

Для цитирования: Тыринова Т.В., Баторов Е.В., Аристова Т.А., Ушакова Г.Ю., Сизикова С.А., Денисова В.В., Останин А.А., Черных Е.Р. Супрессорные клетки миелоидного происхождения у больных множественной миеломой на этапе иммунной реконституции и после высокодозной химиотерапии и трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(6): 47–58. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-47-58

For citation: Tyrinova T. V., Batorov E. V., Aristova T. A., Ushakova G. Yu., Sizikova S. A., Denisova V. V., Ostanin A. A., Chernykh E. R. Myeloid-derived suppressor cells in multiple myeloma patients at the immune recovery and after high-dose chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(6): 47–58. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-6-47-58

СУПРЕССОРНЫЕ КЛЕТКИ МИЕЛОИДНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ НА ЭТАПЕ ИММУННОЙ РЕКОНСТИТУЦИИ И ПОСЛЕ ВЫСОКОДОЗНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ И ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Т.В. Тыринова, Е.В. Баторов, Т.А. Аристова, Г.Ю. Ушакова, С.А. Сизикова, В.В. Денисова, А.А. Останин, Е.Р. Черных

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

Россия, 630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14. E-mail: tyrinova@bk.ru

Аннотация

Введение. Супрессорные клетки миелоидного происхождения (МС) играют важную роль в ограничении иммунного ответа и ассоциируются с неблагоприятным прогнозом при онкопатологии. Мобилизация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) при проведении высокодозной химиотерапии (ВХТ) и трансплантации аутологичных ГСК (ауто-ТГСК) у больных множественной миеломой (ММ) сопровождается существенным возрастанием субпопуляций МС в периферической крови и продукте афереза. Однако изменение содержания этих клеток в посттрансплантационном периоде и их роль на этапе иммунной реконституции остаются неисследованными. **Цель исследования** – изучить динамику содержания циркулирующих МС, экспрессию супрессорной молекулы аргиназа-1 (Arg1) у пациентов с ММ в первые 12 мес после ВХТ и ауто-ТГСК и зависимость между содержанием МС и исходами трансплантации. **Материал и методы.** В исследование включены 44 пациента с ММ, которым проведена ВХТ с ауто-ТГСК. Методом проточной цитометрии в периферической крови пациентов оценивали относительное содержание гранулоцитарных МС (Г-МС), моноцитарных МС (М-МС) и МС ранних стадий дифференцировки (Р-МС), а также экспрессию Arg1 в каждой из субпопуляций МС. **Результаты.** На момент выхода из лейкопении после ауто-ТГСК (день +12 – +16, лейкоциты $>1 \times 10^9/\text{л}$) возрастала доля М-МС ($p_{\text{J}}=0,038$), а также относительное ($p_{\text{J}}=0,003$) и абсолютное ($p_{\text{J}}<0,0001$) количество Г-МС, снижаясь через 6 мес до предтрансплантационных значений ($p_{\text{J}}=0,007$, $p_{\text{J}}=0,024$ и $p_{\text{J}}=0,02$ соответственно) и сохраняясь на этом же уровне на этапе 12-месячного срока наблюдения. Абсолютное количество Р-МС к моменту выхода из лейкопении транзитивно снижалось ($p_{\text{J}}=0,004$ vs перед ВХТ), постепенно восстанавливаясь к 12 мес ($p_{\text{J}}=0,032$ vs день +12 – +16). Сохранение ремиссии в течение 12 мес при Г-МС $<0,17$ % на момент выхода из лейкопении выявлялось у 67 ± 11 %, при Г-МС $>0,17$ % – у 94 ± 6 % пациентов ($p=0,049$). В течение 12-месячного посттрансплантационного периода увеличивалось содержание М-МС, экспрессирующих Arg1, с тенденцией к более низким значениям на этапе выхода из лейкопении у пациентов с ранним рецидивом ММ ($p_{\text{J}}=0,09$). **Заключение.** Сопряженность раннего рецидива ММ после ауто-ТГСК с более низким содержанием Г-МС и меньшим количеством Arg1 $^{+}$ М-МС на этапе выхода из лейкопении позволяет предполагать участие МС в ограничении гомеостатической пролиферации в качестве условия более эффективной иммунной реконституции.

Ключевые слова: множественная миелома, трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток, выживаемость до развития рецидива, супрессорные клетки миелоидного происхождения, супрессорные молекулы, аргиназа-1, Г-КСФ.

MYELOID-DERIVED SUPPRESSOR CELLS IN MULTIPLE MYELOMA PATIENTS AT THE IMMUNE RECOVERY AND AFTER HIGH-DOSE CHEMOTHERAPY AND HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

T.V. Tyrinova, E.V. Batorov, T.A. Aristova, G.Yu. Ushakova, S.A. Sizikova, V.V. Denisova, A.A. Ostanin, E.R. Chernykh

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia
14, Yadrinsevskaya St., 630099, Novosibirsk, Russia. E-mail: tyrinova@bk.ru

Abstract

Introduction. Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) play an important role in restriction of the immune response and are associated with a poor prognosis in cancer. Mobilization of hematopoietic stem cells (HSCs) before high-dose chemotherapy (HCT) with autologous HSC transplantation (auto-HSCT) is accompanied by a significant increase in MDSC counts in peripheral blood and apheresis product of multiple myeloma (MM) patients. However, quantitative changes of these cells at the post-transplant and their role at the immune recovery remain unexplored. **The study was aimed to** analyze the dynamics of circulating MDSC counts and the expression of suppressor molecule arginase-1 in patients with MM in the first 12 months after HCT and auto-HSCT and evaluate association between MDSCs and transplantation outcomes. **Material and Methods.** The study included 44 MM patients who underwent HCT and auto-HSCT. The relative number of granulocytic MDSCs (G-MDSCs), monocytic MDSCs (M-MDSCs), and early-stage MDSCs (E-MDSCs), as well as the expression of arginase-1 in each of MDSC subsets was evaluated by flow cytometry in patient peripheral blood samples. **Results.** At the engraftment (day +12 – +16, leukocytes $>1 \times 10^9/l$), M-MDSC relative count was increased ($p_U=0.038$), as well as the relative ($p_U=0.003$) and absolute ($p_U<0.0001$) counts of G-MDSCs, decreasing after 6 months down to pre-transplant values ($p_U=0.007$, $p_U=0.024$ and $p_U=0.02$, respectively) and remaining at the same level at the 12-month follow-up period. The absolute count of E-MDSCs by the time of the engraftment decreased transiently ($p_U=0.004$ vs before HCT), gradually recovering by 12-month follow-up ($p_U=0.032$ vs day +12 – +16). The remission within 12 months in the group with G-MDSCs $<0.17\%$ at the engraftment was observed in $67 \pm 11\%$ of patients, with G-MDSCs $>0.17\%$ – in $94 \pm 6\%$ of patients ($p=0.049$). During the 12-month post-transplant, the number of M-MDSCs expressing arginase-1 has been increasing, with a tendency to lower values at the engraftment in patients with early MM relapse ($p_U=0.09$). **Conclusion.** The association of early MM relapse after auto-HSCT with the lower count of G-MDSCs and the lower count of arginase-1⁺ M-MDSCs at the engraftment suggests that MDSCs is involved in the restriction of homeostatic proliferation as a factor for more effective immune recovery.

Key words: multiple myeloma, autologous hematopoietic stem cell transplantation, time to disease progression, myeloid-derived suppressor cells, suppressor molecules, arginase-1; G-CSF.

Введение

Множественная миелома (ММ) представляет собой В-клеточную опухоль с экспансией моноклональных плазматических клеток в костном мозге и аккумуляцией дисфункциональных моноклональных иммуноглобулинов в периферической крови. ММ составляет примерно 1 % всех опухолей и, несмотря на достижения в клинической онкологии, остается одной из инкурабельных злокачественных опухолей [1].

