

© Талаев В.Ю., Бабайкина О.Н., Талаева М.В., Воронина Е.В., Заиченко И.Е., 2019
УДК 615.371, 57.021

ДЕЙСТВИЕ КОРЕВОЙ ВАКЦИНЫ НА СОЗРЕВАНИЕ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА IN VITRO

В.Ю. Талаев, О.Н. Бабайкина, М.В. Талаева, Е.В. Воронина, И.Е. Заиченко

ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора,
ул. Малая Ямская, д. 71, г. Нижний Новгород, 603950, Россия

Важнейшим средством борьбы с корью является живая коревая вакцина, высокая эпидемиологическая эффективность которой подтверждена полувековой практикой ее применения. Учитывая рост заболеваемости корью в последние годы, стоит вопрос о необходимости дополнительного повышения эффективности вакцинопрофилактики, в частности, за счет повышения иммуногенности применяемой вакцины. Для этого необходимо исследовать особенности действия имеющихся вариантов вакцины с целью выявления возможных путей их совершенствования. Исследовали действие коревой культуральной живой вакцины на созревание дендритных клеток человека – наиболее специализированных антигенпрезентирующих клеток, участвующих в индукции иммунного ответа. Показано, что инкубация незрелых моноцитарных дендритных клеток с вакциной *in vitro* запускает процесс их частичного созревания, что проявляется в увеличении количества клеток, несущих молекулы CD86, CD83 и ICOSL (CD275). В то же время у них наблюдается пониженный уровень экспрессии молекулы HLA-DR и хемокиновых рецепторов CCR7 и CXCR5, необходимых для миграции дендритных клеток в периферические лимфоидные органы. По нашему мнению, относительная слабость действия коревой вакцины на созревание дендритных клеток является фактором, ограничивающим иммуногенность вакцины, что необходимо учитывать при разработке новых вакцин против кори.

Ключевые слова: коревая вакцина, иммунный ответ, дендритные клетки, созревание.

Для цитирования: Талаев В.Ю., Бабайкина О.Н., Талаева М.В., Воронина Е.В., Заиченко И.Е. Действие коревой вакцины на созревание дендритных клеток человека *in vitro* // Здоровье населения и среда обитания. 2019. № 8 (317). С. 61–66. DOI: <http://doi.org/10.35627/2219-5238/2019-317-8-61-66>

V.Yu. Talaev, O.N. Babaikina, M.V. Talaeva, E.V. Voronina, I.E. Zaichenko □ EFFECT OF MEASLES VACCINE ON MATURATION OF HUMAN DENDRITIC CELLS IN VITRO □ Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 71 Malaya Yamskaya Str., Nizhny Novgorod, 603950, Russia.

The most important means of measles control is live measles vaccine, the high epidemiological effectiveness of which is confirmed by half a century of its use. There is a question of the need to further improve the effectiveness of vaccine prophylaxis, in particular, by increasing the immunogenicity of the used vaccine given the increase in the morbidity of measles in recent years. Investigation of effect features of existing vaccine variants is necessary to identify possible ways to increase their immunogenicity. We investigated the effect of measles culture live vaccine on the maturation of human dendritic cells – the most specialized antigen-presenting cells involved in the induction of an immune response. *In vitro* incubation of monocytic derived immature dendritic cells with the vaccine initiates the process of their partial maturation, which is manifested in an increase in the number of cells carrying molecules CD86, CD83 and ICOSL (CD275). At the same time they have a reduced expression level of the HLA-DR molecule and chemokine receptors CCR7 and CXCR5 involved in the migration of dendritic cells to peripheral lymphoid organs. In our opinion, the relative weak side of measles vaccine effect on dendritic cell maturation is a factor limiting the immunogenicity of the vaccine, which must be taken into account when developing new measles vaccines.

Keywords: measles vaccine, immune response, dendritic cells, maturation.

For citation: Talaev V.Yu., Babaikina O.N., Talaeva M.V., Voronina E.V., Zaichenko I.E. Deistvie korevoi vaksiny na sozrevaniye dendritnykh kletok cheloveka *in vitro* [Effect of measles vaccine on maturation of human dendritic cells *in vitro*]. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*, 2019, no. 8 (317), pp. 61–66. (In Russ.) DOI: <http://doi.org/10.35627/2219-5238/2019-317-8-61-66>

Корь – острое, тяжелое, высококонтагиозное вирусное заболевание человека. Важнейшим средством борьбы с корью является живая коревая вакцина (ЖКВ). В настоящее время в мире используют несколько вариантов этой вакцины, созданных из различных аттенуированных штаммов вируса кори [3, 13]. Основной отечественной ЖКВ являются вирусы штамма Ленинград-16 (Л-16), которые реплицируют в культуре эмбриональных фибробластов японских перепелов. ВОЗ признает эту вакцину препаратом, отвечающим мировым стандартам, и не отмечает клинически значимых различий эффективности вакцины на основе Л-16 по сравнению с вакцинами на основе других аттенуированных вакцинных штаммов (Schwarz, Edmonston–Zagreb, AIK-C, Moraten, CAM-70, TD-97 и Shanghai-191) [11].

