

ВЛИЯНИЕ ДЕКСАМЕТАЗОН-МОДИФИЦИРОВАННЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК, ГЕНЕРИРОВАННЫХ С $IFN\alpha$, НА ФУНКЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ У БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ

**Курочкина Ю.Д., Тыринова Т.В., Леплина О.Ю., Тихонова М.А.,
Сизиков А.Э., Сулутьян А.Э., Чумасова О.А., Останин А.А.,
Черных Е.Р.**

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

Резюме. Дендритные клетки (ДК) играют ключевую роль в поддержании периферической толерантности лимфоцитов к аутоантигенам. Восстановление иммунологической толерантности при аутоиммунных заболеваниях, в частности при ревматоидном артрите (РА), рассматривается в качестве новой стратегии лечения. Целью настоящей работы являлось исследование влияния дексаметазон-модифицированных ДК, генерируемых у больных РА из моноцитов в присутствии $IFN\alpha$ (ДК_{декс}), на аутологичные Т-лимфоциты в смешанной культуре лейкоцитов (ауто-СКЛ) и изучение возможных механизмов толерогенного эффекта ДК_{декс} на аутореактивные Т-клетки. Установлено, что ДК_{декс} больных РА индуцируют состояние гипореактивности Т-лимфоцитов в ауто-СКЛ. Гипореактивность Т-клеток ассоциирована с блокированием клеточного цикла $CD4^+$ Т-лимфоцитов и снижением продукции $IFN\gamma$, IL-17, IL-4 и IL-13, что свидетельствует об индукции анергии $CD4^+$ Т-клеток. При этом ингибция Th1/Th17 была более выраженная, чем супрессия Th2-клеток, продуцирующих IL-4 и IL-13. Наряду с анергией Т-клеток, снижение пролиферативного ответа в ауто-СКЛ ассоциировано с усилением апоптоза $CD3^+$ Т-лимфоцитов. Кроме того, ДК_{декс} больных РА подавляют пролиферацию аутологичных Т-клеток, стимулированных контрольными ДК. Данный эффект сопряжен с возрастанием в ауто-СКЛ $CD4^+$ Т-клеток, секретирующих IL-10, и свидетельствует о способности ДК_{декс} индуцировать конверсию $CD4^+$ Т-лимфоцитов в регуляторные Т-клетки (Tr1). Полученные данные характеризуют новый тип толерогенных ДК, генерированных из моноцитов крови больных РА в присутствии интерферона-альфа и модифицированных дексаметазоном (ДК_{декс}), и раскрывают механизмы толерогенного действия ДК_{декс} на Т-клетки, распознающие собственные антигены в ауто-СКЛ.

Ключевые слова: дендритные клетки, интерферон- α , дексаметазон, ауто-СКЛ, апоптоз, анергия, цитокины, Tr1, ревматоидный артрит

Адрес для переписки:

Курочкина Юлия Дмитриевна
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт
фундаментальной и клинической иммунологии»
630099, Россия, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14.
Тел.: 8 (383) 228-21-01.
Факс: 8 (383) 222-70-28.
E-mail: juli_k@bk.ru; ct_lab@mail.ru

Address for correspondence:

Kurochkina Yuliya D.
Institute of Fundamental and Clinical Immunology
630099, Russian Federation, Novosibirsk,
Yadrintsevskaya str., 14.
Phone: 7 (383) 228-21-01.
Fax: 7 (383) 222-70-28.
E-mail: juli_k@bk.ru; ct_lab@mail.ru

Образец цитирования:

Ю.Д. Курочкина, Т.В. Тыринова, О.Ю. Леплина,
М.А. Тихонова, А.Э. Сизиков, А.Э. Сулутьян,
О.А. Чумасова, А.А. Останин, Е.Р. Черных «Влияние
дексаметазон-модифицированных дендритных клеток,
генерированных с $IFN\alpha$, на функции аутологичных
Т-лимфоцитов у больных ревматоидным артритом»
// Медицинская иммунология, 2019. Т. 21, № 5.
С. 835-846. doi: 10.15789/1563-0625-2019-5-835-846
© Курочкина Ю.Д. и соавт., 2019

For citation:

Yu.D. Kurochkina, T.V. Tyrinova, Leplina O. Yu.,
M.A. Tikhonova, A.E. Sizikov, A.E. Sulutian,
O.A. Chumasova, A.A. Ostanin, E.R. Chernykh "Influence
of dexamethasone-modified dendritic cells generated with
 $IFN\alpha$ upon autologous T lymphocyte functions in the
patients with rheumatoid arthritis", Medical Immunology
(Russia)/Meditsinskaya Immunologiya, 2019, Vol. 21, no. 5,
pp. 835-846. doi: 10.15789/1563-0625-2019-5-835-846
DOI: 10.15789/1563-0625-2019-5-835-846

INFLUENCE OF DEXAMETHASONE-MODIFIED DENDRITIC CELLS GENERATED WITH IFN α UPON AUTOLOGOUS T LYMPHOCYTE FUNCTIONS IN THE PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

Kurochkina Yu.D., Tyrinova T.V., Leplina O.Yu., Tikhonova M.A., Sizikov A.E., Sulutian A.E., Chumasova O.A., Ostanin A.A., Chernykh E.R.

Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. Dendritic cells (DCs) play a key role in maintaining the peripheral tolerance of lymphocytes to autoantigens. Recovery of immunological tolerance in autoimmune diseases, particularly, in rheumatoid arthritis (RA) is considered a new therapeutic strategy. The aim of this work was to study the effect of dexamethasone-modified DCs generated from monocytes of RA patients in the presence of IFN α (DCs_{Dex}), upon autologous T lymphocytes in mixed leukocyte culture (auto-MLC), and to investigate possible mechanisms of the DCs_{dex} tolerogenic effect upon autoreactive T cells. We have shown, that DCs_{Dex} from RA patients induce T cell hyporeactivity in auto-MLC. Hyporeactivity of T cells is associated with cell cycle blockage in CD4⁺T lymphocytes and decreased IFN γ , IL-17, IL-4 and IL-13 production, which indicates the induction of CD4⁺T cell anergy. In this case, inhibition of Th1/Th17 has been more pronounced than the suppression of Th2 cells producing IL-4 and IL-13. Along with T cell anergy, the decrease of proliferative response in auto-MLC is associated with increased CD3⁺T lymphocyte apoptosis. In addition, the DCs_{Dex} of RA patients suppresses the proliferation of autologous T cells stimulated by unmodified DCs. This effect is associated with enhancement of IL-10-producing CD4⁺T cells in the auto-MLC, thus being indicative for an ability of DCs_{Dex} to induce conversion of CD4⁺T lymphocytes into regulatory T cells (Tr1). The data obtained characterize a new type of tolerogenic DCs, generated from blood monocytes of RA patients in the presence of IFN α and modified by dexamethasone, thus revealing a mechanism for tolerogenic effect of DCs_{Dex} upon T cells that recognize self-antigens in auto-MLC.

