

DOI: 10.33741/0435-1991.42.04

ІМУНОФЕНОТИПОВІ ОСОБЛИВОСТІ ПУХЛИННИХ КЛІТИН ТА Т-ЛІМФОЦИТІВ У ХВОРИХ НА ГОСТРУ МІЄЛОЇДНУ ЛЕЙКЕМІЮ

Гордієнко А. І., Третьак Н. М., Стародуб Г. С., Бортнік Г. А.

*ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМН України»,
Київ, Україна*

Резюме

Вступ. Сімейство молекул B7: B7.1 (CD80), B7.2 (CD86) та рецептор CD28 є важливими молекулярними структурами, які беруть участь у формуванні специфічних імунних реакцій. Аналіз особливостей рівня їхньої експресії у взаємозв'язку з перебігом гострої мієлоїдної лейкемії (ГМЛ) представляє значний інтерес.

Метою роботи була оцінка інтенсивності експресії коstimуляторних молекул сімейства B7 (B7.1/CD80, B7.2/CD86) на клоні пухлинних клітин і моноцитах; рецептора CD28 на CD3⁺ Т-лімфоцитах у хворих на ГМЛ до початку лікування та після специфічної терапії.

Матеріали і методи. Імунологічні дослідження були проведені 17 хворим (12 жінок та 5 чоловіків.) на ГМЛ у перший гострий період до початку та після специфічного лікування. Методом протокової лазерної цитофлюориметрії аналізували коекспресію коstimуляторних молекул сімейства B7 (B7.1/CD80, B7.2/CD86) пухлинними клітинами з імунофенотипом CD34⁺, CD117⁺, CD33⁺ і CD28 ліганду CD3⁺ Т-лімфоцитами на цитофлюориметрі FACScan (Becton Dickinson, USA). Для статистичної обробки даних використовувався пакет програм Statsoft Statistica 6.0. Оцінку вірогідності розходжень проводили за допомогою непараметричного U-критерію Манна-Уїтні. Розходження вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати. Показано, що у хворих на ГМЛ до початку лікування клон пухлинних клітин периферичної крові (ПК) з імунофенотиповим профілем CD34⁺, CD117⁺, CD33⁺ в середньому має різний рівень інтенсивності експресії коstimуляторних молекул сімейства B7 (B7.1/CD80, B7.2/CD86) та рецептора CD28. Так, в 1 групі ($n=7$) хворих виявлено більше CD34⁺, CD117⁺, CD33⁺ пухлинних клітин з високою інтенсивністю експресії коstimуляторних молекул сімейства B7 (CD80^{high} CD86^{high}). Тоді як у пацієнтів 2 групи ($n=10$) в крові вище вміст CD34⁺, CD33⁺, CD117⁺ пухлинних клітин з низьким рівнем інтенсивності експресії коstimуляторних молекул CD80^{low}, CD86^{low}. У хворих в 1 групі кількість CD3^{high} лімфоцитів з високою інтенсивністю експресії ліганду CD28 була в середньому достовірно ($p < 0,05$) вище, а CD3^{low} нижче аналогічних

показників 2 групи ($p < 0,05$). У хворих на ГМЛ до терапії ($n=10$) число в крові $CD3^+CD28^{+bright}$ клітин достовірно зменшено ($p < 0,05$), а $CD3^+CD28^{+low}$ у порівнянні з пацієнтами після терапії ($n=6$) з пухлинними клітинами в КМ та ПК. Кількість в ПК $CD3^+CD28^{+low}$ клітин в обох групах не має достовірних відмінностей. У хворих на ГМЛ в ремісії ($n=7$) в ПК виявлена більша середня кількість $CD33^+$ моноцитів з високим рівнем інтенсивності експресії молекул $CD80^{+bright}CD86^{+bright}$. Тоді як у хворих після терапії з пухлинними клітинами в КМ у середньому достовірно більше моноцитів з низьким рівнем інтенсивності експресії коstimуляторних молекул $CD80^{+low}CD86^{+low}$ у порівнянні з пацієнтами в ремісії. За даними досліджень у 10 хворих на ГМЛ після терапії не була досягнута ремісія. Серед них у 4-х хворих виявлено пухлинні клітини в КМ, а у 6 – в КМ та ПК. В ПК цих хворих до терапії пухлинні клітини в основному експресували низький рівень коstimуляторних молекул $CD80^{+low}CD86^{+low}$ та ліганду $CD28^{+low}$ на Т-лімфоцитах. Результати імунологічних досліджень показали, що у хворих після терапії з пухлинними клітинами в кістковому мозку (КМ) та ПК залишається в середньому значна кількість клітин з низьким рівнем експресії молекул $CD80^{+low}CD86^{+low}$ і знижено число $CD80^{+bright}$, $CD86^{+bright}$ відносно хворих 1 групи до терапії. Але при порівнянні з пацієнтами 2 групи до терапії значних відмінностей середньої кількості клітин з низьким рівнем експресії молекули $CD80^{+low}$ не спостерігається. При цьому у хворих після терапії в ПК було знижено вміст клітин з високим рівнем експресії молекули $CD86^{+bright}$. Виявлено, що у хворих на ГМЛ в ремісії ($n=7$) вміст в ПК $CD3^+CD28^{+bright}$ клітин середньому підвищено ($p < 0,05$), а $CD3^+CD28^{+low}$ достовірно знижено ($p < 0,05$) відносно даних у пацієнтів після терапії ($n=4$) в КМ яких були пухлинні клітини. Оцінка результатів свідчить, що у хворих на ГМЛ спостерігався взаємозв'язок низького рівня інтенсивності експресії молекул сімейства B7(B7.1/CD80, B7.2/CD86) та ліганду CD28 Т-лімфоцитами з перебігом захворювання. Таким чином, порушення протиракового імунного захисту у хворих на ГМЛ залежить від низького рівня інтенсивності експресії коstimуляторних молекул $CD80^{+}$, $CD86^{+}$ на клоні пухлинних клітин з імунофенотиповими ознаками $CD34^{+}$, $CD117^{+}$, $CD33^{+}$ та ліганду CD28 на $CD3^{+}$ -лімфоцитах.

