

DOI: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-42-49
УДК: 616.155.14:616-006:612.017

Для цитирования: Козлов В.А., Селедцова Г.В., Доржиева А.Б., Иванова И.П., Селедцов В.И. Противоопухолевые свойства ядерных эритроидных клеток. Сибирский онкологический журнал. 2022; 21(3): 42–49. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-42-49

For citation: Kozlov V.A., Seledtsova G.V., Dorzhieva A.B., Ivanova I.P., Seledtsov V.I. Antitumor properties of nuclear erythroid cells. Siberian Journal of Oncology. 2022; 21(3): 42–49. – doi: 10.21294/1814-4861-2022-21-3-42-49

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ СВОЙСТВА ЯДЕРНЫХ ЭРИТРОИДНЫХ КЛЕТОК

В.А. Козлов¹, Г.В. Селедцова¹, А.Б. Доржиева¹, И.П. Иванова¹,
В.И. Селедцов²

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
г. Новосибирск, Россия¹

Россия, 630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14. E-mail: galina-seledtsova@yandex.ru¹

ФГБНУ «Центральная клиническая больница РАН», г. Москва, Россия²

Россия, 117593, г. Москва, Литовский бульвар, 1А²

Аннотация

Целью исследования явилось изучение супрессорной и/или цитотоксической активности ядерных эритроидных клеток (ЯЭК) в отношении опухолевых клеток различного происхождения. **Материал и методы.** В работе использованы мыши линии C57Bl/6, клетки опухолевых линий P815, L1210, B16 и L929. «Фенилгидразиновые» ЯЭК получали от мышей с индуцированной гемолитической анемией. «Эритропоэтиновые» ЯЭК выделяли из «фенилгидразиновой селезенки» и далее культивировали в присутствии эритропоэтина. Еще одним источником ЯЭК были селезенки новорожденных мышей, клетки фетальной печени человека и мыши и клетки костного мозга мыши, прокультивированные с эритропоэтином. Цитостатический эффект ЯЭК или их супернатантов регистрировали по снижению пролиферации линий P815, L1210, B16, LLC, L929. **Результаты.** Обнаружено наличие выраженной прямой противоопухолевой активности как у ЯЭК, так и у продуктов их культивирования в отношении клеток различных опухолевых линий. Супрессорный эффект неспецифичен. **Заключение.** Учитывая цитостатическую активность ЯЭК, их существенное численное преобладание во время развития эмбриона над всеми другими ростками кроветворения, можно предположить возможность участия эритробластов в процессе создания противоопухолевой защиты плода в этот период жизни.

Ключевые слова: ядерные эритроидные клетки, эритробласты, противоопухолевая активность.

ANTITUMOR PROPERTIES OF NUCLEAR ERYTHROID CELLS

V.A. Kozlov¹, G.V. Seledtsova¹, A.B. Dorzhieva¹, I.P. Ivanova¹, V.I. Seledtsov²

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, Novosibirsk, Russia¹
14, Yadrintsevskaya St., 630099, Novosibirsk, Russia.

E-mail: galina-seledtsova@yandex.ru¹

Central Clinical Hospital of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia²
1A, Litovsky Blvd., 117593, Moscow, Russia²

Abstract

Purpose. To study suppressor and/or cytotoxic activity of the nuclear erythroid cells (NEC) against tumor cells of various origins. **Material and Methods.** C57Bl/6 mice and P815, L1210, B16 and L929 tumor cells were used. "Phenylhydrazine" NECs were obtained from mice with induced hemolytic anemia. "Erythropoietin" NECs were isolated from the "phenylhydrazine spleen" and further cultured in the presence of erythropoietin. Another source of NEC was neonatal mouse spleen, human and mouse fetal liver cells, and mouse bone marrow cells cultured with erythropoietin. The cytostatic effect of NEC or their supernatants was recorded by reducing proliferation of P815, L1210, B16, LLC, L929 lines. **Results.** The presence of pronounced direct antitumor activity was found in both NEC and their culturing products in relation to cells of various tumor lines. The suppressor effect was not specific. **Conclusion.** We know about the significant numerical predominance of NEC during the embryo development over all other hematopoietic cells and their high suppressive potential. Therefore, it can be assumed that erythroblasts are involved in process of creating antitumor protection of a fetus during this period of life.

Key words: nuclear erythroid cells, erythroblasts, antitumor activity.

Введение

В процессе эмбриогенеза эритробласты (ядерные эритроидные клетки, ЯЭК) являются наиболее массовым клеточным продуктом размножения полипотентных стволовых кроветворных клеток, которые впервые появляются в желточном мешке эмбриона и затем мигрируют в печень эмбриона, которая и становится основным гемопоэтическим органом на протяжении всего периода внутриутробного развития [1]. В эмбриональной печени на ранних этапах развития обнаруживаются только В-лимфоциты при полном отсутствии Т-лимфоцитов до момента созревания тимуса [2].