Развитие и рост опухоли связаны с различными механизмами, которые позволяют клеткам ММ ускользать от иммунного надзора и создают оптимальные условия для опухолевой прогрессии [2]. Исследования последних лет демонстрируют, что важную роль в подавлении системного и локального противоопухолевого иммунного ответа играют супрессорные клетки миелоидного происхождения (МС), представляющие собой

гетерогенную популяцию незрелых клеток. У человека описаны 3 основные субпопуляции МС: 1) моноцитарные МС (М-МС), клетки с фенотипом и морфологией, схожей с моноцитами, но отличающиеся низкой экспрессией молекулы МНС II класса ($CD14^+HLA-DR^{low/-}$) [3]; 2) гранулоцитарные, или полиморфноядерные МС (Г-МС), фенотипически схожие с нейтрофилами ($CD11b^+CD33^+CD14^-CD15^+(CD66b^+)HLA-DR^{low/-}$), но характеризующиеся низкой плотностью и выраженной супрессорной активностью в отношении Т-клеток и 3) МС ранних этапов дифференцировки (Р-МС) с фенотипом $Lin^-(CD3, CD14, CD15, CD19, CD56)HLA-DR^-CD33^+$, функциональные особенности которых пока мало изучены [4].

За счет отличного от зрелых миелоидных клеток профиля экспрессии генов и белков МС проявляют ингибирующее действие в отношении

клеток врожденного и приобретенного иммунитета *in vitro* и *in vivo* с наиболее выраженной супрессорной активностью в отношении Т-клеток [5]. Ингибирующий эффект МС обусловлен деплецией в клеточном микроокружении L-аргинаина и L-триптофана (вследствие экспрессии аргиназы-1 (Arg1) и индоламин-2,3-диоксигеназы (IDO) соответственно), генерацией свободных радикалов кислорода, секрецией TGF- β и IL-10 и индукцией регуляторных Т-клеток (Treg) [6, 7]. При этом каждая из субпопуляций МС может использовать различные механизмы ингибирования Т-клеточного ответа [5].

Согласно недавним исследованиям, МС вовлечены в патогенез и прогрессию ММ [8–10]. Так, Г-МС поддерживают стволовые свойства опухолевых клеток ММ и способствуют росту опухоли в экспериментальных моделях *in vitro* и *in vivo* [11]. Проведенные нами исследования у пациентов с ММ также свидетельствуют о повышенном содержании в циркуляции Г-МС и М-МС и сопряженности Г-МС с предлеченностью пациентов [12]. Кроме того, нами показано, что Г-КСФ-индуцированная мобилизация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) у больных ММ, получающих высокодозную химиотерапию (ВХТ) с трансплантацией аутологичных ГСК (ауто-ТГСК), приводит к резкому возрастанию всех субпопуляций МС в периферической крови и, соответственно, увеличению их доли в продукте лейкофереза. Каковы динамика содержания МС и их роль на этапах восстановления кроветворения и реконституции иммунной системы у больных МС, остается неясным. С одной стороны, МС могут снижать эффективность иммунной реконституции. С другой стороны, следует учитывать, что восстановление Т-клеток в условиях глубокой лимфопении происходит за счет гомеостатической пролиферации Т-лимфоцитов, что неизбежно приводит к сужению репертуаров Т-клеточных рецепторов и риску рецидива. Соответственно, ограничение цитокин-индуцированной экспансии трансплантируемых зрелых Т-клеток под действием МС может позитивно сказываться на исходах ТГСК. Также открытым остается вопрос о функциональном потенциале МС на фоне патологии и проводимого лечения.

Целью исследования явились изучение динамики содержания циркулирующих МС, оценка супрессорного потенциала МС (на основе анализа экспрессии молекулы Arg1) у пациентов с ММ в первый год после проведения ВХТ и ауто-ТГСК, а также оценка зависимости между содержанием МС и исходами трансплантации в первые 12 мес.

Материал и методы

В исследование включены 44 пациента с ММ в возрасте от 47 до 59 лет (Me – 54 года), из них 26 женщин и 18 мужчин, которым в период с августа 2020 г. по март 2022 г. проведена ВХТ с ауто-ТГСК

(табл. 1). У 16 пациентов была диагностирована II стадия ММ, у 28 пациентов – III стадия ММ (классификация Durie–Salmon). У большей части пациентов (21/44) парапротеин в сыворотке крови был представлен иммуноглобулином класса G к вариант, у 7 пациентов – IgG λ вариант, у 4 пациентов – IgA к вариант и у 2 пациентов – IgA λ вариант, у 5 пациентов – легкие цепи иммуноглобулинов обнаруживались в моче в виде белка Бенс–Джонса, у 5 пациентов данные отсутствовали. Все исследования проводились после получения письменного информированного добровольного согласия.

Для оценки количественного содержания МС мононуклеарные клетки (МНК) из периферической крови (8–10 мл) выделяли стандартно методом центрифугирования цельной гепаринизированной венозной крови в градиенте плотности фиколла-верографина ($\rho=1,077$). При необходимости проводили лизис эритроцитов раствором VersaLyse («Beckman Coulter», Франция) в соответствии с инструкцией.

Методом проточной цитометрии в МНК оценивали относительное содержание Г-МС (Lin⁻HLA-DR⁻CD33⁺CD66b⁺), М-МС (CD14⁺HLA-DR^{low/-}) и Р-МС (Lin⁻HLA-DR⁻CD33⁺CD66b⁻), используя анти-Lineage Cocktail 1 (CD3, CD14, CD16, CD19, CD20, CD56; FITC, «BD Biosciences», США), анти-CD14 (FITC, «BD Biosciences»), анти-CD33 (PerCP-Cy5.5, «BD Biosciences»), анти-CD66b (APC, «BioLegend», США), анти-HLA-DR (APC-Cy7, «BD Biosciences»; PerCP «BD Biosciences») моноклональные антитела. В качестве негативного контроля использовали изотипические антитела, конъюгированные с аналогичными флуорохромами. Исследование проводили на проточном цитометре BD FACSCanto™ II («BD Biosciences») с использованием параметров прямого и бокового светорассеяния, при этом в область гейтирования включали регион синглетных МНК (лимфоциты и моноциты). На рис. 1 представлен порядок гейтирования для анализа МС. Кратко, для оценки количества Г-МС и Р-МС выделяли синглетные клетки среди всех МНК (R1) по прямому светорассеянию (FSC-H и FSC-A), в котором исследовали популяцию клеток, не несущих линейные маркеры и молекулу МНС II класса HLA-DR. Затем в области Lin⁻HLA-DR⁻ клеток оценивали распределение клеток по экспрессии CD33 и CD66b молекул. Регион CD33⁺CD66b⁺ клеток относили к Г-МС, регион CD33⁺CD66b⁻ клеток – к Р-МС. Относительное содержание Г-МС и Р-МС вычислялось как доля (%) клеток с фенотипом Lin⁻HLA-DR⁻CD33⁺CD66b⁺ и Lin⁻HLA-DR⁻CD33⁺CD66b⁻, соответственно, среди МНК. Для оценки количества М-МС из региона синглетных МНК (R1) анализировали распределение CD14 и HLA-DR молекул и клетки с фенотипом CD14⁺HLA-DR^{low/-} относили к М-МС. Анализ проводили после накопления не менее 10 000 событий в регионе Lin⁻HLA-DR⁻ клеток,

