

Влияние IL-4 и липополисахаридов на продукцию IL-10 зрелыми и незрелыми культивируемыми дендритными клетками человека

А.Г.Сукиасян

*Научно-исследовательский институт эпидемиологии, вирусологии
и медицинской паразитологии им. А.Б.Алексяна
0060, Ереван, ул. Худякова, 1
Исследовательский центр "Арменикум"
0084, Ереван, ул. Шерами, 2*

Ключевые слова: LPS (липополисахариды), IL-4, IL-10, незрелые дендритные клетки (iDCs), зрелые дендритные клетки (mDCs)

Иммунная система, существующая у позвоночных животных, объединяет органы и ткани, идентифицирует и уничтожает разнообразных возбудителей, от вирусов до паразитических червей, и отличает их от биомолекул собственных клеток. Этим достигается биологическая индивидуальность организма [1, 3-5].

Благодаря сигналам, получаемым от микробов, дендритные клетки, являясь антигенпредставляющими клетками, помогают иммунной системе распознавать микроорганизмы [9]. Незрелые дендритные клетки действуют как иммунологические датчики при потенциально опасных микроорганизмах – либо непосредственно признают микробные компоненты, либо получают сигналы врожденной иммунной системы для воздействия на микробы. Незрелые дендритные клетки расшифровывают данные сигналы и передают эту информацию клеткам адаптивного иммунитета [8]. Провоспалительные цитокины вызывают ускоренное созревание дендритных клеток и их миграцию из нелимфоидных органов в кровь или в афферентную лимфу, где их фенотип резко меняется. Они превращаются в зрелые презентующие клетки, экспрессирующие на мембранах костимулирующие молекулы и способные инициировать специфический ответ Т-лимфоцитов [2, 6].

Важно отметить, что в последнее десятилетие дендритные клетки вызывают повышенный интерес исследователей благодаря лёгкости их

получения из моноцитов периферической крови и способности эффективно представлять антиген Т-лимфоцитам.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния рекомбинантного цитокина и LPS на продукцию IL-10 зрелыми и незрелыми дендритными клетками человека.

Материал и методы

Была использована гепаринизированная периферическая кровь здоровых доноров возрастной группы от 29 до 43 лет. Мононуклеары (моноциты) периферической крови здоровых доноров выделяли с помощью центрифугирования в градиенте плотности (histopaque), содержащей 6% CO₂ (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo), при 1500 об/мин в течение 45 мин при 25⁰С. Для получения незрелых дендритных клеток (iDCs) моноциты культивировали в течение 6 дней с GM-CSF (гранулоцитарно-макрофагиальный колониестимулирующий фактор) (10 нг/мл) и IL-4 (10 нг/мл), как это первоначально описывает М.А. Morse et al. [7]. *In vitro* полученные зрелые дендритные клетки (mDCs) инкубировали с GM-CSF (10 нг/мл), IL-4 (10 нг/мл) и провоспалительным TNF-α (10 нг/мл) и культивировали в течение 6 дней. После 6 дней инкубации клетки промывали и добавляли среду с 100 нг/мл LPS или 2 мкг/мл колхицина и инкубировали 24 ч., затем собирали супернатанты центрифугированием при 3000 об/мин 7 минут и хранили в холодильнике при температуре -80⁰С. Концентрацию IL-10 исследовали методом иммуноферментного анализа, используя тест SET-Go (eBioscience).

Статистические данные анализировали методом GraphPad с использованием параметрических и непараметрических методов.

Результаты и обсуждение

Как показали результаты проведенных исследований, продукция IL-10 незрелыми дендритными клетками здоровых доноров значительно выше ($P < 0.05$), чем продукция IL-10 зрелыми дендритными клетками здоровых доноров (рис.1, А,Б). А продукция IL-10 стимулированными LPS и обработанными колхицином незрелыми и зрелыми дендритными клетками незначительна.

Как видно на рисунка (А), синтез IL-10 незрелыми дендритными клетками резко понижается под воздействием LPS и колхицина.