Keywords: dendritic cells, interferon- α , dexamethasone, auto-MLC, apoptosis, anergy, cytokines, Tr1, rheumatoid arthritis

Введение

Дендритные клетки (ДК) играют ключевую роль как в запуске иммунного ответа, так и в поддержании периферической толерантности лимфоцитов к аутоантигенам. ДК с толерогенными свойствами характеризуются сниженной костимуляторной активностью, противовоспалительным профилем секретируемых цитокинов и способны индуцировать клональную деплецию и/или анергию аутореактивных Т-клеток, а также стимулировать дифференцировку и пролиферацию регуляторных Т-клеток (Treg) [10, 23].

Восстановление иммунологической толерантности рассматривается сегодня в качестве новой стратегии лечения аутоиммунных заболеваний, в том числе ревматоидного артрита (РА). РА представляет аутоиммунный воспалительный процесс, характеризующийся повреждением синовиальной и костной ткани суставов, развитие

которого связывают со срывом иммунологической толерантности, в частности с дефектом регуляторных Т-клеток и инфильтрацией синовиальной оболочки аутореактивными Т-лимфоцитами, продуцирующими IFN γ и IL-17 [8]. Современное лечение РА сводится к продолжительной неспецифической иммуносупрессивной терапии, которая, хотя и подавляет воспалительный процесс, не обладает длительным эффектом и повышает риск развития серьезных побочных реакций в виде инфекционных осложнений и опухолевого роста [14]. С этой точки зрения использование толерогенных ДК (тДК) для подавления аутореактивных Т-клеток представляется более безопасным и целенаправленным воздействием. Экспериментальные исследования показали эффективность тДК в моделях артрита [16, 28] и послужили основанием для клинической апробации тДК [23, 27]. В этой связи вопросам фармакологической модуляции ДК и разработке оп-

тимальных протоколов получения тДК уделяется особое внимание.

В клинических исследованиях ДК традиционно получают путем культивирования моноцитов в присутствии GM-CSF и IL-4 (так называемые IL-4-ДК). При этом в качестве индукторов толерогенной активности ДК часто используют глюкокортикоиды, широко применяемые в лечении аутоиммунных заболеваний [15, 16]. В исследованиях *in vitro* показано, что дексаметазон ингибирует созревание ДК, обуславливая снижение экспрессии антигенпрезентирующих и ко-стимуляторных молекул и усиление экспрессии ко-ингибиторных молекул; подавляет продукцию ДК провоспалительных цитокинов и усиливает секрецию противовоспалительных медиаторов, а также усиливает экспрессию молекулы GILZ (glucocorticoid-induced leucine zipper), способствующей генерации $CD25^+FoxP3^+$ и IL-10-продуцирующих Treg [5, 21].

Генерация ДК *in vitro* происходит также при замене IL-4 на интерферон-альфа ($IFN\alpha$), являющийся мощным индуктором дифференцировки моноцитов в ДК. Полученные в присутствии $IFN\alpha$ ДК (IFN -ДК) в отличие от IL-4-ДК обладают более высокой миграционной и проапоптогенной активностью и после активации сохраняют менее зрелый фенотип [13, 19], представляя интерес в качестве новой клеточной платформы для генерации тДК. Ранее нами было показано, что дексаметазон-модифицированные IFN -ДК (IFN -ДК_{декс}) здоровых доноров обладают толерогенными свойствами, в частности характеризуются низкой аллостимуляторной активностью, что коррелирует с незрелым фенотипом и повышенной экспрессией TLR-2 на IFN -ДК_{декс} [1].

Настоящая работа посвящена исследованию влияния IFN -ДК_{декс} больных РА на аутологичные Т-лимфоциты, функции которых в условиях аутоиммунной патологии и проводимого лечения могут быть существенно изменены, и изучению возможных механизмов толерогенного эффекта IFN -ДК_{декс} на аутореактивные Т-клетки.

Материалы и методы

В исследование было включено 29 больных с РА, диагностированным в соответствии с критериями Американской коллегии ревматологов (ACR/EULAR, 2010 г.). Все пациенты имели давность заболевания более года, характеризовались умеренной или высокой степенью активности заболевания ($DAS\ 28 > 3,1$) и получали терапию стандартными болезнью-модифицирующими препаратами (метотрексат, лефлуномид, сульфасалазин) в виде монотерапии или в комбинации.

Забор крови и все иммунологические исследования проводили после получения письменного информированного согласия.

Генерация ДК

Венозную кровь забирали в вакутейнерные пробирки с гепарином (Becton & Dickinson). Мононуклеарные клетки (МНК) выделяли методом градиентного центрифугирования на фиколе-верографине и инкубировали в 6-луночных пластиковых планшетах (Nunclon, Дания) в течение 60 мин в среде RPMI-1640 (Sigma-Aldrich), дополненной 0,3 мг/мл L-глутамина, 5 мМ HEPES-буфера, 100 мкг/мл гентамицина и 2,5% сыворотки плодов коровы (FCS, БиолоТ, Санкт-Петербург). Неприлипающую фракцию МНК далее удаляли, а фракцию адгезивных клеток ($> 90\% CD14^+$ моноциты) культивировали в течение 5 сут. при 37 °С в CO_2 -инкубаторе в полной культуральной среде в присутствии GM-CSF (40 нг/мл, Sigma-Aldrich) и $IFN\alpha$ (1000 Ед/мл, Роферон-А, Roche, Швейцария). Созревание ДК индуцировали LPS (LPS, 10 мкг/мл, LPS *E. coli* 0114:B4, Sigma-Aldrich), который вносили на 4 сут. Для индукции толерогенной активности на 3 сут. в культуры ДК добавляли дексаметазон (10^{-6} М). Контролем служили ДК, генерируемые в отсутствие дексаметазона.

Фенотипический анализ ДК проводили методом проточной цитофлуориметрии (FACSCalibur, Becton Dickinson, США) с использованием FITS-или PE-меченных моноклональных анти-CD14, -CD83, -CD86, -HLA-DR, -TLR-2, -B7H1 антител (BD PharMingen, США). Экспрессию поверхностных маркеров оценивали по относительному количеству позитивных клеток.

Аутологичная смешанная культура лейкоцитов (ауто-СКЛ)

IFN -ДК больных РА, генерированные в отсутствие (DK_k) или присутствии дексаметазона ($DK_{декс}$), культивировали с аутологичными МНК ($0,1 \times 10^6$ /лунку) в 96-луночных круглодонных планшетах в среде RPMI-1640, дополненной 10% инактивированной сыворотки крови АВ (IV) группы при 37 °С в CO_2 -инкубаторе в соотношении ДК:МНК = 1:10. В отдельной серии экспериментов оценивали способность $DK_{декс}$ подавлять пролиферативный ответ аутологичных Т-клеток, индуцированный контрольными ДК. В этом случае в культуры МНК ($0,1 \times 10^6$ /лунку) больных РА одновременно добавляли DK_k и $DK_{декс}$ в соотношении ДК:МНК = 1:10 для каждого типа ДК.

Пролиферативный ответ в ауто-СКЛ оценивали на 5 сут. радиометрически по включению 3H -тимидина (1 мкКю/лунку), вносимого за 18 ч до окончания культивирования. Стимуляторную

активность ДК выражали в виде индекса влияния (ИВ), который рассчитывали как отношение пролиферативного ответа в ауто-СКЛ к уровню спонтанной пролиферации МНК.