Использование различных вариантов ЖКВ, начатое с 1963 г. (в СССР – с 1967 г.), продемонстрировало их высокую иммуногенность и эпидемиологическую эффективность [6]. Так,

в СССР заболеваемость корью снизилась с 500–1 200 случаев на 100 тыс. населения в довакцинальный период (1950–1968 гг.) до 1,4 случаев на 100 тыс. в 2001 г. и продолжала снижаться в последующие годы в Российской Федерации. Однако в последние 10 лет и особенно в 2018–2019 гг. во многих странах мира наблюдается резкий подъем заболеваемости корью. В России количество зарегистрированных случаев заболевания в 2018 г. возросло по сравнению с предыдущим годом в 3,5 раза и составило 2 539 случаев (1,73 на 100 тыс. населения при среднемноголетней заболеваемости 0,61). Возрос рейтинг оценки экономической значимости кори: ущерб экономике страны от заболеваемости корью в 2018 г. составил 156 млн рублей [1]. Росту заболеваемости корью способствует международная миграционная ситуация и отказ от вакцинации, в том числе от прививок по эпидпоказаниям [1]. Следует отметить, что в России охват прививками в 2018 г.,

как и в предшествующие годы, превышал регламентированные показатели (95 %) [1]. Однако в последние годы возникла ситуация несоответствия доли лиц, имеющих данные о проведенной вакцинации, и людей, имеющих защитный уровень специфических антител в крови, что свидетельствует о снижении напряженности коллективного иммунитета против кори у привитых [2]. В 2018 г. доля привитых среди заболевших корью составила 17,0 %, причем у 9,73 % было проведено 2 вакцинации [1]. Причиной отсутствия протективного иммунитета среди привитых могут быть первичные вакцинальные неудачи, из-за которых 5–10 % привитых остаются серонегативными, или вторичные вакцинальные неудачи, когда ответивший на вакцинацию человек быстро теряет защитный уровень антител [15]. Как это ни парадоксально, одной из причин ослабления защитного эффекта вакцинации может являться достигнутый ранее успех в борьбе с корью. Резкое ослабление циркуляции диких штаммов вируса и прекращение контакта большинства населения с этим инфекционным агентом может приводить к исчезновению естественного бустер-эффекта у привитых, что, в свою очередь, может сокращать срок эффективной защиты после вакцинации [8]. Следуя этой логике, можно предположить, что на этапе элиминации любой инфекции, контролируемой методами вакцинопрофилактики, целесообразно повышать эффективность вакцинации, используя новые высокоиммуногенные вакцины, формирующие длительную иммунную защиту, или увеличивая кратность введения ранее используемых вакцин. В связи с этим возникает вопрос о необходимости повышения эффективности вакцинопрофилактики на этапе элиминации кори, в частности, за счет повышения иммуногенности применяемых вакцин. Для этого, в свою очередь, необходимо исследовать особенности механизмов действия имеющихся вакцин с целью выявления возможных путей их совершенствования.

В нашей работе оценивалось действие отечественной ЖКВ на дендритные клетки (ДК) человека в экспериментальных моделях *in vitro*. ДК — профессиональные антигенпрезентирующие клетки миелоидной линии кроветворения, способные вовлекать в иммунный ответ не только Т-клетки памяти, но и наивные Т-лимфоциты [20]. Благодаря этим свойствам ДК играют ключевую роль в инициации первичного иммунного ответа на инфекцию или вакцину, а также способны эффективно стимулировать вторичный иммунный ответ [12]. Незрелые ДК (нДК), рассеянные по различным тканям организма, собирают антигены с помощью эндоцитоза. Также источником антигенов является их синтез внутри ДК при заражении этих клеток вирусами или бактериями [12]. При распознавании прямых признаков инфекции, так называемых молекулярных паттернов патогенов, или косвенных признаков инфекции (эндогенных медиаторов воспаления), активируется процесс перехода нДК на следующую стадию функционирования — стадию

зрелых ДК. Созревание ДК проявляется в усилении экспрессии молекул главного комплекса гистосовместимости, презентующих антигены, а также костимулирующих молекул, необходимых для дополнительной активации Т-лимфоцитов [4, 20]. Кроме того, при созревании на мембране ДК появляются хемокиновые рецепторы, которые направляют миграцию этих клеток из места первичной локализации в периферические лимфоидные органы для встречи с Т-лимфоцитами и презентации им собранных антигенов [4]. При распознавании представленного на ДК антигена Т-лимфоцит активируется, и под действием костимулирующих сигналов и цитокинов, продуцируемых ДК и другими клетками микроокружения, вступает в процесс быстрого размножения (клональной экспансии). Кроме того, мембранные молекулы и цитокины ДК индуцируют дифференцировку размножающихся Т-лимфоцитов в определенные типы Т-клеток-эффекторов и Т-клеток иммунологической памяти. В результате первоначально малочисленные наивные Т-лимфоциты, способные лишь к распознаванию данного антигена, превращаются в многочисленную армию полноценных иммунокомпетентных клеток, способных к непосредственному участию в иммунном ответе или формированию иммунологической памяти. Таким образом, одним из необходимых условий формирования полноценного иммунитета в ответ на вакцинацию является функциональное созревание ДК, поглотивших материал вакцины, которое проявляется в экспрессии функционально значимых молекул и приобретении ими способности к миграции в лимфоидные органы [16].