**Характеристика пациентов
Patient characteristics**

Параметры/Characteristics	Число больных/ Number of patients (n=44)
Пол/Gender	
Муж/Male	18 (41 %)
Жен/Female	26 (59 %)
Возраст, лет/Age, years; Me (min-max)	54 (47–59)
М-протеин/M-protein	
IgG, kappa	21 (48 %)
IgG, lambda	7 (16 %)
IgA, kappa	4 (9 %)
IgA, lambda	2 (5 %)
Белок Бенс-Джонса/Bence-Jones protein	5 (11 %)
Нет данных/no data	5 (11 %)
Стадии MM/Stage MM (B. Durie, S. Salmon)	
II	16 (36 %)
III	28 (64 %)
Почечная функция/Renal function	
Нормальная (группа A)/Normal (A group)	40 (91 %)
Сниженная (группа B)/Low (B group)	4 (9 %)
Индукционная противоопухолевая терапия/Pre-transplant induction therapy	
1-я линия (Бортезомиб-содержащий режим, PAD, VCD)/ 1 st line (Bortezomib-based, PAD, VCD)	32 (73 %)
2-я линия терапии (Леналидомид-содержащий режим, VRD, RD, RCD, монотерапия)/ 2 lines (Lenalidomide-based, VRD, RD, RCD, monotherapy)	12 (27 %)
Ответ на индукционную терапию/Response to induction therapy	
ПО/ОХЧО CR/VGPR	18 (41 %)
ЧО/PR	26 (59 %)
Режим кондиционирования/Melphalan conditioning	
Мелфалан/Melphalan, 200 mg/m ²	40 (91 %)
Мелфалан/Melphalan, 140 mg/m ²	4 (9 %)

Примечание: ПО – полный ответ, ОХЧО – очень хороший частичный ответ, ЧО – частичный ответ.

Note: CR – complete response. VGPR – very good partial response. PR – partial response.

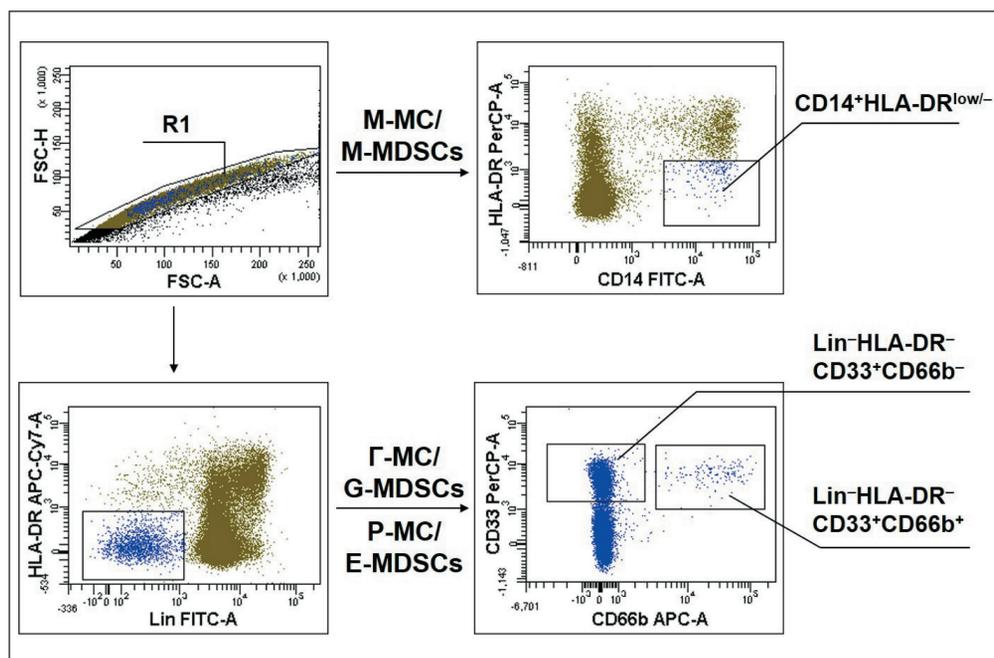


Рис. 1. Стратегия гейтирования субпуляющей MC среди МНК периферической крови. Представлены данные репрезентативного пациента с множественной миеломой
Fig. 1. Gating strategy for the identification of MDSC subsets among the peripheral blood mononuclear cells. Data from a representative multiple myeloma patient are presented

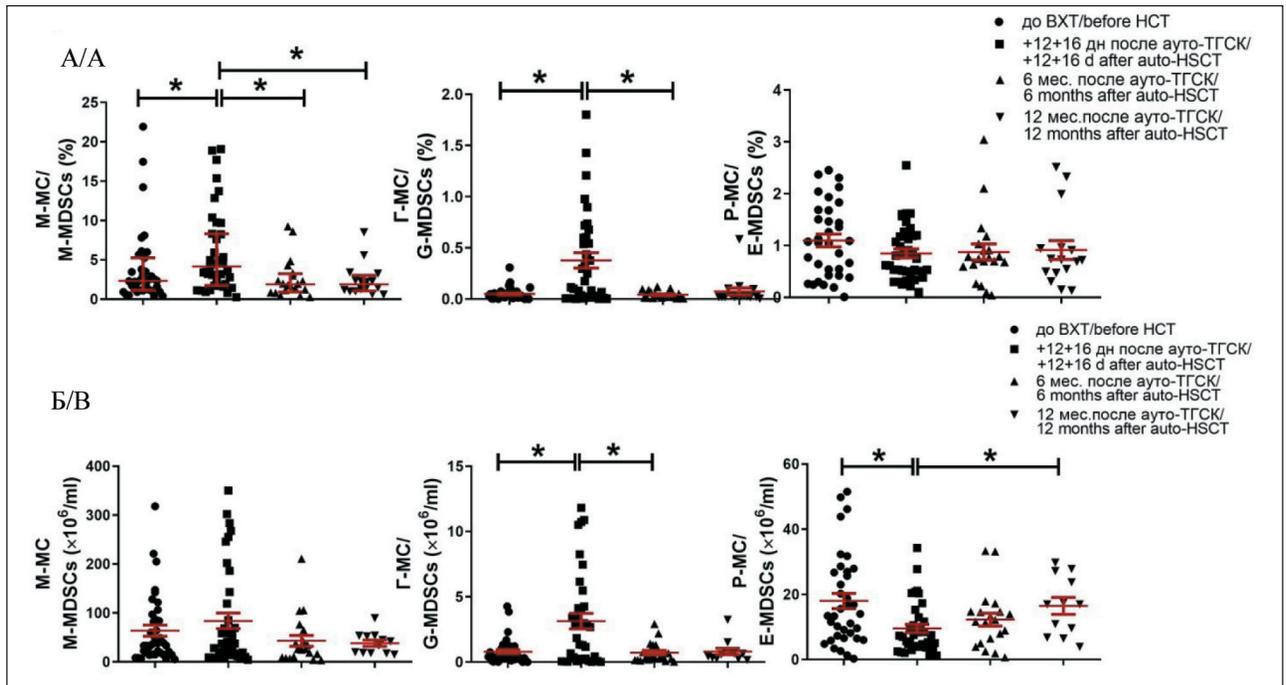


Рис. 2. Миелоидные супрессорные клетки в периферической крови пациентов с множественной миеломой с ауто-ТГСК. В виде индивидуальных значений, медианы и диапазона интерквартильных значений (IQR) представлены данные об относительном (А) и абсолютном количестве (Б) моноцитарных (М-МС), гранулоцитарных (Г-МС) и МС ранних стадий дифференцировки (Р-МС) среди МНК периферической крови пациентов с ММ перед проведением ВХТ и ауто-ТГСК (до ВХТ, n=44), на этапе выхода из лейкопении (+12 +16 день после ауто-ТГСК, n=44), а также через 6 (n=21) и 12 мес (n=17) после ауто-ТГСК. Примечание: * – p_v, значимость различий между указанными группами. Ось X – точки наблюдения; ось Y – % клеток для А и количество клеток ×10⁶/мл для Б

Fig. 2. Myeloid derived suppressor cells in peripheral blood of multiple myeloma patients with auto-HSCT. Relative (A) and absolute (B) counts of monocytic (M-MDSCs), granulocytic (G-MDSCs) and early-stage MDSCs (E-MDSCs) in patient peripheral blood samples are shown as individual values, median and interquartile range (IQR) before HCT and auto-HSCT (before HCT, n=44), at the engraftment (+12 +16 d after auto-HSCT, n=44), after 6 (n=21) and 12 months (n=17) following auto-HSCT. Note: * – p_v value < 0.05. X axis – points of the study, Y axis – cell percentage (%), (A) and cell count ×10⁶/ml (B)

или – при оценке М-МС – не менее 10 000 событий в регионе CD14⁺ HLA-DR^{low/-} клеток.

