза опухоли-альфа (tumor necrosis factor-alfa, TNF- $\alpha$ ) [2, 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  $\alpha$  и  $\beta$  цепей. Бета цепь является общей 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, однако, трудно выявляемой, но функционально значимой [8].

Роль GM-CSF в гемопозе и регуляции врожденного иммунитета довольно хорошо изучена. Показана значимость этого цитокина в дифференцировке макрофагов и дендритных клеток и придании им антиген-презентирующих свойств [9]. Вместе с тем, очень мало известно о прямом влиянии GM-CSF на Т-клеточный иммунитет. 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, а также на их способность продуцировать про-воспалительные и анти-воспалительные цитокины.

## Материалы и методы исследования

**Выделение Т-клеток.** Было исследовано семнадцать здоровых доноров в возрасте от 18 до 40 лет, каждый из которых дал информированное согласие. Мононуклеарные клетки (МНК) периферической крови выделяли с использованием центрифугирования на градиенте плотности Ficoll-Urografin (1,077 г/мл, GE Healthcare, США).

CD3<sup>+</sup> Т-лимфоциты выделяли методом колоночной позитивной магнитной сепарации (MS Columns, Miltenyi Biotec, Германия) с использованием CD3 MicroBeads (CD3 Micro Beads human, Miltenyi Biotec) в соответствии с инструкцией производителя.

**Т-клеточные культуры.** Изолированные Т-клетки культивировали в концентрации  $1.0-1,5 \times 10^6$  кл/мл в бессывороточной культуральной среде TexMACS<sup>TM</sup> (Miltenyi Biotec), с добавлением 2-меркаптоэтанола ( $10^{-5}$  М, Acros Organics / Thermo Fisher Scientific, США) в 24-луночных планшетах в увлажненном CO<sub>2</sub>-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<sup>+</sup> Т-клеток оценивали с помощью проточной цитометрии с использованием анти-CD3-Ат (клон UCNT1), конъюгированных с фикоэритрином (PE) (eBioscience, США) в присутствии мембранно-непроницаемого красителя пропидиум иодида (PI) (eBioscience). Субпопуляции Т-клеток анализировали с помощью проточной цитометрии с использованием следующих Ат: пероксин хлорофилл (PerCP) – меченые анти-CD4 (клон S3.5), флуоресцеин изотиоцианат (FITC) – меченый анти CD115 (LMM741) (eBioscience), (PE) – меченый анти-CD197 (клон 3D12), аллофикоцианин (APC) – меченый анти-CD45RA (клон HI100) (BD Pharmingen, США) и FITC – меченый анти CD25 (клон BC96) (BioLegend, США). Для оптимизации стратегии гейтирования и учета неспецифического связывания АТ использовали соответствующие изотип-контроли (ISO MPC-21 IgG1, к; ISO MPC-11, IgG2b, к) и Fluorescence Minus One Controls (FMO). Проточная цитометрия проводилась на проточном цитометре BD Accuri<sup>TM</sup> C6 (BD Biosciences, США).

**Измерение содержания цитокинов.** Уровни IL-2, IL-4, IL-10 и IFN- $\gamma$  в супернатантах культуры Т-клеток измеряли с использованием коммерческих ИФА-наборов (Vector-Best, РФ) в соответствии с инструкциями производителя. Измерения проводили на автоматизированном биохимическом и иммуноферментном анализаторе ChemWell 2910 (Awareness Technology, США).

**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 расчи-

таны и представлены медиана (*Me*) с первым и третьим квартилями (*Q1* – *Q3*).

### Результаты исследования

*Эффекты GM-CSF на T-клеточную активацию.* В эксперименте мы использовали алгоритм цитометрического исследования, детально описанный ранее [11-15]. Этот алгоритм позволял идентифицировать CD4-позитивные и CD4-негативные T-клетки, а среди них наивные CD45RA<sup>+</sup>/CD197<sup>+</sup> T-клетки, CD45RA<sup>-</sup>/CD197<sup>+</sup> T-клетки центральной памяти, CD45RA<sup>-</sup>/CD197<sup>-</sup> T-клетки эффекторной памяти и терминально дифференцированные эффекторные CD45RA<sup>+</sup>/CD197<sup>-</sup> T-клетки. Подавляющее большинство CD4-негативных T-клеток было CD8-положительным. Согласно полученным данным, чистота выделенных из МНК методом позитивной магнитной сепарации T-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 T-лимфоцитами  $\alpha$ -цепи рецептора IL-2 (CD25). Как показано в табл. 1, культивирование T-клеток с активирующими частицами приводило к выраженному, достоверному приросту CD25<sup>+</sup>-клеток во всех исследованных T-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 T-клетках. Исключением была только минорная субпопуляция терминально дифференцированных CD4-позитивных лимфоцитов, которая показала некоторое снижение содержания CD25<sup>+</sup> при минимальной концентрации GM-CSF (0,01 нг/мл). Таким образом, полученные данные предполагают, что GM-CSF не оказывает значимого влияния на активационные процессы в T-клетках, приводящие к мембранной экспрессии CD25 и делающие T-клетки чувствительными к стимулирующему 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 T-клеток, не связанную с их делением. Данные, представленные в табл. 2, свидетельствовали что активация T-клеток приводила к выраженному и достоверному приросту числа CD38<sup>+</sup> клеток во всех исследованных T-клеточных субпопуляциях. GM-CSF, добавленный в культуры в диапазоне концентраций от 0,01 до 1 нг/мл, обладал способностью заметно увеличивать содержание CD38<sup>+</sup> клеток среди как CD4-позитивных, так и CD4-позитивных наивных CD45RA<sup>+</sup>/CD197<sup>+</sup> T-клеток и CD45RA<sup>-</sup>/CD197<sup>+</sup> T-клеток центральной памяти. В то же время GM-CSF не оказывал существенного влияния на экспрессию CD38, выявляемую на эффекторных CD45RA<sup>-</sup>/CD197<sup>-</sup> и терминально дифференцированных эффекторных CD45RA<sup>+</sup>/CD197<sup>-</sup> T-клетках. Таким образом, чувствительность T-клетки