Цель исследования — экспериментально оценить способность живой коревой вакцины вызывать созревание дендритных клеток человека.

Материалы и методы. *Объект исследования.* Вакцина коревая культуральная живая (0,5 мл/1 доза/1 амп.) (АО «НПО «Микроген»).

Предмет исследования. Оценивалось действие ЖКВ на созревание ДК человека *in vitro*. Для этого незрелые моноцитарные ДК инкубировали с ЖКВ и затем оценивали экспрессию на поверхности ДК следующих молекул:

- молекул главного комплекса гистосовместимости HLA-DR, необходимой для презентации антигенов;

- молекул костимуляции Т-лимфоцитов CD80, CD86 и ICOSL (CD275);

- маркера зрелых дендритных клеток CD83;

- хемокинового рецептора CCR5 (CD195), направляющего миграцию ДК в очаг воспаления (характерен для нДК);

- хемокинового рецептора CCR7 (CD197), направляющего миграцию ДК в Т-клеточные зоны лимфоидных органов (экспрессируется только на зрелых ДК);

- хемокинового рецептора CXCR5 (CD185), направляющего миграцию клеток в В-клеточные зоны лимфоидных органов (экспрессируется частью зрелых ДК при определенных условиях активации).

Методы исследования. ДК получали *in vitro*, культивируя моноциты крови здоровых доноров с рекомбинантными человеческими цитокинами — интерлейкином-4 (ИЛ-4) и гранулоцитарно-макрофагальным колониестимулирующим фактором (ГМ-КСФ). Для этого кровь взрослых здоровых доноров, собранную в пробирки типа «вакутайнер» с гепарином натрия, разводили в 2 раза средой DME (Sigma-Aldrich), наслаивали на DIACOLL-1077 (ДИА-М, Россия) и центрифугировали при 450 g 45 мин при комнатной температуре. Мононуклеарные клетки периферической крови собирали с границы раздела фаз, дважды отмывали центрифугированием в среде DME, подсчитывая клетки перед последним центрифугированием, и ресуспендировали в среде RPMI-1640 (Gibco) с 10 % инактивированной фетальной телячьей сыворотки (ФТС) (PAA Laboratories) до концентрации $4,5 \cdot 10^6$ клеток/мл. Суспензию вносили по 1 мл в лунки полистироловых плоскодонных 24-луночных планшет (Costar) и инкубировали при +37 °C и 5 % CO₂ в течение двух часов. Затем неприлипающие клетки осторожно смывали средой не менее трех раз и проводили визуальный контроль чистоты смывания неприлипающих клеток и плотности засева остающихся моноцитов под инвертированным микроскопом с модуляционным фазовым контрастом Хоффмана. Затем удаляли среду и в лунки вносили по 1 мл среды для генерации нДК следующего состава: RPMI-1640 с 10 % ФТС, 20 нг/мл ИЛ-4 (sci.store) и 100 нг/мл ГМ-КСФ (sci.store). Клетки культивировали при +37 °C и 5 % CO₂ в течение семи дней. При этом на третьи сутки культивирования в лунки повторно добавляли 20 нг/мл ИЛ-4 и 100 нг/мл ГМ-КСФ.

По истечении срока культивирования полученные нДК пересеивали в свежую среду RPMI-1640 с 10 % ФТС без ИЛ-4 и ГМ-КСФ. В лунки опытных вариантов культур добавляли растворы вакцины. Растворы ЖКВ с концентрацией 2 и 0,4 дозы/мл готовили из лиофилизата вакцины в стерильных условиях на изотоническом фосфатно-солевом буфере Дюльбекко с Ca⁺⁺ и Mg⁺⁺ (DPBS) (Gibco) не более чем за час до внесения в культуры. Растворы ЖКВ вносили в культуры ДК по 50 мкл на 1 мл конечного объема. Таким образом, конечные концентрации ЖКВ в культурах составляли 0,1 и 0,02 дозы в 1 мл среды. В лунки отрицательного контроля вносили по 50 мкл DPBS без стимуляторов созревания ДК. В лунки положительного контроля для индукции созревания ДК вносили смесь медиаторов воспаления, состоящую из простагландина E2 (Sigma-Aldrich; конечная концентрация 1 мкг/мл) и рекомбинантных человеческих цитокинов ИЛ-1β (R&D, США; конечная концентрация 25 нг/мл), фактора некроза опухоли-α (R&D; конечная концентрация 50 нг/мл) и ИЛ-6 (sci.store; конечная концентрация 25 нг/мл). Также в лунки положительного контроля вносили по 50 мкл DPBS. Конечный объем всех культур составлял 1 мл.