Висновки. Порушення протиракового імунного захисту у хворих на ГМЛ залежить від низького рівня інтенсивності експресії коstimуляторних молекул $CD80^{+}$, $CD86^{+}$ на клоні пухлинних клітин з імунофенотиповими ознаками $CD34^{+}$, $CD117^{+}$, $CD33^{+}$ та ліганду CD28 на $CD3^{+}$ -лімфоцитах.

Ключові слова: гостра мієлоїдна лейкемія, коstimуляторні молекули, пухлинні клітини, моноцити, ліганд.

Конфлікт інтересів: автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування: дослідження не мало спонсорської підтримки.

IMMUNOPHENOTYPE CHARACTERISTICS OF TUMOR CELLS AND T-LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Gordienko A. I., Tretyak N. M., Starodub G. S., Bortnik H. A.

SI «Institute of Hematology and Transfusion of the NAMS of Ukraine»,
Kyiv, Ukraine

Abstract

Introduction. The B7 family of molecules: B7.1 (CD80), B7.2 (CD86) and the CD28 receptor are important molecular structures involved in the formation of specific immune responses. Analysis of the features of their expression level in relation to the course of acute myeloid leukemia (AML) is of great interest.

The aim of the work was to evaluate the intensity of expression of costimulatory molecules of the B7 family (B7.1/CD80, B7.2/CD86) on a clone of tumor cells and monocytes; of the CD28 receptor on CD3⁺ T-lymphocytes in patients with AML before the start of treatment and after specific therapy.

Materials and methods. Immunological studies were conducted in 17 patients (12 women and 5 men) with AML in the first acute period before and after specific treatment. The co-expression of co-stimulatory molecules of the B7 family (B7.1/CD80, B7.2/CD86) by tumor cells with CD34⁺, CD117⁺, CD33⁺ and CD28 ligand CD3⁺ T-lymphocytes was analyzed using a ductal laser cytofluorimetry method on a FACScan cytofluorimeter (Becton Dickinson, USA). The Statsoft Statistica 6.0 program package was used for statistical data processing. The estimation of the probability of discrepancies was carried out using the non-parametric Mann-Whitney U-test. Differences were considered significant at $p < 0.05$.

Results. It was shown that in AML patients, before the start of treatment, a clone of PC tumor cells with an immunophenotypic profile of CD34⁺, CD117⁺, CD33⁺ has, on average, a different level of intensity of expression of costimulatory molecules of the B7 family (B7.1/CD80, B7.2/CD86) and CD28 receptor. Thus, in 1 group ($n=7$) of patients, more CD34⁺, CD117⁺, CD33⁺, tumor cells with a high intensity of expression of costimulatory molecules of the B7 family (CD80⁺^{bright} CD86⁺^{bright}) were found. Whereas in patients of group 2 ($n=10$), the content of CD34⁺, CD33⁺, CD117⁺ tumor cells with a low level of intensity of expression of costimulatory molecules CD80^{low}, CD86^{low} is higher in the blood. In patients in group 1, the number of CD3⁺^{bright} lymphocytes with a high intensity of expression of the CD28 ligand was on average significantly ($p < 0.05$) higher, and CD3⁺^{low} was lower than similar indicators in group 2 ($p < 0.05$). In patients with GML before therapy ($n=10$), the number of CD3⁺ CD28⁺^{bright} cells in the blood was significantly reduced ($p < 0.05$), and CD3⁺ CD28^{low} compared to patients after therapy ($n=6$) with tumor cells in CM and PC. The number of PC CD3⁺ CD28^{low} cells in both groups has no significant differences. In patients with AML in remission ($n=7$), a higher average number of CD33⁺ monocytes with a high level of expression of CD80⁺^{bright} CD86⁺^{bright} molecules was found in PC. Whereas in

