

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-358

**ИНДУКЦИЯ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ ТОЛЕРАНТНОСТИ С ПОМОЩЬЮ
ТОЛЕРОГЕННЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АРТРИТЕ *****INDUCTION OF IMMUNOLOGICAL TOLERANCE
USING TOLERANT DENDRITIC CELLS IN EXPERIMENTAL ARTHRITIS**

М. С. Фишер, В. В. Курилин, С. В. Сенников

Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии, Новосибирск

M. S. Fisher, V. V. Kurilin, S. V. Sennikov

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk

✉ msolshanova@gmail.com

Аннотация

Восстановление иммунологической толерантности с помощью толерогенных дендритных клеток (толДК) является перспективным направлением в терапии аутоиммунных заболеваний. В нашем исследовании мы проанализировали эффективность использования дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, для индукции иммунологической толерантности в экспериментальной модели артрита.

Abstract

Restoration of immunological tolerance with the help of tolerant dendritic cells (tolDC) is a promising direction in the treatment of autoimmune diseases. In our study, we analyzed the effectiveness of using dendritic cells transfected with DNA constructs to induce immunological tolerance in an experimental model of arthritis.

Активно развивающийся подход с применением толерогенных дендритных клеток (толДК), он является одним из методов восстановления иммунологической толерантности. Неспецифические толДК обладают потенциалом подавлять функциональную активность не только аутореактивных Т-клеток, но и других иммунных клеток. Это может привести к риску возникновения инфекционных и онкологических заболеваний, нефро- и гепатотоксичности. При производстве антиген-специфических дендритных клеток (ДК) встает проблема выбора антигенов для нагрузки, т. к. в патогенезе аутоиммунных заболеваний участвует несколько аутоантигенов, и толерантность только к одному из них может не привести к эффекту. Возможно, одновременное использование нескольких аутоантигенов или трансфекция экзогенной ДНК, кодирующей несколько пептидов, решит эту проблему. Важным аспектом является сохранение устойчивого толерогенного фенотипа ДК. Одним из хемокинов, который может одновременно влиять на миграцию и сохранение толерогенного фенотипа ДК, является CCR9. В нашем исследовании мы использовали ДНК-конструкции, кодирующие IL-10 и CCR9 для создания толДК с более устойчивым толерогенным фенотипом, и коллаген II типа для получения антиген-специфических клеток.

Цель: оценить эффективность применения дендритных клеток, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими IL-10, коллаген II типа и CCR9, для индукции иммунологической толерантности в экспериментальной модели артрита.

Материалы и методы

ДК были получены из клеток костного мозга мышей линии Balb/c и культивировались при добавлении IL-4 и GM-CSF. Через 5–7 суток ДК подвергались трансфекции методом электропорации при использовании следующих плазмид: pmaxCCR9, pmaxIL-10 и pmaxКоллаген типа II. Через 24 часа после трансфекции фенотип и функции ДК были изучены с помощью иммуноферментного анализа и проточной цитометрии. Миграцию электропорированных ДК оценивали *in vitro*. Индукцию антиген-коллаген индуцированного артрита (АКИА) проводили в соответствии с протоколом у мышей Balb/c. Затем мышам с АКИА вводили ДК. Развитие артрита отслеживали, измеряя припухлость лап с помощью штангенциркуля в разные моменты времени. Иммунологи-

* Исследование выполнено за счет средств федерального бюджета для выполнения государственного задания на научно-исследовательскую работу «Обоснование и разработка новых технологий иммуномодуляции, стимуляции репаративных процессов и коррекции поведенческих и аддиктивных расстройств на основе использования миелоидных, лимфоидных и стволовых клеток и/или продуктов их секрета» (№ 122011800324-4).

ческие изменения оценивали путем анализа содержания антител к коллагену II типа с помощью иммуноферментного анализа. Дополнительно было проведено гистологическое исследование тканей суставов с последующим анализом данных.

Результаты и обсуждение

В результате мы получили дендритные клетки, которые характеризовались сниженной экспрессией молекул CD80, CD86 и H-2dB (MHC класса I), но при этом повышенной экспрессией CCR9. Эти клетки также продуцировали IL-10 и обладали миграционной активностью к клеткам тимуса. Трансфицированные ДК индуцировали Т-регуляторные клетки и повышали внутриклеточное содержание IL-10 и TGF- β в CD4⁺Т-клетках в их совместной культуре. Кроме того, толДК подавляли пролиферативную активность CD4⁺Т-клеток в ответ на антиген. Введение ДК, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими IL-10, CCR9 и эпитопы коллагена II типа мышам с АКИА приводило к достоверному уменьшению припухлости лап, снижению уровня антител к коллагену II типа и регрессу гистологических изменений.

Выводы

Таким образом, наше исследование демонстрирует, что использование ДК, трансфицированных ДНК-конструкциями, кодирующими эпитопы коллагена II типа, IL-10 и CCR9, способствует развитию иммунологической толерантности, что, в свою очередь, помогает контролировать воспаление и снижать тяжесть экспериментального артрита.