Для оценки внутриклеточной экспрессии Arg1 после инкубирования МНК с флуорохром-конъюгированными моноклональными антителами к Г-МС, Р-МС, М-МС проводили процедуру пермеабилзации клеток, используя коммерческий набор растворов для фиксации/пермеабилзации Transcription Factor Buffer Set (Becton Dickinson, США) с последующим инкубированием с PE-конъюгированными анти-Arg1 (BD PharMingen, США) моноклональными антителами. Относительное количество МС, экспрессирующих Arg1, оценивали среди Lin⁻HLA-DR⁻CD33⁺CD66b⁺, Lin⁻HLA-DR⁻CD33⁺CD66b⁻ клеток и CD14⁺HLA-DR^{low/-} клеток.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft) и GraphPad Prism 8. Данные в тексте и на рисунках представлены в виде медианы (Me) и значений интерквартильного диапазона (IQR; LQ – UQ). Для выявления значимых различий использовали непараметрические критерии (U-критерий Манна–Уитни). Анализ выживаемости проведен по методу Каплана–Мейера, для оценки значимости использован log-

rank-критерий. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости p < 0,05.

Результаты

На момент ауто-ТГСК пациенты имели статус ECOG 0–1, из них 4 пациента характеризовались нарушением функции почек, ХБП С3 (умеренное снижение скорости клубочковой фильтрации). На момент трансплантации ГСК полный или очень хороший частичный ответ достигнут у 18, частичный ответ – у 26 больных. Время от начала терапии до трансплантации в среднем составило 12,5 мес, при этом у 2 пациентов ауто-ТГСК была проведена в срок до 6 мес от начала терапии, у 29 пациентов – в период от 6 до 12 мес, у 13 пациентов от начала лечения до трансплантации прошло от 12 до 18 мес.

Количество линий предшествующей противоопухолевой терапии до достижения ответа варьировало от 1 до 2. До этапа трансплантации у 32 пациентов ответ достигнут после 1-й линии терапии, у 12 – после 2-й линии. Первую линию индукции ремиссии проводили бортезомиб-содержащими режимами (PAD, VCD, VD). При рецидиве или резистентности к программам 1-й

линии в качестве терапии 2-й линии использовали программы с леналидомидом (VRD, RD, RCD, монотерапия леналидомидом). Мобилизацию ГСК проводили с использованием циклофосфамида $2-4 \text{ г/м}^2 + \text{Г-КСФ}$ (5 мкг/кг/сут , 4–6 дней). Процедуру афереза проводили на 4, 5, 6-й дни введения Г-КСФ на сепараторах клеток крови ASTEC 204 (Fresenius) и Spectra LRS 07 (COBE) до получения $\geq 2,0 \times 10^6 \text{ CD34}^+ \text{CD45}^+$ клеток/кг (1–3 сеанса). Медиана количества $\text{CD34}^+ \text{CD45}^+$ гемопоэтических стволовых клеток составляла $7,3 \times 10^6/\text{кг}$ ($(2,3-12,3) \times 10^6/\text{кг}$). Ауто-ТГСК проводили с режимом кондиционирования мелфалан 200 мг/м^2 у 40 пациентов и 140 мг/м^2 – у 4 пациентов с нарушением функции почек. Восстановление кроветворения (лейкоциты в ПК выше $1 \times 10^9/\text{л}$, тромбоциты выше $50 \times 10^9/\text{л}$) происходило на день (+12 – +16) после трансплантации ГСК. Продолжительность нейтропении (нейтрофилы $< 0,5 \times 10^9/\text{л}$) составила от 6 до 12 дней.

Исследование относительного и абсолютного содержания субпопуляций МС (гранулоцитарных, моноцитарных и ранних предшественников) в периферической крови больных ММ было проведено на следующих контрольных точках: 1) перед проведением высокодозной химиотерапии и ауто-ТГСК; 2) на этапе выхода из лейкопении (в дни +12 – +16 после трансплантации при количестве лейкоцитов в ПК более $1 \times 10^9/\text{л}$); 3) через 6 мес после трансплантации ГСК и 4) через 12 мес после трансплантации ГСК. В первые 12 мес посттрансплантационного периода у 8 из 44 пациентов зарегистрирован рецидив ММ по критериям IMWG (International Myeloma Working Group), у 29 – сохранялся полный или частичный ответ, 5 – еще не достигли контрольной точки, 2 больных были недоступны для наблюдения по техническим причинам. Исследование содержания субпопуляций МС на каждой контрольной точке проводили в случае отсутствия рецидива ММ.

После проведения ауто-ТГСК к моменту восстановления количества лейкоцитов значимо возрастало относительное количество циркулирующих М-МС ($p_U=0,038$) и Г-МС ($p_U=0,003$) (рис. 2А). Несмотря на сниженное количество МНК после ВХТ и последующей ауто-ТГСК (по сравнению с предтрансплантационным периодом $p_U < 0,0001$), абсолютное количество Г-МС также существенно повышалось ($p_U=0,005$). Взаимосвязи между содержанием М-МС в продукте сепарации и в периферической крови после трансплантации не обнаружено. Другие субпопуляции МС в сепарате не определяли в связи с негативным влиянием криоконсервации на жизнеспособность и функциональные свойства Г-МС и Р-МС [13].

Через 6 мес после ауто-ТГСК доля циркулирующих М-МС и Г-МС значимо снижалась ($p_U=0,007$ и $p_U=0,024$ соответственно) до предтрансплантационных значений и сохранялась на этом же

уровне на этапе 12-месячного наблюдения после ауто-ТГСК. При этом относительное количество М-МС через 12 мес после ауто-ТГСК прямо коррелировало с количеством М-МС в продукте сепарата ($R_S=0,874$, $p=0,0005$, $n=8$).

Для абсолютного содержания М-МС и Г-МС регистрировались аналогичные изменения в посттрансплантационном периоде (рис. 2Б), однако значимые изменения были выявлены только для Г-МС. Через 6 мес после трансплантации у пациентов на фоне восстановления абсолютного количества МНК абсолютное количество Г-МС снижалось ($p_U=0,02$) и в последующие 6 мес оставалось без значимых изменений.

Относительное и абсолютное количество Р-МС на момент восстановления количества лейкоцитов после ВХТ и ауто-ТГСК, наоборот, было снижено по сравнению с аналогичными показателями перед ВХТ и трансплантацией ГСК, причем статистически значимо для абсолютных значений ($p_U=0,004$). При этом доля циркулирующих Р-МС среди МНК оставалась на том же уровне в течение всего 12-месячного посттрансплантационного периода, тогда как абсолютное содержание Р-МС на фоне возрастания абсолютного количества МНК также увеличивалось и было значимо выше через 12 мес после ауто-ТГСК по сравнению с периодом восстановления количества лейкоцитов (v_S (+12 – +16) день после ауто-ТГСК $p_U=0,032$ (рис. 2Б).

Для того чтобы оценить значимость МС с точки зрения ответа на терапию (ВХТ и ауто-ТГСК), мы провели сравнительный анализ количества трех субпопуляций МС у пациентов с сохранным ответом (полным или частичным) и пациентов с ранним рецидивом ММ (в первые 12 мес посттрансплантационного периода). Изменения в количественном содержании МС перед ВХТ и после ауто-ТГСК (+12 – +16 день) в целом были схожи в обеих группах пациентов (табл. 2). При этом на этапе выхода из лейкопении после ауто-ТГСК пациенты с рецидивом характеризовались тенденцией к почти втрое меньшему содержанию Г-МС ($p_U=0,15$) по сравнению с пациентами с полным или частичным ответом после ауто-ТГСК.

