

СИГНАЛИНГ ЧЕРЕЗ РЕЦЕПТОР К ФАКТОРУ РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ 1-ГО ТИПА КАК НОВЫЙ МЕХАНИЗМ ПОДАВЛЕНИЯ Т-КЛЕТОК ПРИ ОПУХОЛЕВОМ НЕОАНГИОГЕНЕЗЕ

**Черных Е.Р., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Баторов Е.В.,
Останин А.А.**

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

Резюме. Выявление иммуномодулирующей активности факторов роста эндотелия сосудов (VEGFs) раскрывает новую роль неоангиогенеза в опухолевой прогрессии. Большинство эффектов VEGF на Т-клетки опосредуется через рецепторы VEGF-R2. Фактор роста плаценты (PlGF) принадлежит к семейству VEGFs и является селективным лигандом VEGF-R1. С целью изучения роли VEGF-R1-сигналинга в регуляции Т-клеточных функций исследовали влияние PlGF на пролиферацию Т-клеток доноров. Показано, что PlGF в широком диапазоне доз ингибирует пролиферацию Т-лимфоцитов в культурах анти-CD3-стимулированных моноклеарных клеток, подавляя пролиферативный ответ как CD4⁺, так и CD8⁺Т-клеток. При этом супрессорный эффект PlGF обусловлен прямым взаимодействием фактора с VEGFR-1 на Т-клетках, что подтверждается экспрессией VEGFR-1 Т-лимфоцитами (особенно после их активации) и блокированием супрессорного эффекта PlGF нейтрализующими анти-VEGFR-1-антителами. Учитывая повышенный уровень PlGF при многих опухолях, данный фактор может играть важную роль в иммуномодуляции при опухолевом росте, опосредуя свой эффект через VEGFR-1 сигнальный путь.

Ключевые слова: VEGF, VEGF-R1, PlGF, Т-клетки, иммуносупрессия

VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR RECEPTOR-1 SIGNALING AS A NOVEL MECHANISM OF T CELL SUPPRESSION IN TUMOR NEOANGIOGENESIS

**Chernykh E.R., Leplina O.Yu., Tikhonova M.A., Batorov E.V.,
Ostanin A.A.**

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. The immunomodulatory activity of vascular endothelial growth factors (VEGFs) reveals a new role of neoangiogenesis in tumor development. Most of VEGF effects on T cells are mediated through the

Адрес для переписки:

Черных Елена Рэмовна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии»
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.
Тел.: 8 (383) 236-03-29.
Факс: 8 (383) 222-70-28.
E-mail: ct_lab@mail.ru

Address for correspondence:

Chernykh Elena R.
Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
630099, Russian Federation, Novosibirsk,
Yadrintsevskaya str., 14.
Phone: 7 (383) 236-03-29.
Fax: 7 (383) 222-70-28.
E-mail: ct_lab@mail.ru

Образец цитирования:

Е.Р. Черных, О.Ю. Леплина, М.А. Тихонова,
Е.В. Баторов, А.А. Останин «Сигналинг через
рецептор к фактору роста эндотелия сосудов 1-го
типа как новый механизм подавления Т-клеток
при опухолевом неоангиогенезе» // Медицинская
иммунология, 2019. Т. 21, № 4. С. 653-660.
doi: 10.15789/1563-0625-2019-4-653-660

© Черных Е.Р. и соавт., 2019

For citation:

E.R. Chernykh, O.Yu. Leplina, M.A. Tikhonova, E.V. Batorov,
A.A. Ostanin "Vascular endothelial growth factor receptor-1
signaling as a novel mechanism of T cell suppression in
tumor neoangiogenesis", Medical Immunology (Russia)/
Meditsinskaya Immunologiya, 2019, Vol. 21, no. 4,
pp. 653-660. doi: 10.15789/1563-0625-2019-4-653-660

DOI: 10.15789/1563-0625-2019-4-653-660

VEGF-R2 receptors. Placental growth factor (PlGF) belongs to the VEGFs family and is a selective ligand for VEGF-R1. In order to study the role of VEGF-R1-signaling in the regulation of T cell functions, the effect of PlGF on the proliferation of donor T cell has been investigated. PlGF has been shown to inhibit the proliferation of T lymphocytes in cultures of anti-CD3-stimulated mononuclear cells in a wide dose range, suppressing the proliferative response of both CD4⁺ and CD8⁺T cells. The suppressive effect of PlGF was mediated through the direct interaction with VEGFR-1 on T cells that was evidenced by the expression of VEGFR-1 by T lymphocytes (especially after their activation) and by blocking the suppressive effect of PlGF with neutralizing anti-VEGFR-1 antibodies. Given the increased levels of PlGF in many tumors, this factor may play an important role in immunomodulation during tumor growth, mediating its effect through the VEGFR-1 signaling pathway.