ДК культивировали 48 ч. при +37 °C и 5 % CO₂, затем собирали, подсчитывали и использовали для анализа экспрессии мембранных молекул с помощью методов иммуофлюоресцентного окрашивания и лазерной проточной цитометрии. Иммуофлюоресцентное окрашивание проводили с использованием флюоресцентных конъюгатов моноклональных антител к мембранным молекулам моноцитов и ДК CD14, HLA-DR (Сорбент), CD80, CD83, CD86, ICOSL (CD275), CCR5 (CD195), CXCR5 (CD185) и CCR7 (CD197) (eBioScience) в соответствии с инструкциями производителей антител. Антитела были конъюгированы с флюоресцеинизотиоцианатом (FITC), фикоэритрином (PE) или аллофикоцианином. Результат иммуофлюоресцентного окрашивания оценивали с помощью лазерного проточного цитофлюориметра FACSCalibur (BD Biosciences Immunocytometry Systems). При этом ДК выделяли в гейт для анализа в соответствии с параметрами прямого и бокового светорассеяния. Контроль чистоты ДК осуществляли по наличию HLA-DR и утрате моноцитарно-макрофагального маркера CD14. Применимыми для анализа считали культуры, содержащие > 90 % HLA-DR⁺ клеток и < 5 % CD14⁺ клеток в гейте. Затем оценивали процент гейтированных клеток, несущих каждую из оцениваемых молекул, а также среднюю геометрическую интенсивность флюоресценции.

Анализ результатов проточной цитометрии проводили в программе CellQuest (BD Biosciences Immunocytometry Systems). Для статистической обработки данных применяли описательную статистику: рассчитывали среднее значение и стандартную ошибку среднего, которые представлены на гистограммах. Достоверность отличий от значений негативного контроля оценивали с помощью t-критерия Стьюдента для зависимых выборок.

Результаты исследования. Используемые в работе клетки культур отрицательного контроля демонстрировали типичный фенотип нДК. Во всех использованных культурах более 90 % клеток экспрессировали HLA-DR (средний показатель $92,22 \pm 1,01$ %) и практически все клетки утрачивали маркер моноцитов CD14 (средний показатель $1,66 \pm 1,10$ %). Большинство клеток экспрессировало CD80 и CD86, тогда как уровень экспрессии маркера зрелых ДК CD83 оставался низким (рис. 1). В связи с этим клетки отрицательного контроля далее в статье обозначены как нДК. Клетки положительного контроля, стимулированные смесью цитокинов и простагландина E2, (далее обозначены ДК-ЦТК) во всех использованных культурах демонстрировали полное созревание, которое проявлялось в существенном увеличении экспрессии маркеров зрелых ДК. В результате практически все ДК-ЦТК экспрессировали HLA-DR, CD80, CD83 и CD86, причем плотность экспрессии этих молекул на ДК-ЦТК по сравнению с нДК существенно увеличивалась, о чем свидетельствует рост интенсивности флюоресценции (рис. 1).

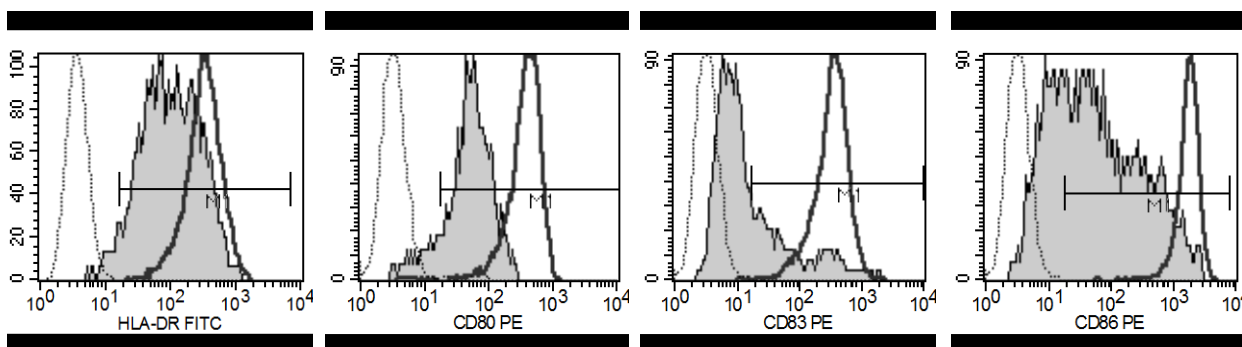


Рис. 1. Примеры экспрессии HLA-DR, CD80, CD83 и CD86: гистограммы с серым полем — на нДК отрицательного контроля; толстая линия — ДК-ЦТК положительного контроля созревания; пунктирная линия — негативный контроль окрашивания. Молекулы обозначены под гистограммами. Ось X — интенсивность флуоресценции; ось Y — количество событий (клеток) с соответствующей интенсивностью флуоресценции. Доля событий на отрезке M1 соответствует проценту клеток, несущих маркер

Fig. 1. Expression of HLA-DR, CD80, CD83 and CD86 on immature DCs of negative control (histograms with a gray field) and DCs-CTCs of the positive control of maturation (thick line). Dotted line — negative staining control. Molecules indicated under histograms. X-axis — fluorescence intensity; Y-axis — number of events (cells) with the corresponding fluorescence intensity. The share of events on the M1 segment corresponds to the percentage of cells carrying the molecule

Добавление ЖКВ вызывало заражение клеток вирусом вакцины, которое морфологически проявлялось в образовании симпластических структур — гигантских многоядерных клеток (рис. 2). Количество симпластов было невелико, не более одного на тысячу клеток к 48 ч. культивирования с вакциной, что можно расценивать как свидетельство ограниченной репликации вируса в клетках в течение срока наблюдения.

