

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ГЕНЕРАЦИИ ТОЛЕРОГЕННЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗНЫХ ИНДУКТОРОВ ПРИ ОДНОВРЕМЕННОМ СОКУЛЬТИВИРОВАНИИ С МЕЗЕНХИМАЛЬНЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ ОБОНЯТЕЛЬНОЙ ВЫСТИЛКИ

Минич Я.С., Антоневиц Н.Г., Гончаров А.Е.

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Введение. Для разработки протокола генерации толерогенных дендритных клеток (толДК) проведен сравнительный анализ различных индукторов толерогенных свойств. Цель работы – оценить эффективность генерации толДК путем сокультивирования с мезенхимальными стволовыми клетками обонятельной выстилки (МСК) в присутствии витамина Д₃, дексаметазона и TGF-β.

Методы. Культуру ДК получали из моноцитов периферической крови (n = 4), выделенных методом иммуномагнитной сепарации, культивированных 3 сут в среде AIM-V с ГМ-КСФ, интерлейкином-4 и с одним из исследуемых веществ: витамин Д₃, дексаметазон и TGF-β. Полученные ДК сокультивировали еще 3-4 сут с МСК в присутствии витамина Д₃, дексаметазона или TGF-β. В качестве контроля использовали незрелые ДК. Оценивали иммунофенотип (HLA-DR, CD80, CD86, CD275, CD85k) полученных ДК методом проточной цитометрии. Использовали непараметрические методы статистического анализа.

Результаты. Проведен анализ иммунофенотипа ДК в группах: 1) незрелые ДК, 2) ДК+МСК, 3) ДК+МСК+витамин Д₃, 4) ДК+МСК+дексаметазон, 5) ДК+МСК+TGF-β.

Установлено, что при сокультивировании ДК с МСК в сравнении с незрелыми ДК достоверно снижалась интенсивность экспрессии молекулы HLA-DR на поверхности ДК. При этом повышалось количество ДК и интенсивность экспрессии костимуляторной молекулы CD80 (незДК – 11,7%; ДК+МСК – 51,8%), а также интенсивность экспрессии коингибиторной молекулы CD275.

Добавление к сокультуре ДК и МСК витамина Д₃ не приводило к увеличению количества CD80⁺-клеток, наблюдалось достоверное снижение интенсивности экспрессии костимуляторных молекул CD80 и CD86. При сокультивировании ДК с МСК в присутствии TGF-β также наблюдается снижение интенсивности экспрессии костимуляторных молекул CD80 и CD86, однако вместе с этим снижается и интенсивность экспрессии коингибиторных молекул CD85k (ДК+МСК – 4,46 усл.ед.; ДК+МСК+TGF-β – 1,35 усл.ед.) и CD275 (ДК+МСК – 1,06 усл.ед.; ДК+МСК+TGF-β – 0,85 усл.ед.) на поверхности ДК. Сокультивирование ДК с МСК в присутствии дексаметазона достоверно повышает интенсивность экспрессии молекулы HLA-DR.

Заключение. На основании проведенного сравнительного анализа установлено, что наиболее эффективным способом формирования толерогенного иммунофенотипа является сокультивирование дендритных клеток с культурой мезенхимальных стволовых клеток обонятельной выстилки в присутствии витамина Д₃. Полученные клетки характеризуются сниженной экспрессией HLA-DR, костимуляторных молекул CD80 и CD86, наличием на мембране коингибиторных молекул CD275 и CD85k.