

Особенности субпопуляционного состава дендритных клеток у больных ревматоидным артритом

Королев М.А., Курочкина Ю.Д., Банщикова Н.Е., Акимова А.А., Омельченко В.О., Лetyагина Е.А.,
Суровцева М.А., Лыков А.П., Повешенко О.В.

Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН), Новосибирск, Россия
630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Ревматоидный артрит (РА) является одним из наиболее распространенных ревматических заболеваний. Дендритные клетки (ДК) играют важную роль в патогенезе РА как основные антиген-презентирующие клетки. Выделяют две основные популяции ДК: миелоидные (мДК) и плазмоцитоподобные (пДК). Также важную роль в патогенезе РА играют В-клетки как клетки-антителопродуценты. Доказано, что вероятность достижения низкой активности и клинико-лабораторной ремиссии максимальна в самом раннем периоде заболевания и у тех пациентов, которым базисные противовоспалительные препараты (БПВП) ранее не назначали. В связи с этим необходима разработка дополнительных критериев, а также биомаркеров раннего РА.

Цель исследования – изучить субпопуляционный состав ДК у больных РА на ранних стадиях заболевания.

Пациенты и методы. В исследование включено 60 пациентов с РА, соответствующих критериям ACR/EULAR 2010 г. и ACR 1987 г. Пациенты с РА были разделены на две группы: в 1-ю группу вошли больные с ранним РА (длительность заболевания не более 1 года, n=30), во 2-ю – с развернутым РА (n=30). Контрольную группу составили 30 пациентов с остеоартритом (ОА), соответствующих критериям ACR. Всем пациентам с РА проводили терапию БПВП. Пациенты с ранним РА ранее не получали БПВП, после включения в исследование им был назначен метотрексат 15–20 мг/нед. Пациенты с развернутым РА получали метотрексат по 15–25 мг/нед (n=24), сульфасалазин 2 г/сут (n=5) или лефлуномид 20 мг/сут (n=1).

На первом этапе проведено исследование уровня различных субпопуляций ДК, а также В-лимфоцитов у пациентов с ранней стадией РА до начала терапии, а также у пациентов с развернутым РА и в контрольной группе. На следующем этапе была изучена динамика субпопуляционного состава ДК и В-лимфоцитов на фоне терапии.

Результаты и обсуждение. Охарактеризованы субпопуляции ДК периферической крови при раннем РА. Показано, что у пациентов с ранним РА, в отличие от пациентов с развернутым РА и остеоартритом (ОА), наблюдается доминирование субпопуляции мДК. Кроме того, пациенты с РА характеризуются высоким уровнем В-лимфоцитов. Отмечено отсутствие значимых различий в уровне пДК между пациентами с РА и ОА, также выявлена обратная связь между относительным содержанием пДК в периферической крови и активностью заболевания, что подтверждает иммуносупрессивную роль пДК в патогенезе РА. Установлено значимое снижение содержания мДК и В-лимфоцитов на фоне терапии БПВП до уровня здоровых доноров.

Выводы. Таким образом, полученные данные свидетельствуют об увеличении числа мДК и В-лимфоцитов у пациентов с ранним РА в отличие от пациентов с ОА. Кроме того, изменение количества мДК и В-клеток на фоне терапии ассоциировано с динамикой активности заболевания и позволяет предположить, что мДК являются мишенью для воздействия БПВП.

Ключевые слова: ревматоидный артрит; ранний ревматоидный артрит; дендритные клетки.

Контакты: Максим Александрович Королев; kormax@bk.ru

Для ссылки: Королев МА, Курочкина ЮД, Банщикова НЕ и др. Особенности субпопуляционного состава дендритных клеток у больных ревматоидным артритом. Современная ревматология. 2019;13(3):39–44.

Features of the subpopulation composition of dendritic cells in patients with rheumatoid arthritis

Korolev M.A., Kurochkina Yu.D., Banshchikova N.E., Akimova A.A., Omelchenko V.O., Letyagina E.A., Surovtseva M.A., Lykov A.P., Poveshchenko O.V.

Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology, Branch, Federal Research Center, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
2, Timakov St., Novosibirsk 630117

Rheumatoid arthritis (RA) is one of the most common rheumatic diseases. Dendritic cells (DCs) as the main antigen-presenting cells play an important role in the pathogenesis of RA. There are two major DC populations: myeloid and plasmacytoid DCs (mDCs and pDCs). B cells as antibody-producing cells also play an important role in the pathogenesis of RA. The probability of achieving low disease activity and clinical and laboratory remission has been proven to be maximal in the very early period of the disease and in the patients who have not been previously prescribed disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs). In this connection, it is necessary to elaborate additional criteria and biomarkers for early RA.

Objective: to investigate the subpopulation composition of DCs in patients with early-stage RA.

Patients and methods. The investigation enrolled 60 patients with RA who met the 2010 ACR/EULAR and the 1987 ACR criteria. The patients with RA were divided into two groups: 1) 30 patients with early RA (the disease duration was not more than 1 year); 2) 30 patients with advanced RA. A control group consisted of 30 patients with osteoarthritis (OA) who met the ACR criteria. All the patients with RA were treated with DMARDs. The patients with early RA had not previously received DMARDs; after being included in the study, they were prescribed methotrexate 15–20 mg/week. The patients with advanced RA took methotrexate 15–25 mg/week (n=24), sulfasalazine 2 g/day (n=5), or leflunomide 20 mg/day (n=1).

At the first stage, the levels of different subpopulations of DCs and B lymphocytes were studied in the patients with early RA before initiation of therapy and in those with advanced RA and in the control persons. At the following stage, the time course of changes was investigated in the subpopulation composition of DCs and B lymphocytes during therapy.

Results and discussion. The subpopulations of peripheral blood DCs in early RA were characterized. A subpopulation of mDCs was shown to dominate in the patients with early RA versus those with advanced RA or osteoarthritis (OA). In addition, the patients with RA showed a high B lymphocyte level. It was noted that there was no significant differences in the level of pDCs between RA and OA patients and there was an inverse relationship between the relative peripheral blood level of pDC and disease activity, which confirms the immunosuppressive role of pDCs in the pathogenesis of RA. The levels of mDCs and B lymphocytes during DMARD therapy were ascertained to significantly decrease to those seen in healthy donors.

Conclusion. Thus, the findings suggest that the number of mDCs and B lymphocytes increases in patients with early RA, unlike those with OA. In addition, the change in the number of mDCs and B cells during therapy is associated with the dynamics of disease activity and may suppose that mDCs are a target for the action of DMARDs.

Keywords: rheumatoid arthritis; early rheumatoid arthritis; dendritic cells.

Contact: Maksim Aleksandrovich Korolev; kormax@bk.ru

For reference: Korolev MA, Kurochkina YuD, Banshchikova NE, et al. Features of the subpopulation composition of dendritic cells in patients with rheumatoid arthritis. *Sovremennaya Revmatologiya=Modern Rheumatology Journal*. 2019;13(3):39–44.

DOI: 10/14412/1996-7012-2019-3-39-44

Ревматоидный артрит (РА) — аутоиммунное ревматическое заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся хроническим эрозивным артритом (синовитом) и приводящее к инвалидизации [1, 2]. РА занимает одно из ведущих мест среди ревматических болезней. Частота данной патологии в популяции составляет 0,5–1% [3, 4]. Важная роль в патогенезе РА отводится дендритным клеткам (ДК) как основным клеткам, участвующим в презентации антигенов и инициации иммунного ответа. ДК представлены гетерогенной популяцией клеток, которые различаются рядом признаков — локализацией, происхождением и функциями. Циркулирующие ДК разделяют на две популяции — миелоидные (мДК) и плазмацитоидные (пДК). Так, ДК с поверхностным фенотипом CD11c +CD123low имеют моноцитарное происхождение и их относят к мДК, в то время как клетки с фенотипом CD11c -CD123hi морфологически подобны плазматическим клеткам и обозначаются как пДК. мДК имеют мощный потенциал для захвата и презентации антигенов, что позволяет им эффективно стимулировать Т-клетки. пДК обладают уникальным свойством продуцировать большое количество интерферона α/β при воздействии на них вирусных компонентов. Считается, что мДК участвуют в инициации иммунного воспаления, в то время как пДК поддерживают иммунологическую толерантность. Таким образом, ДК являются начальным звеном патогенеза РА.

Не менее существенное значение в патогенезе РА имеют В-лимфоциты. Роль В-клеток при аутоиммунной патологии может заключаться в антигенной презентации, продукции аутоантител и цитокинов. Участие В-клеток в развитии РА подтверждается продукцией аутоантител при РА и наличием в синовиальной оболочке В-клеток различной степени зрелости.