Клеточный цикл CD3⁺CD4⁺Т-лимфоцитов оценивали методом трехцветной проточной цитометрии. Для этого 25 мкл МНК ($1,0 \times 10^6$) инкубировали в течение 45 мин при 4 °С в темноте с 5 мкл FITC-конъюгированных анти-CD3-антител и 5 мкл PE-конъюгированных анти-CD4 антител. После однократной отмывки клетки фиксировали 0,5% раствором параформальдегида, центрифугировали и метили 7-амино-актиномицином D (7-AAD, Calbiochem, Германия) в конечной концентрации 2 мкг/мл. Относительное содержание клеток с диплоидным (клетки в G0/G1-фазах клеточного цикла) и гипердиплоидным (клетки в S/G2/M-фазах клеточного цикла) набором ДНК определяли в гейте CD3⁺CD4⁺Т-лимфоцитов. Результаты выражали в виде процентного соотношения позитивных клеток к общему количеству CD3⁺CD4⁺Т-лимфоцитов.

Уровень апоптоза оценивали с помощью окраски аннексином (An) и пропидиумом иодидам (Pi), используя коммерческую тест-систему BD Pharmingen™. Количество клеток в стадии раннего и позднего апоптоза определяли в гейте CD3⁺Т-лимфоцитов, соответственно, по содержанию An⁺Pi⁻ и An⁺Pi⁺ клеток.

Производство Th1 (IFN γ), Th2 (IL-4, IL-13) и Th17 (IL-17) цитокинов оценивали в 5-суточных супернатантах ауто-СКЛ методом мультиплексного протеомного анализа (Bio-Plex Protein Assay System, Bio-Rad, США) в соответствии с инструкцией фирмы-производителя.

Регуляторные Т-клетки оценивали по содержанию CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺Т-клеток (Treg) и CD4⁺IL10⁺ (Tr-1) клеток методом проточной цитометрии, используя анти-CD4 (PerCP или APC), анти-CD25 (FITC), анти-FoxP3 (PE), анти-IL-10 моноклональные антитела (BD Biosciences, США). Фиксацию и пермеабелизацию МНК для оценки внутриклеточной экспрессии FoxP3 и IL-10 проводили после инкубации клеток с моноклональными антителами против поверхностных антигенов; использовали коммерческий набор растворов для фиксации/пермеабелизации Transcription Factor Buffer Set в соответствии с инструкцией производителя (BD Biosciences, США).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0. Данные представлены в виде медианных значений (Me) и интерквартильного диапазона (Q_{0,25}-Q_{0,75}). Для выявления значимых

различий сравниваемых показателей использовали непараметрические критерии: U-критерий Манна-Уитни, парный W-критерий Вилкоксона, парный критерий знаков.

Результаты

Фенотипический анализ IFN-ДК, генерируемых у больных РА (рис. 1), выявил ряд различий с ДК здоровых доноров. IFN-ДК пациентов характеризовались более высоким содержанием CD14⁺ клеток и меньшей долей CD83⁺ клеток, то есть являлись менее зрелыми. Кроме того, IFN-ДК больных РА отличались повышенным содержанием клеток, экспрессирующих TLR-2 и B7-H1 (PD-1L). Генерация IFN-ДК пациентов в присутствии дексаметазона сопровождалась усилением фенотипических признаков незрелости ДК (возрастанием экспрессии CD14 и уменьшением CD83), снижением экспрессии костимуляторных молекул (CD86) и усилением экспрессии TLR2.

Одной из важных функциональных характеристик ДК является их способность индуцировать пролиферацию Т-лимфоцитов в СКЛ. Стимуляторную активность ДК в СКЛ можно рассматривать в качестве интегрального показателя, поскольку она детерминируется экспрессией антигенпрезентирующих, костимуляторных и коингибиторных молекул, а также балансом продукции про- и противовоспалительных цитокинов, и ее снижение является характерным признаком тДК. Поскольку задачей настоящего исследования являлось изучение влияния IFN-ДК_{декс} на функции аутологичных Т-клеток больных РА, в качестве витральной модели использовали ауто-СКЛ, в которой Т-лимфоциты пролиферируют в ответ на собственные антигены, презентруемые ДК. Из данных таблицы 1 видно, что уровень пролиферации Т-клеток в присутствии ДК_{декс} был значительно ниже, чем при стимуляции контрольными ДК. Индексы влияния ДК снижались в среднем с 6,0 до 1,9 расч. ед. ($p_w = 0,005$; $n = 17$), то есть практически в 3 раза после модификации IFN-ДК дексаметазоном. Таким образом, ДК_{декс} у больных РА индуцировали состояние гипореактивности Т-клеток, отвечающих в ауто-СКЛ.

Поскольку снижение реактивности Т-клеток могло быть обусловлено индукцией Т-клеточной анергии, исследовали клеточный цикл CD4⁺Т-лимфоцитов. Доля пролиферирующих CD4⁺Т-клеток (в S/G2+M-фазах клеточного цикла) в культурах, стимулированных ДК_{декс}, была достоверно ниже, а содержание покоящихся CD4⁺Т-клеток (в G0/G1-фазах клеточного цик-

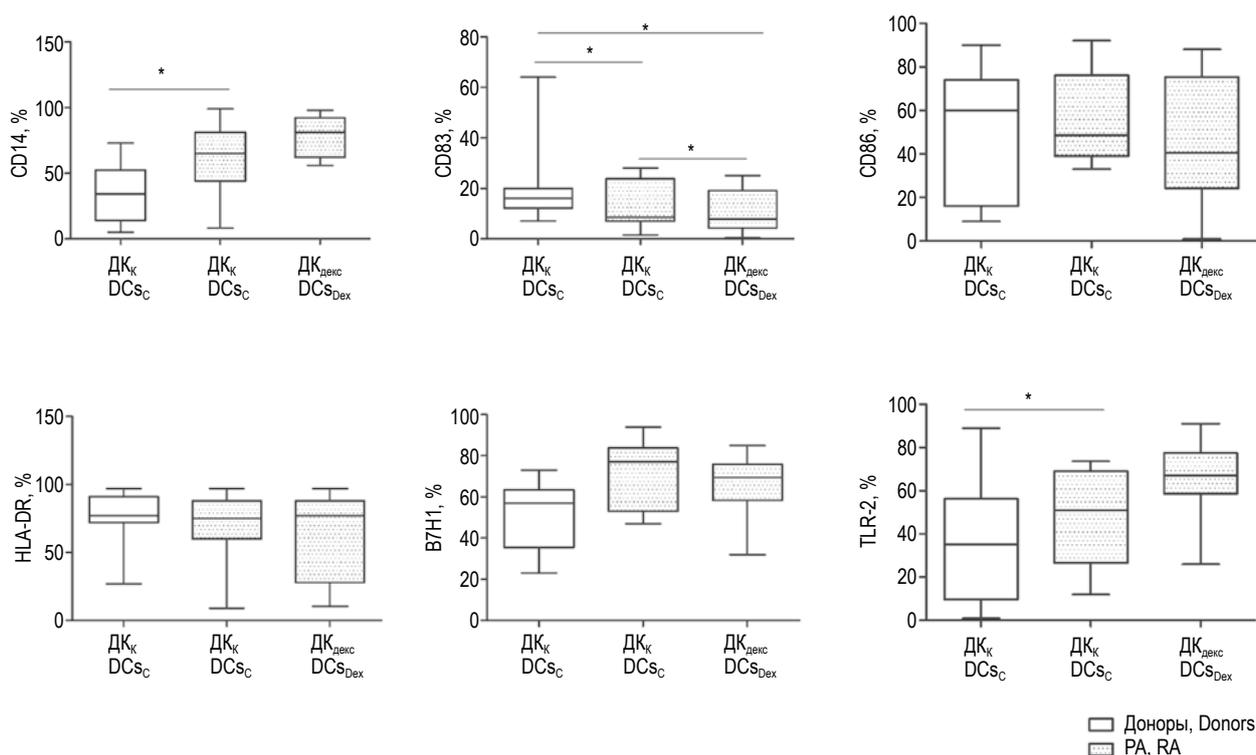


Рисунок 1. Фенотип IFN-ДК здоровых доноров (n = 13) и больных РА (n = 10)

