

Поиск путей ингибирования НК-опосредованного клеточного лизиса в культурах клеток, не экспрессирующих HLA-I класса.

Научный руководитель – Лагарькова Мария Андреевна

Колесникова О.А.¹, Богомякова М.Е.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия, *E-mail: olya325@gmail.com*; 2 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра иммунологии, Москва, Россия, *E-mail: margbog5@gmail.com*

Плюрипотентные стволовые клетки (ПСК), благодаря способности к образованию всех типов тканей организма и неограниченной пролиферации, потенциально могут служить источником клеточного материала для направленной дифференцировки в необходимый тип клеток и последующей трансплантации. Тем не менее, несовпадение гаплотипов HLA донора и реципиента, а также необходимость применения иммуносупрессии являются основными проблемами терапевтического применения аллогенных клеток и тканей, в том числе производных ПСК. Использование индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК) теоретически может обеспечить персонализированную терапию с использованием аутологичных клеток пациента, однако их получение требует длительного времени и средств, что не всегда является возможным. Потенциальным решением вышеперечисленных проблем может стать создание «универсальных» линий ИПСК, производные которых подходили бы для трансплантации всем реципиентам. Один из возможных подходов - снижение экспрессии молекул HLA I за счет нокаута гена β -2-микроглобулина (b2m), который отвечает за формирование функциональной структуры комплекса. При отсутствии экспрессии HLA I не должен наблюдаться иммунный ответ CD8⁺ Т-лимфоцитов. В то же время молекулы HLA I служат лигандами для ингибиторных рецепторов естественных киллеров, поэтому отсутствие HLA I должно делать производные ПСК с инактивацией гена b2m чувствительными к НК клеточному лизису. Теоретически, активацию НК клеток можно снизить за счет гиперэкспрессии растворимой формы MICA. Связывание MICA с NKG2D рецептором будет способствовать ингибированию НК клеток и снижению их цитотоксичности.

Ранее в нашей лаборатории были получены линии ИПСК с инактивацией гена b2m, из которых были дифференцированы фибробластоподобные производные (ФП). В ходе работы методом проточной цитометрии было показано, что на поверхности ФП с нокаутом b2m отсутствует экспрессия молекул HLA-ABC и b2m, в отличие от изогенного контроля дикого типа. Кроме того, экспрессия данных молекул не была обнаружена в нокаутных линиях и при предварительной обработке культур клеток провоспалительным цитокином IFN γ , а в случае контрольных линий клеток наблюдалось трехкратное увеличение экспрессии HLA-ABC и b2m. Иммуногенность ФП анализировали при ко-культивировании с клетками-эффекторами (Т-лимфоциты и НК клетки) с помощью лактат-дегидрогеназного теста. Было показано, что ФП с нокаутом b2m обладают пониженной иммуногенностью к цитотоксическому действию CD8⁺ Т-лимфоцитов по сравнению с изогенным контролем дикого типа при различных соотношениях эффекторных и таргетных клеток. Тем не менее, нокаутные линии оказались чувствительными к НК клеточному лизису. На следующем этапе работы планируется трансфицировать клеточную линию ФП плазмидой, содержащей белок sMICA без трансмембранного домена. Полученные линии ФП с нокаутом b2m и стабильной экспрессией sMICA будут ко-культивированы с НК клетками с

последующим анализом иммуногенности. Данная работа поддержана грантом РФФ №17-75-10206.