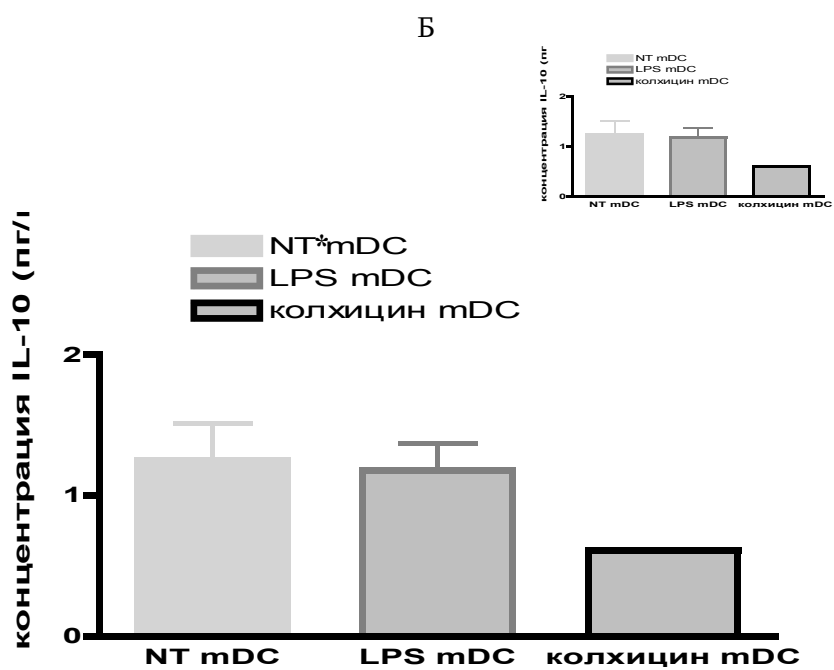
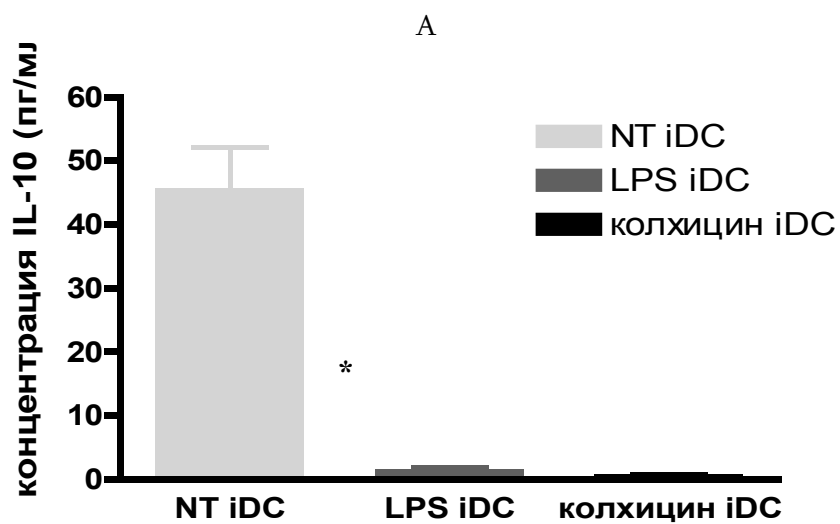


Рис. Продукция IL-10 нестимулированными (NtiDC) и LPS- и колхицин-обработанными незрелыми дендритными клетками (iDC)(A) и зрелыми дендритными клетками (mDC) (Б) у здоровых доноров. Все данные представлены в виде средних значений \pm , *средняя ошибка означает, что по сравнению с необработанными клетками значение достоверности $P_t \leq 0,05$

Итак, при воздействии LPS или колхицином синтез IL-10 незрелыми дендритными клетками почти не изменяется, в то время как продукция IL-10 зрелыми дендритными клетками заметно повышается (рис., Б). Так, при стимуляции LPS зрелых дендритных клеток продукция IL-10 выше по сравнению с воздействием колхицина.

Таким образом, можно заключить, что продукция IL-10 незрелыми дендритными клетками здоровых доноров значительно выше по сравнению с продукцией IL-10 зрелыми дендритными клетками здоровых доноров, а при воздействии LPS и колхицина на незрелые и зрелые дендритные клетки синтез IL-10 незначителен.

Поступила 30.08.11

IL-4-ի և լիպոպոլիսախարիդների ազդեցությունը մարդու հասուն և ոչ հասուն կուլտիվացվող դենդրիտային բջիջների միջոցով IL-10-ի պրոդուկցիայի վրա

Ա.Գ.Սուքիասյան

Ուսումնասիրվել է IL-4-ի և լիպոպոլիսախարիդների ազդեցությունը մարդու կուլտիվացվող դենդրիտային բջիջների կողմից IL-10-ի սինթեզի վրա: Առողջ դոնորների ոչ հասուն դենդրիտային բջիջների կողմից, ի տարբերություն հասուն դենդրիտային բջիջների, նկատվում է IL-10-ի սինթեզի ակտիվացման բարձրացում՝ նշված ազդեցությունների ներքո:

The influence of IL-4 and lipopolysaccharides on the production of IL-10 by human immature and mature dendritic cells

A.G. Sukiasyan

The purpose of this study was to investigate the influence of IL-4 and LPS on the production of IL-10 by human immature and mature cultivated

dendritic cells. The production of IL-10 by human immature dendritic cells of healthy donors was significantly higher compared to that of mature dendritic cells under the impact of the above mentioned influences.

Литература

1. *Петров Р.В.* Иммунология. М., 1987.
2. *Фрейдлин И. С.* Иммунная система и ее дефекты. СПб., 1998.
3. *Хайтов Р.М., Игнатъева Г.А., Сидорович И.Г.* Иммунология. М., 2000.
4. *Auffray C., Sieweke M.H., Geissmann F.* Blood Monocytes: Development, Heterogeneity, and Relationship with Dendritic Cells. *Ann. Review Immunol.*, 2009, 27, p. 669-692.
5. *Janeway Ch.A., Travers P.* Immunology. London, 1994.
6. *Lehrer R.I., Lichtenstein A.K., Ganz T.* Defensins: antimicrobial and cytotoxic peptides of mammalian cells. *Ann. Review of Immunol.*, 1993, 11, p. 105-128.
7. *Morse M.A., Zhou L.J., Tedder T.F., Lyerly H.K., Smith C.* Generation of dendritic cells in vitro from peripheral blood mononuclear cells with granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor, interleukin-4, and tumor necrosis factor-alpha for use in cancer immunotherapy. *Annals of Surgery*, 1997, 226, 1, p. 6-16.
8. *Pulendran B., Palucka K., Banchereau J.* Sensing pathogens and tuning immune responses. *Science*, 2001, 293, 5528, p. 253-256.
9. *Ueno H., Klechevsky E., Morita R., Aspod C., Cao T., Matsui T., Di Pucchio T., Connolly J., Fay J.W., Pascual V., Palucka A.K., Banchereau J.* Dendritic cell subsets in health and disease. *Immunological Reviews*, 2007, 219, p. 118-142.