Этот результат вполне соответствует ожидаемому, поскольку известно, что вирус кори *in vivo* и *in vitro* заражает ДК человека и реплицируется в них [7, 14, 17]. При этом заражение ДК вакцинным и дикими (вирулентными) штаммами вируса отличается как по набору рецепторов

для вируса (CD150 — для вирулентного, CD46 вместе с CD150 — для вакцинного), так и по последствиям. Заражение ДК вирулентными вирусами кори ведет к активной репликации, утрате способности ДК стимулировать размножение лимфоцитов, изменению направления дифференцировки Т-лимфоцитов, заражению лимфоцитов вирусом и, в конечном итоге, к развитию иммуносупрессии как части патогенеза кори [6, 7, 9, 14]. Заражение ДК вакцинным штаммом вызывает, по разным данным, слабую [7] или сходную с диким штаммом [19] репликацию вируса в клетках. В любом случае заражение антигенпрезентирующих клеток вакцинным штаммом вируса не должно являться препятствием для выполнения их

основной функции — презентации антигенов. Более того, вирусные белки, синтезируемые в зараженных ДК, должны быть источником антигенных пептидов для презентации Т-лимфоцитам. Однако для эффективного взаимодействия с Т-лимфоцитами ДК должны не только презентировать антигены вируса, но и пройти процесс созревания в ответ на распознавание молекулярных паттернов вируса с помощью внутриклеточных и/или поверхностных паттерн-распознающих рецепторов.

Цитометрический анализ выявил фенотипические признаки созревания ДК под действием ЖКВ в условиях *in vitro*. Созревание проявлялось в достоверном увеличении количества клеток, экспрессирующих маркер зрелых ДК CD83 и костимулирующую молекулу CD86 (рис. 3).

Также наблюдалось незначительное увеличение экспрессии костимулирующей молекулы CD80. Следует отметить, что уровень экспрессии этих маркеров на ДК, инкубированных с ЖКВ, суще-

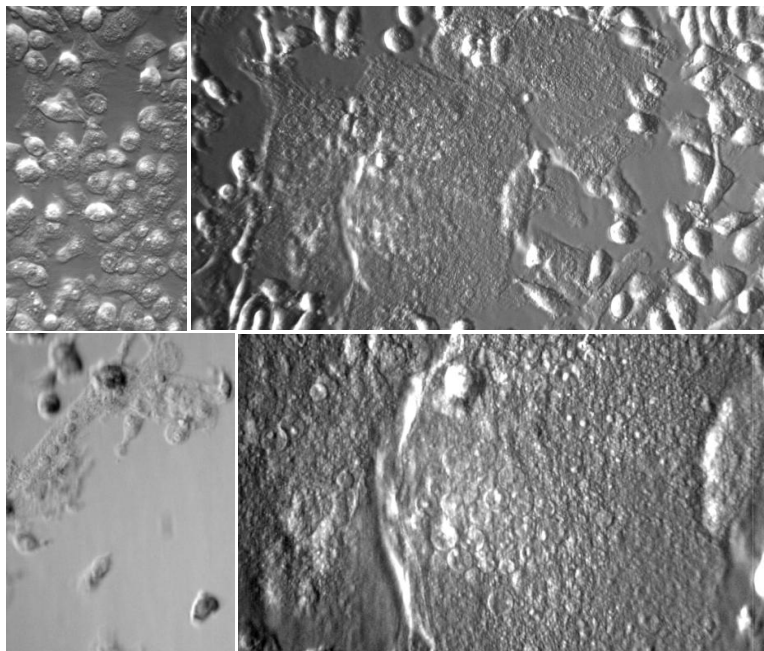


Рис. 2. Образование симпластических структур в культурах ДК с коревой вакциной. Микроскопия неокрашенных культур клеток с модуляционным фазовым контрастом Хоффмана (x200)

Fig. 2. Formation of symplastic structures in cultures of DCs with measles vaccine. Microscopy of unstained cell cultures with Hoffman modulation phase contrast (x200)

ственно уступал показателям контрольных зрелых ДК-ЦТК. Слабая экспрессия CD80 и CD86 может привести к недостатку сигнала, стимулирующего Т-лимфоциты через молекулу CD28. Компенсировать этот недостаток может дополнительный костимулирующий сигнал, передаваемый дендритной клеткой с помощью молекулы ICOSL [10]. Показано, что ЖКВ индуцирует экспрессию этой молекулы на части ДК (рис. 3). Необходимо отметить, что эта молекула необходима для созревания фолликулярных Т-хелперов [5], которые играют важнейшую роль в индукции Т-зависимого гуморального иммунитета с долговременной продукцией антител различных изотипов [21].

