

РЕЗЮМЕ

**ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СУПЕРНАТАНТА
ПРОГЕНИТОРНЫХ НЕЙРОКЛЕТОК КРЫСЫ
НА ЭКСПРЕССИЮ АНТИГЕНОВ CD25 И CD95
КЛЕТКАМИ ГЛИОМ ЧЕЛОВЕКА**

Любич Л.Д.

ДУ «Институт нейрохирургии им.акад.А.П.Ромоданова
НАМН Украины»

Цель работы - исследовать возможность влияния супернатанта прогениторных нейроклеток (СНК) крысы на экспрессию поверхностных антигенов CD25 и CD95 клетками глиом человека *in vitro*. Материалом служили фрагменты опухолей головного мозга, удаленных у больных во время оперативного вмешательства (n=37).

СНК крысы продемонстрировал тенденцию к увеличению количества клеток в терминальной стадии апоптоза (PI+) в суспензионных культурах анапластических астроцитом и глиобластом, а также количества CD95+ клеток (несущих FAS-рецептор апоптоза) в суспензионных культурах глиобластом.

Ключевые слова: прогениторные нейроклетки крысы, супернатант, глиомы, CD25, CD95.

SUMMARY

**EVALUATION OF RAT PROGENITOR NEURAL CELLS
SUPERNATANT ACTION ON EXPRESSION OF CD25
AND CD95 BY HUMAN GLIOMA CELLS**

Lyubich L.D.

SI «Acad.A.P.Romodanov Institute of Neurosurgery
Nat.Acad.Med.Sci. of Ukraine», Kyiv

Purpose of paper – to study the possibility of rat progenitor neurocell (E12-16) supernatant (RPNS) action on the surface antigens CD25 and CD95 expression by cells of human glioma *in vitro*. The material were the samples of brain tumors, removed in patients during an operations. RPNS demonstrated tendency to the increase of amount of cells in terminal stage of apoptosis (PI+) in suspension cultures of anaplastic astrocytoma and glioblastoma as well as CD95+cell (bearing the FAS-receptor of apoptosis) amount in suspension cultures of glioblastoma.

Key words: rat progenitor neurocells, supernatant, glioma, CD25, CD95.

**ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ И ПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА МЕЗЕНХИМЫ
СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЖИРОВОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

I.C.RA, KANG S.K., SHIN S.

21 век характеризуется интенсивным изучением эффективности новых методов лечения целого ряда incurable заболеваний, таких как инфаркт миокарда, аутоиммунная патология, онкология. Среди этих новых методов лечения особое место занимает клеточная терапия. способная восстанавливать или регенерировать ткани, подвергшиеся изменениям вследствие возраста или болезней. В частности, большое внимание уделяется мезенхимальным стволовым клеткам (МСК), которые усиленно изучаются и уже апробированы при этих видах заболеваний (1-3). Однако, отсутствие оптимальных клинических протоколов как получения и стандартизации этих клеток, так и их методов применения являются существенным тормозом к широкому клиническому их применению. Остаются также до конца не изучены многие вопросы, такие как происхождение и пролиферативная активность МСК, их регенеративный потенциал, антигенность МСК, состояние органа или ткани, на который направлена клеточная терапия МСК, и т.д. (Sang (0)

Физиологическая роль МСК связывается с их локализацией в синусоидальных кровяных сосудах взрослого костного мозга и осуществлении контроля между периферией и костным мозгом – это своеобразный «хранитель ворот» костного мозга, поддерживающий гомеостаз в костном мозге.

При трансплантации МСК они оказывают эти и другие иммунопатологические функции в зависимости от микроокружения и экспрессии своих антигенов и поверхностных молекул.