Анализ безрецидивной выживаемости в зависимости от медианного значения относительного количества Г-МС на момент восстановления количества лейкоцитов ($Me - 0,17\%$) показал, что у пациентов с содержанием Г-МС $> 0,17\%$ доля больных без раннего рецидива составила $94 \pm 6\%$, тогда как при значениях Г-МС $\leq 0,17\%$ этот показатель был значимо ниже – $67 \pm 11\%$ ($p=0,049$; рис. 3А) при нижнем quartиле безрецидивной выживаемости 7,5 мес. В группе с Г-МС $> Me$ нижний quartиль не был достигнут. Для популяций М-МС и Р-МС таких значимых закономерностей не обнаружено (рис. 3Б, В).

Наряду с количеством МС мы также оценили супрессорный потенциал субпопуляций МС

Таблица 2/Table 2

Содержание субпопуляций МС в периферической крови пациентов ММ с ауто-ТГСК в зависимости от ответа

MDSC subpopulation in peripheral blood in MM patients regarding with response after auto-HSCT

	Перед ВХТ/Before HCT	После ауто-ТГСК (+12+16 день)/ After +12+16 d post-transplant	P _w
Пациенты с полным или частичным ответом на ауто-ТГСК в первые 12 мес после ауто-ТГСК/ Patients with complete or partial response at 12 month post-transplant follow-up (n=29)			
M-MC/M-MDSCs (%)	2,42 (1,24–5,23)	4,50 (3,20–8,25)	p=0,15
Г-MC/G-MDSCs (%)	0,02 (0,01–0,06)	0,27 (0,02–0,71)	p=0,006
P-MC/E-MDSCs (%)	1,05 (0,38–1,47)	0,78 (0,46–1,19)	p=0,33
M-MC/M-MDSCs (×10 ⁶ /ml)	49,5 (31,1–128,1)	58,2 (37,1–119)	p=0,81
Г-MC/G-MDSCs (×10 ⁶ /ml)	0,76 (0,14–1,21)	2,3 (0,18–4,13)	p=0,03
P-MC/E-MDSCs (×10 ⁶ /ml)	15,6 (7,3–28,6)	8,5 (5,3–17,3)	p=0,31
Пациенты с рецидивом ММ в первые 12 мес после ауто-ТГСК/ Patients with MM relapse at 12 month post-transplant follow-up (n=8)			
M-MC/M-MDSCs (%)	2,80 (1,12–6,57)	5,57 (0,98–16,56)	p=0,12
Г-MC/G-MDSCs (%)	0,03 (0,02–0,06)	0,08 (0,005–0,10)	p=0,50
P-MC/E-MDSCs (%)	1,15 (0,60–1,91)	0,43 (0,30–0,87)	p=0,50
M-MC/M-MDSCs (×10 ⁶ /ml)	73,2 (36,3–83,9)	255 (246–268)	p=0,46
Г-MC/G-MDSCs (×10 ⁶ /ml)	0,41 (0,31–1,24)	1,31 (0,43–1,35)	p=0,46
P-MC/E-MDSCs (×10 ⁶ /ml)	24,3 (9,1–51,5)	7,6 (7,5–9,3)	p=0,27

Примечание: данные об относительном (%) и абсолютном количестве (×10⁶/ml) моноцитарных (М-МС), гранулоцитарных (Г-МС) и ранних (Р-МС) МС среди МНК периферической крови пациентов с ММ представлены в виде медианы и диапазона интерквартильных значений (IQR) перед проведением ВХТ и ауто-ТГСК и на этапе выхода из лейкопении (+12 +16 день после ауто-ТГСК); p – значимость различий показателей по критерию знаков для парных выборок.

Note: relative (%) and absolute (B) numbers of monocytic (M-MDSCs), granulocytic (G-MDSCs) and early-stage MDSCs (E-MDSCs) in patient peripheral blood are shown as median and interquartile range (IQR) before HCT and auto-HSCT (before HCT) and at engraftment (+12 +16 d after auto-HSCT); p – differences according sign-test for paired samples.

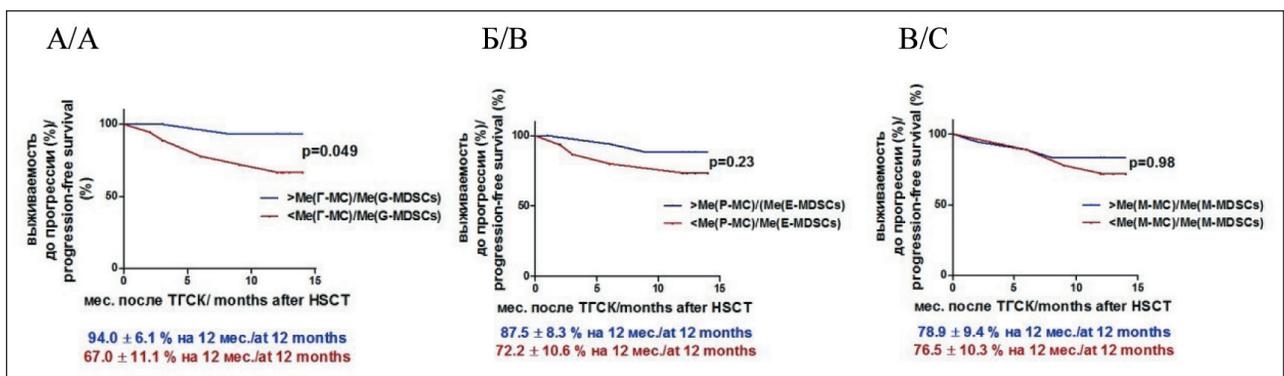


Рис. 3. Анализ выживаемости до прогрессии ММ у больных с ауто-ТГСК в зависимости от содержания МС.

Представлены данные по выживаемости до рецидива/прогрессии ММ 37 пациентов после ВХТ и ауто-ТГСК на 12-месячный период наблюдения в зависимости от количества Г-МС (А), Р-МС (Б) и М-МС (В) на этапе выхода из лейкопении.

Примечание: >Me – группа пациентов со значениями указанных субпопуляций МС выше медианы для этапа выхода из лейкопении (синяя кривая);

<Me – пациенты со значениями указанных субпопуляций МС ниже медианы для этапа выхода из лейкопении (красная кривая). p – значимость различий между кривыми. Под графиками представлены данные о частоте пациентов с ремиссией ММ в первые 12 мес посттрансплантационного периода в группах с относительным содержанием указанных субпопуляций МС выше (синим цветом) и ниже (красным цветом) медианных значений данного параметра на этапе выхода из лейкопении.

Ось X – количество мес, ось Y – % пациентов в ремиссии

Fig. 3. Progression-free survival in MM patients with auto-HSCT regarding with the number of MDSCs. Data are presented as survival to MM relapse/progression of 37 patients after HCT and auto-HSCT at 12-month follow-up in relation to the number of G-MDSCs (A), E-MDSCs (B) and M-MDSCs (C) at the engraftment.