Доказано, что вероятность достижения низкой активности и клинико-лабораторной ремиссии максимальна в самом раннем периоде заболевания и у пациентов, кото-

рым противовоспалительная терапия ранее не проводилась [5]. Считается, что в этот период эффективное лечение может существенно изменить течение болезни в целом и значительно улучшить ее отдаленный прогноз. Этот благоприятный период нередко называют «окном возможностей». Актуальной задачей является разработка дополнительных критериев и поиск высокоинформативных биомаркеров раннего РА.

Цель исследования — изучить субпопуляционный состав ДК у больных РА на ранних стадиях заболевания.

Пациенты и методы. *Характеристика групп пациентов.* В исследование включено 60 пациентов с РА, соответствующих критериям ACR/EULAR 2010 г. [6] и ACR 1987 г. [7]. Пациенты с РА были разделены на две группы (табл. 1). В 1-ю группу вошли больные с ранним РА (длительность заболевания не более 1 года, n=30), во 2-ю — с развернутым РА (n=30). Контрольную группу составили 30 больных остеоартритом (ОА), соответствующих критериям ACR. Пациенты контрольной группы были сопоставимы по полу и возрасту с больными РА. Анализы крови и все иммунологические исследования проводились после подписания информированного согласия.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Всем пациентам с РА проводили терапию базисными противовоспалительными препаратами (БПВП). Пациенты с ранним РА ранее не получали БПВП, после включения в исследование им был назначен метотрексат в дозе 15–20 мг/нед. Пациенты с развернутым РА получали метотрексат по 15–25 мг/нед (n=24), сульфасалазин 2 г/сут (n=5) или лефлуномид 20 мг/сут (n=1).

Фенотипирование ДК периферической крови. Мононуклеарные клетки периферической крови (МНК) выделяли на градиенте плотности фиколла («Панэко», Россия) $\rho=1,078$ г/л центрифугированием в течение 20 мин при 3000 об/мин.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Таблица 1. Характеристика групп пациентов

Показатель	1-я группа (n=30)	2-я группа (n=30)	Контрольная группа (n=30)
Возраст, годы, Ме [25-й; 75-й перцентили]	58 [49; 69]	61 [56; 67]	60 [54; 64]
Женщины, n (%)	24 (80)	30 (100)	20 (66,6)
Мужчины, n (%)	6 (20)	0	10 (34,4)
Длительность заболевания, мес, Ме [25-й; 75-й перцентили]	7 [5; 12]	26 [18; 65]	30 [15;150]
DAS28, Ме [25-й; 75-й перцентили]	4,27 [3,57;5,25]	4,4 [3,6;3,9]	—
Серопозитивность, n (%): по АЦЦП	25 (83,3)	20 (66,6)	—
по РФ	18 (60)	15 (50)	—
Рентгенологическая стадия РА по Штейнбрökerу, n (%): I	20 (66,6)		
II	10(33,4)	30 (100)	—
Рентгенологическая стадия ОА по Келлгрeну–Лоуренсу, n (%): II			20 (66,6)
III			10 (34,4)

Далее собирали интерфазное кольцо и трижды отмывали забуференным физиологическим раствором (ЗФР) в течение 5 мин при 1500 об/мин, осадок ресуспендировали в 1 мл ЗФР, подсчитывали количество и фенотип В-лимфоцитов и ДК периферической крови (мДК и пДК) оценивали в общем пуле МНК по прямому и боковому светорассеиванию на проточном цитофлуориметре BDCAntoII (BDBiosciences, США) с использованием моноклональных антител согласно инструкции производителя. Пул мДК и пДК выделяли из общего гейта (10 000 событий) с применением негативной селекции по линейным маркерам CD3, CD14, CD19 (Сорбент™, Россия) и CD123, а также по позитивной селекции по маркерам HLA-DR, CD11c, CD123 (BDBiosciences, США), фенотип клеток CD3-CD14CD19-HLA-DR+CD11c+CD123-соответствовал мДК, а CD3-CD14+CD19-HLA-DR+CD11c-CD123+ отнесен к пДК. 50 мкл МНК (106 клеток/мл) инкубировали с 5 мкл моноклональных антител, конъюгированных с флуорохромом (HLA-DR-Per-CP-5.5, CD3-FITC, CD14-PE, CD11c-PE-Cy-7, CD19-PE, CD123-APC) в течение 15 мин при комнатной температуре в темноте, отмывали и к осадку добавляли 0,5 мл лизирующего буфера (BDFACSLysingSolution, BDBiosciences, США), далее анализировали пробы на проточном цитофлуориметре. Для оценки субпопуляции В-лимфоцитов МНК выделяли, как описано выше, далее использовали анти-CD19-моноклональные антитела, меченные фикоэритрином (BDBiosciences, США).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 6.0. Для подавляющего большинства значений при применении метода Колмогорова–Смирнова выявлены отклонения от нормального распределения, в связи с чем для статистического анализа использовались непараметрические методы. Значимость оценивали по критерию Вилкоксона для парных выборок, а также по критерию Манна–Уитни для непарных выборок, различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводили с помощью непараметрического критерия Спирмена (r).

