

АЛЬТЕРНАТИВНЫЕ ПУТИ АКТИВАЦИИ ХЕМОТАКСИСА КЛЕТОК ОСТРОГО МИЕЛОИДНОГО ЛЕЙКОЗА

© 2019 г. А. Б. Филина^{1,3*}, О. А. Свитич^{1,3}, А. К. Голенков²,
Е. Ф. Клинушкина², В. В. Зверев^{1,3}

*E-mail: byzonka@yandex.ru

¹ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва, Россия;

²ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, Москва, Россия;

³ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет), Москва, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 01.04.2019

Одними из основных факторов врожденного иммунитета, участвующих в опухолевой прогрессии и метастазировании, являются TLRs, лиганды TLRs, хемокины и их рецепторы. Взаимосвязь вышеназванных факторов и онкологического процесса стала изучаться не так давно, однако последнее десятилетие активно исследуется учеными всего мира. Несмотря на большой интерес к данной проблеме, до сих пор более детальное изучение касается лишь нескольких хемокинов, таких как CXCL12, CCL8 и их рецепторов, а также TLRs и их лигандов. Таким образом, в нашей работе мы хотели изучить возможные варианты опосредованного хемотаксиса клеток острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), а также влияние активации гетерологичных рецепторов друг на друга.

Ключевые слова: хемотаксис, лейкоз, TLRs, CXCL12, хемокины

DOI: 10.31857/S102872210006986-9

Адрес: 105064, Москва, Малый Казенный переулок, д. 5а
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова» лаборатория молекулярной иммунологии, Филина Александра Борисовна.

Тел.: +79096915157; E-mail: byzonka@yandex.ru.

Авторы:

Филина А. Б., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва, Россия;

Свитич О. А., чл.- корр. РАН, д.м.н, директор ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва, Россия;

Клинушкина Е. Ф., врач гематолог, заведующая отделением клинической гематологии и иммунотерапии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, Москва, Россия;

Голенков А. К., д.м.н., профессор, врач гематолог, руководитель клиники клинической гематологии и иммунотерапии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского, Москва, Россия;

Зверев В. В., академик РАН, профессор, д.б.н., научный руководитель ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова, Москва, Россия.

Роль факторов врожденного иммунитета в опухолевом процессе активно изучается последнее десятилетие, и из многочисленных исследований показано, что эта роль является немаловажной. Одними из основных факторов врожденного иммунитета, участвующих в опухо-

левой прогрессии и метастазировании, являются TLRs, лиганды TLRs, хемокины и их рецепторы. Взаимосвязь вышеназванных факторов и онкологического процесса стала изучаться не так давно, однако последнее десятилетие активно исследуется учеными всего мира. Несмотря на большой интерес к данной проблеме, до сих пор более детальное изучение касается лишь нескольких хемокинов, таких как CXCL12, CCL8 и их рецепторов, а также TLRs и их лигандов [1–3]. На настоящий момент существует достаточно большое количество исследований, направленных лишь на один из вышеперечисленных факторов, в то время как взаимовлияние их друг на друга недостаточно изучено.

Таким образом, **целью работы** было изучение влияния хемокинов и TLRs лигандов на миграцию клеток лейкоза, а также на экспрессии CXCL12 и CCR4 в мигрировавших клетках.

МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

В качестве материала исследования были использованы клеточные линии K562, Reh (лаборатория экспериментальной иммунологии

ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова) и мононуклеарные клетки (МНК), выделенные от пациентов с острым миелоидным лейкозом (М4) до и после химиотерапии (пациенты отделения клинической гематологии и иммунотерапии ГБУЗ МО МОНИКИ им. М. Ф. Владимирского). В качестве хемоаттрактанта использовался CXCL12 (ThermoFisher, США). В качестве лиганда TLR9 использовался DNA_lig, синтезированный на базе лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ НИИВС им. И. И. Мечникова. Исследование хемотаксиса клеток проводилось через 15, 60 минут и через сутки с использованием камеры Бойдена с размерами пор 5 и 8 мкм (MERCK MultiScreen Migration Invasion and Chemotaxis Filter Plate, Германия). Экспрессия генов CXCL12, CCR4, TLR9 изучалась с использованием метода ПЦР-РВ на амплификаторе ДТпрайм («ДНК-Технология», РФ). Статистический анализ проводили с использованием компьютерной статистической программой BioStat, а также программы Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе исследовались спонтанная и индуцированная миграция клеточных линий и МНК, выделенных от здоровых доноров и пациентов с ОМЛ до и после химиотерапии. Получены данные о снижении миграции клеток линии K562 после воздействия DNA_lig через 15 и 60 минут, и об активирующем действии CXCL12 на миграцию клеточной линии Reh через 60 минут и сутки. Исследование миграции МНК, выделенных от здоровых доноров показало снижение миграции клеток после воздействия DNA_lig через 60 минут от начала эксперимента. Индуцированный CXCL12 хемотаксис МНК здоровых пациентов достоверно выше относительно контроля в два раза на протяжении всего эксперимента, в то время как миграция МНК пациентов с ОМЛ до начала химиотерапии достоверно ниже контроля через 60 минут и достоверно ниже нормы через 15 и 60 минут в 2 и 10 раз соответственно. После проведения химиотерапии CXCL12 обладает активирующим эффектом на миграцию МНК, которая достоверно выше относительно контроля через 60 минут в 2 раза, но достоверно ниже нормы через 60 минут в 3,5 раза. На втором этапе была изучена экспрессия CXCL12 и CCR4 под действием CXCL12 в МНК здоровых доноров и пациентов с ОМЛ до химиотерапии. Выявлена повышенная экспрессия гена CXCL12 в МНК здоровых доноров через 24 часа и CCR4 через 15 и 60 ми-