Note: >Me – patients with the values of the indicated MDSC subsets above the median at the engraftment (blue curve); <Me – patients with the values of the indicated MDSC subsets below the median at the engraftment (red curve). p – significance between the curves. Below the graphs the frequencies of MM patients with remission within the 12 post-transplant months in groups with the relative number of the indicated MDSC subsets above (in blue) and below (in red) the median values at the engraftment are given. X axis – number of months, Y axis – percentage of patients in remission

на основе анализа экспрессии внутриклеточной молекулы Arg1. После ВХТ и ауто-ТГСК (+12 – +16 день) доля Arg1-позитивных М-МС была значимо выше ($p_U=0,003$) и далее продолжала возрастать на сроках наблюдения 6 и 12 мес (рис. 4). К моменту 12-месячного срока наблюдения в посттрансплантационном периоде количество Arg1-положительных М-МС было более чем в 10 раз выше по сравнению с исходными значениями, наблюдаемыми у пациентов до ВХТ ($p_U=0,007$). Следует отметить, что в группе пациентов с ранним рецидивом доля М-МС, экспрессирующих Arg1, на момент выхода из лейкопении характеризовалась тенденцией к более низким значениям по сравнению с аналогичным показателем в группе пациентов, сохраняющих ответ в первые 12 мес посттрансплантационного периода (Me (IQR) 2,16 (1,31–5,31) vs 8,05 (4,4–19,1) %; $p_U=0,09$). Количество Г-МС и Р-МС, экспрессирующих Arg1, возрастало в посттрансплантационном периоде, однако статистически не значимо.

Таким образом, наступление раннего рецидива ММ после ауто-ТГСК сопряжено с более низким содержанием Г-МС, а также меньшим количеством М-МС, экспрессирующих супрессорную молекулу Arg1, что, по-видимому, может иметь значение для более эффективного восстановления Т-клеточного компартмента.

Обсуждение

Проведенное исследование позволило проследить динамику количественного содержания трех субпопуляций МС у больных ММ, а также супрессорный потенциал МС на основе оценки экспрессии Arg1 в ответ на проведение высокодозной химиотерапии и трансплантации аутологичных ГСК. Впервые нами показано, что на момент выхода из лейкопении после ВХТ и ауто-ТГСК на фоне сниженного количества МНК в периферической крови повышается относительное количество М-МС, а также относительное и абсолютное количество Г-МС. Через 6 мес после трансплантации у пациентов с сохранным ответом количество М-МС и Г-МС снижается до предтрансплантационных значений и остается на этом уровне еще в течение следующих 6 мес. Содержание Р-МС, наоборот, снижено на момент выхода из лейкопении, при этом относительное количество держится на одном уровне до 12 мес, а абсолютное количество (на фоне увеличения количества МНК) возрастает через 12 мес после трансплантации. Нами выявлена сопряженность сниженной безрецидивной выживаемости с более низким относительным содержанием циркулирующих Г-МС на этапе восстановления лейкоцитов после проведения ауто-ТГСК. Важным результатом исследования также являются данные о накоплении Arg1-позитивных

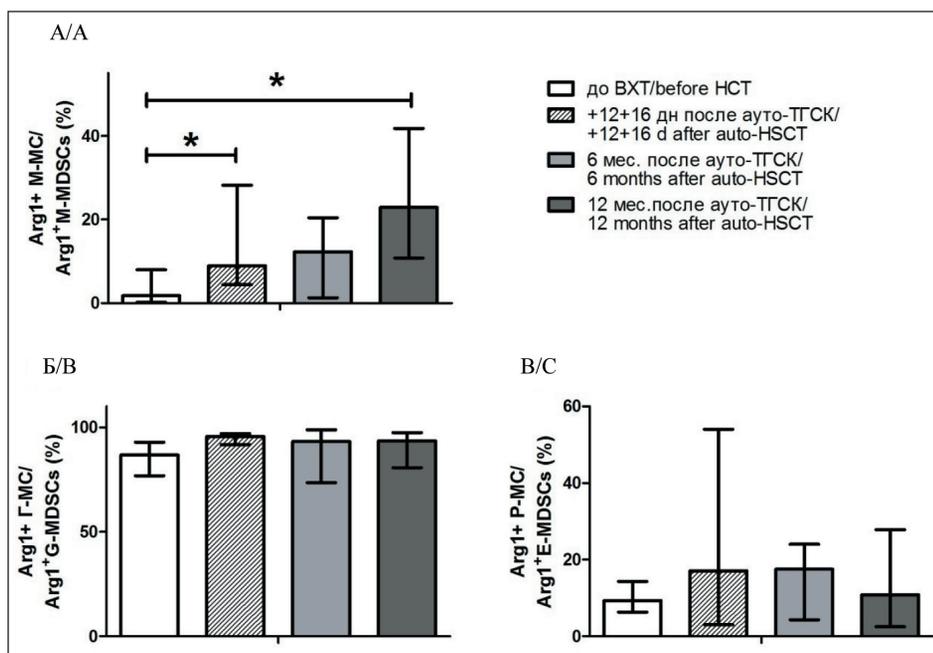


Рис. 4. Экспрессия аргиназы-1 в субпопуляциях МС периферической крови пациентов с множественной миеломой с ауто-ТГСК. В виде медианы и диапазона интерквартильных значений (IQR) представлены данные об экспрессии молекулы Arg1 как процент позитивных клеток среди: А) моноцитарных (М-МС), Б) гранулоцитарных (Г-МС) и В) ранних МС (Р-МС) периферической крови пациентов с ММ перед проведением ВХТ и ауто-ТГСК (до ВХТ, n=14), на этапе выхода из лейкопении (+12 +16 день после ауто-ТГСК, n=21), а также через 6 (n=13) и 12 мес (n=10) после ауто-ТГСК.

Примечание: * – p_U , значимость различий между указанными группами. Ось X – точки наблюдения; ось Y – % клеток
 Fig. 4. Arginase-1 expression in circulating MDSC subsets in MM patients with auto-HSCT. Data on the expression of Arg1 are presented as median and interquartile range (IQR) of the percentage of positive cells among A) monocytic (M-MDSCs), B) granulocytic (G-MDSCs), and C) early-stage MDSCs (E-MDSCs) in peripheral blood before HCT and auto-HSCT (before HCT, n=14), at engraftment (+12 +16 d after auto-HSCT, n=21), after 6 (n=13) and 12 months (n=10) after auto-HSCT.
 Note: * – p_U value < 0.05. X axis – points of the study, Y axis – cell percentage (%)

М-МС после ВХТ и ауто-ТГСК в течение всего 12-месячного периода наблюдения и ассоциации развития раннего рецидива ММ с более низкими значениями данного показателя на момент выхода из лейкопении.

Полученные нами данные о транзиторном повышении субпопуляций МС после проведения режима кондиционирования с мелфаланом и ауто-ТГСК ожидаемы, поскольку стандартный протокол мобилизации ГСК препаратами Г-КСФ сопровождается выходом из костного мозга не только CD34⁺ стволовых клеток, но также и экспансией в периферической крови и, следовательно, в продукте лейкофереза всех 3 субпопуляций МС [12, 14, 15]. При аллогенных трансплантациях ГСК (алло-ТГСК) МС могут оказывать иммунорегуляторную роль. Показано, что М-МС алло-графтов от здоровых доноров обладают супрессорной активностью в отношении алло-реактивных Т-клеток и усиливают активность Трег, что может иметь важное значение для подавления развития острой реакции «трансплантат против хозяина» после алло-ТГСК [16]. При ауто-ТГСК МС, по-видимому, могут участвовать в иммунной реконституции и восстановлении пула Т-клеток, в том числе влияя на процессы гомеостатической пролиферации Т-клеток в условиях лейкопении. Возможно, что таким образом МС предотвращают неконтролируемую экспансию быстро пролиферирующих клонов зрелых Т-клеток, чем способствуют будущему формированию широкого репертуара Т-клеточных рецепторов, снижая в дальнейшем риск рецидива опухоли и оппортунистических инфекций. Эти предположения были подтверждены полученными нами данными сравнительного исследования содержания МС у пациентов с ранним рецидивом (в первые 12 мес) и пациентов в ремиссии после ВХТ и ауто-ТГСК. Развитие рецидива в первые 12 мес после ауто-ТГСК ассоциировалось со сниженным содержанием МС на момент восстановления количества лейкоцитов и прежде всего Г-МС.