Среди этого многообразия вопросов, которые предстоит решить, большое внимание уделяется МСК, полученных из жировой ткани, так называемым жировым мезенхимальным стволовым клеткам (ЖМСК), которые более доступны для получения чем костномозговые МСК и уже имеется ряд протоколов их получения. (4). Как известно, МСК, в том числе ЖМСК, способны к самоподдерживанию, а также к дифференциации в различные типы тканей мезенхимального и другого происхождения, включая остеоциты, хондроциты, гепатоциты, адипоциты, нейро-

ны, мышечные, эпителиальные клетки (6-8) в зависимости от микроокружения или факторов дифференцировки. В большом числе исследований продемонстрировано, что МСК обладает значительным противовоспалительным и иммуномодулирующим действием (9-12). Если же дифференцированный потенциал МСК зависит от микроокружения *in vivo* и проявляется не сразу, то иммуномодулирующая способность появляется немедленно после применения, что является основанием для применения МСК при аутоиммунных и воспалительных заболеваниях. Более того, эти иммуносупрессивные свойства МСК относят к конституционным, а не индуцибельным, которые сопровождаются синтезом и секрецией различных факторов модуляции местного (локального) микроокружения и активацией эндогенных прогениторных клеток (13,18). Так, МСК широко применяется для лечения РТПХ системной красной волчанки (СКВ), ревматоидного артрита (РА), рассеянного склероза (МЗ), диабета, гипертериоза (15-23). Сегодня рекомендованы различные методы применения ЖМСК, включая внутривенное (24), интраартериальное (25), интрацеребральное (20) введение стволовых клеток. Среди этих разнообразных способов введения наиболее доступно является внутривенное введение (в/в), которое, как предполагалось, способствует достижению клетками места повреждения. Но оказалось, что МСК задерживаются надолго в легких, фильтруются в селезенке и преимущественно выводятся почкой (27). Различными методиками показано, что после введения МСК в/в основная часть их оседает в легких (68-71). Так, меченные геном зеленого флюоресцирующего белка МСК задерживались в легких, почке, печени и коже (71) Le et al. (28) показали, что 80% введенных клеток задерживается в легких уже через 15 минут и длительно держится там и лишь на 4 сутки выявляется всего 0,01% клеток, что может вызывать различные осложнения легочной и гемоциркуляторной систем. Миграция клеток к месту воспаления и больного травмированного органа все же происходит (73,74). Так, внутривенное введение МСК костного мозга крысам с инфарктом миокарда приводило к их накоплению в зоне инфаркта, тогда как у здоровых не инфарктных животных эти клетки накапливались в косном мозге (75). При лечении аллергического ринита клеточной терапией МСК были выявлены в очаге воспаления (47). Меченные ЖМСК определялись в различных тканях при их введении животным с травмой спинного мозга (в сердце, тимуса, печени, легких), хотя в зоне травмы их было до 13%, тогда как остальные клетки были в селезенке (40%) и в тимусе (21% и т.д.). То есть не все клетки, вводимые направляются в зону повреждения... (автор).

Множеством работ показано, что важную роль в миграции ЖМСК имеют хемокины и факторы роста. Так, взаимодействие стромального клеточного фактора (SDF-1 α) и CX-C хемокинового рецептора 4 (CXCR-4) приводит к направленной миграции МСК в область повреждения. В условиях *in vitro* тромбоцитарный фактор роста и трансформирующий фактор роста β -1 стимулируют миграцию МСК (78).

Сегодня определен тот минимум требований к МСК как костномозгового так жирового происхождения, который рекомендуется Международным обществом клеточной терапии. Это: 1) способность прилипать к пластике; 2) отсутствие гемопоэтических маркеров (CD-45,3,14,11b,79a,19 и HLA-DR); 3)тройной потенциал мезодермальной дифференцировки в остеобласты, хондриобласты, адипоциты 4) иммуномодулирующая способность (30). Помимо мезодермальной направленности дифференцировки МСК свойственно эктодермальная дифференцировка в нейроны и эндодермальная в миоциты и гепатоциты (7,31).