Таблица 1

Содержание CD25<sup>+</sup> (%) клеток в T-клеточных субпопуляциях.

Субпопуляция		Без активации	Активация + GM-CSF (нг/мл)				
			0	0,01	0,10	1,00	10,00
CD4 <sup>+</sup>	CD45RA <sup>+</sup> /CD197 <sup>+</sup> (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 <sup>-</sup> /CD197 <sup>+</sup> (клетки центральной памяти)	0,1 (0,0 – 0,8)	10,8 (1,9 – 6,3)	11,0 (2,0 – 17,3)	13,0 (2,1 – 7,2)	12,7 (2,3 – 18,9)	12,6 (2,6 – 15,5)
	CD45RA <sup>-</sup> /CD197 <sup>-</sup> (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 <sup>+</sup> /CD197 <sup>-</sup> (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 <sup>-</sup>	CD45RA <sup>+</sup> /CD197 <sup>-</sup> (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 <sup>-</sup> /CD197 <sup>+</sup> (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 <sup>-</sup> /CD197 <sup>-</sup> (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 <sup>+</sup> /CD197 <sup>-</sup> (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 T-клетками, активированными в отсутствие GM-CSF. Данные здесь и в табл. 2 представлены в виде медианы и межквартильного размаха.

Содержание CD38<sup>+</sup> (%) клеток в Т-клеточных субпопуляциях.

Субпопуляция		Без активации	Активация + GM-CSF (нг/мл)				
			0	0,01	0,10	1,00	10,00
CD4 <sup>+</sup>	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)
	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)
	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)
	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 <sup>-</sup>	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)
	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)
	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)
	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 Т-клетками, активированными в отсутствие GM-CSF.

Таблица 3

Содержание цитокинов в Т-клеточных супернатантах (пг/мл).

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- $\gamma$	<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 культуральными супернатантами от Т-клеток, активированных в отсутствие GM-CSF.

к прямому действию GM-CSF может зависеть от ее субпопуляционной принадлежности.

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

## Обсуждение

GM-CSF считается про-воспалительным 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 Мф в дендритные клетки и придании им антиген-презентирующих свойств [9]. Однако, этим влияние GM-CSF на адаптивный иммунитет не ограничивается. Согласно данным, представленным в настоящей работе, этот цитокин может способствовать ассоциированной с экспрессией CD38 активации относительно низкодифференцированных Т-клеток. При наличии соответствующих антигенных стимулов эти клетки способны мигрировать в лимфоидную ткань и подвергаться там размножению. С другой стороны, GM-CSF не усиливал экспрессию CD25 (альфа цепь рецептора IL-2) и не повышал чувствительность Т-клеток к действию IL-2, который является основным ростовым фактором для Т-лимфоцитов. Отсюда, можно предполагать, что позитивное воздействие GM-CSF на

генерацию иммунной Т-клеточной памяти, скорее всего, опосредуется его влиянием на антиген-презентирующий 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 миелоидные клеточные супрессоры, в дифференцировке которых GM-CSF играет ключевую роль. Поэтому, на наш взгляд, терапевтические подходы, связанные с блокадой активности GM-CSF (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 осторожности в его терапевтическом применении.

### Заключение

Полученные данные предполагают, что GM-CSF способен поддерживать активацию относительно низкодифференцированных Т-клеток, не оказывая при этом значимого влияния на активацию высоко дифференцированных Т-клеток.

### 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/ajrcm/150.5 Pt 2.S50
2. Hamilton T., Zhao C., Pavicic P., Datta S. Myeloid colony-stimulating factors as regulators of macrophage polarization. *Front. Immunol.* 2014; 5: 554. DOI: 0.3389/fimmu.2014.00554
3. Schwager I., Jungi T.W. Effect of human recombinant cytokines on the induction of macrophage procoagulant activity. *Blood.* 1994; 83: 152-160.
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): 126-34. 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 Léan 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. Wołkow P.P., Gębska 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. *Российский иммунологический журнал.* 2014; 8(17), 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/ecn.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/ajrcm/150.5 Pt 2.S50
2. Hamilton T., Zhao C., Pavicic P., Datta S. Myeloid colony-stimulating factors as regulators of macrophage polarization. *Front. Immunol.* 2014; 5: 554. DOI: 0.3389/fimmu.2014.00554
3. Schwager I., Jungi T.W. Effect of human recombinant cytokines on the induction of macrophage procoagulant activity. *Blood.* 1994; 83: 152-160.
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): 126-34. 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 Léan 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. Wołkow P.P., Gębska 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]. *Rossiiskij immunologicheskij zhurnal [Russian Journal of Immunology].* 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/ecn.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

### **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*

*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*

*Морозова Екатерина Михайловна – 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*

*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*