

МЕТОД ГЕНЕРАЦИИ ТУЧНЫХ КЛЕТОК ИЗ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

И. В. Романова¹, А. Е. Гончаров¹, Л. З. Шереметьева²

¹Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Беларусь

²Учреждение здравоохранения «3-я городская клиническая больница им. Е.В. Клумова» г. Минска, Беларусь

Введение. Перспективным направлением в диагностике аллергических реакций немедленного типа представляет собой оценка аллерген-специфической активации тучных клеток. Тучные клетки обильно представлены преимущественно в коже и слизистых и отсутствуют в периферической крови. В достаточном количестве тучные клетки можно получить с помощью методов культивирования клеток-предшественников, например, из гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) пуповинной крови.

Материалы и методы. Всего в исследовании было использовано 19 образцов пуповинной крови. Гемопоэтические стволовые клетки были выделены из мононуклеарных клеток с помощью положительной иммуномагнитной селекции CD34⁺-клеток (Miltenyi Biotec, Германия). ГСК культивировали с использованием бессывороточной питательной среды StemPro-34 SFM (Gibco (Thermo Scientific), США) с коктейлем цитокинов: SCF (100 нг/мл) и IL-6 (50 нг/мл). С целью эффективной пролиферации ГСК добавляли IL-3 (10 нг/мл) в течение первых двух недель культивирования. Начиная с четвертой недели культивирования с целью созревания клеток добавляли АВ0-сыворотку (10%). Каждые 5–6 дней оценивали поверхностные маркеры на культивируемых клетках: CD117, CD203c, FcεRI, CD63, CD107a. Для оценки специфической активации и дегрануляции использовали моноклональное антитело к IgE (клон 4H10).

Результаты. В зависимости от объема образца пуповинной крови среднее количество выделенных ГСК составило 0,5 (0,18–0,96)·10⁶ клеток. Установлено, что начиная с 10-11 суток культивирования не менее 60% клеток экспрессировали линейный маркер для тучных клеток CD203c. При этом сохранялась экспрессия рецептора фактора роста тучных и стволовых клеток молекулы CD117. Также оценивали экспрессию высокоаффинного рецептора к IgE молекулы FcεRI на двойных позитивных клетках CD117⁺CD203c⁺. Интенсивность экспрессии FcεRI значительно усиливалась к концу 5-й недели культивирования после добавления аутологичной сыворотки. При оценке IgE-опосредованной активации тучные клетки демонстрировали экспрессию маркеров дегрануляции: CD107a и CD63.

Выводы. Полученные функционально зрелые тучные клетки могут быть использованы с целью оценки IgE-опосредованной активации при постановке теста активации тучных клеток (MAT – mast cell activation test) для диагностики аллергических реакций немедленного типа.

Библиографические ссылки

1. Mast cell activation test in the diagnosis of allergic disease and anaphylaxis / R. Bahri [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. 2018. Vol. 142, iss. 2. P. 485–496.
2. A novel functional mast cell assay for the detection of allergiess / N. Zbaren [et al.] // J. Allergy Clin. Immunol. 2022. Vol. 149. P. 1018–1030.