

ЭКСПРЕССИЯ РЕЦЕПТОРОВ К СОСУДИСТО-ЭНДОТЕЛИАЛЬНОМУ ФАКТОРУ РОСТА-1 (VEGFR-1) И ИХ РОЛЬ В РЕГУЛЯЦИИ ПРОЛИФЕРАЦИИ Т-ЛИМФОЦИТОВ

© 2019 г. Е. А. Ташкина^{1*}, О. Ю. Леплина¹, Е. В. Баторов¹,
А. А. Останин¹, Н. М. Пасман²

*E-mail: ct_lab@mail.ru

¹ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

²«Новосибирский национальный исследовательский государственный университет» Новосибирск, Россия

Поступила: 15.03.2019. Принята: 02.04.2019

В работе исследована экспрессия рецепторов к сосудисто-эндотелиальному фактору роста-1 (VEGFR-1) на CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов доноров в культурах мононуклеарных клеток, а также влияние фактора роста плаценты (PIGF) на пролиферацию Т-клеток. Установлено, что свежeweделенные Т-клетки характеризуются низкой экспрессией VEGFR-1, которая возрастает при спонтанном культивировании Т-клеток и, в наибольшей степени, при активации Т-лимфоцитов aCD3 антителами. Максимальное возрастание VEGFR-1 –позитивных CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток регистрируется через 48 час. PIGF в широком диапазоне доз ингибирует пролиферацию aCD3-стимулированных Т-клеток, в одинаковой степени подавляя деление CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов.

Ключевые слова: рецепторы к сосудисто-эндотелиальному фактору роста-1(VEGFR-1), фактор роста плаценты (PIGF), Т-лимфоциты

DOI: 10.31857/S102872210006534-2

Адрес: 630091 Новосибирск, ул. Ядринцевская 14 ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, лаборатория клеточной иммунотерапии. Ташкина Екатерина Александровна.

Тел./факс: +7(383) 228 21 01, E-mail: ct_lab@mail.ru

Авторы:

Ташкина Е. А., аспирант лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Леплина О. Ю., д.м.н., ведущий научный сотрудник, лаборатория клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Баторов Е. В., к.м.н., научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Останин А. А., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник, лаборатория клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», Новосибирск, Россия;

Пасман Н. М., д.м.н., профессор зав. кафедрой акушерства и гинекологии «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия.

ВВЕДЕНИЕ

Иммуномодулирующий эффект анти-ангиогенной терапии выявил важную роль факторов роста эндотелия сосудов (VEGF) в регуляции иммунной системы [1]. Большинство эффектов VEGF на функции Т-клеток опосредуются через связывание с рецепторами 2 типа (VEGFR-2) [2], тогда как участие VEGF рецептора 1 типа (VEGFR-1) в модуляции функций Т-клеток остается неясным.

Целью работы явилось изучение экспрессии VEGFR-1 на Т-клетках и оценка влияния плацентарного фактора роста (PIGF), являющегося селективным лигандом для VEGFR-1, на пролиферацию Т-лимфоцитов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 42 здоровых донора крови. Мононуклеарные клетки (МНК) периферической крови выделяли стандартно

методом градиентного центрифугирования. Для стимуляции клеток использовали растворимые моноклональные анти-CD3 антитела (aCD3, 1 мкг/мл). Рекombинантный PlGF добавляли в концентрации 0,1–100,0 нг/мл. Интенсивность пролиферации МНК оценивали радиометрически по включению ³H-тимидина. Пролиферацию CD4 и CD8 Т-клеток оценивали цитофлуориметрически по разведению флуоресцентной метки CFSE. Экспрессию VEGFR-1 оценивали методом проточной цитофлуориметрии с использованием FITC-(CD8), PE-(CD4) и APC-(VEGFR-1) меченных моноклональных антител (BD, США). Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета прикладных программ Statistica 6.0. Данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильного диапазона (IQR).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, несущих поверхностный VEGFR-1, в свежeweделенных МНК было низким и составляло соответственно 1,29 (0,2–4,4) и 0,51 (0,24–2,17)%. При культивировании МНК в отсутствие каких-либо стимулов доля CD4⁺VEGFR-1⁺ и CD8⁺VEGFR-1⁺ клеток достоверно возрастала, достигая через 48 часов соответственно 6,15% (2,0–11,0)%; $p_U=0,017$ и 7,8% (2,5–11,5)%; $p_U=0,027$), а к 72 часам снижалось. Стимуляция МНК aCD3 приводила к достоверно более выраженному усилению экспрессии VEGFR-1 на CD4 и CD8 Т-клетках на всех исследуемых временных точках. Максимальное возрастание VEGFR-1-позитивных CD4 и CD8 Т-клеток регистрировалось через 48 часов и составляло соответственно 15,0 (7,0–21,5) и 14,0 (6,0–21,0).