Установлено многими исследованиями иммуномодулирующее влияние МСК на иммунный ответ: 1. МСК являются слабо иммуногенными по причине низкой экспрессии основного гистосовместимого комплекса (МНС-1) и не экспрессируют МНС-II и костимулирующих молекул, таких как B7-1 (CD-80), B7-2 (CD-86), CD-40 (79); 2. МСК секретирует растворимые факторы, такие как интерлейкин-6 (IL-6) .макрофаго-положительный фактор (80), который угнетает активизацию и пролиферацию В и Т клеток, а также подавляет дифференциацию созревания и функцию дендритных клеток (3). Кроме того, МСК освобождают апоптотические и противовоспалительные молекулы и тем самым защищают ткань от повреждения (79,81). Исходя из этого, свойства МСК могут трансплантироваться с целью подавлять РТПХ и тяжелых аутоиммунных заболеваний (17,18,20,16). Систематическое введение ЖМСК контролируют летальную РТПХ у мышей при введении совместно с несингенным гемопоэтическими клетками (15), хотя в клинике этот феномен не подтверждается и такой защиты не было получено. При ЭМЭ у мышей защита была на этапе, когда вводили МСК раньше или вначале болезни. При коллагеновом артрите (LIA) МСК тормозит тяжелые последствия артрита, что связывается с подавлением уровня сывороточных противовоспалительных цитокинов (18). Человеческие ЖМСК подавляли развитие аутоиммунного тиреоидита и подавляли синтез Th-1 цитокинов (20). Систематическое введение человеческих ЖМСК вызывало торможение миграции лимфоцитов в тиреоидную ткань, уменьшали продукцию провоспалительных цитокинов, восстанавливали баланс

различных субпопуляций Т клеток. МСК угнетали отторжение аллотрансплантата и улучшали выживаемость пересаженной кожи (82). МСК подавляли В клеточную, функцию дендритных клеток и киллерных клетки (83,84,85). Механизм действия МСК заключался в прямом взаимодействии (82) и синтезе цитокинов (86).

В то же время МСК, полученные от пациентов с аутоиммунной патологией и трансплантирование этим же больным не всегда давали положительный результат и нет единого мнения об их эффективности у этих больных (88). Так, Rapaduki et al. (89) показали, что МСК костного мозга от больных ревматоидным артритом были ослаблены и плохо восстанавливали гемопоез, а МСК от больных с рассеянным склерозом имели также сниженные иммуносупрессивные свойства (89,90), хотя другие авторы указывают, что МСК от больных с аутоиммунной патологией сохраняют свои свойства *in vitro* (91,92).

Представление о механизмах иммуносупрессии противоречивы, многие гуморальные факторы, такие как ИЛ-10 (7), трансформирующий фактор роста- β (ТФТ- β) 8 простогладины Е-2 (9), оксид азота NO (6,10), индоламид 2,3-диоксигенад (IDO) (11), гепатоцитный фактор роста (HGF) (8) и наконец Т регуляторные клетки (12). Эти разнообразные противоречивые данные являются результатом разнонаправленных исследований с использованных в них не стандартных приемов и методов культивирования СКМ. Каждый важный факт может быть по-разному трактован в зависимости от метода исследования и изучаемой патологии. Уточнение механизма иммуносупрессии СКМ человека и определенных факторов иммуносупрессии чрезвычайно важно для практического применения феномена подавления иммунной системы при различных клинических ситуациях (Ren G. et al.,2001).

Спорным вопросом является механизм иммуносупрессии, его длительность и роль цитокинов в этом процессе. Недавно было однозначно установлено, что мышинные СКМ отличаются от человеческих и их иммуносупрессивная активность связана с провоспалительным цитокинам и продукция NO (6). На разных моделях было показано, что воспалительные цитокины индуцируют значительную продукцию NO, которая в свою очередь супрессируют пролиферацию и цитокиновую продукцию лимфоцитов. NO является лабильной, биоактивной, быстро диффундирующей газовой молекулой (13). Показано, что этот газ (NO) и его производный окислительный азотистый радикал (NO-) может нарушать работу многих ферментов, ионных каналов и рецепторов (14,15). Продукция NO связана с активностью синтезирующего фермента NO синтазы (NOS), которая имеет

три различных генетических формы у мыши и человека.