Результаты. На первом этапе работы было проведено исследование уровня различных субпопуляций ДК, а также

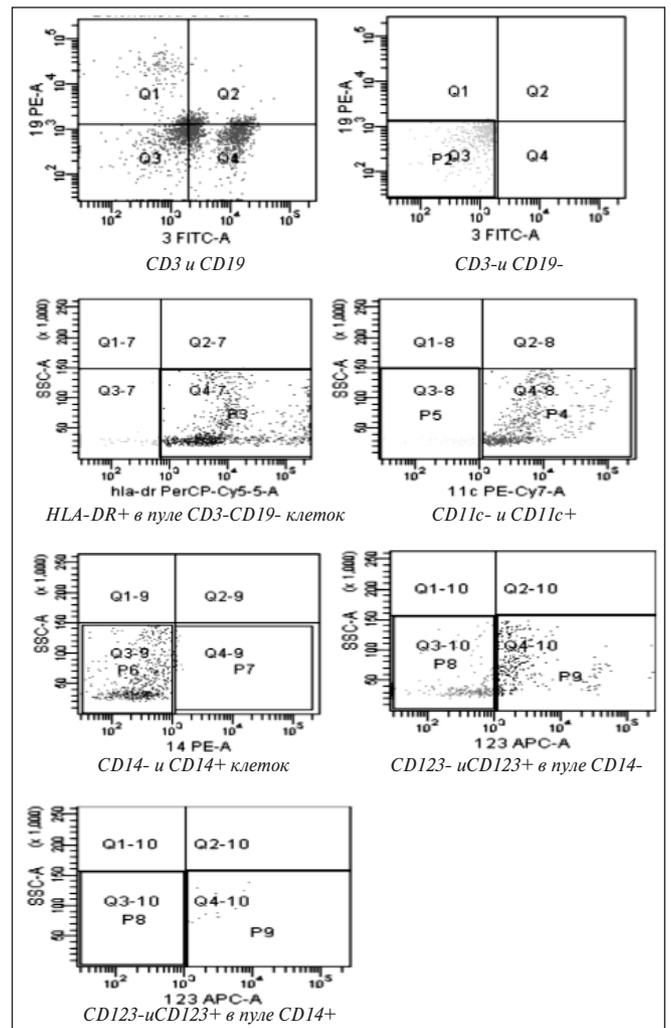


Рис. 1. Схема гейтирования ДК

О Р И Г И Н А Л Ь Н Ы Е И С С Л Е Д О В А Н И Я

Таблица 2. Субпопуляции дендритных клеток, Me [25-й; 75-й перцентили]

Тип клеток	1-я группа	2-я группа	Контрольная группа
мДК:			
абсолютное количество, 1×10^6	2,4 [1,2; 3,5]	2,09 [0,6; 3,8]	1,3 [0,75; 2,5]*
относительное количество, %	35,6 [17,8; 51,9]	33,8 [19,8; 46,2]	25,3 [13,7; 36]*
пДК:			
абсолютное количество, 1×10^6	0,009 [0,004; 0,002]	0,002 [0,002; 0,01]	0,007 [0,005; 0,03]
относительное количество, %	0,1 [0,1; 0,25]	0,3 [0,1; 1,0]	0,1 [0,1; 5]
В-лимфоциты:			
абсолютное количество, 1×10^6	0,48 [0,18; 1,04]	0,38 [0,09; 0,98]	0,16 [0,09; 0,39]*
относительное количество, %	6,1 [2,5; 11,6]	5,9 [2,3; 8,5]	3 [1,8; 6,7]*

* – значимые различия между 1-й и контрольной группами пациентов.