patients after therapy with tumor cells in CM, on average, significantly more monocytes with a low level of intensity of expression of costimulatory molecules $CD80^{+low}$ $CD86^{+low}$ compared to patients in remission. According to research data, remission was not achieved in 10 patients with AML after therapy. Among them, in 4 patients, tumor cells were found in the CM, and in 6 - in the CM and PC. In the PC of these patients before therapy, tumor cells mainly expressed a low level of costimulatory molecules $CD80^{+low}$ $CD86^{+low}$ and the ligand CD28 low on T-lymphocytes. The results of immunological studies showed that after therapy with tumor cells in the CM and PC, there remains on average a significant number of cells with a low level of expression of $CD80^{+low}$ $CD86^{+low}$ molecules and a reduced number of $CD80^{+bright}$, $CD86^{+bright}$ compared to patients of group 1 before therapy. But when compared with patients of group 2 before therapy, no significant differences in the average number of cells with a low level of expression of the $CD80^{+low}$ molecule are observed. At the same time, the content of cells with a high level of expression of the $CD86^{+bright}$ molecule was reduced in patients after PC therapy. It was found that in patients with AML in remission ($n=7$), the content of $CD3^{+}CD28^{+bright}$ cells in PC was on average increased ($p<0.05$), and $CD3^{+}CD28^{+low}$ was significantly reduced ($p<0.05$) relative to the data in patients after therapy ($n=4$) who had tumor cells in their CM. The evaluation of the results shows that in AML patients there was a relationship between the low level of intensity of expression of molecules of the B7 family (B7.1/CD80, B7.2/CD86) and CD28 ligand by T-lymphocytes with the course of the disease. Thus, the violation of antitumor immune defense in AML patients depends on the low level of intensity of expression of costimulatory molecules $CD80^{+}$, $CD86^{+}$ on a clone of tumor cells with immunophenotypic features of $CD34^{+}$, $CD117^{+}$, $CD33^{+}$ and $CD28^{+}$ ligand on $CD3^{+}$ lymphocytes.

Conclusions. The violation of antitumor immune defense in patients with AML depends on the low level of intensity of expression of costimulatory molecules $CD80^{+}$, $CD86^{+}$ on a clone of tumor cells with immunophenotypic features of $CD34^{+}$, $CD117^{+}$, $CD33^{+}$ and $CD28^{+}$ ligand on $CD3^{+}$ lymphocytes.

Keywords: acute myeloid leukemia, costimulatory molecules, tumor cells, monocytes, ligand.

Competing interests: the authors declare no conflict of interests in relation to this article.

Financing resources: research had no industry funding.

Вступ

Молекулярними структурами, які активно беруть участь у формуванні імунної відповіді на антигени різного походження, є коstimуляторні молекули сімейства B7: B7.1 (CD80), B7.2 (CD86) та рецептор CD28. Як відомо, в функціонуванні імунної системи молекулам B7/CD28 належить значна роль в регуляції активаційних та інгібуючих процесів в клітинах. Їх вплив реалізується як в умовах фізіологічної норми, так і при

патологічних станах організму [1, 2]. Так, сімейство молекул B7/CD28 контролюють протипухлинні антигенспецифічні імунні реакції [3, 4]. Відомо, що гостра мієлоїдна лейкемія (ГМЛ) супроводжується значними порушеннями протипухлинного імунітету. Однак, залишається недостатньо вивчена роль молекул B7/CD28 в регуляції імунних реакцій протипухлинного імунітету та їхній вплив на прогресію ГМЛ [5–10].

Таким чином, аналіз особливостей рівня інтенсивності експресії Т-лімфоцитами ліганду CD28 та пухлинними клітинами коstimуляторних молекул B7 (B7.1/CD80, B7.2/CD86), які регулюють імунну відповідь на пухлинні антигени у взаємозв'язку з перебігом ГМЛ, представляє значний інтерес.

Мета дослідження – оцінити інтенсивність експресії коstimуляторних молекул сімейства B7 (B7.1/CD80, B7.2/CD86) на клоні пухлинних клітин і моноцитах; рецептора CD28 на CD3⁺ Т-лімфоцитах у хворих на ГМЛ до початку лікування та після специфічної терапії.

Матеріали і методи

Імунологічні дослідження були проведені у 17 хворих на ГМЛ у перший гострий період до початку терапії та після специфічного лікування. Серед хворих було 12 жінок та 5 чоловіків (діапазон віку 42–75 pp.)

Методом протокової лазерної цитофлюориметрії аналізували коекспресію коstimуляторних молекул сімейства B7 (B7.1/CD80, B7.2/CD86) пухлинними клітинами з імунофенотипом CD34⁺, CD117⁺, CD33⁺ і CD28 ліганду CD3⁺ Т-лімфоцитами за допомогою анти-CD80, анти-CD86, анти-CD34, анти-CD117, CD33, анти-CD3, анти-CD28 моноклональних антитіл (МКА), мічених флуорохромами (Becton Dickinson, USA).