В многочисленных исследованиях было показано, что эритробласты обладают способностью подавлять функции Т- и В-клеточного звена иммунитета [3, 4]. Иммуносупрессивной активностью обладали эритробласты, выделенные из эмбриональной печени человека и мышей, клеток селезенки новорожденных животных и селезенки мышей, подвергнутых воздействию гипоксии или гемолитического яда – фенилгидразина [5]. При этом наибольшим супрессивным эффектом обладали ЯЭК из эмбриональной печени, по сравнению с клетками из других источников [4]. Что касается механизмов иммуносупрессивного действия ЯЭК, было выяснено, что эти клетки, по всей вероятности, продуцируют целый ряд цитокинов, таких как IL-4, IL-10, IFN- γ , TNF- α , TGF- β , из которых три последних могут иметь отношение к подавлению активности В-клеток [6]. Получены данные о том, что эритробласты обладают способностью повреждать мембраны клеток селезенки мышей при их совместном культивировании. Повреждение целостности мембран клеток оценивали по уровню выхода из клеток ЗН-уридина [5]. Результаты этих исследований позволили предположить, что эритробласты могут обладать и цитотоксической активностью в отношении других клеточных элементов, включая опухолевые клетки.

Во взрослом организме костный мозг является местом с наиболее высокой пролиферативной активностью клеток, поэтому логично пред-

положить, что основные механизмы контроля пролиферативных процессов сосредоточены и реализуются именно здесь. Популяционный состав костного мозга представлен незрелыми клетками всех ростков кроветворения, однако доля клеток, относящихся к эритроидному ряду, значительно превышает все остальные ростки и достигает 30 %. Мы полагаем, что именно ЯЭК задействованы в реализации программ, обеспечивающих стабильность популяционного состава костного мозга путем ограничения размножения как нормальных клеток, вовлеченных в гемопоэз, так и возникающих из них опухолевых клеток.

Целью исследования явилось изучение возможной супрессорной и/или цитотоксической активности ЯЭК в отношении опухолевых клеток различного происхождения.

Материал и методы

Животные

Мыши C57Bl/6 (B6) получены из питомника НИИФиРМ им. Е.Д. Гольдберга Томский НИМЦ.

Линии опухолевых клеток

Клетки P815 (мастоцитомы), L1210 (лимфома), B16 (меланома), L929 (трансформированная соединительная ткань) сохраняли пассированием *in vitro* в среде RPMI 1640, содержащей 10 % фетальной сыворотки коров (FCS), L-глутамин и антибиотики.

Культуральные среды и реагенты

Среда RPMI 1640, NEPES, L-глутамин, гентамицин (Sigma-Aldrich, США), рекомбинантный эритропоэтин (ЭПО) (Cilag, Швейцария), Кон А (Pharmacia Biotechnology, Швеция), [H-3]-тимидин (НПО «Изотоп», С-Петербург). Клетки костного мозга, селезенки и фетальной печени получали посредством мягкого выдавливания клеток из ткани стромы органа. Полученные клеточные суспензии отстаивали 7 мин для удаления крупных недиссоциированных конгломератов. Выделенные из тканей органов клетки культивировали в RPMI 1640 в присутствии 10мМ NEPES, 2мМ L-глутамина, меркаптоэтанола, 30 мкг/мл гентамицина и 10 % FCS.

Источники и методы получения ядросодержащих эритроидных клеток

«Фенилгидразиновые» ЭК. Гемолитический яд фенилгидразин вводили мышам внутривенно в дозе 1,2 мг/мышь 3 раза с интервалами в 12 и 20 ч для индукции гемолитической анемии. Через 48 ч после последней инъекции у мышей забирали селезенки и использовали их в качестве источника ЯЭК. ЯЭК, присутствующие в спленоцитах, отделяли от эритроцитов центрифугированием при 400 g в градиенте перколлы (плотность 1,076) в течение 30 мин. Из полученной суспензии методом «пэннинга» получали популяцию эритроидных бластных клеток, для чего суспензию клеток, предварительно обработанных анти-CD3+ антителами, помещали в пластиковую культуральную чашку с предварительно адсорбированными на ней кроличьими АТ к Ig-G мыши. Процедуру «пэннинга» проводили согласно методу, описанному ранее [7]. В результате этой процедуры макрофаги прикреплялись к пластиковой поверхности чашки за счет неспецифического связывания, Т- и В-лимфоциты – за счет Ig-рецепторного взаимодействия с сорбированными на пластиковой поверхности чашки иммуноглобулинами кролика. Чистоту удаления Т- и В-лимфоцитов контролировали иммунофлюоресцентным анализом. После пэннинга не прикрепившиеся к пластику клетки отмывали и обрабатывали 15 мМ лейцин-метиловым эфиром в течение 30 мин. Полученная в результате обработки клеточная популяция на 95 % состояла из ЯЭК. Выделенные из «фенилгидразиновой селезенки» ЭК культивировали далее в присутствии 2–5 Ед/мл эритропоэтина (ЭПО) (или без него в контроле) в бессывороточной среде Искова, содержащей 0,5% бычьего сывороточного альбумина, 4мМ L-глутамина, 5×10^{-5} меркаптоэтанол, 30 мкг/мл гентамицина. Полученная в результате такого культивирования клеточная популяция на 97 % состояла из разной степени зрелости бластных эритроидных клеток.

«Новорожденные» ЯЭК. В наших экспериментах источником клеток были селезенки новорожденных мышей. ЯЭК выделяли методом «пэннинга», полученная популяция на 95 % была представлена ЯЭК, подавляющее большинство клеток имело базофильную цитоплазму.