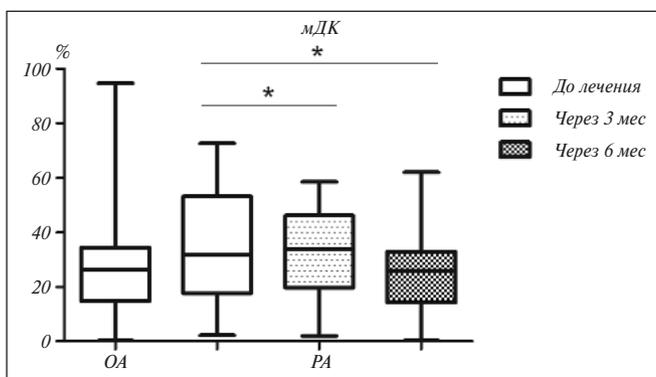


Рис. 2. Изменение субпопуляционного состава ДК после 3 и 6 мес лечения БПВП (n=30 во всех случаях). Данные представлены в виде медианы (горизонтальная линия), диапазона минимальных и максимальных значений, а также интерквартильного диапазона. * – значимые различия

Таблица 3. Динамика субпопуляций ДК у пациентов с развернутым РА, Me [25-й; 75-й перцентили]

Тип клеток	Исходно (n=30)	Через 6 мес (n=30)
мДК, %	33,8 [19,8; 46,2]	29,7 [17,05; 39,9]
пДК, %	0,3 [0,1; 1,0]	0,2 [0,05; 0,45]

В-лимфоцитов у пациентов с ранней стадией РА до начала терапии, а также у пациентов с развернутым РА и в контрольной группе (схема гейтирования представлена на рис. 1).

Относительное количество и фенотип ДК периферической крови оценивали по прямому и боковому светорассеиванию на проточном цитофлюориметре. В табл. 2 представлены данные о содержании ДК периферической крови у пациентов различных групп в начале исследования.

Пациенты с РА значимо отличались от контроля по относительному содержанию мДК, причем большее количество мДК было выявлено у пациентов с ранним РА. Большее количество субпопуляции мДК может быть связано с участием этих клеток в презентации аутоантигенов и поддержании аутоиммунного воспаления.

Как видно из табл. 2, у пациентов с РА в целом по сравнению с больными ОА отмечается повышенное содержание В-лимфоцитов, причем, как и ДК, данная популяция более многочисленна у больных с ранним РА. Выявленные особенности подтверждают важную роль В-лимфоцитов в па-

тогенезе РА как основных клеток-антителопродуцентов.

Через 6 мес наблюдения у пациентов с ранним РА произошло снижение медианы индекса DAS28 с 4,27 [3,57; 4,2] до 3,0 [2,6; 3,7] (p=0,05). У пациентов 2-й группы с развернутым РА положительная динамика была менее выражена (соответственно 4,4 [3,6; 3,9] и 4,0 [3,5; 4,0]).

На следующем этапе работы была изучена динамика субпопуляционного состава ДК и В-лимфоцитов на фоне терапии.

Как видно из рис. 2, пациенты с ранним РА (1-я группа) до начала приема БПВП характеризовались более высоким содержанием мДК в периферической крови по сравнению с контролем (35,6 и 25,3% соответственно). Через 3 мес после начала лечения отмечалось значимое уменьшение количества мДК, а через 6 мес оно снизилось до уровня контроля, что ассоциировалось с уменьшением активности заболевания. При этом содержание пДК у больных с ранним РА на фоне лечения оставалось неизменным и сопоставимым с таковым у пациентов с ОА, что свидетельствует о меньшей

вовлеченности этой субпопуляции в патогенез РА. Кроме того, выявлена достоверная обратная корреляция между уровнем пДК и активностью заболевания до начала терапии (r=-0,5, p=0,02, n=30), что подтверждает имеющиеся данные о преимущественной роли пДК в поддержании иммунологической толерантности к аутоантигенам, а не аутоиммунного воспаления, в отличие от мДК.

Анализ субпопуляционного состава ДК у пациентов с развернутым РА не выявил значимых изменений после 6 мес наблюдения (табл. 3).