Keywords: VEGF, VEGF-R1, PlGF, T cells, immunosuppression

Введение

Неоангиогенез является неотъемлемым условием роста опухоли, ее инвазии и метастазирования и опосредуется с участием проангиогенных факторов, среди которых ключевая роль отводится семейству факторов роста эндотелия сосудов (VEGFs) [2, 7]. Взаимодействие VEGFs со своими рецепторами (VEGFR) активирует пролиферацию, миграцию и дифференцировку эндотелиальных клеток, а также рекрутирование костномозговых эндотелиальных предшественников в зоны васкулогенеза, способствуя образованию новых сосудов. Для многих типов опухолей, экспрессирующих VEGF и VEGFR, VEGF/VEGFR сигнальный путь выступает в качестве аутокринного механизма поддержания роста опухолевых клеток [9, 12]. Апробация антиангиогенных препаратов в качестве таргетной терапии показала, что их противоопухолевый эффект во многом обусловлен уменьшением иммуносупрессии [14, 19, 23], свидетельствуя, таким образом, об иммуномодулирующей активности VEGFs.

Семейство VEGFs включает несколько факторов – VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D и фактор роста плаценты (PlGF). Центральная роль среди этих факторов отводится VEGF-A, который в литературе обозначается как VEGF. Иммуномодулирующие эффекты VEGFs реализуются через связывание с двумя рецепторами – VEGFR-1 (Flt-1) и VEGFR-2 (Flk-1, KDR) на гемопоэтических предшественниках и иммунных клетках [23]. Показано, что VEGF способен подавлять созревание дендритных клеток, индуцировать накопление миелоидных супрессорных клеток и регуляторных Т-клеток, вызывать атрофию тимуса, а также оказывать прямые эффекты на Т-клетки [21]. Ингибирующий эффект VEGF-A на Т-лимфоциты опосредуется через VEGFR-2 сигнальный путь [6, 22], тогда как роль VEGFR-1-сигналинга в модуляции функциональной активности Т-клеток остается неясной.

Между тем, лигандом для VEGFR-1, который взаимодействует только с этим рецептором, является PlGF, также принадлежащий к семейству VEGFs. Поэтому исследование влияния PlGF на функции Т-клеток представляет собой уникальную возможность изучения роли VEGFR-1-сигналинга в регуляции Т-лимфоцитов.

PlGF продуцируется опухолевыми и стромальными клетками большинства солидных опухолей и его уровень прямо коррелирует с опухолевой стадией, метастатической инвазией и обратно – с выживаемостью больных [3, 4]. PlGF аналогично VEGF способен усиливать опухолевый рост за счет стимуляции неоангиогенеза и пролиферации опухолевых клеток. Однако PlGF/VEGFR-1-опосредованные иммуномодулирующие эффекты остаются менее изученными и в основном касаются влияния PlGF на клетки миелоидного ряда – моноциты, дендритные клетки (ДК), макрофаги [5, 11]. В то же время эффекты PlGF в отношении функции Т-клеток практически не исследованы.

Исходя из этого, с целью изучения роли VEGF-R1-сигналинга в регуляции Т-клеточных функций в настоящей работе исследовали влияние PlGF на пролиферацию Т-лимфоцитов.

Материалы и методы

В исследование были включены 42 здоровых донора крови. Забор крови и все иммунологические исследования проводили после получения письменного информированного согласия. Мононуклеарные клетки (МНК) периферической крови выделяли центрифугированием цельной, гепаринизированной венозной крови в градиенте плотности фиколла-верографина ($\rho = 1,078$). МНК культивировали в 96-луночных круглодонных планшетах для иммунологических исследований при температуре 37 °С и 5% CO₂. Полная культуральная среда состояла из среды RPMI-1640, дополненной 10% инактивированной сыворотки доноров АВ (IV) группы, 2 мМ HEPES-буфера, 0,3 мг/мл глутамина (все реакти-

вы фирмы Sigma) и гентамицином (100 мкг/мл). Количество МНК, вносимых в лунку, составляло $0,1 \times 10^6$ клеток в 0,15 мл культуральной среды. Для стимуляции клеток использовали растворимые моноклональные анти-CD3-антитела (IC0-90, ТОО «Медбиоспектр», Москва) в концентрации 1 мкг/мл. PlGF использовали в диапазоне доз от 0,01 до 100 нг/мл (R&D System). Интенсивность пролиферации оценивали на 5 сутки по включению в нуклеопротеидные фракции ^3H -тимидина, вносимого за 18 часов до окончания культивирования в дозе 1 мкг/мл. Подсчет радиоактивности производили с использованием жидкостного сцинтилляционного счетчика SL-30 (Intertechnic, Франция). Результаты (имп/мин) представляли в виде среднего значения триплета (трех идентичных культур).