ЯЭК, выделенные из костного мозга мышей, фетальной печени человека или мыши. Клетки фетальной печени человека получали из органа при процедуре аборта (срок гестации 10–12 нед). Клетки фетальной печени мышей получали из печени плодов мыши на стадии 15–17 дней беременности. Клетки костного мозга мышей получали из эпифизов бедренных костей взрослых животных. Полученные из костного мозга клетки в концентрации 5 млн/мл культивировали с 2 ед/мл эритропоэтина в течение 3 сут, далее клетки отмывали от стимулятора и использовали в экспериментах.

Получение культуральных супернатантов. ЯЭК, полученные из различных источников, в концентрации 4×10^6 /мл культивировали в бессывороточной среде Искова, с добавлением 4мМ L-глутамина в течение 24 ч. По окончании культивирования супернатанты отделяли от клеток центрифугированием и использовали в различных концентрациях в экспериментах.

Оценка противоопухолевой активности ЯЭК и полученных из них супернатантов. Клетки опухолевых линий P815, L1210, B16, LLC, L929 в соотношении 1:15 и 1:30 (1×10^5 кл/лунка опухолей культивировали в присутствии различных концентраций ЯЭК – 15×10^5 и 30×10^5 клеток/лунка или без них в контроле) или в присутствии 30–50 % супернатанта ЯЭК в течение 72 ч, далее оценивали пролиферацию опухолевых клеток по включению в клетки 3Н-тимидина или колориметрически с помощью МТТ-теста. Пролиферативную активность отображали в имп/мин, при использовании радиоактивного метода, или единицах оптической плотности, при использовании МТТ-теста. В этом случае опухолевые клетки культивировали с ЯЭК в течение 72 ч. По окончании культивирования планшеты центрифугировали 5 мин при $1000 \times g$, 4 °C, затем удаляли надосадок и в каждую лунку добавляли 50 мкл МТТ-реагента (набор МТТ-assay kit (cell proliferation), Abcam). После культивирования в течение 3 ч в условиях CO₂-инкубатора к пробам добавлялся растворитель МТТ. Через 15 мин пребывания планшета на орбитальном шейкере степень окрашивания лунок регистрировалась с помощью планшетного ридера при длине волны 590 нм. Интенсивность окрашивания была пропорциональна количеству клеток в лунках.

Процент супрессорной активности вычисляли следующим образом:

$$\% \text{ цитотоксичности} = \frac{100 \times (\text{контроль} - \text{опыт})}{\text{контроль}}.$$

Полученные результаты были проанализированы и графически представлены с помощью программы GraphPadPrizm8. Для оценки достоверности различий использовали тест one-way и two-way ANOVA программы GraphPadPrizm8. Достоверность различий экспериментальных данных представлена на рисунках. Данные на графиках представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки.

Все исследования проводились согласно протоколу гуманности, отраженному в директивах Европейского сообщества и Хельсинкской декларации, согласно «Правилам проведения работ с экспериментальными животными».

Результаты

В работе исследованы противоопухолевые свойства ядерных эритроидных клеток, полученных из различных источников: из клеток селезенки новорожденных мышей, из клеток фетальной печени

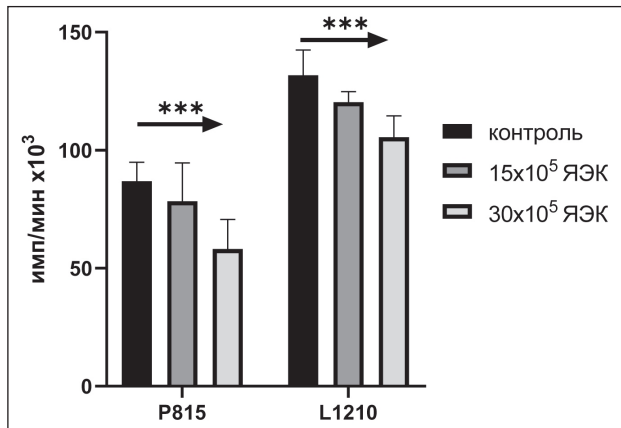


Рис. 1. Влияние различных концентраций ЯЭК, полученных из клеток селезенки новорожденных мышей, на пролиферацию клеток опухолевых линий P815 и L1210. Концентрация опухолевых клеток 1×10^5 кл/лунка (n=8).

Примечания: * – различия статистически значимы ($p < 0,01$); *** – различия статистически значимы ($p < 0,001$)

Fig. 1. The effect of different concentrations of NEC obtained from newborn mouse spleen cells on the proliferation of P815 and L1210 tumor cell lines. Concentration of tumor cells 1×10^5 cells/well (n=8).