Дослідження здійснювали на цитофлюориметрі FACScan (Becton Dickinson, USA). Для збору та аналізу даних використовували програмне забезпечення LYSYS-II Ver.1.1. (Becton Dickinson); WinMDI 2,8 (Joseph Trotter, Scripps Institute, La Jolla, CA). «Гейти» пухлинних клітин, лімфоцитів та моноцитів виділяли з урахуванням параметрів бічного (SSC) і переднього (FSC) світлорозсіювання в режимі лінійного посилення сигналів, а також показників флуоресценції по двох каналах (FL1 і FL2) у режимі логарифмічного посилення сигналів. Показники флуоресценції враховувалися при використанні анти-CD45⁺/CD14⁺ моноклональних антитіл (МКА).

Для статистичної обробки даних використовувався пакет програм Statsoft Statistica 6.0. Оцінку вірогідності розходжень проводили за допомогою непараметричного U-критерію Манна-Уїтні. Розходження вважали достовірними при $p < 0,05$.

Усі дослідження проводили з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину, Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964 р. з подальшими доповненнями, включаючи версію 2000 р.) та наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Результати та їх обговорення

Залежно від різного рівня інтенсивності експресії костимуляторних молекул сімейства B7 (B7.1/CD80, B7.2/CD86) на клоні пухлинних клітин з імунофенотиповим профілем CD34⁺-, CD117⁺-, CD33⁺-, хворі на ГМЛ до початку лікування були розподілені на дві групи.

У першій групі хворих на ГМЛ (n=7; 41,2%) до початку лікування сумарна кількість пухлинних клітин в периферичній крові (ПК) з високим рівнем інтенсивності експресії молекули CD80^{+bright} в середньому дорівнювала (6,7±0,3)%. У цих хворих молекулу CD86^{+bright} експресують в середньому (21,0±1,1)% пухлинних клітин. Тоді як низький рівень експресії молекули CD80^{+low} виявлено в середньому на 1,3±0,1%, а молекули CD86^{+low} – (7,7±0,5)% пухлинних клітин. Оцінка даних свідчить, що в першій групі хворих на ГМЛ до терапії в ПК вміст CD80^{+low} клітин був в середньому достовірно нижче в 5,2 раза (p<0,05) CD80^{+bright} клітин, а CD86^{+low} в 2,7 раза (p<0,05) CD86^{+bright} клітин. В даній групі хворих кількість в ПК CD3⁺CD28⁺ Т-лімфоцитів в середньому дорівнювала (27,9±1,7)%.

У другій групі хворих на ГМЛ (n=10, 58,8%) в перший гострий період сумарна кількість пухлинних клітин, що експресують з високим рівнем інтенсивності молекулу CD80^{+bright} в середньому дорівнювало (1,9±0,1)%, а молекулу CD86^{+bright} – (6,0±0,4)%. Низький рівень експресії молекули CD80^{+low} виявлено в середньому на 8,2±0,2%, а молекули CD86^{+low} – (20,3±1,2)% пухлинних клітин. Як свідчать дані у хворих на ГМЛ в 2 групі кількість CD80^{+low} пухлинних клітин була достовірна вище CD80^{+bright} в 4,3 раза (p<0,05). Поряд з цим, кількість CD86^{+low} пухлинних клітин була також достовірна вище в 3,4 рази (p<0,05) числа CD86^{+bright} клітин. Вміст в ПК CD3⁺CD28⁺ Т-лімфоцитів в середньому дорівнював (23,5±1,3)%.

На підставі оцінки результатів дослідження встановлено, що у хворих на ГМЛ в першій групі кількість CD80^{+low} пухлинних клітин в 6,3 рази (p<0,05), а CD86^{+low} – в 2,6 раза (p<0,05) достовірна нижче відносно аналогічних показників в другій групі. Але кількість CD80^{+bright}, CD86^{+bright} була, відповідно, достовірна підвищена в 3,7 раза (p<0,05), 3,5 раза (p<0,05) ніж у другій групі хворих. У першій групі хворих кількість

CD3⁺CD28⁺ Т-лімфоцитів в ПК була в середньому достовірно вище в 1,5 раза ($p<0,05$) у порівнянні з пацієнтами другої групи.

Так, результати досліджень показали, що в першій групі хворих на ГМЛ до терапії в ПК виявлено більше пухлинних клітин (імунофентип CD34⁺-, CD117⁺-, CD33⁺-), з високою інтенсивністю експресії коstimуляторних молекул сімейства B7 (B7.1/CD80, B7.2/CD86). У пацієнтів другої групи навпаки в ПК вище вміст CD34⁺-, CD33⁺-, CD117⁺- пухлинних клітин з низьким рівнем інтенсивності експресії коstimуляторних молекул CD80, CD86.