Пролиферацию CD4- и CD8-субпопуляций Т-лимфоцитов оценивали цитофлуориметрически по разведению флуоресцентной метки CFSE [5(6)-carboxyfluorescein diacetate N-succinimidyl Ester]. Для этого МНК перед культивированием метили флуорохромом (витальным красителем) CFSE (Molecular probes, США) в конечной концентрации 2 мкМ в RPMI-1640 в течение 15 минут, затем 3-кратно отмывали в RPMI с 10% FCS (БиолоТ, Санкт-Петербург). МНК, меченные CFSE, культивировали в концентрации 1×10^6 /мл в 96-луночных планшетах в отсутствие или присутствии анти-CD3 (1 мкг/мл) в течение 5 суток и по завершении культивирования клетки окрашивали PE-мечеными анти-CD3, APC-мечеными анти-CD4 и PerCP-мечеными анти-CD8 моноклональными антителами (BD, США). Анализ количества делений проводили на проточном цитофлуориметре FACS Calibur (Becton Dickinson, США) в гейтах CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов, определяя процент клеток, содержащих, как минимум, в 2 раза меньше флуорохрома, чем исходно меченые клетки. Результат выражали в виде процентного содержания делящихся клеток к общему количеству клеток в исследуемой области.

Экспрессию VEGFR-1 на Т-лимфоцитах оценивали методом проточной цитофлуориметрии с использованием FITC-(CD8), PE-(CD4) и APC-(VEGFR-1) меченых моноклональных антител (BD, США).

В отдельной серии экспериментов исследовали влияние нейтрализующих анти-VEGFR-1-антител (анти-VEGFR-1) на супрессорный эффект PlGF. Для этого в культуры МНК, стимулированные анти-CD3, добавляли PlGF (5 нг/мл) и культивировали в отсутствие и присутствии нейтрализующих анти-VEGFR-1-антител (VEGF R1/Fit-1-антитела; 2,5 мкг/мл; R&D System),

вносимых совместно с PlGF либо через 24 ч после начала культивирования.

Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета программ Statistica 6.0 для Windows. Данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного диапазона ($Q_{0,25}$ - $Q_{0,75}$). Для выявления значимых различий сравниваемых показателей использовали непараметрический W-критерий Вилкоксона (для связанных выборок) и U-критерий Манна-Уитни (для несвязанных выборок). Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Влияние PlGF на пролиферацию Т-клеток исследовали в культурах МНК, стимулированных через Т-клеточный рецептор анти-CD3-антителами. По сравнению с контрольными анти-CD3-стимулированными культурами PlGF в дозе 10 пг/мл достоверно подавлял пролиферацию МНК с наибольшим супрессорным эффектом в диапазоне доз от 1 до 5 нг/мл (рис. 1А). При анализе PlGF в дозе 5 нг/мл ($n = 22$) супрессорный эффект варьировал от 25 до 76%, составляя на уровне медианы 45 % (рис. 1Б).

Чтобы выяснить, какие субпопуляции Т-клеток подвержены ингибирующему действию PlGF, исследовали влияние фактора на пролиферативный ответ CD4⁺ и CD8⁺Т-лимфоцитов в анти-CD3-стимулированных культурах. Для этого МНК метили витальным красителем CFSE и оценивали пролиферацию методом проточной цитофлуориметрии в гейтах CD4⁺ и CD8⁺Т-клеток в отсутствие и присутствии PlGF. Относительное содержание пролиферирующих CD4⁺ и CD8⁺Т-лимфоцитов в интактных культурах МНК не превышало 1%, а при стимуляции анти-CD3-антителами возрастало до 70,6 и 59,9% соответственно. В присутствии PlGF количество пролиферирующих CD4⁺ и CD8⁺Т-клеток достоверно снижалось (рис. 2). Супрессорный эффект PlGF в отношении CD8⁺Т-лимфоцитов составлял в среднем 28% (IQR 8-39%) и был сопоставим с эффектом фактора на пролиферацию CD4⁺Т-клеток (30%; IQR 25-40%; $p_U = 0,3$). Таким образом, обе субпопуляции Т-лимфоцитов характеризовались чувствительностью к супрессорному действию PlGF.

Учитывая, что неизменным условием прямого влияния PlGF на Т-клетки должно быть наличие на Т-лимфоцитах VEGFR-1, исследовали экспрессию данного рецептора. Проведенная серия экспериментов предусматривала оценку CD4⁺ и CD8⁺Т-лимфоцитов, экспрессирующих VEGFR-1, среди свежeweделенных МНК, а также среди интактных и анти-CD3-активированных