По данным S.E. Lee et al. [17], меньшее время до развития рецидива ММ и худший исход трансплантации ГСК ассоциировались с повышенным количеством М-МС до трансплантации, при этом количество МС после трансплантации уже не оказывало существенной роли на прогноз. Эти результаты расходятся с нашими данными, которые демонстрируют схожие значения количества МС перед ВХТ у пациентов независимо от исхода трансплантации в первые 12 мес. Такие различия могут быть связаны с разным режимом проведения индукционной предтрансплантационной противоопухолевой терапии, а также временем до проведения ТГСК. Характерно, что в исследовании S.E. Lee et al. М-МС и Р-МС после трансплантации не обладали супрессорным действием в отношении аутологичных Т-клеток и НКТ-клеток. Авторы предположили, что эти клетки относятся

к пулу моноцитов или клеток-предшественников миелоидного ряда соответственно. В то же время полученные нами результаты свидетельствуют об увеличении доли Arg-экспрессирующих М-МС после ауто-ТГСК. О важности присутствия клеток с иммуносупрессорным потенциалом может свидетельствовать также обнаруженная нами тенденция к более низким значениям М-МС, экспрессирующих Arg1, в группе пациентов с ранним рецидивом.

Ранее С. J. Winstead et al. [18] показали, что отсутствие Трег в течение периода реконституции Т-лимфоцитов приводит к ограничению репертуара Т-клеточных рецепторов и снижению способности развивать полноценный иммунный ответ на чужеродные антигены. Аналогичным образом, выявленное нами более низкое содержание МС в период выхода из лейкопении у пациентов с развитием раннего рецидива может являться причиной чрезмерной выраженности гомеостатической пролиферации, приводящей к ограничению репертуара Т-клеточных рецепторов, и негативно влиять на исходы трансплантации. В то же время присутствие МС на определенных этапах иммунной реконституции может иметь позитивное значение с точки зрения долгосрочной перспективы сохранности противоопухолевого ответа у пациентов с ММ. Подтверждение данной гипотезы, однако, требует дальнейших исследований.

Заключение

Проведенное нами исследование динамики содержания трех субпопуляций МС после ВХТ и ауто-ТГСК продемонстрировало транзиторные изменения количества субпопуляций МС после трансплантации ГСК. При этом количество Г-МС на этапе выхода из лейкопении после ВХТ и ауто-ТГСК может иметь критическое значение с точки зрения сохранности ответа у пациентов с ММ, поскольку более низкий уровень Г-МС на этом этапе (ниже медианных значений) ассоциируется с большей частотой рецидивов в течение 12 мес наблюдения и, соответственно, меньшим временем выживаемости до развития раннего рецидива. Также нами установлено, что по сравнению с исходными значениями доля Arg1-экспрессирующих клеток среди М-МС после ауто-ТГСК возрастает, достигая максимума через 12 мес наблюдения. При этом развитие ранних рецидивов ассоциировано с меньшим количеством этих клеток. Непродолжительный срок наблюдения за пациентами не позволил нам проанализировать сопряженность между содержанием МС с более поздними исходами трансплантации, что является ограничением нашего исследования. Дальнейшего исследования требуют также количественная оценка всех субпопуляций МС в продукте сепарата и взаимосвязь этих показателей с исходами трансплантации ГСК у пациентов с ММ. В целом, полученные

данные о сопряженности рецидива в первые 12 мес с меньшим содержанием Г-МС и Arg1⁺М-МС в раннем посттрансплантационном периоде позволяют сформулировать новую гипотезу, согласно которой МС способны играть позитивную роль на этапе выхода из лейкопении. Поскольку данный период характеризуется запуском гомеостатической пролиферации содержащихся в продукте афереза Т-клеток, что сопровождается сужением репертуара Т-клеточных рецепторов, можно полагать, что ограничение гомеостатической пролиферации будет способствовать в последующем

более эффективной реконституции Т-клеточного компартмента. Однако для подтверждения данной гипотезы необходимы дальнейшие исследования, в том числе включающие оценку экспрессии других молекул (PD-L1, IDO, IL-10 и др.), опосредующих супрессорный потенциал МС, а также изучение влияния МС на гомеостатическую пролиферацию и экспансию Т-лимфоцитов. Указанные исследования позволят более полно раскрыть роль МС в патогенезе рецидивов ММ и их прогностическую значимость для оценки исхода трансплантации ГСК.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Maybury B., Cook G., Pratt G., Yong K., Ramasamy K. Augmenting Autologous Stem Cell Transplantation to Improve Outcomes in Myeloma. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2016; 22(11): 1926–37. doi: 10.1016/j.bbmt.2016.06.004.
2. van de Donk N.W.C.J., Pawlyn C., Yong K.L. Multiple myeloma. *Lancet.* 2021; 397(10272): 410–27. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00135-5.
3. Condamine T., Gabrilovich D.I. Molecular mechanisms regulating myeloid-derived suppressor cell differentiation and function. *Trends Immunol.* 2011; 32(1): 19–25. doi: 10.1016/j.it.2010.10.002.
4. Bronte V., Brandau S., Chen S.H., Colombo M.P., Frey A.B., Greten T.F., Mandruzzato S., Murray P.J., Ochoa A., Ostrand-Rosenberg S., Rodriguez P.C., Sica A., Umansky V., Vonderheide R.H., Gabrilovich D.I. Recommendations for myeloid-derived suppressor cell nomenclature and characterization standards. *Nat Commun.* 2016; 7: 12150. doi: 10.1038/ncomms12150.
5. Gabrilovich D.I. Myeloid-Derived Suppressor Cells. *Cancer Immunol Res.* 2017; 5(1): 3–8. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-16-0297.
6. Veglia F., Sanseviero E., Gabrilovich D.I. Myeloid-derived suppressor cells in the era of increasing myeloid cell diversity. *Nat Rev Immunol.* 2021; 21(8): 485–98. doi: 10.1038/s41577-020-00490-y.
7. Hoehst B., Ormandy L.A., Ballmaier M., Lehner F., Krüger C., Manns M.P., Greten T.F., Korangy F. A new population of myeloid-derived suppressor cells in hepatocellular carcinoma patients induces CD4(+) CD25(+) Foxp3(+) T cells. *Gastroenterology.* 2008; 135(1): 234–43. doi: 10.1053/j.gastro.2008.03.020. Erratum in: *Gastroenterology.* 2011; 141(2): 779.
8. Boita C., Gullà A., Correale P., Tagliaferri P., Tassone P. Myeloid-derived suppressor cells in multiple myeloma: pre-clinical research and translational opportunities. *Front Oncol.* 2014; 4: 348. doi: 10.3389/fonc.2014.00348.
9. Malek E., de Lima M., Letterio J.J., Kim B.G., Finke J.H., Driscoll J.J., Giralt S.A. Myeloid-derived suppressor cells: The green light for myeloma immune escape. *Blood Rev.* 2016; 30(5): 341–8. doi: 10.1016/j.blre.2016.04.002.
10. Bae M.H., Park C.J., Suh C. Increased Monocytic Myeloid-Derived Suppressor Cells in Whole Blood Predict Poor Prognosis in Patients with Plasma Cell Myeloma. *J Clin Med.* 2021; 10(20): 4717. doi: 10.3390/jcm10204717.
11. De Veirman K., Menu E., Maes K., De Beule N., De Smedt E., Maes A., Vlumens P., Fostier K., Kassambara A., Moreaux J., Van Gindecderachter J.A., De Bruyne E., Vanderkerken K., Van Valckenborgh E. Myeloid-derived suppressor cells induce multiple myeloma cell survival

by activating the AMPK pathway. *Cancer Lett.* 2019; 442: 233–41. doi: 10.1016/j.canlet.2018.11.002.

