ФЕДЕРАЦИИФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «НОВОСИБИРСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ» (НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ, НГУ)

Институт медицины и психологии В. Зельмана
Направление подготовки/специальности: 31.05.01 Лечебное дело

Иммунорегуляторная активность эритроидных ядросодержащих клеток на разных этапах дифференцировки

Филиппова Юлия Григорьевна

Научный руководитель:

д. м. н., профессор

Сенников Сергей Витальевич

Новосибирск 2020

Актуальность

- Эритропоэз – сложный и многофакторный процесс, в результате которого производится до 2,5 миллиона эритроцитов в секунду при стабильном состоянии организма. [1]

- Эритроидные ядросодержащие клетки обладают функцией регуляции гемоиммунопоэза посредством растворимых факторов-цитокинов с разнонаправленным спектром действия: про- и противовоспалительных цитокинов, ростовых и ингибиторных факторов. [1]

- Эритроидные ядросодержащие клетки на разных этапах дифференцировки обладают способностью к продукции разных иммунорегуляторных медиаторов. Для клеток эритроидного ряда, как и для других ростков кроветворения, характерно наличие субпопуляционной структуры внутри эритроидного ростка. [2]

[1] Anderson H. L., Brodsky I. E., Nilam S. The Evolving Erythrocyte: Red Blood Cells Mangalmurti as Modulators of Innate Immunity // The Journal of Immunology. 2020. №3. С. 1342-1351.

[2] Simamura E., Arikawa T., Ikeda T., Shimada H., Shoji H., Masuta H., Nakajima Y., Otani H., Yonekura H., Hatta T. Melanocortins Contribute to Sequential Differentiation and Enucleation of Human Erythroblasts via Melanocortin Receptors 1, 2 and 5 // PLOS ONE. - 2015. - №10(4). - P. 1-26.

Актуальность (2)

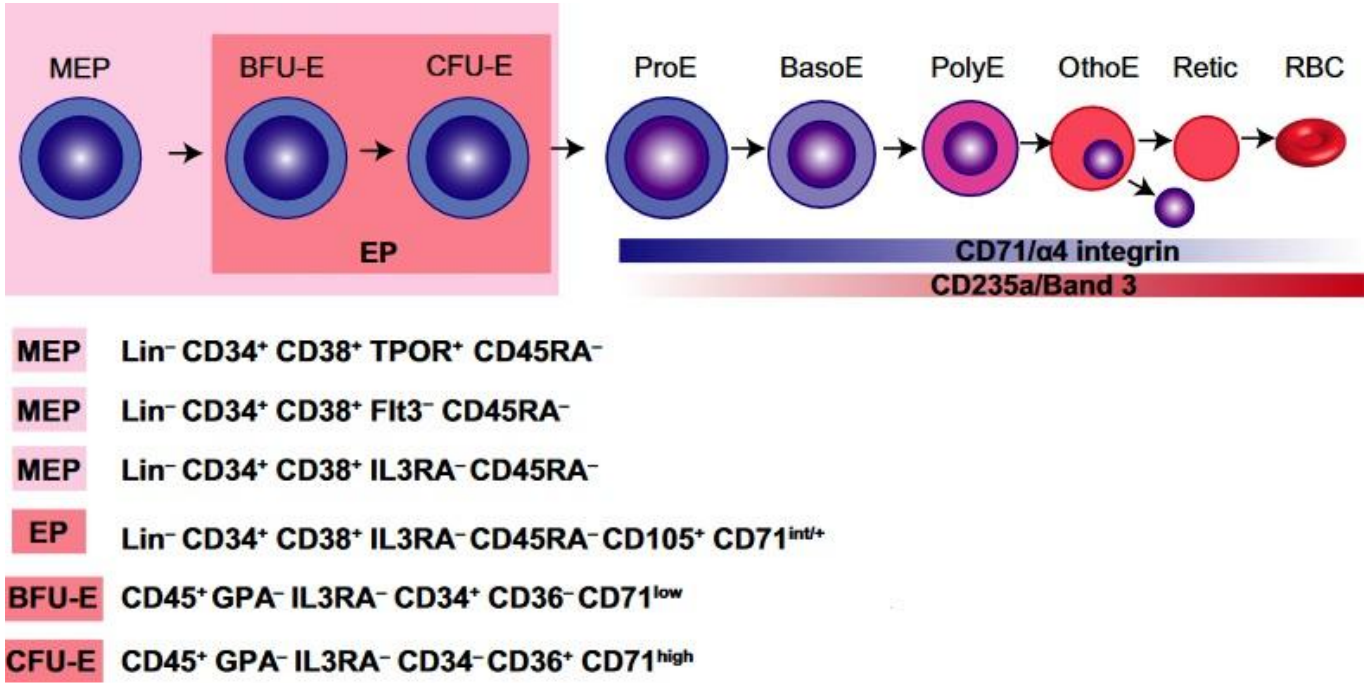

Рис. 1.