Таким чином, аналіз отриманих даних свідчить, що у хворих на ГМЛ до початку лікування клон пухлинних клітин з імунофенотиповим профілем CD34⁺-, CD117⁺-, CD33⁺- має різний рівень інтенсивності експресії коstimуляторних молекул сімейства B7 (B7.1/CD80, B7.2/CD86). Це супроводжується також змінами в ПК кількості Т-лімфоцитів, які експресують рецептор CD28.

У хворих на ГМЛ в стадії ремісії у ПК та кістковому мозку (КМ) відсутні пухлинні клітини, тому рівень інтенсивності експресії молекул сімейства B7 (B7.1/CD80, B7.2/CD86) оцінювали на моноцитах ПК з імунофенотиповим профілем CD33⁺. Це пояснюється тим, що пухлинні клітини поряд з мієлоїдним мають також моноцитарне походження. Порівняльний аналіз проводили з аналогічними даними, які характеризують рівень інтенсивності експресії цих маркерів у 4 хворих після терапії, але за наявності пухлинних клітин в КМ.

За результатами імунологічних досліджень у 7 хворих в ремісії сумарна кількість CD33⁺CD80⁺ клітин в середньому дорівнювала (42,3±1,8)%. Серед них низький рівень інтенсивності експресії молекули CD80^{low} виявлено в середньому на 0,4±0,1% клітинах, а більш високий CD80^{bright} на (41,9±1,3)% моноцитів. Показано, що у хворих сумарна кількість CD33⁺CD86⁺ клітин в ПК становила (61,0±3,2)%. В популяції цих клітин виявлено CD86^{low} – (3,7±0,1)%, а CD86^{bright} – (7,2±3,0)%. За результатами імунофенотипових досліджень у хворих в ремісії сумарна кількість CD3⁺CD28⁺ Т-лімфоцитів ПК в середньому дорівнювала (30,1±1,5)%.

У хворих на ГМЛ в різні періоди захворювання на клітинах ПК оцінювали рівень інтенсивності експресії ліганду CD28 на CD3⁺ Т-лімфоцитах. За даними досліджень у хворих до терапії в першій групі (n=7) кількість CD3⁺CD28^{bright} лімфоцитів з високою інтенсивністю експресії ліганду CD28 була в 7,5 раза ($p<0,05$) вище, а CD3⁺CD28^{low} в 10,5 раза ($p<0,05$) нижче аналогічних показників другої групи (n=10).

Таблиця 1. Відносний вміст у ПК хворих пухлинних клітин і моноцитів, що експресують молекули CD80, CD86, і CD3⁺-лімфоцитів, які несуть ліганд CD28 до лікування та після специфічної терапії (відсоток позитивних клітин, M±m)

CD антигени	Групи				
	ГМЛ-ГП* (n=10)	ГМЛ-ГП* (n=7)	ГМЛ-ПР** (n=7)	ГМЛ# (n=4)	ГМЛ# (n=6)
CD80 ^{+low}	1,9±0,1	6,7±0,3	41,9±1,3	30,0±0,9	1,20±0,01
CD80 ^{+bright}	8,2±0,2	1,3±0,1	0,40±0,01	3,30±0,01	8,60±0,04
CD86 ^{+low}	6,0±0,4	21,0±1,1	57,2±3,0	46,2±2,3	3,20±0,09
CD86 ^{+bright}	20,3±1,2	7,7±0,5	3,7±0,1	4,8±0,2	14,6±0,8
CD3 ⁺ CD28 ⁺	23,5±1,3	27,9±1,7	30,1±1,5	25,3±1,0	21,1±0,6

Примітки: * – ГМЛ- гострий період; ** – ГМЛ- період ремісії; # – ГМЛ після терапії.

Показано, що у хворих на ГМЛ в ремісії вміст в ПК CD3⁺CD28^{+bright} клітин підвищено в 1,3 раза (p<0,05), а CD3⁺CD28^{+low} знижено в 3,0 рази (p<0,05) відносно даних у пацієнтів після терапії (n=4) в КМ яких були пухлинні клітини.

Дані свідчать, що у хворих на ГМЛ до терапії (n=10) в крові кількість CD3⁺CD28^{+bright} клітин зменшено в 1,5 раза (p<0,05), а CD3⁺CD28^{+low} у порівнянні з пацієнтами після терапії (n=6) з пухлинними клітинами в КМ та ПК. Відносно кількості в ПК CD3⁺CD28^{+low} клітин в обох групах достовірних відмінностей не було.