Note: * – significant differences ($p < 0.01$), *** – significant differences ($p < 0.001$)

мыши и человека, из клеток костного мозга мышей и из селезенки анемичных мышей. Селезенка новорожденных мышей является основным источником кроветворения. Выделенную из селезенки методом «пеннинга» популяцию ЯЭК в концентрации 15×10^5 кл/лунка и 30×10^5 клеток помещали в лунки 96-луночного культурального планшета и совместно с клетками лейкозных опухолевых линий P815 и L1210 в концентрации 1×10^5 кл/лунка культивировали в течение 72 ч. Показано дозо-зависимое увеличение цитостатической активности ЯЭК в отношении двух лейкозных линий как P815 ($>30\%$), так и L1210 ($>20\%$) (рис. 1). Во время внутриутробного развития печень является основным источником кроветворения, в ее клеточном составе преобладают клетки эритроидного ростка кроветворения, составляя до 80 % ее клеточного состава. Далее в эксперименте были использованы клетки фетальной печени мышей 15–20 дней гестации (рис. 2A) или клетки печени плода человека (рис. 2B) 10–12 нед гестации, полученные после прерывания беременности по медицинским показаниям. Клетки фетальной печени мышей были добавлены к опухолевым клеткам линии меланомы B16, карциномы LLC и соединительно-тканной опухолевой линии L929 в концентрации 15×10^5 кл/лунка и 30×10^5 клеток в лунку планшета. Показано дозо-зависимое, значимое снижение пролиферации 3 опухолевых линий, наиболее выраженное при концентрации добавленных клеток в 30×10^5 через 24 ч совместного культивирования (рис. 2A). Аналогично показан дозо-зависимый, неспецифический супрессорный эффект клеток

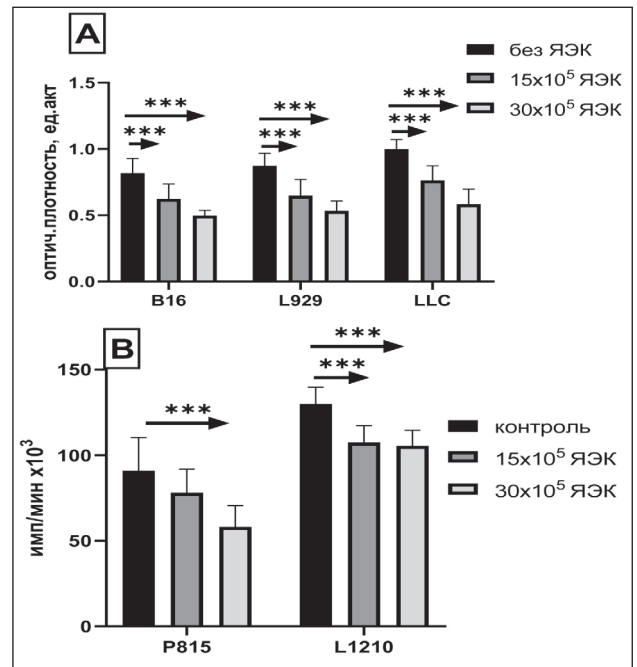


Рис. 2. Влияние различных концентраций ЯЭК, полученных из клеток фетальной печени мыши (A) или человека (B), на пролиферацию клеток опухолевых линий B16, L929 и LLC, P815 и L1210. Концентрация опухолевых клеток 1×10^5 кл/лунка (n=8).

Примечания: * – различия статистически значимы ($p < 0,01$); *** – различия статистически значимы ($p < 0,001$)

Fig. 2. The effect of various concentrations of NEC obtained from mouse (A) or human (B) fetal liver cells on the proliferation of tumor cell lines B16, L929 and LLC, P815 and L1210. Concentration of tumor cells 1×10^5 cells/well (n=8).

Note: * – significant differences ($p < 0.01$), *** – significant differences ($p < 0.001$)

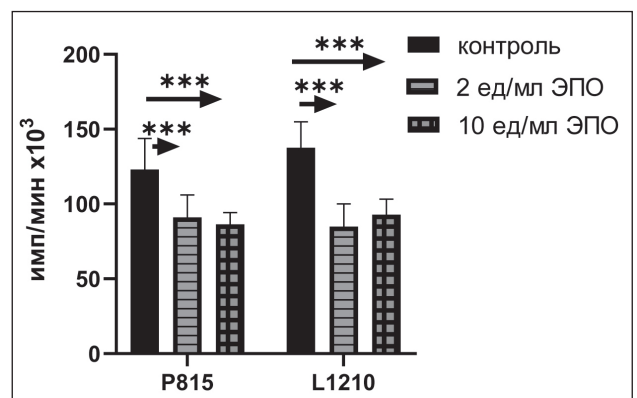


Рис. 3. Пролиферация клеток опухолевых линий P815 и L1210 в присутствии клеток костного мозга мышей, активированных в течение 48 ч различными концентрациями эритропоэтина (n=8).

Примечания: * – различия статистически значимы ($p < 0,01$); *** – различия статистически значимы ($p < 0,001$)

Fig. 3. Proliferation of P815 and L1210 tumor cell lines in the presence of mouse bone marrow cells activated for 48 h with various concentrations of erythropoietin (n=8).