Примечание. Данные представлены в виде медиан (сплошная горизонтальная линия), интерквартильного и min-max диапазона. На диаграммах показано относительное содержание CD14⁺, CD83⁺, HLA-DR⁺, CD86⁺, B7-H1⁺ и TLR-2⁺ клеток в популяции IFN-ДК, генерированных в отсутствие (ДК_с) или в присутствии 10⁻⁶М дексаметазона (ДК_{декс}). * – p < 0,05, парный критерий знаков.

Figure 1. IFN-DCs phenotype in healthy donors (n = 13) and RA patients (n = 10)

Note. Data are presented as medians (solid horizontal line), interquartile and min-max range. Diagrams show the percentage of CD14⁺, CD83⁺, HLA-DR⁺, CD86⁺, B7-H1⁺ and TLR-2⁺ cells in the IFN-DCs population, generated without or with 10⁻⁶M dexamethasone (DCs_c and DCs_{Dex} respectively). *, p < 0.05, Sign-test.

ла) выше, чем при стимуляции контрольными ДК. Как следствие, соотношение покоящихся/пролиферирующих CD4⁺Т-клеток в ауто-СКЛ в присутствии ДК_{декс} более чем в 5 раз превышало значения контрольных культур (13,7 против 2,5 расч. ед. соответственно; p_w = 0,028; n = 6).

Другой механизм снижения Т-клеточной реактивности мог быть связан со способностью ДК_{декс} индуцировать гибель Т-лимфоцитов. Поэтому далее исследовали уровень апоптоза CD3⁺Т-клеток в ауто-СКЛ, оценка которого включала определение общего количества апоптотических клеток (An⁺), а также клеток в стадии раннего (An⁺Pi⁻) и позднего (An⁺Pi⁺) апоптоза. Стимуляция МНК контрольными ДК сопровождалась возрастанием доли апоптотических Т-клеток, являясь отражением активационно-индуцированного апоптоза. Однако в присутствии ДК_{декс} относительное содержание апоптотических Т-клеток было достоверно выше. При этом усиление апоптоза было обусловлено преимущественно за счет прироста CD3⁺Т-клеток в стадии позднего апоптоза. Таким образом, гипореактивность Т-клеток

больных РА в ауто-СКЛ при стимуляции дексаметазон-модифицированными ДК была обусловлена как индукцией анергии, так и усилением апоптоза аутореактивных Т-лимфоцитов.

Известно, что Т-клетки в состоянии анергии характеризуются не только низкой пролиферативной активностью, но и угнетением цитокин-секреторной функции. Чтобы выяснить, какие субпопуляции CD4⁺Т-лимфоцитов подвержены анергии, оценили содержание Th1 (IFN γ), Th17 (IL-17) и Th2 (IL-4, IL-13) цитокинов в 5-суточных супернатантах ауто-СКЛ. Из данных таблицы 2 видно, что ДК_{декс} больных РА в наибольшей степени подавляли продукцию IFN γ и IL-17, тогда как снижение синтеза IL-4 и IL-13 было менее выраженным, хотя и статистически достоверным. Таким образом, по сравнению с Th2-клетками Th1 и Th17 Т-лимфоциты были более чувствительны супрессорному влиянию со стороны ДК_{декс}. Различный эффект ДК_{декс} на Th1- и Th2-клетки проявлялся снижением индексов соотношения IFN γ /IL-4 и IFN γ /IL-13 с 30 (IQR 15,3-89,5) до 17,8 (IQR 1,5-26,6; p = 0,024) и с 19,4

ТАБЛИЦА 1. ВЛИЯНИЕ ДК_{декс} БОЛЬНЫХ РА НА ПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ ОТВЕТ, КЛЕТОЧНЫЙ ЦИКЛ И УРОВЕНЬ АПОПТОЗА Т-КЛЕТОК В АУТО-СКЛ

TABLE 1. INFLUENCE OF DCs_{Dex} OF RA PATIENTS ON T CELL PROLIFERATIVE RESPONSE, CELL CYCLE AND APOPTOSIS LEVEL IN AUTO-MLC

Параметры Parameters	МНК MNC	Ауто-СКЛ Auto-MLC		P _w
		+ ДК _к + DCs _c	+ ДК _{декс} + DCs _{Dex}	
Пролиферация (имп/мин) Proliferation (cpm) n = 17	2340 (400-3380)	10550 (7250-15900)	4690 (1070-8350)	0,005
Индекс влияния ДК Index of influence of DCs	-	6,0 (4,3-18,6)	1,9 (1,4-4,2)	0,005
Клеточный цикл (%) Cell cycle (%) n = 6				
CD4⁺Т-клетки в G0/G1 CD4 ⁺ T cells in G0/G1	-	64 (56-87)	82 (82-86)	0,1
CD4⁺Т-клетки в S/G2+M CD4 ⁺ T cells in S/G2+M	-	22,5 (6-30)	6,5 (4-8)	0,028
Соотношение клеток в G0/G1 и S/G2+M Ratio G0/G1 and S/G2+M	-	2,5 (2,2-14,5)	13,7 (10,3-20,5)	0,028
Апоптоз Т-клеток (%) T cell apoptosis (%) n = 7				
CD3 ⁺ An ⁺	9 (7-15)	22 (12-27)	27,5 (17-33)	0,017
CD3 ⁺ An ⁺ Pr	7 (6-8)	11 (10-11)	12,5 (10-14)	0,028
CD3 ⁺ An ⁺ Pr ⁺	2 (1-7)	11 (2-12)	17 (5-22)	0,018

Примечание. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона (в скобках). IFN-ДК больных РА, генерированные в отсутствие (ДК_к) или присутствии дексаметазона (ДК_{декс}), культивировали с аутологичными МНК в соотношении 1:10. Пролиферацию оценивали на 5 сут., клеточный цикл и уровень апоптоза – через 48 ч. P_w – достоверность различий эффекта ДК_{декс} по сравнению с контрольными ДК (W-критерий Вилкоксона).

Note. Data are presented as median and interquartile range (in brackets). IFN-DCs of RA patients generated without or with dexamethasone (DCs_c and DCs_{Dex} respectively) were culturing with autologous MNC as 1:10. Proliferation was assessed on day 5, cell cycle and apoptosis level – after 48 hours. P_w, the significance of differences of DCs_{Dex} compared with DCs_c (Wilcoxon Matched Pairs Test).