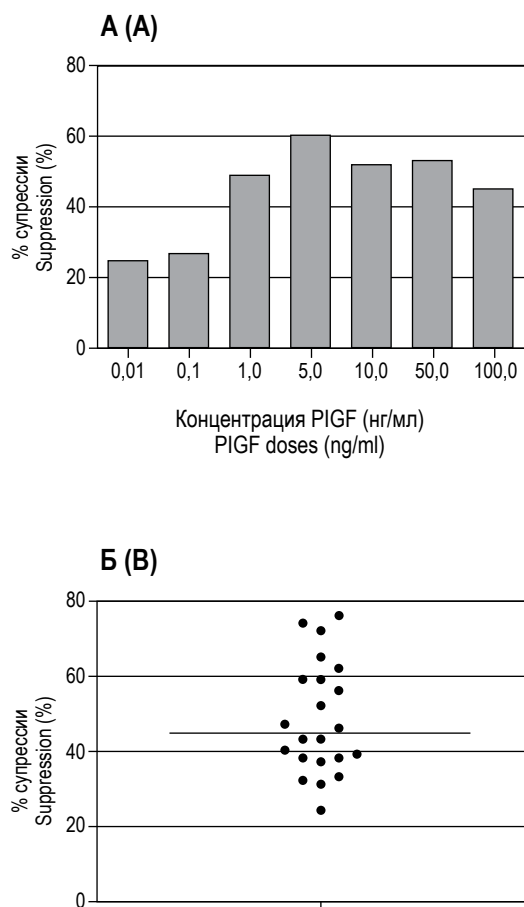


Рисунок 1. Влияние PIGF на пролиферативный ответ анти-CD3-стимулированных МНК

Примечание. А – дозозависимый эффект PIGF; данные представлены в виде медианных значений (n = 6); Б – супрессорный эффект PIGF в дозе 5 нг/мл (n = 22); данные представлены в виде медианы и индивидуальных значений.

Figure 1. The effect of PIGF on the proliferative response of anti-CD3-stimulated MNCs

Note. A, dose-dependent effect of PIGF; data are presented as median values (n = 6); B, suppressive effect of PIGF (5 ng/ml; n = 22); data are presented as median and individual values.

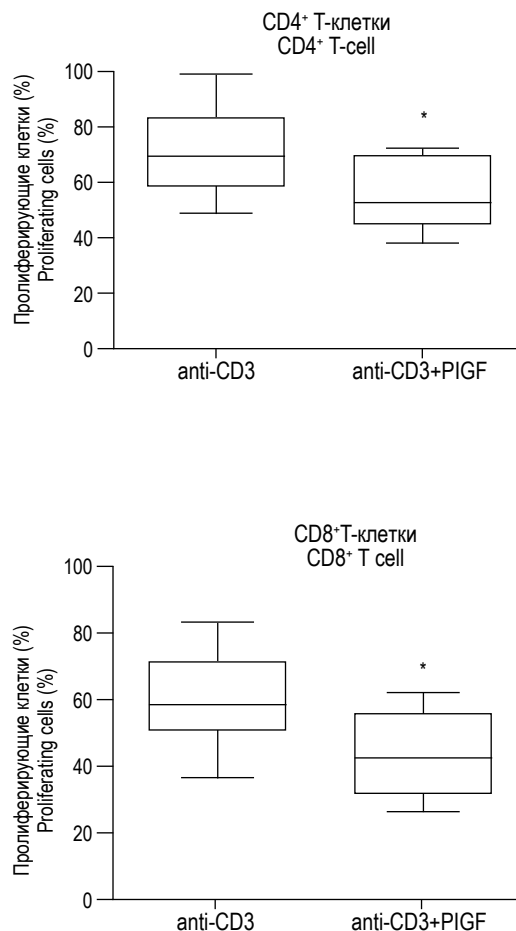


Рисунок 2. Супрессорный эффект PIGF (5 нг/мл) на пролиферативный ответ CD4 и CD8 Т-клеток в культурах анти-CD3-стимулированных МНК

Примечание. Данные представлены в виде медианы, IQR и диапазона минимальных и максимальных значений (n = 6). * – p < 0,05 (W-критерий Вилкоксона).

Figure 2. The suppressive effect of PIGF (5 ng/ml) on the proliferative response of CD4 and CD8 T cells in anti-CD3-stimulated MNC cultures

Note. Data are presented as median, IQR and range of minimum and maximum values (n = 6). *, p < 0.05 (Wilcoxon W-test).

МНК в динамике 3-суточного культивирования. В свежесыведенных МНК относительное содержание CD4⁺VEGFR-1⁺ и CD8⁺VEGFR-1⁺ клеток было низким и составляло 1,29 (0,2-4,4) и 0,51 (0,2-2,2)% соответственно. В нестимулированных культурах МНК относительное количество CD4⁺VEGFR-1⁺ и CD8⁺VEGFR-1⁺ клеток достоверно возрастало (рис. 3), достигая максимума через 48 часов. Так, доля CD4⁺VEGFR-1⁺Т-клеток через 24 ч увеличивалась до 2,7% (IQR 1,0-7,5%;

p_U = 0,017), через 48 ч – до 6,15% (IQR 2,0-11,0%; p_U = 0,017) и к 72 ч незначительно снижалась. Относительное содержание CD8⁺VEGFR-1⁺Т-клеток через 24 ч повышалось до 3% (IQR 0,54-8,5%; p_U = 0,027), через 48 ч достигало 7,8% (IQR 2,5-11,5%; p_U = 0,027), а к 72 ч снижалось до 2,1% (2,5-11,5%; p_U = 0,058). Стимуляция МНК анти-CD3-антителами приводила к усилению экспрессии VEGFR-1 на CD4 и CD8 Т-клетках. Относительное содержание CD4⁺VEGFR-1⁺