ДК, инкубированные с ЖКВ, имели меньшую, чем нДК интенсивность флуоресценции при окраске HLA-DR, тогда как при созревании ДК-ЦТК этот показатель достоверно увеличивался по сравнению с нДК (рис. 4). Поскольку интенсивность флуоресценции отражает среднее количество исследуемой молекулы на одной клетке, полученные результаты свидетельствуют об ослаблении синтеза молекул главного комплекса гистосовместимости II класса в ДК под действием вируса вакцины.

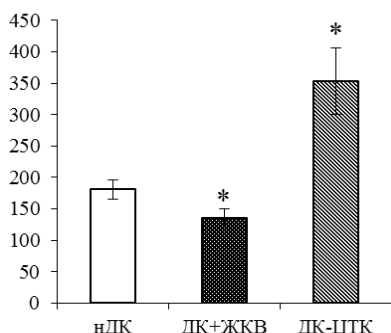


Рис. 4. Геометрическая средняя интенсивность флуоресценции при окраске HLA-DR на нДК, на ДК, инкубированных с ЖКВ в концентрации 0,1 дозы/мл, и на ДК-ЦТК положительного контроля; * — достоверное отличие от нДК при $p < 0,05$

Fig. 4. Geometric mean fluorescence intensity of HLA-DR staining of immature DCs (нДК), on DCs after incubation with 0.1 dose/ml of live measles vaccine (ДК+ЖКВ) and on mature DCs of the positive control (ДК-ЦТК). * — versus immature DCs at $p < 0.05$

Для оценки влияния вакцины на миграционные свойства ДК определяли изменение экспрессии хемокинового рецептора CCR5, участвующего в миграции нДК в очаги воспаления, хемокинового рецептора CCR7, направляющего миграцию зрелых ДК в Т-клеточные зоны лимфоидных органов, и хемокинового рецептора CXCR5, локализирующего клетки в В-клеточных зонах лимфоидных органов. Как и следовало ожидать, зрелые

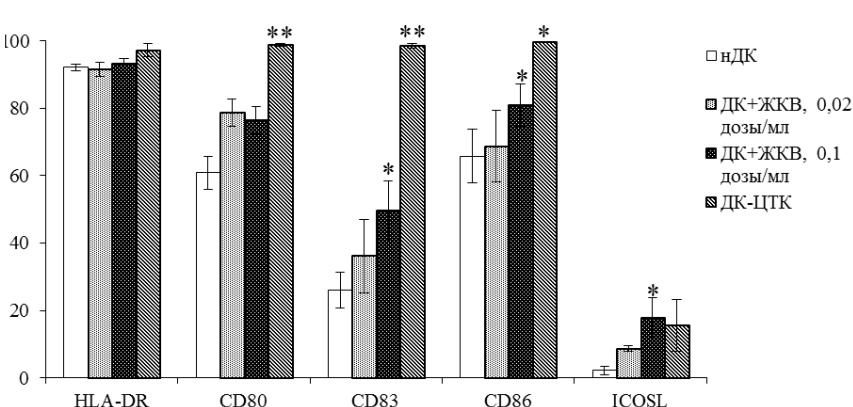


Рис. 3. Экспрессия HLA-DR, CD80, CD83, CD86 и ICOSL на нДК отрицательного контроля, на ДК, инкубированных с ЖКВ в концентрациях 0,02 или 0,1 дозы/мл, и на зрелых ДК-ЦТК положительного контроля созревания. Ось X — названия молекул; ось Y — процент клеток, несущих соответствующую молекулу; * — достоверное отличие от нДК при $p < 0,05$; ** — достоверное отличие от нДК при $p < 0,001$

Fig. 3. Expression of HLA-DR, CD80, CD83, CD86 and ICOSL on immature DCs (нДК) of the negative control, on DCs after incubation with 0.02 and 0.1 dose/ml of live measles vaccine (ЖКВ) and mature DCs-CTCs of the positive control of maturation (ДК-ЦТК). Molecules indicated under histograms. Y-axis — the percentage of cells carrying the corresponding molecule. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ versus immature DCs

ДК положительного контроля отличались мощной экспрессией рецептора CCR7. В то же время ДК, инкубированные с используемыми в работе концентрациями ЖКВ, не демонстрировали достоверного усиления экспрессии хемокиновых рецепторов CCR5, CXCR5 и CCR7 (рис. 5).