Note: * – significant differences ($p < 0.01$), *** – significant differences ($p < 0.001$)

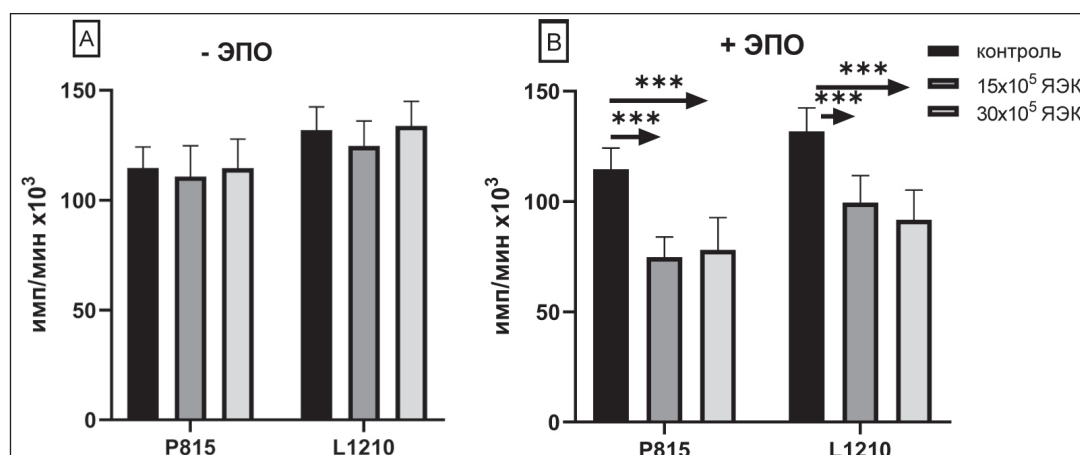


Рис. 4. Влияние различных концентраций ЯЭК, полученных из селезенок мышей с гемолитической анемией (А) и после культивирования с 2,5 ед/мл ЭПО (В), на пролиферацию клеток опухолевых линий P815 и L1210 (n=8).

Примечания: * – различия статистически значимы (p<0,01);

*** – различия статистически значимы (p<0,001)

Fig. 4. Effect of different concentrations of NEC obtained from the spleens of mice with hemolytic anemia (A) and after cultivation with 2.5 U/ml EPO (B) on the proliferation of P815 and L1210 tumor cell lines (n=8).

Note: * – significant differences (p<0.01), *** – significant differences (p<0.001)

фетальной печени человека на пролиферацию P815 и L1210 (рис. 2В). Клетки костного мозга взрослого организма содержат до 30 % клеток эритроидного ряда различной зрелости. Культивирование их с эритропоэтином (ЭПО) увеличивает концентрацию ЯЭК среди этих клеток в несколько раз. В серии экспериментов была оценена супрессорная способность клеток костного мозга, прокультивированных с ЭПО в течение 3 сут. Культивирование клеток костного мозга мышей с 2 ед/мл ЭПО более чем в 2 раза повышало супрессорную противоопухолевую активность клеток костного мозга (рис. 3). Для подтверждения участия клеток эритроидного ряда в супрессии пролиферации клеток различных опухолевых линий была получена популяция незрелых эритроидных клеток в модели индуцированной гемолитической анемии. Выделенные из селезенки мышей C57BL/6 методом позитивной селекции ЯЭК использовали в эксперименте по влиянию на пролиферацию опухолевых клеток *in vitro*. Мы не обнаружили супрессорного эффекта ЯЭК, полученных из селезенки мышей с гемолитической анемией (рис. 4), однако 48 ч культивирования этих ЯЭК с 2 ед/мл эритропоэтина (ЭПО) восстанавливало их супрессорную активность (рис. 4). Таким образом, мы подтвердили наличие выраженной прямой противоопухолевой активности у незрелых клеток эритроидного ряда как в отношении клеток лейкозных линий, так и в отношении клеток солидных опухолей. Супрессорный эффект был неспецифичен, поскольку регистрировался в отношении клеточных линий разного гаплотипа и не был рестриктивен по HLA. Неспецифичность супрессорного действия ЯЭК позволила предположить наличие гуморальной составляющей противоопухолевого эффекта ЯЭК. Показана дозо-зависимая супрессорная ак-

тивность как супернатанта, полученного от чистой культуры ядерных эритроидных клеток, так и от супернатанта, полученного от 24 ч культивирования клеток фетальной печени мыши (табл. 1, 2). Таким образом, в наших экспериментах показана прямая неспецифическая супрессорная противоопухолевая активность ЯЭК, полученных из различных источников. Эта супрессия опосредована растворимыми продуктами самих клеток.

Обсуждение

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, прежде всего, о том, что ЯЭК, полученные из эмбриональной печени мышей и человека, из селезенки новорожденных мышей и животных, обработанных фенилгидразином, оказывают прямой цитостатический эффект на опухолевые клетки различного происхождения. При этом следует особо подчеркнуть, что цитостатические эффекты эритробластов различного тканевого происхождения регистрировались при полном отсутствии клеток-профессиональных убийц опухолевых клеток, таких как НК клетки, макрофаги, цитотоксические CD8+ лимфоциты [8]. Говоря о возможных механизмах эффекта ЯЭК, прежде всего, можно было бы думать об участии в процессе цитокинов, продуцируемых этими клетками, таких как эритроидный дифференцировочный регулятор (Erdr1) [9, 10], ИЛ-10, TGF-β и IFN-α [3, 9]. Эти цитокины обладают противоопухолевым эффектом, тормозя рост опухолевых клеток при определенных условиях и на определенной стадии развития опухоли. При иных ситуациях, иных условиях и TGF-β, и TNF-α могут способствовать выживанию опухолевых клеток и их активному росту, супрессируя противоопухолевые Т-клеточные реакции [3, 11]. Показано, что