Таблиця 2. Рівень експресії ліганду CD28 Т-лімфоцитами ПК у різні періоди захворювання (відсоток позитивних лімфоцитів, M±m)

CD антигени	Групи				
	ГМЛ-ГП* (n=10)	ГМЛ-ПР** (n=7)	ГМЛ-ПР (n=7)	ГМЛ# (n=4)	ГМЛ# (n=6)
CD3 ⁺ CD28 ^{+bright}	3,5±0,1	26,2±1,1	29,3±1,2	33,1±0,9	5,4±0,2
CD3 ⁺ CD28 ^{+low}	19,9±1,0	1,9±0,6	1,1±0,03	3,3±0,1	20,4±1,1

Примітки: * – ГМЛ- гострий період; ** – ГМЛ- період ремісії; # – ГМЛ після терапії.

У регуляції імунних реакцій на антигени різної природи, у тому числі пухлинні, важлива роль належить молекулярним сигналам, що надходять

Т-лімфоцитам від костимуляторних молекул сімейства В7 (В7.1/CD80, В7.2/CD86) за допомогою трансдукції через ліганд CD28 [1, 6].

У проведених дослідженнях для оцінки стану антигенспецифічного протипухлинного імунітету у пацієнтів з ГМЛ у різні періоди захворювання вивчали рівень інтенсивності експресії пухлинними клітинами з імунофенотипом CD34⁺ CD117⁺-, CD33⁺ - костимуляторних молекул CD80⁺, CD86⁺ та ліганду CD28 Т-лімфоцитами.

Отримані дані свідчать, що у двох групах хворих на ГМЛ в перший гострий період до початку лікування клон пухлинних клітин з імунофенотиповим профілем CD34⁺-, CD117⁺-, CD33⁺ - мав різний рівень інтенсивності експресії костимуляторних молекул сімейства В7 (В7.1/CD80, В7.2/CD86) та ліганду CD28 Т-лімфоцитами.

Імунологічні дослідження показали, що у хворих першої групи (n=7) до терапії в ПК виявлено в середньому більша кількість пухлинних клітин з високим рівнем інтенсивності експресії костимуляторних молекул CD80⁺bright, CD86⁺bright та CD3⁺CD28⁺bright Т-лімфоцитів у порівнянні з хворими другої групи (n=10). У пацієнтів першої групи після проведення специфічної терапії була досягнута ремісія.

Представляло інтерес вивчення у хворих в ремісії особливостей експресії костимуляторних молекул CD80⁺, CD86⁺ моноцитами, які відносяться до антигенпрезентуючих клітин (пре-дендрітні клітини мієлодного походження). Крім того, вони є субстратними клітинами пухлинного процесу при ГМЛ. Зокрема, при ГМЛ костимуляторні молекули сімейства В7 експресують пухлинні клітини мієло-моноцитарного походження [6].

Аналіз даних свідчить, що у хворих на ГМЛ в ремісії в ПК виявлена більша середня кількість CD33⁺ моноцитів з високим рівнем інтенсивності експресії молекул CD80⁺bright CD86⁺bright. Тоді як у хворих після терапії з пухлинними клітинами в КМ у середньому достовірно більше моноцитів з низьким рівнем інтенсивності експресії костимуляторних молекул CD80⁺low CD86⁺low у порівнянні з пацієнтами в ремісії.

За даними клініко-гематологічних досліджень, у 10 хворих на ГМЛ після терапії не була досягнута ремісія. Серед них у 4-х хворих виявлено пухлинні клітини в КМ, а у 6 – в КМ та ПК. У ПК цих хворих до терапії рівень експресії костимуляторних молекул CD80⁺low CD86⁺low та ліганду CD28⁺low на Т-лімфоцитах був низьким.

Результати імунологічних досліджень показали, що у хворих після терапії з пухлинними клітинами в КМ та ПК залишається в середньому значна кількість клітин з низьким рівнем експресії молекул CD80⁺low CD86⁺low і знижено число CD80⁺bright, CD86⁺bright відносно хворих першої

групи до терапії. Але при порівнянні з пацієнтами другої групи до терапії значних відмінностей середньої кількості клітин з низьким рівнем експресії молекули CD80^{low} не спостерігалось. При цьому у хворих після терапії в ПК було знижено вміст клітин з високим рівнем експресії молекули CD86^{bright}.

У хворих на ГМЛ порушенню протипухлинного імунітету сприяє низький рівень інтенсивності експресії молекул сімейства B7 (B7.1/CD80, B7.2/CD86) та ліганду CD28 Т-лімфоцитами, що має взаємозв'язок з перебігом захворювання.