Также нами было оценено изменение количества В-лимфоцитов после начала терапии у пациентов 1-й группы с ранним РА. Как видно из рис. 3, на фоне терапии через 3 и 6 мес отмечается значимое уменьшение количества В-клеток у пациентов с ранним РА до уровня контрольной группы.

Также нами было оценено изменение количества В-лимфоцитов после начала терапии у пациентов 1-й группы с ранним РА. Как видно из рис. 3, на фоне терапии через 3 и 6 мес отмечается значимое уменьшение количества В-клеток у пациентов с ранним РА до уровня контрольной группы.

Обсуждение. В настоящей работе охарактеризован субпопуляционный состав ДК и В-лимфоцитов у пациентов с ранним РА. Большинство существующих исследований посвящено изучению субпопуляций ДК при различных аутоиммунных заболеваниях, в частности при РА на развернутой, но не на ранней стадии. Рядом авторов показано, что у больных РА наблюдается снижение уровня как пДК, так и мДК [8, 9]. Согласно нашим данным, уровень пДК у больных РА соответствует среднестатистическим показателям

телям и составляет около 0,1%. При этом нами выявлено повышенное содержание мДК по сравнению с результатами, полученными другими авторами [8]. Установленные различия могут быть обусловлены включением в исследование пациентов с ранним РА, ранее не получавших БПВП, и с высокой активностью заболевания. Отмеченное нами уменьшение количества мДК на фоне лечения до уровня контроля свидетельствует о доминировании этой популяции клеток именно при раннем РА. Кроме того, наши результаты подтверждают данные литературы о большей вовлеченности мДК в патогенез РА как клеток, обеспечивающих более эффективную презентацию антигена [10]. Более того, показано, что присутствующие в синовиальной оболочке пДК обладают толерогенными свойствами, предотвращая активацию наивных Т-клеток [11]. Подтверждением этого служит выявленная нами обратная корреляция между относительным содержанием пДК и активностью заболевания. Также уменьшение количества мДК при раннем РА при отсутствии значимых изменений при развернутом РА свидетельствует о большей эффективности терапии именно на ранней стадии заболевания, в период так называемого окна возможностей.

Установленные в нашей работе высокий уровень В-лимфоцитов у пациентов с ранним РА и снижение относительного содержания этих клеток на фоне терапии подтверждают участие В-лимфоцитов в патогенезе РА, а также позволяют использовать их в качестве биомаркера раннего РА [12, 13]. D.M. Gerlag и соавт. [14] у пациентов с высоким риском развития артрита изучали уровень В-лимфоцитов до начала терапии, а также после однократного введения 1000 мг ритуксимаба. Через 4 нед после терапии отмечалось значимое снижение уровня В-лимфоцитов. Авторы рассматривают повышенное содержание В-лимфоцитов у пациентов с высоким титром антител к циклическому цитруллинированному пептиду в качестве биомаркера раннего РА. Наши данные полностью согласуются с результатами, полученными

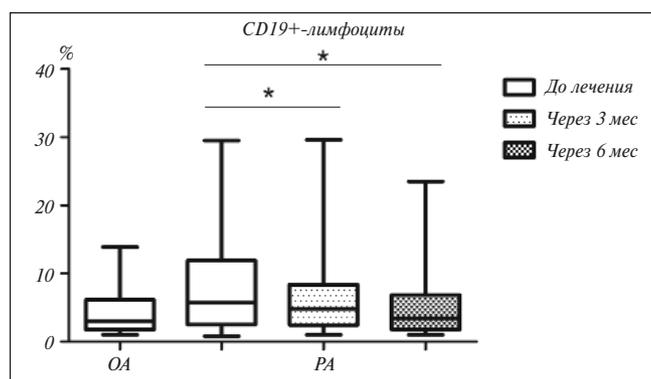


Рис. 3. Изменение количества В-лимфоцитов у пациентов 1-й группы на фоне лечения. Данные представлены в виде медианы, диапазона минимальных и максимальных значений и интерквартильного диапазона. * – значимые различия

ми D.M. Gerlag и соавт. [14], и подтверждают важную роль В-лимфоцитов в дебюте заболевания, но в то же время дополнены анализом субпопуляционного состава ДК как потенциального биомаркера раннего РА. Кроме того, Ю.Д. Курочкина и соавт. [15] в предыдущих работах продемонстрировали влияние терапии противоревматическими препаратами на свойства ДК, что позволяет использовать оценку субпопуляций ДК как маркер эффективности противовоспалительной терапии.