Таким образом показано, что инкубация нДК с коревой вакциной вызывает морфологические изменения в культурах клеток, свидетельствующие о заражении клеток вирусом, и запускает процесс частичного созревания ДК. Созревание ДК проявляется в увеличении количества клеток, несущих маркер зрелых дендритных клеток CD83 и костимулирующие молекулы CD86 и ICOSL. В то же время ДК, инкубированные с ЖКВ, имеют малую плотность экспрессии HLA-DR, участвующей в презентации антигенов Т-хелперам, и практически не экспрессируют хемокиновые рецепторы CCR7 и CXCR5, участвующие в миграции ДК в периферические лимфоидные органы. Считается, что дендритные клетки с таким фенотипом, так называемые полужрелые дендритные клетки — *semimature dendritic cells*, обладают ограниченными способностями к стимуляции иммунного ответа. Следует отметить, что сравнение полученных результатов с данными литературы свидетельствует о том, что вакцинные штаммы вируса, использованные в исследованиях зарубежных коллег (штаммы *Edmonston-Zagreb* и *Edmonston-B*), вызывают сходные с описанными выше ограниченные и замедленные проявления созревания ДК [18, 19].

Следовательно, зарегистрированный нами уровень действия отечественной ЖКВ на ДК, является типичным для коревой вакцины. Тем не менее относительная слабость действия ЖКВ на созревание ДК, по нашему мнению, является фактором, ограничивающим иммуногенность вакцины. В целях совершенствования вакцины представляется целесообразным проведение поиска вакцинных

штаммов вируса с большей способностью активировать ДК среди имеющихся или создание новых аттенуированных штаммов с соответствующими свойствами. Также возможно введение в вакцину адъювантных компонентов, стимулирующих созревание ДК и усиливающих их миграционные свойства.

Выводы

1. Инкубация незрелых дендритных клеток с живой коревой вакциной вызывает увеличение количества клеток, экспрессирующих функционально значимые молекулы CD83, CD86 и ICOSL.

2. Инкубация незрелых дендритных клеток с живой коревой вакциной вызывает небольшое ослабление экспрессии HLA-DR и не уси-

ливает экспрессию хемокиновых рецепторов CCR5, CCR7, CXCR5.

3. Фенотип дендритных клеток после инкубации с живой коревой вакциной свидетельствует о частичном созревании дендритных клеток.

ЛИТЕРАТУРА

(пп. 4–21 см. References)

1. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году: Государственный доклад [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://gospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=12053. (дата обращения: 06.06.2019).
2. Топтыгина А.П., Смердова М.А., Наумова М.А., Владимиров Н.П., Мамаева Т.А. Влияние особенностей популяционного иммунитета на структуру заболеваемости корью и краснухой // Инфекция и иммунитет. 2018. Т. 8. № 3. С. 341–348.
3. Шамсутдинова О.А. Живые аттенуированные вакцины для иммунопрофилактики // Инфекция и иммунитет. 2017. Т. 7. № 2. С. 107–116.

REFERENCES

1. O sostoyanii sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya v Rossiiskoi Federatsii v 2018 godu: Gosudarstvennyi doklad [On the state of sanitary and epidemiological wellbeing of the population in the Russian Federation in 2018: State report]. Available at: https://gospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=12053. (accessed:06.06.2019). (In Russ.)
2. Topotygina A.P., Smerdova M.A., Naumova M.A., Vladimirova N.P., Mamaeva T.A. Vliyaniye osobennostey populyatsionnogo immuniteta na strukturu zaboлеваemosti kor'yu i krasnukhoi [Influence of population immunity peculiarities on the morbidity structure of measles and rubella]. *Infektsiya i immunitet*, 2018, vol. 8, no. 3, pp. 341–348. (In Russ.)
3. Shamsutdinova O.A. Zhiyye attenuirovannyye vaksiny dlya immunoprofilaktiki [Live attenuated vaccines for the immunoprophylaxis]. *Infektsiya i immunitet*, 2017, vol. 7, no. 2, pp. 107–116. (In Russ.)
4. Alvarez D., Vollmann E.H., von Andrian U.H. Mechanisms and Consequences of Dendritic Cell Migration. *Immunity*, 2008, vol. 29, no. 3, pp. 325–342.
5. Choi Y.S., Kageyama R., Eto D., Escobar T.C., Johnston R.J., Monticelli L., et al. ICOS receptor instructs T follicular helper cell versus effector cell differentiation via induction of the transcriptional repressor Bcl6. *Immunity*, 2011, vol. 34, pp. 932–946.
6. Duhon T., Herschke F., Azocar O., Druelle J., Plumet S., Delprat C., et al. Cellular receptors, differentiation and endocytosis requirements are key factors for type I IFN response by human epithelial, conventional and plasmacytoid dendritic infected cells by measles virus. *Virus Res.*, 2010, vol. 152, no. 1–2, pp. 115–125.
7. Grosjean I., Caux C., Bella C., Berger I., Wild F., Banchereau J., Kaiserlian D. Measles virus infects human dendritic cells and blocks their allostimulatory properties for CD4+ T cells. *J. Exp. Med.*, 1997, vol. 186, no. 6, pp. 801–812.
8. Hickman C.J., Hyde T.B., Sowers S.B., Mercader S., McGrew M., Williams N.J., Beeler J.A., Audet S., Kiehl B., Nandy R.,