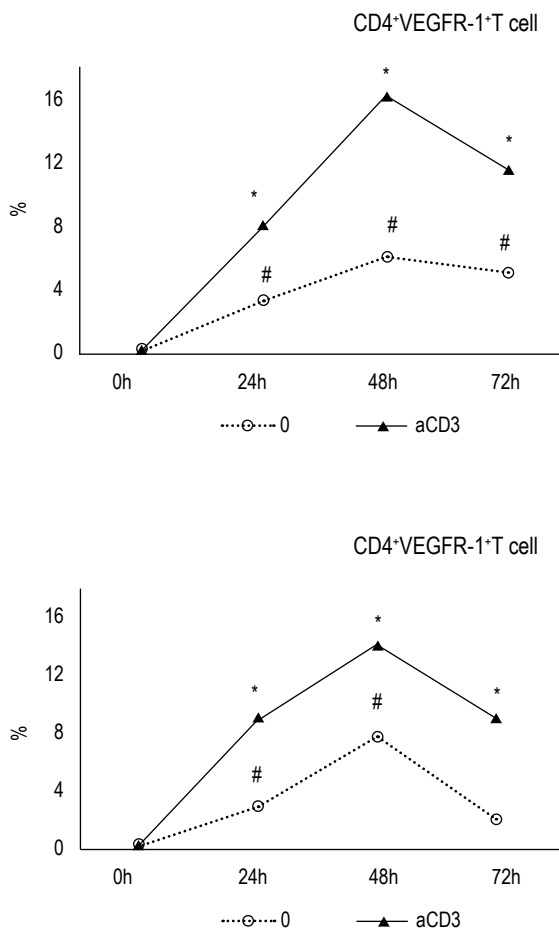


Рисунок 3. Экспрессия VEGFR-1 на CD4⁺ и CD8⁺Т-клетках в нестимулированных (0) и анти-CD3-стимулированных (aCD3) культурах МНК (n = 8)

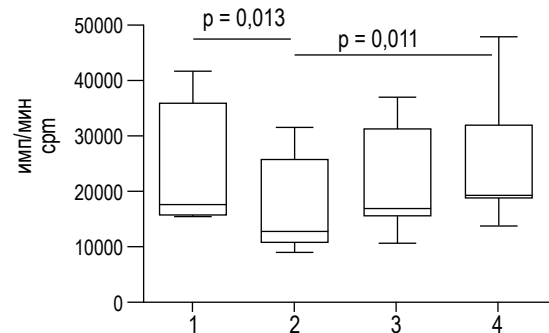
Примечание. * p < 0,05 – достоверность различий по сравнению с нестимулированными МНК; # p < 0,05 – достоверность различий по сравнению со свежеевыделенными МНК (U-критерий Манна–Уитни).

Figure 3. Expression of VEGFR-1 on CD4⁺ and CD8⁺ T cells in unstimulated (0) and anti-CD3-stimulated (aCD3) cultures of MNC (n = 8)

Note. * p < 0.05, the significance of differences compared with unstimulated MNCs; # p < 0.05, significance of differences compared with freshly isolated MNCs (Mann–Whitney U-test).

и CD8⁺VEGFR-1⁺Т-клеток достоверно возросло через 24 ч, достигало максимальных значений через 48 ч культивирования и к 72 ч умеренно снижалось. При этом доля CD4⁺VEGFR-1⁺ и CD8⁺VEGFR-1⁺Т-клеток на всех исследуемых временных точках была достоверно выше, чем в нестимулированных культурах МНК.

Чтобы подтвердить причастность VEGFR-1 сигнального пути к подавлению пролиферации Т-клеток, в заключении исследовали эффект



CD3	+	+	+	+
PIGF	-	+	+	+
Anti-VEGFR (0h)	-	-	+	-
Anti-VEGFR (24h)	-	-	-	+

Рисунок 4. Влияние нейтрализующих анти-VEGFR-1-антител на супрессорную активность PIGF

Примечание. Данные представлены в виде медианы, IQR и диапазона минимальных и максимальных значений (n = 8). МНК стимулировали анти-CD3-антителами в отсутствие (1) и присутствии (2) PIGF (5 нг/мл). Нейтрализующие анти-VEGFR-1 (2,5 мкг/мл) антитела добавляли либо совместно с PIGF (3), либо через 24 ч культивирования (4). p – U-критерий Манна–Уитни.