Таблица 1/Table 1

Влияние эритроидного супернатанта, полученного от ЯЭК анемичных мышей, на пролиферацию опухолевых линий P815 и L1210, выраженное в % супрессорной активности (n=8)
Effect of erythroid supernatant obtained from NEC of anemic mice on the proliferation of P815 and L1210 tumor lines, expressed as % suppressor activity (n=8)

Супернатант/ Supernatant, %	7,5	15	30
P815	5,0 ± 2,7	40,0 ± 4,3**	47,0 ± 2,1**
L1210	4,0 ± 3,5	18,0 ± 1,6	27,0 ± 1,8*

Примечания: * – различия статистически значимы (p<0,01); ** – различия статистически значимы (p<0,001).

Note: * – significant differences (p<0.01), ** – significant differences (p<0.001).

Таблица 2/Table 2

Влияние эритроидного супернатанта, полученного от 24 ч культивирования клеток фетальной печени мышей, на пролиферацию опухолевых линий B16, L929 и LLC, выраженное в % супрессорной активности (n=8)

Effect of erythroid supernatant obtained from 24-hour cultivation of mouse fetal liver cells on the proliferation of B16, L929 and LLC tumor lines, expressed as % suppressor activity (n=8)

Супернатант/ Supernatant, %	30	50
B16	21,0 ± 2,4	41,0 ± 1,5**
L929	11,0 ± 3,5	33,0 ± 1,8*
LLC	12,0 ± 2,6	31,0 ± 2,1**

Примечание: * – различия статистически значимы (p<0,01), ** – различия статистически значимы (p<0,005).

Note: * – significant differences (p<0.01), ** – significant differences (p<0.005).

эритроидные клетки экспрессируют молекулы не классического HLA-G класса I. Имеются данные об ингибирующем влиянии этих HLA-G молекул на активность NK клеток и цитотоксических Т-лимфоцитов, а также на пролиферацию Т-клеток [12–14]. Можно предположить, что в наших экспериментах эти же молекулы оказывают цитостатический эффект и на опухолевые клетки. Нельзя исключить, что это еще один возможный механизм цитостатического действия ЯЭК. Данные литературы свидетельствуют о том, что эритроидные клетки экспрессируют фермент аргиназу-2 с последующим снижением в окружении содержания аргинина, что негативно сказывается на активности иммунокомпетентных клеток [15, 16]. Учитывая данные о том, что опухолевые клетки используют для внутриклеточных целей внеклеточный аргинин, можно думать, что аргинин также необходим для жизнедеятельности опухолевых клеток, и при недостаточном поступлении его в опухолевые клетки пролиферативная активность последних снижается. Об этом эффекте аргинина свидетельствуют данные о значительном подавлении роста опухоли в условиях его сниженного содержания в среде, окружающей опухолевые клетки. Более того, подход, основанный на увеличении уровня метаболизма аргинина, успешно используется в противоопухолевой терапии [17, 18].

С уровнем экспрессии аргиназы-2 на ЯЭК, возможно, связаны наши данные об отсутствии цитостатического эффекта у ЯЭК, полученных от взрослых мышей, обработанных фенлигидазином.

Было показано, что CD71+TER119+ эритробласты от взрослых анемичных мышей не обладают иммуносупрессорной активностью на фоне резко сниженной экспрессии аргиназы-2 в клетках [15]. Можно думать, что обработка эритропоэтином эритробластов стимулирует экспрессию аргиназы-2, реверсируя у них способность оказывать цитостатический эффект на рост опухолевых клеток.

Нельзя исключить возможное участие в цитостатическом эффекте ЯЭК в отношении опухолевых клеток белка p15E – продукта гена *env*, контролирующего синтез оболочечных белков вируса. По крайней мере, было показано, что обработка эритроидных клеток антителами против белка p15E отменяла их способность подавлять пролиферацию лимфоцитов [19].

Можно согласиться с мнением S. Elahi о возможной иммуносупрессивной роли эритробластов в начальный период онтогенеза, которая заключается в подавлении возможной чрезмерной реакции иммунной системы воспалительного характера на поступление в организм множества микроорганизмов через кишечник [20]. Данные, полученные J. Michaelsson et al., свидетельствуют об активности у эмбрионов CD4+CD25^{high} Treg, которые также несут ответственность за подавление активности Т-клеток эффекторов у эмбрионов [21]. Исходя из этого, можно предположить, что во время эмбрионального периода развития формируется содружество 2 популяций клеток с иммуносупрессивной активностью – ЯЭК и Treg клеток. Можно предположить, что такой жесткий контроль за

активностью Т-клеток-эффекторов необходим для предотвращения малейшей возможной активности этих клеток против собственных антигенов с целью оптимального развития тканей и органов с их оригинальными антигенными характеристиками. Следовательно, супрессорная активность эритроидных клеток и Трег подавляет возможное развитие у эмбрионов аутоиммунной патологии. С другой стороны, чтобы не формировались опухолевые процессы на фоне подавленной активности Т-клеток эффекторов, у эритробластов формируется способность противостоять развитию опухолевого процесса. Если принять во внимание тот факт, что во время эмбрионального развития