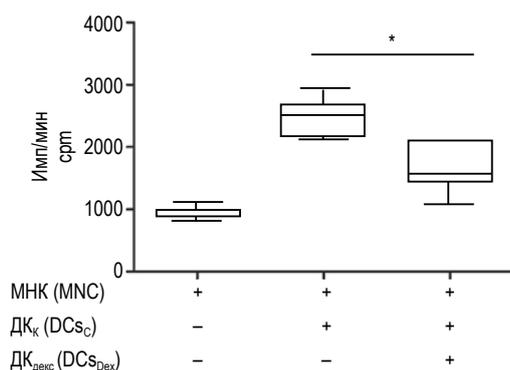


Рисунок 2. Супрессорный эффект ДК_{декс} на пролиферацию Т-клеток в ауто-СКЛ индуцированной ДК_к

Примечание. Данные представлены в виде медиан (сплошная горизонтальная линия), интерквартильного и min-max диапазона. * – p_w = 0,028 (W-критерий Вилкоксона).

Figure 2. Suppressive effect of DCs_{Dex} on T cell proliferation in auto-MLC induced by DCs_c

Note. Data are presented as medians (solid horizontal line), interquartile and min-max range. *, p_w = 0,028 (Wilcoxon Matched Pairs Test).

(IQR 12-34) до 13 (IQR 6-18; p = 0,025) соответственно.

Гипореактивность Т-клеток больных РА в ауто-СКЛ могла быть связана не только с индукцией апоптоза/анергии, но также и с супрессорным эффектом дексаметазон-модифицированных ДК. Для проверки этого предположения исследовали способность ДК_{декс} подавлять пролиферативный ответ Т-клеток в ауто-СКЛ, индуцированной контрольными ДК. Действительно (рис. 2), в присутствии ДК_{декс} пролиферативная активность Т-лимфоцитов, стимулированных ДК_к, снижалась в среднем на 30% (IQR 25-40; p_w = 0,028; n = 6).

Чтобы выяснить, связан ли супрессорный эффект ДК_{декс} с индукцией регуляторных Т-клеток, исследовали содержание CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺Treg и IL-10-продуцирующих Т-лимфоцитов (Tr1) в ауто-СКЛ (табл. 3). Относительное количество CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺Treg в культурах, стимулированных ДК_к и ДК_{декс}, было достоверно выше,

ТАБЛИЦА 2. ВЛИЯНИЕ ДК_{декс} БОЛЬНЫХ РА НА ПРОДУКЦИЮ Th1 (IFN γ), Th17 (IL-17) И Th2 (IL-4, IL-13) ЦИТОКИНОВ В АУТО-СКЛ

TABLE 2. INFLUENCE OF DCs_{Dex} OF RA PATIENTS ON Th1 (IFN γ), Th17 (IL-17) AND Th2 (IL-4, IL-13) CYTOKINE PRODUCTION IN AUTO-MLC

Цитокины (пг/мл) Cytokines (pg/ml)	Ауто-СКЛ Auto-MLC		P _w	Супрессия Suppression %
	+ ДК _c + DCs _c	+ ДК _{декс} + DCs _{Dex}		
IFN γ	1120 (834-8620)	660 (330-900)	0,017	85 (40-96)
IL-17	460 (355-610)	150 (140-260)	0,027	60 (57-72)
IL-4	49 (39-54)	37 (29-45)	0,04	42 (26-67)
IL-13	78 (62-199)	52 (44-58)	0,011	14 (11-39)

Примечание. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона (в скобках). IFN-ДК больных РА (n = 8), генерированные в отсутствие (ДК_c) или присутствии дексаметазона (ДК_{декс}), культивировали с аутологичными МНК в соотношении 1:10. Продукцию цитокинов оценивали на 5 сут. P_w – достоверность различий эффекта ДК_{декс} по сравнению с контрольными ДК (W-критерий Вилкоксона).

Процент супрессии рассчитывали по формуле: $100\% - (ДК_{декс} \times 100 / ДК_c)$.

Note. Data are presented as median and interquartile range (in brackets). IFN-DCs of RA patients (n = 8) generated without or with dexamethasone (DCs_c and DCs_{Dex} respectively) were culturing with autologous MNC as 1:10. Cytokine production was assessed on day 5. P_w, the significance of differences of DCs_{Dex} compared with DCs_c (Wilcoxon Matched Pairs Test).

The percentage of suppression was calculated as $100\% - (DCs_{Dex} \times 100 / DCs_c)$.

чем среди интактных МНК, однако значимо не различалось. Стимуляция МНК ДК_{декс} также сопровождалась значимым возрастанием доли CD4⁺IL10⁺Т-клеток. Но в этом случае относительное содержание CD4⁺IL10⁺Tr1 было достоверно выше, чем при стимуляции контрольными ДК. Таким образом, супрессорная активность ДК_{декс} в ауто-СКЛ была сопряжена с индукцией IL-10-продуцирующих CD4⁺Т-клеток.

Обсуждение

Полученные результаты свидетельствуют, что дексаметазон-модифицированные ДК, генерируемые у больных РА из моноцитов в присутствии IFN α , обладают толерогенным эффектом и индуцируют состояние гипореактивности Т-лимфоцитов в ауто-СКЛ. Гипореактивность Т-клеток ассоциирована с блокированием клеточного цикла в популяции CD4⁺Т-лимфоцитов и угнетением продукции Th1 (IFN γ), Th17 (IL-17) и Th2 (IL-13 и IL-4) цитокинов, что свидетельствует об индукции анергии CD4⁺Т-клеток. При этом более выраженная ингибиция синтеза IFN γ и IL-17 указывает на большую подверженность анергии Th1- и Th17-клеток. Снижение пролиферативного ответа в ауто-СКЛ ассоциировано также с усилением апоптоза Т-лимфоцитов. Кроме того, ДК_{декс} больных РА обладают супрессорным эффектом, в частности подавляют пролифера-

цию аутологичных Т-клеток, стимулированных контрольными ДК. Данный эффект сопряжен с возрастанием в ауто-СКЛ доли CD4⁺Т-клеток, секретирующих IL-10, и свидетельствует о способности ДК_{декс} индуцировать конверсию CD4⁺Т-лимфоцитов в регуляторные Т-клетки (Tr1).