Figure 4. The effect of neutralizing anti-VEGFR-1 antibodies on the PIGF suppressive activity

Note. Data are presented as median, IQR and range of minimum and maximum values (n = 8). MNCs were stimulated with anti-CD3 antibodies in the absence (1) and the presence of (2) PIGF (5 ng/ml). Neutralizing anti-VEGFR-1 (2.5 μg/ml) antibodies were added together with PIGF (3), or after 24 hours of cultivation (4). p, Mann–Whitney U-test.

блокирования VEGFR-1 на способность PIGF ингибировать пролиферацию активированных Т-клеток. Для этого супрессорный эффект PIGF в культурах анти-CD3-стимулированных МНК исследовали в отсутствие и присутствии нейтрализующих антител против VEGFR-1 (рис. 4). Видно, что в присутствии PIGF интенсивность анти-CD3-индуцированного пролиферативного ответа значительно снижалась в среднем на 31% (IQR 26-38%, p_U = 0,013). В присутствии нейтрализующих анти-VEGFR-1-антител супрессорный эффект PIGF уменьшался до 9% (IQR 3-25%) при добавлении нейтрализующих антител совместно с фактором и до 3% (IQR 0-16%) – при добавлении через 24 ч от начала культивирования. Более выраженное подавление супрессорной активности PIGF в последнем случае объясняется, по-видимому, более высокой экспрессией VEGFR-1 на Т-клетках через 24 ч после анти-CD3-стимуляции.

Обсуждение

Неоангиогенез, так же как и способность «избегания» иммунного надзора, являются характерными атрибутами опухолевых клеток [8]. С этой точки зрения исследование иммуномодулирующих свойств проангиогенных факторов представляет исключительный интерес в плане раскрытия новых механизмов опухолевого роста.

Работы по оценке влияния VEGF на функции Т-клеток немногочисленны и проведены в основном на экспериментальных животных. Так, имеются сообщения об атрофии тимуса [17] и снижении количества и функции Т-клеток в селезенке на фоне продолжительного введения VEGF [10], а также способности VEGF усиливать экспрессию коингибиторных (чек-пойнт) молекул (PD-1, Tim-3, CTLA-4) на CD8⁺Т-клетках [22]. Иммуносупрессивный эффект VEGF во всех этих исследованиях опосредовался через VEGFR-2 сигнальный путь. У человека в исследованиях *in vitro* также продемонстрирован прямой ингибирующий эффект VEGF-А на пролиферацию и цитотоксическую активность анти-CD3-активированных Т-клеток, который отменялся при блокировании VEGFR-2 [6, 24]. Участие VEGFR-1 сигнального пути в подавлении функций Т-клеток обсуждается в литературе в контексте непрямого эффекта VEGF, опосредованного дендритными клетками. Так, показано, что ДК экспрессируют VEGFR-1, и VEGF/VEGFR-1 сигналинг блокирует активацию транскрипционного фактора NF-κB, ингибируя созревание ДК [5, 18].

Полученные нами результаты впервые демонстрируют, что PlGF ингибирует пролиферацию Т-клеток в культурах МНК, стимулированных анти-CD3-антителами, подавляя функции как CD4⁺, так и CD8⁺Т-клеток. При этом супрессорный эффект PlGF обусловлен прямым взаимодействием фактора с VEGFR-1 на Т-клетках, что подтверждается экспрессией VEGFR-1 Т-лимфоцитами и нивелированием супрессорного эффекта PlGF при блокировании VEGFR-1 нейтрализующими антителами.

Сведения об экспрессии VEGFR-1 на Т-клетках неоднозначны. Ранние исследования на Т-клеточных линиях грызунов не выявили экспрессии мРНК VEGFR-1 [16], хотя впоследствии Vignon T. и соавт. показали, что анти-CD3-активированные CD8⁺Т-клетки мышей-опухоленосителей экспрессируют VEGFR-1 и VEGFR-2 на высоком уровне [22]. Относительно данных у человека, Ziogas A.C. и соавт., исследуя Т-клетки доноров и Т-лимфоциты асцитной жидкости пациенток с раком яичника, не выявили на них VEGFR-1 [24]. В то же время Vasu A. и соавт. показали, что Т-клетки периферической крови после активации экспрессируют

как VEGFR-2, так и VEGFR-1 [1], что согласуется с нашими данными.

VEGFR-1 ранее рассматривался исключительно как рецептор-ловушка, поскольку по сравнению с VEGFR-2 имеет более высокую аффинность в сочетании с низкой тирозинкиназной активностью. Однако впоследствии было показано, что PlGF при связывании с VEGFR-1 может образовывать гетеродимер с VEGFR-2, и использовать различные сигнальные пути через активацию Erk/MAPкиназ, PI3K/Akt, PLCγ, и p38/MAPкиназ [20, 21]. Полученные нами данные впервые демонстрируют значение VEGFR-1 в подавлении пролиферации Т-лимфоцитов. Нами также показано, что ингибирующее действие PlGF на пролиферацию Т-клеток осуществляется путем прямого связывания с VEGFR-1, поскольку нейтрализующие антитела к VEGFR-1 блокируют его супрессорный эффект.