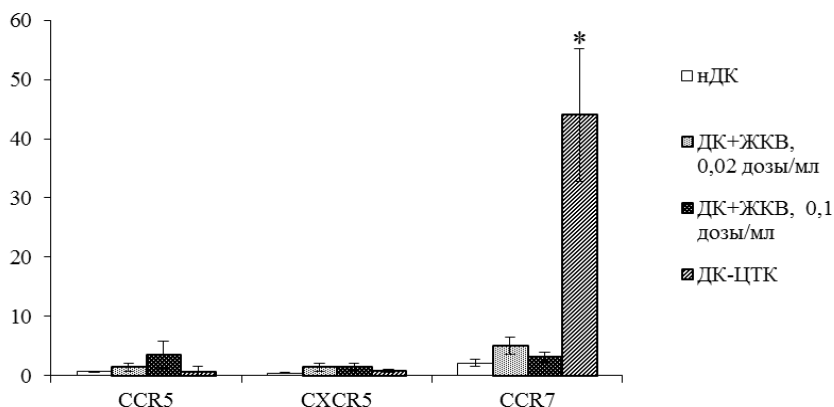


Рис. 5. Экспрессия хемокиновых рецепторов на нДК отрицательного контроля, на клетках, инкубированных с вакциной, и на зрелых ДК-ЦТК положительного контроля созревания. Ось X — названия рецепторов; ось Y — процент клеток, несущих соответствующий рецептор; * — достоверное отличие от нДК при $p < 0,05$

Fig. 5. Chemokine receptor expression on immature DCs (нДК) of negative control, on cells incubated with the vaccine and on mature DCs-CTCs (ДК-ЦТК) of the positive control of maturation. Receptors indicated under histograms; Y axis — percentage of cells carrying the corresponding receptor; * — versus immature DCs at $p < 0.05$

Tamin A., Bellini W.J. Laboratory characterization of measles virus infection in previously vaccinated and unvaccinated individuals. *J. Infect. Dis.*, 2011, vol. 204, Suppl. 1, pp. 549–558.

9. Klagge I.M., Abt M., Fries B., Schneider-Schaulies S. Impact of measles virus dendritic-cell infection on Th-cell polarization in vitro. *J. Gen. Virol.*, 2004, vol. 85, pp. 3239–3247.
10. Linterman M., Rigby R., Wong R. et al. Roquin differentiates the specialized functions of duplicated T cell costimulatory receptor genes CD28 and ICOS. *Immunity*, 2009, vol. 30, pp. 228–241.
11. Measles vaccines: WHO position paper (PDF). *Weekly epidemiological record*, 2009, vol. 84, no. 35, pp. 349–60.
12. Merad M., Sathe P., Helft J., Miller J., Mortha A. The Dendritic cell lineage: ontogeny and function of dendritic cells and their subsets in the steady state and the inflamed setting. *Annu. Rev. Immunol.*, 2013, vol. 31, pp. 563–604.
13. Minor P.D. Live attenuated vaccines: historical successes and current challenges. *Virology*, 2015, vol. 479–480, pp. 379–392.
14. Ohgimoto K., Ohgimoto S., Ihara T., Mizuta H., Ishido S., Ayata M., Ogura H., Hotta H. Difference in production of infectious wild-type measles and vaccine viruses in monocyte-derived dendritic cells. *Virus Res.*, 2007, vol. 123, no. 1, pp. 1–8.
15. Orenstein W.A., Strebel P.M., Papania M., Sutter R.W., Bellini W.J., Cochi S.L. Measles eradication: is it in our future? *Am. J. Public Health*, 2000, vol. 90, pp. 1521–1525.
16. Palucka K., Banchereau J., Mellman I. Designing vaccines based on biology of human dendritic cell subsets. *Immunity*, 2010, vol. 33, no. 4, pp. 464–478.
17. Rennick L.J., de Vries R.D., Carsillo T.J., Lemon K., van Amerongen G., Ludlow M., et al. Live-attenuated measles virus vaccine targets dendritic cells and macrophages in muscle of nonhuman primates. *J. Virol.*, 2015, vol. 89, no. 4, pp. 2192–2200.
18. Schnorr J.J., Xanthakos S., Keikavoussi P., Kampgen E., ter Meulen V., Schneider-Schaulies S. Induction of maturation of human blood dendritic cell precursors by measles virus is associated with immunosuppression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 1997, vol. 94, no. 10, pp. 5326–5331.
19. Shivakoti R., Siwek M., Hauer D., Schultz K.L., Griffin D.E. Induction of dendritic cell production of type I and type III interferons by wild-type and vaccine strains of measles virus: role of defective interfering RNAs. *J. Virol.* 2013. vol. 87, no. 14, pp. 7816–7827.
20. Steinman R.M. The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu. Rev. Immunol.*, 1991, vol. 9, pp. 271–296.
21. Woong-Kyung Suh. Life of T follicular helper cells. *Mol. Cells*, 2015, vol. 38, no. 3, pp. 195–201.

Контактная информация:

Талаев Владимир Юрьевич, доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора
e-mail: talaev@inbox.ru

Contact information:

Talayev Vladimir, Medice Doctor, Professor, leading researcher-head of cell immunology laboratory at Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology
e-mail: talaev@inbox.ru