Добавление PlGF в культуры aCD3-стимулированных МНК достоверно ингибировало пролиферацию Т-клеток. Ингибирующий эффект PlGF проявлялся в широком диапазоне доз (от 0,1 до 100 нг/мл) и в концентрации 5 нг/мл составлял 45%, варьируя от 25 до 76%. При этом супрессорная активность PlGF не исчезала после однократного истощения моноцитов. При анализе влияния на пролиферацию отдельных субпопуляций Т-клеток ингибирующий эффект PlGF в отношении CD8⁺ Т-лимфоцитов составлял 28% (IQR 8–39%) и не отличался зна-

чимо от выраженности супрессорного эффекта PlGF на пролиферацию CD4⁺ Т-клеток (30%; IQR 25–40%; $p_U=0,3$). Таким образом, обе субпопуляции Т-лимфоцитов обладали чувствительностью к супрессорному действию PlGF.

Согласно данным литературы VEGF способен оказывать прямой ингибирующий эффект на пролиферацию Т-клеток через связывание с VEGFR-2 [2]. В то же время супрессорный эффект PlGF на функции Т-клеток опосредован связыванием фактора с VEGFR-1 на дендритных клетках и подавлением их созревания [3]. Полученные нами результаты впервые демонстрируют прямой ингибирующий эффект PlGF на пролиферацию Т-клеток, что подтверждается экспрессией VEGFR-1 Т-клетками и сохранной супрессорной активностью VEGFR-1 после истощения моноцитов. При этом выявление сопряженности между экспрессией VEGFR-1 и активацией Т-клеток отчасти объясняет противоречивые данные об экспрессии данного рецептора на Т-клетках в исследованиях других авторов [4, 5].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Ozao-Choy J., Ma G., Kao J., Wang G., Meseck M., Sung M., Schwartz M., Divino C., Pan P., Chen S.* The novel role of tyrosine kinase inhibitor in the reversal of immune suppression and modulation of tumor microenvironment for immune-based cancer therapies. *Cancer Res.* 2009, 69(6), 2514–2210.
2. *Voron T., Marcheteau E., Pernot S., Colussi O., Tartour E., Taieb J., Terme M.* Control of the immune response by pro-angiogenic factors. *Front Oncol.* 2014, 4, 70.
3. *Lin Y-L., Liang Y-C., Chiang B-L.* Placental growth factor down-regulates type 1 T helper immune response by modulating the function of dendritic cells. *Journal of Leukocyte Biology*, 2007, 82, 1473–2480.
4. *Ziogas A., Gavalas N., Tsiatas M., Tsitsilonis O., Politi E., Terpos E., Rodolakis A., Vlahos G., Thomakos N., Haidopoulos D., Antsaklis A., Dimopoulos M., Bamias A.* VEGF directly suppresses activation of T cells from ovarian cancer patients and healthy individuals via VEGF receptor Type 2. *Int J Cancer.* 2012, 130; 4, 857–864.
5. *Basu A., Hoerning A., Datta D., Edelbauer M., Stack M., Calzadilla K., Pal S., Briscoe D.* Cutting edge: vascular endothelial growth factor-mediated signaling in human CD45RO⁺CD4⁺ T cells promotes Akt and ERK activation and costimulates IFN-gamma production. *J Immunol.* 2010, 184; 2, 545–549.

EXPRESSION OF VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR RECEPTORS 1 (VEGFR-1) AND THEIR ROLE IN THE REGULATION OF T CELL PROLIFERATION

© 2019 E. A. Tashkina^{1*}, O. Yu. Leplina¹, E. V. Batorov¹,
A. A. Ostanin¹, N. M. Pasman²

*E-mail: ct_lab@mail.ru

¹Federal Budget Institution of Science «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology», Novosibirsk, Russia;

²Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia

Received: 15.03.2019. **Accepted:** 02.04.2019

The expression of vascular endothelial growth factor receptors-1 (VEGFR-1) on CD4⁺ and CD8⁺ donor T lymphocytes in mononuclear cell (MNC) cultures, as well as the effect of placental growth factor (PIGF) on T cell proliferation have been investigated. Freshly isolated T cells had low expression of VEGFR-1, which increased during spontaneous cultivation of T cells and most strongly upon activation of T lymphocytes with aCD3 antibodies. The maximum increase in VEGFR-1 – positive CD4⁺ and CD8⁺ T cells is observed at 48 hours. PIGF in a wide dose range inhibits the proliferation of aCD3-stimulated T cells, suppressing CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocyte division to the same extent.

Key words: VEGFR-1, placental growth factor (PIGF), T-lymphocytes

Authors:

Tashkina E. A., ✉ Postgraduate Student, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia. **E-mail:** ct_lab@mail.ru;

Leplina O. Yu., PhD, MD (Medicine), Leading Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

Batorov E. V., PhD (Medicine), Research Associate, Laboratory of Cellular Immunotherapy, Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia;

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

Pasman N. M., PhD, MD, Professor (Medicine), Head of Department of Obstetrics and Gynecology, Novosibirsk National Research State University. Novosibirsk, Russia.