Согласно данным литературы, PlGF, аналогично VEGF, способен усиливать опухолевый рост за счет стимуляции неоангиогенеза и пролиферации опухолевых клеток. Однако PlGF/VEGFR1-опосредованные иммуномодулирующие эффекты остаются малоизученными и в основном касаются влияния PlGF на клетки миелоидного ряда [4]. В частности, в исследованиях *in vitro* показана способность PlGF ингибировать дифференцировку и созревание ДК мышей и человека [5, 15], а также индуцировать рекрутирование и M2-фенотип макрофагов в опухолевом микроокружении [11]. С этой точки зрения полученные в настоящей работе результаты свидетельствуют, что сигналинг через VEGFR-1 может обуславливать прямой ингибирующий эффект на Т-клетки.

Гиперэкспрессия PlGF, а также его взаимосвязь с опухолевой прогрессией продемонстрированы при многих онкологических заболеваниях и объясняются проангиогенной активностью и способностью фактора стимулировать рост опухолевых клеток [15]. Кроме того, недавние исследования показали, что PlGF, усиливая эпителиально-мезенхимальный транзит, играет важную роль в формировании стволовых опухолевых клеток [13]. Выявленный в настоящем исследовании прямой ингибирующий эффект PlGF на Т-клетки является еще одним механизмом, посредством которого PlGF может способствовать опухолевому росту.

Благодарности

Работа поддержана грантом РФФИ 18-44-540005 «Влияние фактора роста плаценты (PlGF) на функции Т-клеток человека и роль VEGF-R1-сигнального пути в реализации эффектов PlGF как новый механизм иммуносупрессии при неоангиогенезе».