Одержані дані узгоджується з результатами інших дослідників, які підкреслюють значну роль молекул сімейства B7 (B7.1/CD80, B7.2/CD86) в реакціях протипухлинного імунітету [2, 3]. Костимуляторні молекули CD80, CD86 посилюють ефекторну функцію цитотоксичних Т-лімфоцитів після взаємодії з мембранним лігандом CD28 [4, 11]. Імунна відповідь на пухлинні антигени є складним інтегральним процесом. Так, для розвитку протипухлинної антигенспецифічної імунної відповіді необхідна активація Т-клітин за допомогою двох сигналів. Перший з них Т-лімфоцит отримує від антигенпрезентуючих клітин за допомогою Т-клітинного рецепторного комплексу, який розпізнає антиген разом з молекулами головного комплексу гістосумісності класу 1 (CD8⁺-лімфоцити) та 2 (CD4⁺-лімфоцити) [2]. Крім того, антигенпрезентуючі клітини передають лімфоцитам другий сигнал (антигенспецифічний), який необхідний для їх подальшої активації. Цей сигнал CD3-лімфоцити отримують від костимуляторних молекул сімейства B7 (CD80, CD86), які експресують антигенпрезентуючі клітини, і взаємодіють з мембранним лігандом CD28 [11, 12]. Аналіз результатів дослідження та відомості літератури дозволяють стверджувати, що ефективність протипухлинних імунних реакцій залежить від особливостей імунофенотипового профілю пухлинних клітин, що характеризує їхні біологічні властивості. Це особливо пов'язано з високим рівнем інтенсивності експресії ними костимуляторних молекул CD80, CD86, які підвищують цитотоксичний потенціал імунорегуляторних субпопуляцій Т-лімфоцитів. Тоді як низький рівень експресії костимуляторних молекул знижує антигенпрезентуючі функції пухлинних клітин та моноцитів, що негативно впливає на індукцію реакцій протипухлинного імунітету [6, 9, 10]. Відомо, що костимуляторні молекули впливають на біологічні властивості пухлинних клітин, що мають імунофенотип та функції антигенпрезентуючих клітин, які передають сигнал для активації Т-лімфоцитам через молекулу CD28 [1, 3, 7, 10].

За результатами дослідження, у хворих на ГМЛ до початку лікування виявлено низький рівень інтенсивності експресії коstimуляторних молекул пухлинними клітинами та ліганду CD28⁺ Т-лімфоцитами. При цьому, можна стверджувати, що низький рівень інтенсивності експресії коstimуляторних молекул CD80⁺, CD86⁺ та ліганду CD28⁺ сприяє порушенню імунологічного нагляду у хворих на ГМЛ. Вірогідно, що відсутність адекватної реакції з боку імунної системи пов'язана з тим, що для індукції імунної відповіді має значення не тільки природа антигенного стимулу, але й рівень інтенсивності експресії коstimуляторних молекул CD80, CD86 та ліганду CD28 [1, 6, 12].

Вважається, що формування імунопатологічних процесів пов'язано з недостатньою реалізацією специфічної імунної відповіді [2, 4, 11, 14]. Це підтверджується зменшенням в ПК кількості CD3⁺CD28⁺ Т-лімфоцитів, що є однією з причин, які призводять до дисбалансу реакцій антигенспецифічного протипухлинного імунітету у хворих на ГМЛ до початку лікування.

У даному дослідженні підвищення в ПК хворих на ГМЛ в стадії ремісії кількості моноцитів з високими рівнями експресії коstimуляторних молекул та Т-лімфоцитів з лігандом CD28⁺ свідчить про позитивні зміни стану протипухлинного імунітету.

Натомість наявність в КМ хворих на ГМЛ після терапії CD34⁺, CD117⁺-пухлинних клітин, а також зниження інтенсивності експресії на CD33⁺ моноцитах молекул CD80⁺, CD86⁺ та ліганду CD28⁺ на Т-лімфоцитах можливо є раннім передвісником розвитку рецидиву захворювання.

Таким чином, порушення протипухлинного імунного захисту у хворих на ГМЛ залежить від низького рівня інтенсивності експресії коstimуляторних молекул CD80⁺, CD86⁺ на клоні пухлинних клітин з імунофенотиповими ознаками CD34⁺, CD117⁺, CD33⁺ та ліганду CD28⁺ на CD3⁺-лімфоцитах.

Література

Reference

1. Chen L. co-inhibitory of B7-CD28 family in the control of T-cell immunity. *Nat Rev Immunol.* 2004, 4:336–347.
2. Hourigan C. S., Oetjen K. A. The distribution of T-cell subsets and the expression of immune checkpoint receptors and ligands in patients with newly diagnosis and relapsed acute myeloid leukemia. *Cancer.* 2019, 125 (9): 1470–1481.
1. Chen L. co-inhibitory of B7-CD28 family in the control of T-cell immunity. *Nat Rev Immunol.* 2004, 4:336–347.
2. Hourigan C. S., Oetjen K. A. The distribution of T-cell subsets and the expression of immune checkpoint receptors and ligands in patients with newly diagnosis and relapsed acute myeloid leukemia. *Cancer.* 2019, 125 (9): 1470–1481.