MEP (мегакариоцитарно-эритроидный предшественник), ProE (проэритробласт), BasoE (базофильный нормобласт), PolyE (полихроматофильный нормобласт), OrthoE (ортохроматофильный нормобласт), Retic (ретикулоцит), RBC (эритроцит)

Клетки-предшественники эритроидного ряда и клеточные меркёры изображены на рис. 1.[1] Из всех перечисленных клеточных маркеров на рис. 1. наибольший интерес представляют CD34+, CD71+ и CD235a+.

[1] Nandakumar S. K., Ulirsch J. C., Sankaran V. G. Advances in understanding erythropoiesis: evolving perspectives //British Journal of Haematology. - 2016. Vol. 173, №2. - P. - 206-218.

Актуальность (3)

Адаптивный перенос неонатальных CD71+ клеток эритроидного ряда может нарушать врожденный иммунный ответ к коклюшной инфекции, он заключался в нарушении выработки IFN-γ* и интерлейкина-17, а также IgA и IgG против коклюша. [1]

Незрелые эритроидные клетки могут усугублять репликацию ВИЧ-1 при совместном культивировании с CD4+ Т-клетками, а также связываться с ВИЧ-1 через CD235a+ и переносить вирус на неинфицированные CD4+ Т-клетки, тем самым распространяя инфекцию. [2]

Эритроидные клетки могут подавлять или модулировать функции иммунных клеток через такие растворимые факторы, как TGF-β** и аргиназа-2, и, возможно, косвенно повышать индукцию Т-регуляторных клеток. [3]

*интерферон-гамма, **тканевой фактор роста-бета

[1] Namdar A. et al. CD71+ erythroid suppressor cells impair adaptive immunity against Bordetella pertussis // Scientific Reports. – 2017. - №7728.
[2] Namdar A., Dunsmore G., Shahbaz S., Koleva P., Xu L., Jovel J., Houston S. CD71+ Erythroid Cells Exacerbate HIV-1 Susceptibility, Mediate trans-Infection, and Harbor Infective Viral Particles // Host-Microbe Biology. - 2019. - №10(9). - P. 1-24.
[3] Elahi S. Neglected Cells: Immunomodulatory Roles of CD71+ Erythroid Cells // Trends in Immunology. - 2019. - №3(40). - P. 181-185.

Цель исследования

Однако на сегодняшний день вопрос о иммуномодулирующих свойствах эритроидных бластных клеток остается неизученным.
Целью данной работы является исследование иммунорегуляторной активности эритроидных ядросодержащих клеток разной степени зрелости.

Задачи исследования

1. Отработать протокол изучения получения эритроидных ядросодержащих клеток из клеток-предшественников.

2. Отработать модель блокирования меланокортиновых рецепторов эритроидных ядросодержащих клеток для получения популяций бластных клеток с различной степенью зрелости.

3. Оценить биологическую активность популяций эритроидных ядросодержащих клеток костного мозга разного уровня дифференцировки в функциональных тестах in vitro, а также их цитокин-синтезирующую активность.

Материалы и методы (1)

Объектом исследования будут являться клетки костного мозга. При помощи антител к меланокортиновым рецепторам (МК1Р, МК2Р и МК5Р) будет блокироваться дифференцировка эритроидных клеток на разных стадиях созревания эритроидных ядросодержащих клеток (базофильные, полихроматофильные, оксифильные). [1]

С применением методов магнитной сортировки с использованием антител к специфическим маркерам эритроидных ядросодержащих клеток (CD34, CD71, CD235a, TER119) будут выделяться популяции эритроидных клеток и изучаться их способность к экспрессии и продукции регуляторных медиаторов, а также их иммунорегуляторные эффекты на различные популяции иммунокомпетентных клеток (пролиферативная активность Т- и В-клеток, продукция цитокинов).

[1] Simamura E., Arikawa T., Ikeda T., Shimada H., Shoji H., Masuta H., Nakajima Y., Otani H., Yonekura H., Hatta T. Melanocortins Contribute to Sequential Differentiation and Enucleation of Human Erythroblasts via Melanocortin Receptors 1, 2 and 5 // PLOS ONE. - 2015. - №10(4). - P. 1-26.

Материалы и методы (2)

Перечень основных методов планируемого исследования:

1. Метод культуральной работы по выделению и культивированию эритроидных ядросодержащих клеток.
2. Выделение CD34+, CD71+, CD235a+ клеток методом магнитной сепарации.
3. Методы иммуноферментного анализа продукции основных иммунорегуляторных цитокинов.
4. Методы оценки пролиферативной активности Т- и В-лимфоцитов.
5. Морфологическая оценка полученных клеток будет производиться путем окрашивания полученных клеточных суспензий по методу Май-Грюнвальда-Гимзы с последующим визуальным анализом с использованием проходящего света.
6. Методы статистической обработки данных.

Ожидаемые результаты

- По результатам выполнения работы планируется получить новые данные об иммунорегуляторной активности и способности к продукции медиаторов эритроидными ядросодержащими клетками в процессе созревания.
- Полученные результаты будут обладать как теоретической, так и прикладной значимостью, поскольку новые данные дополнят фундаментальные представления об участии клеток эритроидного ростка в иммунных процессах, а кроме того, могут стать основой для разработки нового подхода коррекции гемоиммунопоэза путем воздействия на эритроидный росток кроветворения.