Список литературы / References

1. Basu A., Hoerning A., Datta D., Edelbauer M., Stack M., Calzadilla K., Pal S., Briscoe D. Cutting edge: vascular endothelial growth factor-mediated signaling in human CD45RO⁺CD4⁺ T cells promotes Akt and ERK activation and costimulates IFN-gamma production. *J. Immunol.*, 2010, Vol. 184, no. 2, pp. 545-549.
2. Carmeliet P. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. *Oncology*, 2005, Vol. 69, Suppl. 3, pp. 4-10.
3. de Falco S. The discovery of placenta growth factor and its biological activity. *Exp. Mol. Med.*, 2012, Vol. 44, no. 1, pp. 1-9.
4. Dewerchin M., Carmeliet P. Placental growth factor in cancer. *Expert Opin. Ther. Targets.*, 2014, Vol. 18, no. 11, pp. 1339-1354.
5. Dikov M., Ohm J., Ray N. Differential roles of vascular endothelial growth factor receptors 1 and 2 in dendritic cell differentiation. *J. Immunol.*, 2005, Vol. 174, no. 1, pp. 215-222.
6. Gavalas N., Tsiatas M., Tsitsilonis O., Politi E., Ioannou K., Ziogas A., Rodolakis A., Vlahos G., Thomakos N., Haidopoulos D., Terpos E., Antsaklis A., Dimopoulos M.A., Bamias A. VEGF directly suppresses activation of T cells from ascites secondary to ovarian cancer via VEGF receptor type 2. *Br. J. Cancer*, 2012, Vol. 107, no. 11, pp. 1869-1875.
7. Gourley M., Williamson J. Angiogenesis: new targets for the development of anticancer chemotherapies. *Curr. Pharm. Des.*, 2000, Vol. 6, no. 4, pp. 417-439.
8. Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer. *Cell*, 2000, Vol. 100, no. 1, pp. 57-70.
9. Hoff P., Machado K. Role of angiogenesis in the pathogenesis of cancer. *Cancer Treat. Rev.*, 2012, Vol. 38, no. 7, pp. 825-833.
10. Huang Y., Chen X., Dikov M., Novitskiy S., Mosse C., Yang L. Distinct roles of VEGFR-1 and VEGFR-2 in the aberrant hematopoiesis associated with elevated levels of VEGF. *Blood*, 2007, Vol. 110, no. 2, pp. 624-631.
11. Incio J., Tam J., Rahbari N., Suboj P., McManus D.T., Chin S., Vardam T.D., Batista A., Babykutty S., Jung K., Khachatryan A., Hato T., Ligibel J.A., Krop I.E., Puchner S.B., Schlett C.L., Hoffmann U., Ancukiewicz M., Shibuya M., Carmeliet P., Soares R., Duda D.G., Jain R.K., Fukumura D. PlGF/VEGFR-1 signaling promotes macrophage polarization and accelerated tumor progression in obesity. *Clin. Cancer Res.*, 2016, Vol. 22, no. 12, pp. 2993-3004.
12. Lee S., Jeong D., Han Y-S., Baek M. Pivotal role of vascular endothelial growth factor pathway in tumor angiogenesis. *Ann. Surg. Treat. Res.*, 2015, Vol. 89, no. 1, pp. 1-8.
13. Li H., Jin Y., Hu Y., Jiang L., Liu F., Zhang Y., Hao Y., Chen S., Wu X., Liu Y. The PLGF/c-MYC/miR-19a axis promotes metastasis and stemness in gallbladder cancer. *Cancer Sci.*, 2018, Vol. 109, no. 5, pp. 1532-1544.
14. Li Y.L., Zhao H., Ren X. Relationship of VEGF/VEGFR with immune and cancer cells: staggering or forward? *Cancer Biol. Med.*, 2016, Vol. 13, no. 2, pp. 206-214.
15. Lin Y-L, Liang Y-C, Chiang B-L. Placental growth factor down-regulates type 1 T helper immune response by modulating the function of dendritic cells. *J. Leukoc. Biol.*, 2007, Vol. 82, no. 6, pp. 1473-2480.
16. Mor E., Quintana F.J., Cohen I.R. Angiogenesis inflammation cross-talk: vascular endothelial growth factor is secreted by activated T cells and induces Th1 polarization. *J. Immunol.*, 2004, Vol. 172, no. 7, pp. 4618-4623.
17. Ohm J.E., Gabrilovich D.I., Sempowski G.D., Kisseleva E., Parman K.S., Nadaf S., Carbone D.P. VEGF inhibits T-cell development and may contribute to tumor-induced immune suppression. *Blood*, 2003, Vol. 101, no. 12, pp. 4878-4886.
18. Oyama T., Ran S., Ishida T., Nadaf S., Kerr L., Carbone D.P., Gabrilovich D.I. Vascular endothelial growth factor affects dendritic cell maturation through the inhibition of nuclear factor-kappa B activation in hematopoietic progenitor cells. *J. Immunol.*, 1998, Vol. 160, no. 3, pp. 1224-1232.
19. Ozao-Choy J., Ma G., Kao J., Wang G.X., Meseck M., Sung M., Schwartz M., Divino C., Pan P., Chen S. The novel role of tyrosine kinase inhibitor in the reversal of immune suppression and modulation of tumor microenvironment for immune-based cancer therapies. *Cancer Res.*, 2009, Vol. 69, no. 6, pp. 2514-2522.
20. Tchaikovski V., Fellbrich G., Waltenberger J. The molecular basis of VEGFR-1 signal transduction pathways in primary human monocytes. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2008, Vol. 28, no. 2, pp. 322-328.
21. Voron T., Marcheteau E., Pernot S., Colussi O., Tartour E., Taieb J., Terme M. Control of the immune response by pro-angiogenic factors. *Front Oncol.*, 2014, Vol. 4, p. 70.
22. Voron T., Colussi O., Marcheteau E., Pernot S., Nizard M., Pointet A.L., Latreche S., Bergaya S., Benhamouda N., Tanchot C., Stockmann C., Combe P., Berger A., Zinzindohoue F., Yagita H., Tartour E., Taieb J., Terme M. VEGF-A modulates expression of inhibitory checkpoints on CD8⁺ T cells in tumors. *J. Exp. Med.*, 2015, Vol. 212, no. 2, pp. 139-148.

23. Yang J., Yan J., Liu B. Targeting VEGF/VEGFR to modulate antitumor immunity. *Front. Immunol.*, 2018, Vol. 9, p. 978.
24. Ziogas A.C., Gavalas N.G., Tsiatas M., Tsitsilonis O., Politi E., Terpos E., Rodolakis A., Vlahos G., Thomakos N., Haidopoulos D., Antsaklis A., Dimopoulos M.A., Bamias A. VEGF directly suppresses activation of T cells from ovarian cancer patients and healthy individuals via VEGF receptor Type 2. *Int. J. Cancer.*, 2012, Vol. 130, no. 4, pp. 857-864.

Авторы:

Черных Е.Р. — д.м.н., профессор, член-корр. РАН, заведующая лабораторией клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Леплина О.Ю. — д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Тихонова М.А. — к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Баторов Е.В. — к.м.н., научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Останин А.А. — д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Chernykh E.R., PhD, MD (Medicine), Professor, Corresponding Member, Russian Academy of Sciences, Head, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Leplina O. Yu., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Tikhonova M.A., PhD (Biology), Senior Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Batorov E.V., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Ostainin A.A., PhD, MD (Medicine), Professor, Main Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Поступила 28.01.2019
Принята к печати 07.03.2019

Received 28.01.2019
Accepted 07.03.2019