Дексаметазон, широко используемый в клинической практике, оказывает ингибирующий эффект на созревание и функции ДК *in vitro* и *in vivo*, что обосновывает возможность его применения для генерации тДК [11, 24, 36]. Влияние дексаметазона на свойства ДК у человека наиболее хорошо исследовано в отношении IL-4-ДК здоровых доноров, а механизмы подавления Т-клеточных функций – в алло-СКЛ [35]. Показано, что дексаметазон-модифицированные IL-4-ДК обладают толерогенным фенотипом (сниженной экспрессией костимуляторных молекул и повышенным уровнем коингибиторных молекул) и сниженной продукцией провоспалительных цитокинов, а их ингибирующий эффект на Т-лимфоциты связан с индукцией анергии и генерацией IL-10-секретирующих CD4⁺Т-клеток [4, 24, 30, 36]. Garcia-Gonzalez P.A. и соавт., используя 5-дневный протокол генерации IL-4-ДК в присутствии дексаметазона и активации ДК в последние 24 часа монофосфорил-липидом А, показали возможность получения тДК у больных РА [11]. Генерируемые ДК характеризовались сниженной экспрессией ко-

ТАБЛИЦА 3. ВЛИЯНИЕ ДК_{декс} БОЛЬНЫХ РА НА СОДЕРЖАНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ Т-КЛЕТОК В АУТО-СКЛ

TABLE 3. INFLUENCE OF DCs_{декс} OF RA PATIENTS ON THE CONTENT OF REGULATORY T-CELLS IN AUTO-MLC

	CD4 ⁺ CD25 ⁺ FoxP3 ⁺ Treg (n = 9)		CD4 ⁺ IL-10 ⁺ Tr1 (n = 8)	
	% клеток Cells percent	P _w	% клеток Cells percent	P _w
МНК (1) MNC (1)	0,9 (0,7-1,1)	p ₁₋₂ = 0,007 p ₁₋₃ = 0,02 p ₂₋₃ = 0,21	4,0 (2,5-7,0)	p ₁₋₂ = 0,176 p ₁₋₃ = 0,013 p ₂₋₃ = 0,012
МНК + ДК_к (2) MNC + DCs _к (2)	1,7 (1,3-2,6)		6,5 (4,8-7,0)	
МНК + ДК_{декс} (3) MNC + DCs _{декс} (3)	1,3 (1,2-2,0)		8,5 (6,0-9,6)	

Примечание. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона (в скобках). IFN-ДК больных РА, генерированные в отсутствие (ДК_к) или присутствии дексаметазона (ДК_{декс}), культивировали с аутологичными МНК в соотношении 1:10. Относительное содержание CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ и CD4⁺IL10⁺T-клеток оценивали на 5 сут. P_w – критерий Вилкоксона.

Note. Data are presented as median and interquartile range (in brackets). IFN-DCs of RA patients generated without or with dexamethasone (DCs_к and DCs_{декс}, respectively) were culturing with autologous MNC as 1:10. Content of CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ and CD4⁺IL10⁺T cells was assessed on day 5. P_w, Wilcoxon Matched Pairs Test.

стимуляторных молекул, высоким соотношением продуцируемых IL-10/IL-12, а также индуцировали гипореактивность Т-клеток, отвечающих в ауто-СКЛ и распознающих синовиальные антигены, хотя снижение пролиферативного ответа в ауто-СКЛ не было статистически значимым. Hilkens С.М. и Isaacs J.D. продемонстрировали возможность получения тДК у больных РА при использовании 7-дневного протокола генерации IL-4-ДК. Дексаметазон-индуцированные тДК больных были сравнимы с тДК здоровых доноров, характеризовались сниженной экспрессией костимуляторных молекул и продукцией провоспалительных цитокинов, низкой способностью стимулировать антиген-специфический ответ аутологичных Т-клеток и наличием супрессорной активности [16]. Однако авторы не выявили ингибирующего эффекта тДК в ауто-СКЛ.

Новизна полученных в настоящей работе результатов заключается в том, что нами впервые охарактеризованы механизмы ингибирующего действия тДК, полученных на платформе IFNα-индуцированных ДК, причем эффекты этих клеток исследованы у больных РА в ауто-СКЛ. Ауто-СКЛ является хорошо известным витральным подходом, отражающим пролиферацию Т-лимфоцитов в ответ на стимуляцию аутологичными не-Т-клетками, среди которых наиболее эффективными стимуляторами являются ДК [18, 31]. Хотя доминирующей субпопуляцией отвечающих клеток считаются CD4⁺CD45RA⁺Т-лимфоциты [17], наивные CD8⁺Т-клетки также пролиферируют в ауто-СКЛ [12]. Предполагается, что пролиферации подвержены Т-лимфоциты

с низкоаффинными Т-клеточными рецепторами, распознающими собственные антигены МНС в комплексе с аутологичными пептидами или модифицированными каспазами нуклеогистонами апоптотических клеток [3, 29]. Данная реакция направлена на поддержание пула наивных Т-клеток и является отражением гомеостатической пролиферации Т-лимфоцитов *in vivo* [29]. Однако, поскольку пролиферирующие Т-клетки распознают собственные антигены, то их накопление препятствует поддержанию Т-клеточной толерантности. Учитывая, что CD4⁺Т-лимфоциты больных РА подвержены гомеостатической пролиферации [33], выявленный нами ингибирующий эффект ДК_{декс} в ауто-СКЛ у больных РА свидетельствует о способности этих клеток ограничивать репликацию аутореактивных Т-лимфоцитов и, возможно, участвовать в негативной регуляции гомеостатической пролиферации. Согласно данным Ge Q. и соавт., пролиферация Т-клеток в системе сокультивирования ДК с аутологичными Т-лимфоцитами подвержена негативной регуляции со стороны CD4⁺CD25⁺ регуляторных Т-клеток [12]. Результаты настоящего исследования демонстрируют, что угнетение функций аутореактивных Т-клеток под действием ДК_{декс} опосредуется с вовлечением нескольких механизмов, включая индукцию анергии и апоптоза отвечающих Т-клеток, а также генерацию регуляторных Tr1-клеток.

По способности индуцировать анергию Т-клеток и генерацию Tr1 IFN-ДК_{декс} оказались сходными с дексаметазон-модифицированными IL-4-ДК, однако обладали проапоптогенной

активностью, нетипичной для IL-4-ДК_{декс} [5, 21]. Способность IFN-ДК_{декс} индуцировать анергию Т-клеток обусловлена, по всей видимости, незрелым фенотипом ДК, включая сниженную экспрессию костимуляторных молекул, и повышенной экспрессией TLR2, который позиционируется в качестве оптимального маркера при оценке качества дексаметазон-модифицированных толерогенных IL-4-ДК [11, 15]. Усиление экспрессии TLR2 является ответной реакцией на действие глюкокортикоидов и ассоциируется со сниженной секрецией IL-12 и высокой продукцией IL-10 и TGF- β [7, 22], способных индуцировать Treg [10]. Исследования показали, что запуск продукции IL-10 при сигналинге через TLR2 связан с активацией в ДК β -катенина, и данный сигнальный путь рассматривается в качестве нового механизма, посредством которого ДК могут регулировать аутоиммунное воспаление [20]. Способность IFN-ДК_{декс} индуцировать апоптоз Т-клеток обусловлена, по-видимому, повышенной экспрессией молекулы B7-H1, которая при связывании с PD1-рецептором вызывает апоптоз Т-лимфоцитов и коррелирует с толерогенной активностью ДК [9]. Ранее нами было показано, что блокирование PD-1L снижает проапоптогенную активность IFN-ДК в алло-СКЛ [2], а усиление экспрессии данной молекулы на IFN-ДК при патологии может являться

причиной повышенной апоптоз-стимулирующей активности IFN-ДК [26].