Роль NO в регуляции иммунной системы ясна и она связывается с воздействием на Т клеточный рецептор, экспрессию цитокинов и фенотип Т клеток (16). В этой связи важно то, что NO является крайне нестабильным радикалом, который действует только на очень короткое расстояние от клетки, что обуславливает необходимость тесного контакта СКМ с лимфоцитами для проявления своего иммуносупрессивного действия (6). Как показывают последние исследования, хемотаксис СКМ является чрезвычайно важным и критическим моментом в проявлении NO индуцированной супрессии (6). Мышинные СКМ являются одной из наиболее изученных моделей иммуносупрессии с помощью NO, тогда как в отношении СКМ человека такой ясности нет, так как ингибция активности NOS приводила к потере иммуносупрессорных свойств СКМ мышей и не влияла на активность СКМ человека. В то же время, как блокада синтеза IDO, наоборот, блокировала иммуносупрессию СКМ человека и не влияла на СКМ мышей (Ren et al., автор). С IDO как иммуносупрессорным фактором связываются различные иммунные состояния, в частности, толерантность тканей плода, иммунная изолированность хрусталика, местная иммуносупрессия в опухоли (17,18). IDO синтезируется путем превращения триптофана, незаменимой аминокислоты, благодаря кипурениновому пути метаболизма. Считается, что уменьшение концентрации триптофана и продукция супрессорных триптофановых метаболитов способствует проявлению иммуносупрессорных свойств СКМ человека. Сопоставительные исследования иммуносупрессивных свойств мышинных и человеческих СКМ показали, что для проявления этих свойств необходима их активация провоспалительными цитокинами, в частности, интерфероном γ и фактором некроза опухоли- α , которые активируют эти клетки, а также стимулируют выделение ими не только NO и IDO, но и синтез хемокинов, необходимых для миграции иммунных клеток и создания локального микроокружения, необходимого для проявления иммуносупрессивного стимула (Ren et al.,2009). Без дополнительной стимуляции цитокинами СКМ имеет слабую иммуносупрессорную активность *in vitro*. Эти результаты позволили высказать предположение, что синтез цитокинов и супрессивных агентов СКМ костного мозга не является конституционным свойством этих клеток, а больше является индуцированным ф(Ren et al.,2009).

Возможны различные способы стимуляции провоспалительными цитокинами СКМ, в частности, это могут быть супернатанты от культур

лимфоцита, стимулированных монАТ, липосахаридами и, наконец, *in vivo* различными бактериальными возбудителями. IDO является нормальным физиологическим эндогенным фактором, принимающим участие в периферической толерантности и иммуносупрессии плода, опухоли и т.д. (17-18). Применение 1 метил-L-триптофана приводило к отмене супрессивного действия и IDO *in vivo* (29,30), усиливало аутоиммунную патологию (31). Использование 1 метил-L-триптофана с химиотерапией позволило повысить эффект лечения опухолей (32) и наоборот, гиперэкспрессия IDO гена приводила к супрессии иммунной системы при трансплантации опухоли (33).

Показан синтез IDO плазмоцитоидными дендритными клетками и на CD-8+ селезеночными дендритными клетками (34). IDO экспрессируются антигенпредставляющими клетками при воздействии ЛПС, нуклеотидами и воспалительными цитокинами (28,30). Вакцины, содержащие микобактерии или листерин, также потенцировали выработку IDO *in vivo* (35). На животных с дефицитом интерферона и ФНО- α экспрессия IDO МСК вызывалась введением ФНО- α больше, чем на введение интерферона (37), это позволило сделать заключение, что ФНО является более важным цитокином для индукции IDO.

Прямое межклеточное взаимодействие МСК и иммунных клеток

Известно, что МСК экспрессирует CD-90, CD-73 и не экспрессирует CD-45,14,34 антигены (3). МСК не экспрессирует антигены HLA-I и HLA-II класса или молекулы костимуляции CD-80,86,40 или CD-40 протеинд (11,12). По этой причине они не способны активировать Т клетки (13). Но с другой стороны МСК ингибируют пролиферацию аллостимулированных Т клеток и не вызывают экспрессию CD-4+, CD-25+ Т клеток (4), наряду с синтезом большого числа растворимых медиаторов, что расширяет их иммуносупрессивный потенциал. В то же время на МСК экспрессируются не классические молекулы I класса HLA-G, обладающие общим ингибиторным действием на клетки иммунной системы (20,21). Так, HLA-G молекула подавляет различные иммунные функции, в том числе такие как NK и Т-клеточную цитотоксичность (20,21), аллоантиген вызванную пролиферацию, созревание дендритных клеток (22,23). Молекулы HLA-G класса экспрессируются на различных тканях здорового организма (24). HLA-G молекулы были выявлены вначале на клетках цитотрофобластов, где они играют роль в поддержании толерантности к плоду (25,26). Кроме того, HLA-G антигены экспрессируются и при патологии, в частности, в опухолях и на длительно живущих органных трансплантатах (27,28). HLA-G протеин может экспрес-

