

ЭФФЕКТЫ ВАУ 11-7082 НА ФОРМИРОВАНИЕ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК *IN VITRO*

© 2019 г. В. В. Курилин^{1*}, Ю. Н. Хантакова^{1,2}, В. П. Терещенко¹,
Е. В. Куликова¹, В. С. Мелентьев¹, И. А. Облеухова¹

*E-mail: 2221910@ngs.ru

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

²ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

Поступила: 04.03.2019. Принята: 19.03.2019

Дендритные клетки (ДК) регулируют иммунные ответы, модулируя Т- и В-клетки в направлении эффекторных или толерогенных ответов. В этом исследовании оценили влияние ВАУ 11-7082 на формирование дендритных клеток мышей линии C57Bl/6 *in vitro* в присутствии рекомбинантного IL-10 или TGF-β. Было показано, что добавление ВАУ 11-7082 в культуру незрелых ДК мышей линии C57Bl/6 не оказывал значительного влияния на экспрессию молекул созревания дендритных клеток (CD80, CD86). При использовании ВАУ 11-7082 в сочетании с IL-10 или TGF-β, снижал экспрессию этих молекул. Совместное культивирование ДК со спленоцитами в присутствии ВАУ 11-7082 и IL-10/TGF-β способствовало дифференцировке регуляторных Т-клеток (CD4⁺CD25^{hi}FoxP3⁺) и не способствовало дифференцировке CD4⁺ Т-клеток, продуцирующих IL-10.

Ключевые слова: дендритные клетки, ВАУ 11-7082, интерлейкин-10, трансформирующий фактор роста бета, Т регуляторные клетки

DOI: 10.31857/S102872210006678-0

Адрес: 630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, д.14, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», лаборатория молекулярной иммунологии, Курилин Василий Васильевич. Тел. +8 (383) 222 19 10

E-mail: 2221910@ngs.ru

Авторы:

Курилин В. В., к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Минобрнауки, Новосибирск, Россия;

Хантакова Ю. Н., к.м.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия; преподаватель кафедры фундаментальной медицины Института медицины и психологии им. В. Зельмана Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» (ФГАОУВО НГУ), Новосибирск, Россия;

Терещенко В. П., очный аспирант ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Куликова Е. В., к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследователь-

ский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Мелентьев В. С., очный аспирант ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Облеухова И. А., к.б.н., научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Иммунная система обеспечивает эффективные защитные реакции против чужеродных патогенов, но не реагирует на аутоантигены, таким образом, сохраняя целостность организма и подерживая иммунологическую толерантность. Этот селективный ответ на антигены зависит от регуляторных механизмов, в том числе регуляторных иммунных клеток (дендритные клетки).

Основная **цель** этого исследования состояла в том, чтобы оценить влияние ВАУ 11-7082 на формирование дендритных клеток с помо-

шью цитокинов IL-10 и TGF- β . Интерес представляет изучение изменения фенотипических и функциональных свойств дендритных клеток, индуцированных в присутствии ключевых иммуносупрессорных цитокинов IL-10 или TGF- β , под воздействием дополнительного фактора подавления клеточной активности – BAY 11-7082 (ингибитор Nf- κ B).

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ МЕТОДЫ

В эксперименте использовали двухмесячных самок мышей линии C57BL/6 (масса тела 20–25 г). Исследование соответствовало принципам, изложенным в Хельсинкской декларации. Источником получения дендритных клеток был костный мозг. Клетки костного мозга культивировали в «полной» питательной среде RPMI-1640 с добавлением 20 нг/мл gmGM-CSF и 20 нг/мл gmIL-4 в течение 3-х суток. Затем были сформированы экспериментальные группы в зависимости от добавления иммуносупрессорных факторов: BAY 11-7082 (2,5 мкМ), gmIL-10 (10 нг/мл) и gmTGF- β (10 нг/мл). Через 3 дня анализировали фенотип индуцированных ДК методом проточной цитофлуориметрии с использованием соответствующих комбинаций моноклональных антител. Функциональные свойства ДК оценивали путем совместного культивирования с аллогенными спленоцитами в соотношении 1:10 – изменение содержания CD4⁺CD25^{hi}FoxP3⁺ Т-клеток, внутриклеточной экспрессии IL-10 в CD4⁺ Т-лимфоцитах методом проточной цитофлуориметрии и оценка содержания IL-10 в кондиционированной среде с помощью методом ELISA. Пролиферацию спленоцитов оценивали с использованием не-радиоактивного теста PreMix WST-1 в соответ-