Результаты исследования представляют интерес в нескольких аспектах. Во-первых, охарактеризован новый тип тДК, обладающих ингибирующим действием в отношении аутореактивных Т-клеток в ауто-СКЛ. Во-вторых, охарактеризованы механизмы, посредством которых IFN-ДК_{декс} оказывают ингибирующий эффект на аутореактивные Т-клетки. В третьих, полученные данные раскрывают новые механизмы ДК-опосредованного действия кортикостероидов, учитывая, что интерфероны I типа и регулируемые ими гены играют важную роль в патогенезе РА, в том числе регуляции ДК [6], а глюкокортикоиды активно используются в лечении РА. В этом аспекте представляет интерес тот факт, что резистентность к терапии анти-TNF-препаратами ассоциирована с меньшим соотношением IFN β /IFN α в сыворотке крови [34], что может быть связано с активацией ДК при повышенном уровне IFN α . В этом случае не исключено, что пульс-терапия глюкокортикоидами за счет индукции толерогенных IFN-ДК может восстановить чувствительность к терапии биологическими препаратами.

Список литературы / References

1. Курочкина Ю.Д., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Тыринова Т.В., Баторов Е.В., Сизиков А.Э., Останин А.А., Черных Е.Р. Влияние дексаметазона на интерферон- α -индуцированную дифференцировку моноцитов в дендритные клетки // Медицинская иммунология, 2016. Т. 18, № 4. С. 347-356. [Kurochkina Yu.D., Lepkina O.Yu., Tikhonova M.A., Tyrinova T.V., Batorov E.V., Sizikov A.E., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Effect of dexamethasone on interferon- α -induced differentiation of monocytes to dendritic cells. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2016, Vol. 18, no. 4, pp. 347-356. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2016-4-347-356.
2. Тыринова Т.В., Леплина О.Ю., Тихонова М.А., Сахно Л.В., Останин А.А., Черных Е.Р. Характеристика сигнальных путей, опосредующих цитотоксический эффект дендритных клеток против активированных Т-лимфоцитов и НК-клеток // Медицинская иммунология, 2012. Т. 14, № 1-2. С. 43-50. [Tyrinova T.V., Lepkina O.Yu., Tikhonova M.A., Sakhno L.V., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Characteristics of signaling pathways mediating a cytotoxic effect of dendritic cells upon activated T lymphocytes and NK cells. *Meditsinskaya immunologiya = Medical Immunology (Russia)*, 2012, Vol. 14, no. 1-2, pp. 43-50. (In Russ.)] doi: 10.15789/1563-0625-2012-1-2-43-50.
3. AmelKashipaz M.R., Huggins M.L., Powell R.J., Todd I. Human autologous mixed lymphocyte reaction as an *in vitro* model for autoreactivity to apoptotic antigens. *Immunology*, 2002, Vol. 107, no. 3, pp. 358-365.
4. Bosma B.M., Metselaar H.J., Nagtzaam N.M., de Haan R., Mancham S., van der Laan L.J., Kuipers E.J., Kwekkeboom J. Dexamethasone transforms lipopolysaccharide-stimulated human blood myeloid dendritic cells into myeloid dendritic cells that prime interleukin-10 production in T cells. *Immunology*, 2008, Vol. 125, no. 1, pp. 91-100.
5. Calmette J., Ellouze M., Tran T., Karaki S., Ronin E., Capel F., Pallardy M., Bachelier F., Krzysiek R., Emilie D., Schlecht-Louf G., Godot V. Glucocorticoid-induced leucine zipper enhanced expression in dendritic cells is sufficient to drive regulatory T cells expansion *in vivo*. *J. Immunol.*, 2014, Vol. 193, no. 12, pp. 5863-5872.

6. Castaneda-Delgado J.E., Bastian-Hernandez Y., Macias-Segura N., Santiago-Algarra D., Castillo-Ortiz J.D., Aleman-Navarro A.L., Martinez-Tejada P., Enciso-Moreno L., Garcia-De Lira Y., Olguin-Calderon D., Trouw L.A., Ramos-Remus C., Enciso-Moreno J.A. Type I interferon gene response is increased in early and established rheumatoid arthritis and correlates with autoantibody production. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, 285. doi: 10.3389/fimmu.2017.00285.
7. Chamorro S., García-Vallejo J.J., Unger W.W., Fernandes R.J., Bruijns S.C., Laban S., Roep B.O., Hart B.A., van Kooyk Y. TLR triggering on tolerogenic dendritic cells results in TLR2 up-regulation and a reduced proinflammatory immune program. *J. Immunol.*, 2009, Vol. 183, no. 5, pp. 2984-2994.
8. Choy E.H., Kavanaugh A.F., Jones S.A. The problem of choice: current biologic agents and future prospects in RA. *Nat. Rev. Rheumatol.*, 2013, Vol. 9, no. 3, pp. 154-163.
9. Dai S., Jia R., Zhang X., Fang Q., Huang L. The PD-1/PD-Ls pathway and autoimmune diseases. *Cell. Immunol.*, 2014, Vol. 290, no. 1, pp. 72-79.
10. Domogalla M.P., Rostan P.V., Raker V.K., Steinbrink K. Tolerance through education: how tolerogenic dendritic cells shape immunity. *Front. Immunol.*, 2017, Vol. 8, 1764. doi: 10.3389/fimmu.2017.01764.
11. Garcia-Gonzalez P.A., Schinnerling K., Sepulveda-Gutierrez A., Maggi J., Hoyos L., Morales R.A., Mehdi A.M., Nel H.J., Soto L., Pesce B., Molina M.C., Cuchacovich M., Larrondo M.L., Neira O., Catalan D.F., Hilkens C.M., Thomas R., Verdugo R.A., Aguillon J.C. Treatment with dexamethasone and monophosphoryl lipid A removes disease-associated transcriptional signatures in monocyte-derived dendritic cells from rheumatoid arthritis patients and confers tolerogenic features. *Front. Immunol.*, 2016, Vol. 7, 458. doi: 10.3389/fimmu.2016.00458.
12. Ge Q., Palliser D., Eisen H.N., Chen J. Homeostatic T cell proliferation in a T cell-dendritic cell coculture system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, Vol. 99, no. 5, pp. 2983-2988.
13. Gessani S., Conti L., Del Cornò M., Belardelli F. Type I interferons as regulators of human antigen presenting cell functions. *Toxins (Basel)*, 2014, Vol. 6, no. 6, pp. 1696-1723.
14. Guo Q., Wang Y., Xu D., Nossent J., Pavlos N.J., Xu J. Rheumatoid arthritis: pathological mechanisms and modern pharmacologic therapies. *Bone Res.*, 2018, Vol. 6, p. 15.
15. Harry R.A., Anderson A.E., Isaacs J.D., Hilkens C.M. Generation and characterization of therapeutic tolerogenic dendritic cells for rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2010, Vol. 69, no. 11, pp. 2042-2050.
16. Hilkens C.M., Isaacs J.D. Tolerogenic dendritic cell therapy for rheumatoid arthritis: where are we now? *Clin. Exp. Immunol.*, 2013, Vol. 172, no. 2, pp. 148-157.
17. Kimura S., Fujimoto N., Okada H. Impaired autologous mixed-lymphocyte reaction of peripheral blood lymphocytes in adult periodontitis. *Infect. Immun.*, 1991, Vol. 59, no. 12, pp. 4418-4424.
18. Kondo T., Cortese I., Markovic-Plese S., Wandinger K.P., Carter C., Brown M., Leitman S., Martin R. Dendritic cells signal T cells in the absence of exogenous antigen. *Nat. Immunol.*, 2001, Vol. 2, no. 10, pp. 932-938.
19. Leplina O.Y., Tyrinova T.V., Tikhonova M.A., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Interferon alpha induces generation of semi-mature dendritic cells with high pro-inflammatory and cytotoxic potential. *Cytokine*, 2015, Vol. 71, no. 1, pp. 1-7.
20. Manoharan I., Hong Y., Suryawanshi A., Angus-Hill M.L., Sun Z., Mellor A.L., Munn D.H., Manicassamy S. TLR2-dependent activation of β -catenin pathway in dendritic cells induces regulatory responses and attenuates autoimmune inflammation. *J. Immunol.*, 2014, Vol. 193, no. 8, pp. 4203-4213.
21. Naranjo-Gómez M., Raich-Regue D., Onate C., Grau-Lopez L., Ramo-Tello C., Pujol-Borrell R., Martinez-Caceres E., Borrás F.E.. Comparative study of clinical grade human tolerogenic dendritic cells. *J. Transl. Med.*, 2011, Vol. 9, p. 89.
22. Netea M.G., Suttmuller R., Hermann C., van der Graaf C.A., van der Meer J.W., van Krieken J.H., Hartung T., Adema G., Kullberg B.J. Toll-like receptor 2 suppresses immunity against *Candida albicans* through induction of IL-10 and regulatory T cells. *J. Immunol.*, 2004, Vol. 172, no. 6, pp. 3712-3718.
23. Osorio F., Fuentes C., Lypez M.N., Salazar-Onfray F., Gonzalez F.E. Role of dendritic cells in the induction of lymphocyte tolerance. *Front. Immunol.*, 2015, Vol. 6, 535. doi: 10.3389/fimmu.2015.00535.
24. Piemonti L., Monti P., Allavena P., Sironi M., Soldini L., Leone B.E., Succi C., di Carlo V. Glucocorticoids affect human dendritic cell differentiation and maturation. *J. Immunol.*, 1999, Vol. 162, no. 11, pp. 6473-6481.
25. Romain P.L., Schlossman S.F., Reinherz E.L. Surface molecules involved in self-recognition and T cell activation in the autologous mixed lymphocyte reaction. *J. Immunol.*, 1984, Vol. 133, no. 3, pp. 1093-1100.
26. Sakhno L.V., Tikhonova M.A., Tyrinova T.V., Leplina O.Yu., Shevela E.Ya., Nikonov S.D., Zhdanov O.A., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Cytotoxic activity of dendritic cells as a possible mechanism of negative regulation of T lymphocytes in pulmonary tuberculosis. *Clin. Dev. Immunol.*, 2012, Vol. 2012, 628635. doi: 10.1155/2012/628635.
27. Selim A., Yong-Soo B. Dendritic cell-based immunotherapy for rheumatoid arthritis: from bench to bedside. *Immune Network*, 2016, Vol. 16, no. 1, pp. 44-51.
28. Stoop J.N., Robinson J.H., Hilkens C.M. Developing tolerogenic dendritic cell therapy for rheumatoid arthritis: what can we learn from mouse models? *Ann. Rheum. Dis.*, 2011, Vol. 70, no. 9, pp. 1526-1533.
29. Surh C.D., Sprent J.. Homeostatic T cell proliferation: how far can T cells be activated to self-ligands? *J. Exp. Med.*, 2000, Vol. 192, no. 4, pp. 9-14.