сироваться в различных изоформах, на сегодня известно их несколько: мембрансвязанные HLA-G молекулы от HLAG-1 до HLAG-4; растворимые формы от HLAG-5 до HLA-7 (24). Для этих антигенов выявлены 3 вида рецепторов на разных типах клеток: киллерной иммуноглобулиноподобный рецептор (KIR-2DL-4/CD158a); лейкоцитарный иммуноглобулиноподобный рецептор (LILRB1/ILT-2/CD-85J) и LILRB2/ILT-4/CD-85d) (29,30). Показано, что KIR2DL-4 рецептор экспрессирован на NK клетках, тогда как ILT-4 на миелоидных клетках, а ILT-2 на моноцитах и дендритных клетках, Т и В лимфоцитах и т.д. (29,30). HLA-G молекулы выявлены были вначале на фетальных МСК (31), а позже и на МСК взрослых (Sillmeni et al.,2008). Так, МСК экспрессируют как мембранные формы, так и секретируют HLA-G белки в питательную среду при культивировании, а нейтрализация этих молекул с помощью антител отменяет их иммуносупрессорное действие (Sillmeni et al.,2008). Секреция HLA-G молекул МСК резко возрастает после антигенного стимула, тогда как содержание внутриклеточного протеина снижается. Одним из ключевых факторов, определяющих секреторную и внутриклеточную локализацию HLA-G молекулу является ИЛ-10 и обработка ИЛ-10 моноцитов резко усиливала выделение растворимой формы - HLA-G -5 (38). В то же время общепринято считать, что ИЛ-10 является Th-1 ингибиторным цитокином и вырабатывается Th-2 лимфоцитами, это предполагает наличие определенной связи между МСК и Th-2 лимфоцитами (40,41). Показано, что HLA-G-5 и ИЛ-10 работают синергично и дополняют друг друга в реализации иммуносупрессивного действия (Sillmeni et al.,2008). Кроме иммуносупрессивного воздействия на Т клеточный ответ HLA-G-5 способен генерировать накопление с Т регуляторных CD-4+, CD-25+, Fox P3+ клеток и как утверждает Sheleni et al. (2008) он абсолютно необходим для формирования Т регуляторных клеток. Показано, что МСК экспрессируют, в основном, растворимую изоформу HLA-G-5 молекулы (43), которая экспрессирована на фетальных эритроидных прогениторах в костном мозге (43) и предполагается, что в костном мозге это молекула как раз и запускает формирование Т регуляторных клеток для сдерживания иммунной атаки организма на прогениторные клетки костного мозга. Такое накопление Т регуляторных клеток возможно благодаря прямому контакту МСК и Т лимфоцитов и секреции HLA-G-5 молекул. Только после прямого взаимодействия МСК и Т клеток возрастала секреция в культуральную среду HLA-G-5. Вероятно и другие цитокины секретируются МСК после прямого взаимодействия к лимфоцитам (Shelemy et al. 2008).

Таким образом, можно утверждать, что имеется прямое взаимодействие МСК и Т клеток, которое сопровождается усилением синтеза и выделения HLA-G-5 молекулы, которая обеспечивает как минимум 4 разных механизма: а) подавляет цитолитическую активность и секрецию интерферона γ НК клетками; б) прямо угнетает аллогенный Т клеточный ответ; в) увеличивает содержание ИЛ-10 в микроокружении МСК и д) вызывает накопления Т регуляторных CD-4+, CD-25+, Foxp3+ клеток. Все это возможно благодаря прямому клетко-клеточному взаимодействию между Т лимфоцитом и МСК, которое является первым шагом на пути иммуносупрессии. МСК могут не только быть иммуносупрессивными клетками, но они могут быть антигенпрезентирующими клетками и запускать иммунный ответ как и супрессировать его за счет формирования Т регуляторных клеток (). Такая двойная роль МСК сегодня связана с разнонаправленными изменениями HLA-II антигенов и экспрессией супрессорной костимулирующей молекулы B7-H1/DR-L1 рецептора. Роль такого регулятора выполняет ИФН- γ .