3. Zumerle S., Molon B., Viola A. Membrane rafts in T-cell activation: F spotlight on CD28 costimulation. *Front. Immunol.* 2017, 8: 1467.
4. Sendcer S., Reinhardt D., Niktoreh N. Redirecting the immune microenvironment in acute myeloid leukemia. *Cancers (B(Basel), 2021. 13(6): 141423.*
5. Uchiumi H., Matsushima T., Yamane A., Doki N. Prevalence and clinical characteristics of acute myeloid leukemia associated with disseminated intravascular coagulation. *International Journal of Hematology.* 2007, 86 (2): 137–142.
6. Gribben N. The role of B7 family molecules in hematologic malignancy, *Blood .2013, 121(5): 734–744.*
7. Mao Y., Hu Z., Xu X., Xa J. Identification of a prognostic model based of costimulatory molecule-related subtypes and characterization of tumor microenvironment infiltration in acute myeloid leukemia. *Front. Genet.* 2022, 19 (13):973319.
8. Jinlong G., Anchum C., Mingshu V. Role of CD80, CD86 and their receptors in the immune response in virus infections. *Journal of Experimental and clinical virology.* 2018, 6: 435–439.
9. Ramizi M., Iravani S., Yaghoobi R., Arandi N. Dysregulated expression of CD28 and CTLA -4 molecules in patients with acute myeloid leukemia and possible association with development of graft versus host disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Int. J. Organ Transplant. Med/ 2019, 10 (2): 84–90.*
10. Esensten J.H., Helou Y.A., Chopra G., Weiss A., Blueston J.A.CD28 cos-
3. Zumerle S., Molon B., Viola A. Membrane rafts in T-cell activation: F spotlight on CD28 costimulation. *Front. Immunol.* 2017, 8: 1467.
4. Sendcer S., Reinhardt D., Niktoreh N. Redirecting the immune microenvironment in acute myeloid leukemia. *Cancers (B (Basel), 2021. 13(6): 141423.*
5. Uchiumi H., Matsushima T., Yamane A., Doki N. Prevalence and clinical characteristics of acute myeloid leukemia associated with disseminated intravascular coagulation. *International Journal of Hematology.* 2007, 86 (2): 137–142.
6. Gribben N. The role of B7 family molecules in hematologic malignancy, *Blood .2013, 121(5): 734–744.*
7. Mao Y., Hu Z., Xu X., Xa J. Identification of a prognostic model based of costimulatory molecule-related subtypes and characterization of tumor microenvironment infiltration in acute myeloid leukemia. *Front. Genet.* 2022, 19 (13):973319.
8. Jinlong G., Anchum C., Mingshu V. Role of CD80, CD86 and their receptors in the immune response in virus infections. *Journal of Experimental and clinical virology.* 2018, 6: 435–439.
9. Ramizi M., Iravani S., Yaghoobi R., Arandi N. Dysregulated expression of CD28 and CTLA -4 molecules in patients with acute myeloid leukemia and possible association with development of graft versus host disease after hematopoietic stem cell transplantation. *Int. J. Organ Transplant. Med/ 2019, 10 (2): 84–90.*
10. Esensten J.H., Helou Y.A., Chopra G., Weiss A., Blueston J.A.CD28 costi-

- timulation: From mechanism to the therapy. *Immunity*. 2016, 44: 973–988.
11. Swatler J., Turos K., Piwska K. Immunosuppressive cell subsets and factors in myeloid leukemia. *Cancers (Basel)*. 2021, 13 (6): 1203.
 12. Hamed N., Barakat S. Clinical signification of CD86 levels in patients with acute myelogenous leukemia. *Alexandria Journal of Medicine*. 2011, 47 (1): 25–30.
 13. Arpinati M., Testoni N., Ricci P. Expression of CD86 in acute myeloid leukemia is a marker of dendritic monocytic lineage. *Experimental Hematology*. 2002, 30 (2): 126–134.
 14. Roussel X., Daguindau F., Berccanu A., Dessbrosses Y., Wardu W. Acute myeloid leukemia from biology to clinical practices through development and pre-clinical therapeutics. *Front. Oncol.* 2020, 10: 599933.
- mulation: From mechanism to the therapy. *Immunity*. 2016, 44: 973–988.
11. Swatler J., Turos K., Piwska K. Immunosuppressive cell subsets and factors in myeloid leukemia. *Cancers (Basel)*. 2021, 13 (6): 1203.
 12. Hamed N., Barakat S. Clinical signification of CD86 levels in patients with acute myelogenous leukemia. *Alexandria Journal of Medicine*. 2011, 47 (1): 25–30.
 13. Arpinati M., Testoni N., Ricci P. Expression of CD86 in acute myeloid leukemia is a marker of dendritic monocytic lineage. *Experimental Hematology*. 2002, 30 (2): 126–134.
 14. Roussel X., Daguindau F., Berccanu A., Dessbrosses Y., Wardu W. Acute myeloid leukemia from biology to clinical practices through development and pre-clinical therapeutics. *Front. Oncol.* 2020, 10: 599933.

Стаття надійшла 20.03.2023 р.

Контакти: gal.starodub@gmail.com