крайне редко регистрируется развитие опухолевого процесса, и, учитывая цитостатическую активность ЯЭК и их существенное численное преобладание во время развития эмбриона над всеми потенциальными убийцами опухолевых клеток (НК, цитотоксические Т-лимфоциты, макрофаги и др.), следует признать возможность участия эритробластов в процессе противоопухолевого иммунитета в течение эмбрионального развития организма. В принципе, у эмбриона, как и во взрослом организме, складывается ситуация, когда при нормальном функционировании иммунной системы не отмечается развитие аутоиммунной патологии и опухолевого процесса.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Gao X., Xu C., Asada N., Frenette P.S. The hematopoietic stem cell niche: from embryo to adult. *Development*. 2018; 145(2). doi: 10.1242/dev.139691.
2. Osmond D.G. The ontogeny and organization of the lymphoid system. *J Invest Dermatol*. 1985; 85(1): 2–9. doi: 10.1111/1523-1747.ep12275397.
3. Grzywa T.M., Justyniarska M., Nowis D., Golab J. Tumor Immune Evasion Induced by Dysregulation of Erythroid Progenitor Cells Development. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(4): 870. doi: 10.3390/cancers13040870.
4. Цырлова И.Г., Чеглякова В.В., Козлов В.А. Иммунодепрессивный эффект популяций клеток с различной эритропоэтической активностью у зародышей и новорожденных. *Онтогенез* 1985; 16(2): 143–51. [Tsyrlava I.G., Cheglyakova V.V., Kozlov V.A. Immunosuppressive effect of cell populations with different erythropoietic activity in embryos and newborns. *Ontogenesis* 1985; 16 (2): 143–151. (in Russian)].
5. Grzywa T.M., Nowis D., Golab J. The role of CD71+ erythroid cells in the regulation of the immune response. *Pharmacol Ther*. 2021; 228: 107927. doi: 10.1016/j.pharmthera.2021.107927.
6. Sennikov S.V., Krysov S.V., Unjelevskaya T.V., Silkov A.N., Kozlov V.A. Production of cytokines by immature erythroid cells derived from human embryonic liver. *Eur Cytokine Net*. 2001; 12(2): 274–9.
7. Samarin D.M., Seledtsova G.V., Seledtsov V.I., Taraban V.Ya., Kozlov V.A. Suppressive Effect of Immature Erythroid Cells on the B-Cell Proliferation. *Bull Exp Biol Med*. 1997; 123: 57.
8. Seledtsov V.I., Seledtsova G.V., Samarin D.M., Senyukov V.V., Poveschenko O.V., Felde M.A., Kozlov V.A. Erythroid cells in suppressing leukemia cell growth. *Leuk Lymphoma*. 2005; 46(9): 1353–6. doi: 10.1080/10428190500160207.
9. Lee J., Jung M.K., Park H.J., Kim K.E., Cho D. Erd1 Suppresses Murine Melanoma Growth via Regulation of Apoptosis. *Int J Mol Sci*. 2016; 17(1): 107. doi: 10.3390/ijms17010107.
10. Jung M.K., Park Y., Song S.B., Cheon S.Y., Park S., Houh Y., Ha S., Kim H.J., Park J.M., Kim T.S., Lee W.J., Cho B.J., Bang S.I., Park H., Cho D. Erythroid differentiation regulator 1, an interleukin 18-regulated gene, acts as a metastasis suppressor in melanoma. *J Invest Dermatol*. 2011; 131(10): 2096–104. doi: 10.1038/jid.2011.170.
11. Mercogliano M.F., Bruni S., Mauro F., Elizalde P.V., Schillaci R. Harnessing Tumor Necrosis Factor Alpha to Achieve Effective Cancer Immunotherapy. *Cancers (Basel)*. 2021; 13(3): 564. doi: 10.3390/cancers13030564.
12. Marchal-Bras-Goncalves R., Rouas-Freiss N., Connan F., Choppin J., Dausset J., Carosella E.D., Kirszenbaum M., Guillet J. A soluble HLA-G protein that inhibits natural killer cell-mediated cytotoxicity. *Transplant Proc*. 2001; 33(3): 2355–9. doi: 10.1016/s0041-1345(01)02020-6.
13. Riteau B., Rouas-Freiss N., Menier C., Paul P., Dausset J., Carosella E.D. HLA-G2, -G3, and -G4 isoforms expressed on nonmature cell surface glycoproteins inhibit NK and antigen-specific CTL cytotoxicity. *J Immunol*. 2001; 166(8): 5018–26. doi: 10.4049/jimmunol.166.8.5018.
14. Lila N., Rouas-Freiss N., Dausset J., Carpentier A., Carosella E.D. Soluble HLA-G protein secreted by allo-specific CD4+ T cells suppresses the allo-proliferative response: a CD4+ T cell regulatory mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001; 98(21): 12150–5. doi: 10.1073/pnas.201407398.
15. Grzywa T.M., Sosnowska A., Rydzynska Z., Lazniewski M., Plewczynski D., Klicka K., Malecka-Gieldowska M., Rodziejewicz-Lurzynska A., Ciepiela O., Justyniarska M., Pomper P., Grzybowski M.M., Blaszczyk R., Wegryniewicz M., Tomaszewska A., Basak G., Golab J., Nowis D. Potent but transient immunosuppression of T-cells is a general feature of CD71+ erythroid cells. *Commun Biol*. 2021; 4(1): 1384. doi: 10.1038/s42003-021-02914-4.
16. Elahi S., Vega-López M.A., Herman-Miguel V., Ramírez-Estudillo C., Mancilla-Ramírez J., Motyka B., West L., Oyegbami O. CD71+ Erythroid Cells in Human Neonates Exhibit Immunosuppressive Properties and Compromise Immune Response Against Systemic Infection in Neonatal Mice. *Front Immunol*. 2020; 11: 597433. doi: 10.3389/fimmu.2020.597433.
17. Fultang L., Vardon A., De Santo C., Mussai F. Molecular basis and current strategies of therapeutic arginine depletion for cancer. *Int J Cancer*. 2016; 139(3): 501–9. doi: 10.1002/ijc.30051.
18. Zou S., Wang X., Liu P., Ke C., Xu S. Arginine metabolism and deprivation in cancer therapy. *Biomed Pharmacother*. 2019 Oct;118:109210. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109210.
19. Chernukhin I.V., Khaldoyanidi S.K., Gaidul K.V. Endogenous retroviral envelope peptide expression in involved in a regulation of lymphocyte and hematopoietic precursor activity. *Biomed Pharmacother*. 1995; 49(2): 145–51. doi: 10.1016/0753-3322(96)82608-4.
20. Elahi S. New insight into an old concept: role of immature erythroid cells in immune pathogenesis of neonatal infection. *Front Immunol*. 2014; 5: 376. doi: 10.3389/fimmu.2014.00376.
21. Michaëlsson J., Mold J.E., McCune J.M., Nixon D.F. Regulation of T cell responses in the developing human fetus. *J Immunol*. 2006; 176(10): 5741–8. doi: 10.4049/jimmunol.176.10.5741.