Рецептор программированной гибели 1 (PD-1) играет важную роль в подавлении функции Т лимфоцитов по механизму контактного ингибирования (7,15,17), (25,26). МСК экспрессируют мембранные лиганды к данному рецептору PD-L1 и PD-L2, которые связываясь с рецептором PD-1 Т лимфоцитов, снижают продукцию ими цитокинов, а также приводят к блокировке клеточного цикла в фазе G₀/G₁ (26).

СМК костного мозга находят широкое применение в кардиологии при лечении инфаркта миокарда. Многими работами показано улучшение функции сердца после трансплантации СМК, но в то же время исследователи столкнулись с проблемой СМК пожилых людей, а у них чаще возникают инфаркты, а СМК имеют более низкую регенеративную способность чем у молодых особей и по этой причине аутологичные гистосовместимые клетки менее пригодны, чем СМК молодых, но не гистосовместимых людей (3,4,5). Судьба аллогенных СМК, введенных в миокард окончательно не изучена и имеются различные, спорные противоречивые заключения как о проникновении, так и отторжении их (6,7,8,9). Ряд авторов аргументировали свое заключение о приживлении МСК тем, что известно СМК являются иммуносупрессорными агентами и рекомендуется к применению при различных аутоиммунных заболеваниях (6,7). В то время, как другие указывают, что при дифференцировке СМК возможна потеря супрессорных свойств этих клеток, что может приводить к отторжению как СМК, так и их дифференцированных прогениторов (8,9). Проведенные

специальные широкие исследования показали, что оба эти заключения верны в какой-то своей части и при введении СМК имеет место как иммуносупрессия иммунных реакций реципиента, так и их активация.

Сравнивая дифференцированные *in vitro* и не дифференцированные СМК крыс, было установлено, что в первых СМК увеличивается экспрессия иммунных антигенов главного комплекса гистосовместимости МНС-1а и МНС-II и CD-86 и в то же время снижается уровень иммуносупрессорного МНС 1в протеина, который очень сильно представлен только на не дифференцированных клетках. Эту разницу в экспрессии удалось выразить количественно, показано, что количество клеток, экспрессирующих МНС-1а антител увеличивалось на 30%, а количество клеток экспрессирующих супрессивную молекулу МНС 1в уменьшилось на 33% (). Эта разница указывает, что в процессе дифференцировки СМК может происходить потеря ими иммуносупрессивных митогенов и увеличение антигенов МНС, которые индуцируют реакции отторжения. Подобная картина изменения экспрессии антигенов гистосовместимости наблюдалась и при трансплантации *in vivo*. Так при введении клеток в зону инфаркта отмечено, что в течение первых 7 дней не происходит увеличение экспрессии МНС-1а антигена, но уже к 14 дню выявляется высокий уровень и количество клеток, содержащих МНС-1а антиген, при этом параллельно увеличивалось количество маркеров митогенной дифференцировки (). Способность дифференцированных СМК экспрессировать иммуногенные антигены показала в тесте смешанной культуры лейкоцитов, где не дифференцированные или аутологичные СМК не вызывали при культивировании в течение 3 суток появления цитотоксических лимфоцитов и лишь дифференцированные клетки вызывали пролиферацию эффекторных клеток и резкое возрастание их киллерной активности. В зоне инфаркта появлялось увеличение количества CD-3, CD-4, CD-8 лимфоцитов, что указывает на развитие реакции отторжения, а в сыворотке крови определялись аутоантитела к аллогенным лимфоцитам уже на 2-4 неделе после трансплантации дифференцированных клеток. Сердечная функция миокарда была улучшена в течение 4 месяцев, но уже с 5 месяца эффект после введения аллогенных МСК клеток исчезал, тогда как от введения сингенных МСК положительный эффект сохранялся.