30. Unger W.W., Laban S., Kleijwegt F.S., van der Slik A.R., Roep B.O. Induction of Treg by monocyte-derived DC modulated by vitamin D3 or dexamethasone: differential role for PD-L1. *Eur. J. Immunol.*, 2009, Vol. 39, no. 11, pp. 3147-3159.
31. Vakkila J., Hurme M. Both dendritic cells and monocytes induce autologous and allogeneic T cells receptive to interleukin 2. *Scand. J. Immunol.*, 1990, Vol. 31, no. 1, pp. 75-83.
32. van Duivenvoorde L.M., Han W.G.H., Bakker A.M., Louis-Pence P., Charbonnier L.-M., Apparailly F., van der Voort E.I.H., Jorgensen C., Huizinga T.W.J., Toes R.E.M. Immunomodulatory dendritic cells inhibit Th1 responses and arthritis via different mechanisms. *J. Immunol.*, 2007, Vol. 179, no. 3, pp. 1506-1515.
33. Wagner U., Pierer M., Wahle M., Moritz F., Kaltenhäuser S., Häntzschel H. *Ex vivo* homeostatic proliferation of CD4⁺ T cells in rheumatoid arthritis is dysregulated and driven by membrane-anchored TNF-alpha. *J. Immunol.*, 2004, Vol. 173, no. 4, pp. 2825-2833.
34. Wampler M.T., Vashisht P., Dorschner J.M., Jensen M.A., Chrabot B.S., Kern M., Curtis J.R., Danila M.I., Cofield S.S., Shadick N., Nigrovic P.A., St Clair E.W., Bingham C.O., Furie R., Robinson W., Genovese M.O., Striebich C.C., O'Dell J.R., Thiele G.M., Moreland L.W., Levesque M., Bridges S.L. Jr, Gregersen P.K., Niewold T.B. Increased pretreatment serum IFN- β/α ratio predicts non-response to tumor necrosis factor α inhibition in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 2016, Vol. 75, no. 10, pp. 1757-1762.
35. Woltman A.M., van der Kooij S.W., de Fijter J.W., van Kooten C. Maturation-resistant dendritic cells induce hyporesponsiveness in alloreactive CD45RA⁺ and CD45RO⁺ T-cell populations. *Am. J. Transplant.*, 2006, Vol. 6, no. 11, pp. 2580-2591.
36. Xia C.Q., Peng R., Beato F., Clare-Salzler M.J. Dexamethasone induces IL-10-producing monocyte-derived dendritic cells with durable immaturity. *Scand. J. Immunol.*, 2005, Vol. 62, no. 1, pp. 45-54.

Авторы:

Курочкина Ю.Д. — аспирант лаборатории клеточной иммуноterapiи, врач-ревматолог клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

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

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

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

Сизиков А.Э. — к.м.н., заведующий отделением ревматологии клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Authors:

Kurochkina Yu.D., Postgraduate Student, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Rheumatologist, Clinic of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Tyrinova T.V., PhD (Medicine), Research Associate, 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

Sizikov A.E., PhD (Medicine), Head, Rheumatology Department, Clinic of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Сулутьян А.Э. — к.м.н., врач-ревматолог отделения ревматологии клиники иммунопатологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Россия

Чумасова О.А. — к.м.н., врач-ревматолог отделения ревматологии клиники иммунопатологии 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

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

Sulutian A.E., PhD (Medicine), Rheumatologist, Rheumatology Department, Clinic of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

Chumasova O.A., PhD (Medicine), Rheumatologist, Rheumatology Department, Clinic of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russian Federation

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

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

Поступила 17.10.2019
Принята к печати 19.10.2019

Received 17.10.2019
Accepted 19.10.2019