Выводы. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о большей численности субпопуляции мДК и В-лимфоцитов у пациентов с ранним РА по сравнению с пациентами с ОА. Изменение количества мДК и В-клеток на фоне терапии ассоциировано с активностью заболевания и позволяет предположить, что мДК являются мишенью для БПВП. В целом описанные результаты подтверждают вовлеченность мДК и В-лимфоцитов в патогенез РА и позволяют рассматривать эти клетки в качестве биомаркеров раннего РА.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Насонов ЕЛ. Ревматоидный артрит. Москва: ГЭОТАР-Медиа; 2008. С. 290–331. [Nasonov EL. *Revmatoidnyy artrit* [Rheumatoid arthritis]. Moscow: GEOTAR-Media; 2008. P. 290–331.]

2. Klareskog L, Catrina AI, Paget S. Rheumatoid arthritis. *Lancet*. 2009 Feb 21;373(9664):659-72. doi: 10.1016/S0140-6736(09)60008-8. Epub 2009 Jan 20.

3. O'Dell JR. Rheumatoid arthritis. In: Arend WP, Armitage JO, Clemmons DR, et al, editors. *Goldman's Cecil Medicine*. New York: Elsevier; 2012. P. 1681–9.

4. Firestein GS, McInnes IB. Immunopathogenesis of Rheumatoid Arthritis. *Immunity*. 2017 Feb 21;46(2):183-196. doi: 10.1016/j.immuni.2017.02.006.

5. Finckh A. Early inflammatory arthritis versus rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2009 Mar;21(2):118-23. doi: 10.1097/BOR.0b013e32832325ac4.

6. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis*. 2010 Sep;69(9):1580-8. doi: 10.1136/ard.2010.138461.

7. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 1988 Mar;31(3):315-24.

8. Jongbloed SL, Lebre MC, Fraser AR, et al. Enumeration and phenotypical analysis of distinct dendritic cell subsets in psoriatic arthritis and rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2006;8(1):R15.

9. Maraskovsky E, Daro E, Roux E, et al. In vivo generation of human dendritic cell subsets by Flt3 ligand. *Blood*. 2000 Aug 1;96(3):878-84.

10. Collin M, Bigley V. Human dendritic cell subsets: an update. *Immunology*. 2018 May; 154(1):3-20. doi: 10.1111/imm.12888. Epub 2018 Feb 27.

11. Jongbloed SL, Benson RA, Nickdel MB, et al. Plasmacytoid dendritic cells regulate breach of self-tolerance in autoimmune arthritis. *J Immunol*. 2009 Jan 15;182(2):963-8.

12. Corsiero E, Bombardieri M, Carlotti E, et al. Single cell cloning and recombinant monoclonal antibodies generation from RA synovial B cells reveal frequent targeting of citrullinated histones of NETs. *Ann Rheum Dis*. 2016 Oct;75(10):1866-75. doi: 10.1136/annrheumdis-2015-208356. Epub 2015 Dec 9.

13. Pitzalis C, Jones GW, Bombardieri M, Jones SA. Ectopic lymphoid-like structures in infection, cancer and autoimmunity. *Nat Rev Immunol*. 2014 Jul;14(7):447-62. doi: 10.1038/nri3700. Epub 2014 Jun 20.

14. Gerlag DM, Safy M, Maijer KI, et al. Effects of B-cell directed therapy on the pre-clinical stage of rheumatoid arthritis: the

О Р И Г И Н А Л Ь Н Ы Е И С С Л Е Д О В А Н И Я

PRAIRI study. *Ann Rheum Dis.* 2019 Feb; 78(2):179-185. doi: 10.1136/annrheumdis-2017-212763. Epub 2018 Dec 1.

15. Курочкина ЮД, Тихонова МА, Тыринова ТВ и др. Характеристика дендрит-

ных клеток у больных ревматоидным артритом с различным типом медикаментозной терапии. Бюллетень сибирской медицины. 2017;16(4):195-206.

[Kurochkina YuD, Tikhonova MA,

Tyrinova TV, et al. Characteristics of dendritic cells in patients with rheumatoid arthritis with different types of drug therapy. *Byulleten' sibirskoi meditsiny.* 2017;16(4):195-206. (In Russ.).

Поступила 29.05.2019

Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать. Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.