Таким образом, автор предполагает бифазное иммунное состояние СМК, вначале они являются иммунопровелигированными и они подавляют локальную иммунную реакцию на себе, но при дифференцировке изменяется экспрессия генов гистосовместимости и исче-

зают супрессорные и появляется стимулирующий иммунный ответ антигена, что приводит к развитию иммунного ответа к этим антигенам и формированию реакции отторжения этих уже дифференцированных клеток. Дифференцирование МСК в миоциты или васкулярные клетки миокарда отторгаются за счет специфического цитолиза, а иммуносупрессивные МНС-1в исчезает и, по-видимому, не активируются Т супрессорные CD-4 лимфоциты с рецептором CD-94-/NKG2C (20)

Большим количеством работ показано, что МСК способны подавлять пролиферацию Т лимфоцитов, активированных поликлональными митогенами, аллогенными клетками или специфическими антигенами (5-7, 11, 12, 16-19). Ингибирование пролиферации не зависит от основного комплекса гистосовместимости (main histocompatibility complex, МНС) и вызывается как ауто-, так и аллогенными МСК (6, 11). По мнению ряда исследователей (6, 7, 17), основной эффект действия МСК проявляется в анергии Т лимфоцитов, снижении уровня их пролиферации и индукции перехода Т клеток в G₀/G₁ фазу клеточного цикла, вследствие снижения фосфорилирования циклина D-2 (cytotoxic T- lymphocyte, T_{cyt}), но данный эффект не наблюдается, если T_{cyt} лимфоциты были ранее активированы (20).

МСК также воздействует на В клеточное звено иммунной системы (28, 35, 38). Также было отмечено, что МСК влияют на хемотаксические свойства В лимфоцитов, понижая уровень экспрессии рецептора CXCR4, CXCR5 и CXCR7, необходимых для миграции В лимфоцитов на вторичные лимфоидные органы (35).

Одной из сторон иммуносупрессивного действия МСК является их влияние на антигенпрезентирующие клетки (АПК): дендритные клетки (ДК), моноциты и макрофаги (19, 37-39). Дифференцированные ДК – наиболее эффективные АПК. После совместного культивирования с МСК ДК снижает уровень экспрессии мембранных молекул CD-80, CD-86 и CD-40 МНС II, отвечающих за активацию Т лимфоцитов, а также снижают синтез ИЛ-12

Также показано, что взаимодействие МСК с лигандами TLR3 (участками двойной спирали РНК вирусов) и TLR4 (липополисахаридами (ЛПС) бактериальной клеточной стенки) приводит к ингибированию сигнального пути Notch и снижению иммуносупрессивного действия МСК на CD-4+ Т лимфоциты (32). Таким образом, молекулы патогенна могут блокировать иммуносупрессивный эффект МСК и восстанавливать необходимую реактивность Т клеток к инфекционным антигенам. Согласно результатам другой модели бактериальной инфекции, одновре-

менное культивирование МСК и Т лимфоцитов с ЛПС блокирует иммуносупрессивный эффект МСК, в то время как предварительная стимуляция МСК ЛПС приводит к усилению супрессивного действия МСК на Т клетки (29).

На основании известных данных литературы можно выделить III функциональные события три фазы МСК: МСК – незрелые, «наивные», МСК активированные и МСК вступившие в дифференцировку. Для этой фазы характерна свойственная фенотипическая характеристика, например различия экспрессия антигенов HLA-комплекса и молекул костимуляции, а также молекулярно-цитокинный каскад, обладающий как иммуносупрессивными и хемотаксическими свойствами, так и трофическими регенеративными трансформирующими свойствами. Спектр этих функций молекул очень широк и он во многом зависит от микроокружения, в котором находится МСК.

Первоначально МСК в косном мозге осуществлял свою физиологическую роль контроля за гемопоэзом и своеобразных «ворот» выхода предшественников гемо и лимфопоэза в кровотока в ответ на воспалительный или инфекционный стимул.

Если на фазе не активированной МСК преобладают больше контактные взаимодействия между МСК и клетками иммунной системы, что приводит к первичной иммуносупрессии реципиента, то уже после активации МСК провоспалительными цитокинами (ФНО, ИЛ-1, 6) и интерфероном-γ, запускается реакция многоуровневой иммуносупрессии, направленной на практически все субпопуляции лимфоцитов и синтез ими цитокинов.

И, наконец, на этапе запуска процессов дифференцировки МСК меняют спектр цитокинов и антигенные свойства, что приводит к экспрессии HLA-II класса и молекул костимуляции, что является основой для иммунного их распознавания и запуска реакций их отторжения в случае их гистосовместимости.