12. Аристова Т.А., Баторов Е.В., Сергеевичева В.В., Сизикова С.А., Ушакова Г.Ю., Гилевич А.В., Шевела Е.Я., Останин А.А., Черных Е.Р. Миелоидные супрессорные клетки периферической крови у больных множественной миеломой на этапе мобилизации гемопоэтических стволовых клеток. *Гематология и трансфузиология.* 2021; 66(2): 218–30. [Aristova T.A., Batorov E.V., Sergeevicheva V.V., Sizikova S.A., Ushakova G.Yu., Gilevich A.V., Shevela E.Y., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Myeloid-derived peripheral blood suppressor cells at haematopoietic stem cell mobilisation in multiple myeloma patients. *Russian Journal of Hematology and Transfusiology.* 2021; 66(2): 218–30. (in Russian)]. doi: 10.35754/0234-5730-2021-66-2-218-230.
13. Kotsakis A., Harasymczuk M., Schilling B., Georgoulas V., Argiris A., Whiteside T.L. Myeloid-derived suppressor cell measurements in fresh and cryopreserved blood samples. *J Immunol Methods.* 2012; 381(1–2): 14–22. doi: 10.1016/j.jim.2012.04.004.
14. Lv M., Zhao X.S., Hu Y., Chang Y.J., Zhao X.Y., Kong Y., Zhang X.H., Xu L.P., Liu K.Y., Huang X.J. Monocytic and promyelocytic myeloid-derived suppressor cells may contribute to G-CSF-induced immune tolerance in haplo-identical allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Am J Hematol.* 2015; 90(1): 9–16. doi: 10.1002/ajh.23865.
15. Gyger M., Stuart R.K., Perreault C. Immunobiology of allogeneic peripheral blood mononuclear cells mobilized with granulocyte-colony stimulating factor. *Bone Marrow Transplant.* 2000; 26(1): 1–16. doi: 10.1038/sj.bmt.1702464.
16. Demosthenous C., Sakellari I., Douka V., Papayanni P.G., Anagnostopoulos A., Gavriilaki E. The Role of Myeloid-Derived Suppressor Cells (MDSCs) in Graft-versus-Host Disease (GVHD). *J Clin Med.* 2021; 10(10): 2050. doi: 10.3390/jcm10102050.
17. Lee S.E., Lim J.Y., Kim T.W., Ryu D.B., Park S.S., Jeon Y.W., Yoon J.H., Cho B.S., Eom K.S., Kim Y.J., Kim H.J., Lee S., Cho S.G., Kim D.W., Lee J.W., Min C.K. Different role of circulating myeloid-derived suppressor cells in patients with multiple myeloma undergoing autologous stem cell transplantation. *J Immunother Cancer.* 2019; 7(1): 35. doi: 10.1186/s40425-018-0491-y.
18. Winstead C.J., Reilly C.S., Moon J.J., Jenkins M.K., Hamilton S.E., Jameson S.C., Way S.S., Khoruts A. CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells optimize diversity of the conventional T cell repertoire during reconstitution from lymphopenia. *J Immunol.* 2010; 184(9): 4749–60. doi: 10.4049/jimmunol.0904076.

Поступила/Received 01.07.2022

Одобрена после рецензирования/Revised 28.09.2022

Принята к публикации/Accepted 17.10.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Тыринова Тамара Викторовна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). E-mail: tyrinova@bk.ru. SPIN-код: 1535-6493. Researcher ID (WOS): H-2404-2014. Author ID (Scopus): 35750892600. ORCID: 0000-0002-7987-2017.

Баторов Егор Васильевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 6316-0759. Researcher ID (WOS): O-2411-2019. Author ID (Scopus): 35768879800. ORCID: 0000-0003-2902-9336.

Аристова Татьяна Андреевна, врач-гематолог гематологического отделения с блоком трансплантации костного мозга, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0002-4885-8327.

Ушакова Галина Юрьевна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог гематологического отделения с блоком трансплантации костного мозга, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0003-1822-6326.

Сизикова Светлана Анатольевна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог гематологического отделения с блоком трансплантации костного мозга, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0001-7109-3839.

Денисова Вера Васильевна, кандидат медицинских наук, заведующая гематологическим отделением с блоком трансплантации костного мозга, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 5507-1870. Researcher ID (WOS): 54881246800. ORCID: 0000-0003-1951-2260.

Останин Александр Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 3199-0970. Researcher ID (WOS): Y-6591-2018. Author ID (Scopus): 6701440111. ORCID: 0000-0001-6895-938X.

Черных Елена Рэмовна, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующая лабораторией клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 8957-0362. Researcher ID (WOS): K-1052-2014. Author ID (Scopus): 7003649977. ORCID: 0000-0003-2346-6279.

ВКЛАД АВТОРОВ

Тыринова Тамара Викторовна: разработка концепции, цитометрический анализ экспрессии изучаемых молекул, статистический анализ и интерпретация данных, написание черновика статьи.

Баторов Егор Васильевич: планирование исследований, цитометрический анализ экспрессии изучаемых молекул, статистический анализ.

Аристова Татьяна Андреевна: рекрутирование пациентов, подготовка биологических образцов, анализ клинических данных.

Ушакова Галина Юрьевна: рекрутирование пациентов, подготовка биологических образцов, анализ клинических данных.

Сизикова Светлана Анатольевна: рекрутирование пациентов, подготовка биологических образцов, анализ клинических данных.

Денисова Вера Васильевна: рекрутирование пациентов, критический пересмотр с внесением ценного интеллектуального содержания.

Останин Александр Анатольевич: анализ данных, утверждение публикуемой версии рукописи.

Черных Елена Рэмовна: разработка концепции, анализ данных, утверждение публикуемой версии рукописи.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках проекта РНФ № 20-75-10132, государственного задания ПНИ № 122012000370-6.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Tamara V. Tyrinova, DSc, Leading Researcher, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). E-mail: tyrinova@bk.ru. Researcher ID (WOS): H-2404-2014. Author ID (Scopus): 35750892600. ORCID: 0000-0002-7987-2017.

Egor V. Batorov, MD, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): O-2411-2019. Author ID (Scopus): 35768879800. ORCID: 0000-0003-2902-9336.

Tatyana A. Aristova, MD, Hematologist, Hematology Department with Bone Marrow Transplantation Unit, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0002-4885-8327.

Galina Yu. Ushakova, MD, PhD, Hematologist, Hematology Department with Bone Marrow Transplantation Unit, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0003-1822-6326.

Svetlana A. Sizikova, MD, PhD, Hematologist of the Hematology Department with a Bone Marrow Transplant Unit, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0001-7109-3839

Vera V. Denisova, MD, PhD, Head of the Hematology Department with a Bone Marrow Transplantation Unit, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): 54881246800. ORCID: 0000-0003-1951-2260.

Alexander A. Ostанин, MD, Professor, Chief Researcher of the Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): Y-6591-2018. Author ID (Scopus): 6701440111. ORCID: 0000-0001-6895-938X.

Elena R. Chernykh, MD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). Researcher ID (WOS): K-1052-2014. Author ID (Scopus): 7003649977. ORCID: 0000-0003-2346-6279.

AUTHOR CONTRIBUTION

Tamara V. Tyrinova: study conception, cytometric analysis of molecule expression, statistical data analysis and data interpretation, drafting of the manuscript.

Egor V. Batorov: study design, cytometric analysis of molecule expression, statistical data analysis.

Tatyana A. Aristova: patient recruiting, preparation of biological samples, clinical data analysis.

Galina Yu. Ushakova: patient recruiting, preparation of biological samples, clinical data analysis.

Svetlana A. Sizikova: patient recruiting, preparation of biological samples, clinical data analysis.

Vera V. Denisova: patient recruiting, critical revision of the manuscript for important intellectual content.

Alexander A. Ostanin: data analysis, final revision of the manuscript.

Elena R. Chernykh: study conception, data analysis, final revision of the manuscript.

Funding

The study was carried out within the Russian Science Foundation grant (No 20-75-10132) and the framework No 122012000370-6.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.