Поступила/Received 23.12.2021

Одобрена после рецензирования/Revised 06.04.2022

Принята к публикации/Accepted 27.04.2022

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Козлов Владимир Александрович, академик РАН, научный руководитель, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). Researcher ID (WOS): K-2634-2014. Scopus ID: 7402207410. ORCID: 0000-0002-1756-1782.

Селедцова Галина Викторовна, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). E-mail: galina-seledtsova@yandex.ru. SPIN-код: 1086-8579. Researcher ID (WOS) - B1085-2014. ORCID: 0000-0001-8072-6255.

Доржиева Аяна Бояровна, аспирант, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). ORCID: 0000-0002-7109-4687.

Иванова Ирина Петровна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (г. Новосибирск, Россия). SPIN-код: 9322-2073. Researcher ID (WOS): D-9386-2014. ORCID: 0000-0003-1435-2616.

Селедцов Виктор Иванович, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник, ФГБНУ «Центральная клиническая больница РАН» (г. Москва, Россия). SPIN-код: 469-9230. ORCID 0000-0002-4746-8853.

ВКЛАД АВТОРОВ

Козлов Владимир Александрович: разработка научной идеи, общая концепция написания статьи.

Селедцова Галина Викторовна: написание статьи

Доржиева Аяна Бояровна: экспериментальная часть работы и статистическая обработка материала.

Иванова Ирина Петровна: экспериментальная часть работы и статистическая обработка материала.

Селедцов Виктор Иванович: написание раздела «введение», обсуждение результатов.

Финансирование

Работа выполнена в рамках ГЗ 2021-2023 по теме 0415-2021-0003. Результаты исследования обсуждены на заседании локального этического комитета НИИФКИ (Протокол № 137 от 24.12.2021), препятствий для публикации результатов исследований нет.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ABOUT THE AUTHORS

Vladimir A. Kozlov, Member of the Russian Academy of Sciences, Principle Researcher, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). Researcher ID: K-2634-2014. Scopus ID: 7402207410. ORCID: 0000-0002-1756-1782.

Galina V. Seledtsova, MD, DSc, Chief Researcher, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). E-mail: galina-seledtsova@yandex.ru. Researcher ID: B1085-2014. ORCID: 0000-0001-8072-6255.

Ayana B. Dorzhieva, Post-graduate, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). ORCID: 0000-0002-7109-4687.

Irina P. Ivanova, MD, PhD, Senior Researcher, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Novosibirsk, Russia). Researcher ID: D-9386-2014. ORCID: 0000-0003-1435-2616.

Viktor I. Seledtsov, MD, DSc, Chief Researcher, Central Clinical Hospital of the Russian Academy of Sciences (Moscow, Russia). ORCID 0000-0002-4746-8853.

AUTHOR CONTRIBUTION

Vladimir A. Kozlov: study conception and design.

Galina V. Seledtsova: writing of the manuscript.

Ayana B. Dorzhieva: experimental studies, statistical analysis of results

Irina P. Ivanova: experimental studies and statistical analysis of results.

Viktor I. Seledtsov: final approval of the manuscript.

Funding

The study was carried out within the framework of the project № 0415- for 2021-2023.

Conflict of interests

The authors declare that they have no conflict of interest.