нут в контроле относительно CXCL12-стимулированных клетках. Экспрессия CXCL12 в МНК, выделенных от пациентов с ОМЛ до химиотерапии в контроле выше чем в CXCL12-стимулированных клетках в 13 и 4 раз через 15 и 60 минут соответственно. Экспрессия CCR4 в мигрировавших МНК, выделенных от пациентов с ОМЛ до начала химиотерапии, под действием CXCL12 была достоверно выше контроля через 15 минут в 16 раз и ниже в 18 раз относительно контроля через сутки.

ОБСУЖДЕНИЕ

В проведенном нами исследовании было выявлено, что DNA_lig снижает миграцию клеток миелоидного ряда (клеточная линия K562), что возможно опосредованно более высокой экспрессией эндосомальных TLRs, нежели в клетках лимфоидного ряда. DNA_lig подавляет миграцию МНК здоровых доноров, а также экспрессию CXCL12, что опосредованно может влиять на снижение аутоактивации хемотаксиса. Было выявлено, что МНК от пациентов с острым миелоидным лейкозом вырабатывают самостоятельно хемокин CXCL12 в уровнях, превышающих выработку в МНК здоровых доноров, что может приводить к неответственности этих клеток на внешне вводимый CXCL12 и десенситизации рецепторов CXCL12. Данный феномен приводит к нарушению хоминга клеток в красный костный мозг. Также в группе с ОМЛ до химиотерапии после воздействия CXCL12 происходит кратковременное повышение экспрессии CCR4, затем резкое снижение, что, может говорить о десенситизации гетерологичных рецепторов. Из вышесказанного следует, что миграция клеток лейкоза не так однозначна, так как помимо хемоаттрактантов, она может опосредованно регулироваться другими группами цитокинов, а также лигандами TLRs, что требует дальнейшего изучения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Mills S. C., Goh P. H., Kudatsih J., Ncube S., Gurung R., Maxwell W., & Mueller A. (2016). Cell migration towards CXCL12 in leukemic cells compared to breast cancer cells. *Cellular Signalling*, 28(4), 316–324
2. Pradere J. P., Dapito D. H., & Schwabe R. F. (2013). The Yin and Yang of Toll-like receptors in cancer. *Oncogene*, 33(27), 3485–95.
3. Webb R. N., Cruse J. M., & Lewis R. E. (2007). Differential cytokine and Toll-like receptor expression in leukemia. *Experimental and Molecular Pathology*, 83(3), 464–470.

ALTERNATIVE WAYS TO ACTIVATE THE CHEMOTAXIS OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA CELLS

© 2019 A. B. Filina^{1,3*}, O. A. Svitich^{1,3}, A. K. Golenkov²,
E. F. Klinushkina², V. V. Zverev^{1,3}

*E-mail: byzonka@yandex.ru

¹Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

²SBHI of MA MRRCI n.a. M. F. Vladimirovskiy, Moscow, Russia;

³First Moscow I. M. Sechenov State Medical University, Moscow, Russia

Received: 15.03.2019. Accepted: 01.04.2019

One of the main factors of innate immunity involved in tumor progression and metastasis are TLRs, ligands of TLRs, chemokines and their receptors. The relationship between the above factors and the oncological process was studied not recently, but the last decade has been actively studied by scientists from all over the world. Despite the great interest in this issue, a more detailed study so far concerns only a few chemokines, such as CXCL12, CCL8 and their receptors, as well as TLRs and their ligands. Thus, in our work, we wanted to explore possible options for mediated chemotaxis of leukemia cells, as well as the effect of heterologous receptor activation on each other.

Key words: chemotaxis, leukemia, TLRs, CXCL12, chemokines

Authors:

Filina A. B., ✉ Junior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia. E-mail: byzonka@yandex.ru;

Svitich O. A., Cor. Memb. RAS, Ph D., director of the Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

Klinushkina E. F., hematologist, head of the department of clinical hematology and immunotherapy, SBHI of MA MRRCI n.a. M. F. Vladimirovskiy, Moscow, Russia;

Golenkov A. K., PhD, professor, hematologist, head of the clinic of clinical hematology and immunotherapy, SBHI of MA MRRCI n.a. M. F. Vladimirovskiy, Moscow, Russia;

Zverev V. V., PhD, Academician of RAS, DSc, Scientific Director of the Research, Mechnikov Research Institute of Vaccines and Sera, Moscow, Russia.