ствии с протоколом производителя. Статистический анализ проводился с использованием программного обеспечения GraphPadPrism 6.0. Различия между параметрами считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Было показано, что использование gmIL-10 и gmTGF- β для формирования дендритных клеток, приводило к значительному снижению экспрессию костимулирующих молекул на поверхности CD11c⁺H2-b⁺ ДК. Совместное культивирование спленоцитов и ДК, обработанных gmIL-10 или gmTGF- β , значительно увеличивало частоту CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ Т-клеток и продукцию IL-10.

Кроме того, наблюдается снижение пролиферативной активности спленоцитов по сравнению с группой незрелых ДК. Эти результаты свидетельствуют о выраженном влиянии gmIL-10 и gmTGF- β на формировании дендритных клеток, обладающих противовоспалительной активностью на культуру спленоцитов.

Наше исследование показало, что BAY 11-7082 практически не влиял на фенотип и функциональную активность индуцированных ДК у мышей C57Bl/6. Отсутствие ожидаемого супрессорного эффекта BAY 11-7082 можно объяснить участием других транскрипционных путей в индукции созревания ДК. Однако одновременное применение BAY 11-7082 и gmIL-10 или BAY 11-7082 и gmTGF- β для дифференцировки ДК оказывало влияния на экспрессию костимулирующих молекул ДК или толерогенный потенциал совместных культур спленоцитов.

Работа выполнена в рамках проекта РФФИ 16-15-00086.

EFFECTS OF BAY 11-7082 ON THE FORMATION OF IMMUNOSUPPRESSOR DENDRITIC CELLS *IN VITRO*

© 2019 V. V. Kurilin^{1*}, Yu. N. Khantakova^{1,2}, V. P. Tereshchenko¹,
E. V. Kulikova¹, V. S. Melentiev¹, I. A. Obleukhova¹

*E-mail: 2221910@ngs.ru

¹Federal State Budgetary Scientific Institution "Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology", Russia, Novosibirsk;

²Novosibirsk State University, Russia, Novosibirsk

Received: 04.03.2019. Accepted: 19.03.2019

Dendritic cells (DCs) regulate immune responses by modulating T and B cells in the direction of effector or tolerogenic responses. In this study, the effect of BAY 11-7082 on the formation of immunosuppressive DC of C57Bl/6 mice *in vitro* using recombinant IL-10 or TGF- β was evaluated. It was shown that the addition of BAY 11-7082 to the culture of immature DCs did not significantly affect the expression of the maturation molecules of dendritic cells (CD80, CD86). When using BAY 11-7082 in combination with IL-10 or TGF- β , reduced the expression of these molecules. The joint cultivation of DC with splenocytes in the presence of BAY 11-7082 and IL-10/TGF- β promoted the differentiation of regulatory T-cells (CD4⁺CD25^{hi}FoxP3⁺) and did not contribute to the differentiation of CD4⁺ T-cells producing IL-10.

Key words: dendritic cells, BAY 11-7082, interleukin-10, transforming growth factor beta, Treg cells

Authors:

Kurilin V. V., ✉ PhD, Senior Researcher of the Laboratory of Molecular Immunology, Federal State Budgetary Scientific Institution "Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology" (RIFCI), Novosibirsk, Russia;

Khantakova Yu.N., PhD, Researcher of the Laboratory of Molecular Immunology, RIFCI, Russia, Novosibirsk; Lecturer, Department of Fundamental Medicine, Institute of Medicine and Psychology V. Zelman of Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia;

Tereshchenko V. P., Ph.D. student of the RIFCI, Novosibirsk, Russia;

Melentiev V. S., Ph.D. student of the RIFCI, Novosibirsk, Russia;

Kulikova E. V., Ph.D., Researcher of the Laboratory of Molecular Immunology, RIFCI, Novosibirsk, Russia;

Obleukhova I. A., Ph.D., Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, RIFCI, Novosibirsk, Russia.