



ОБЪЕДИНЕННЫЙ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЙ ФОРУМ: СОВРЕМЕННЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ РАЗВИТИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ И ПРИКЛАДНОЙ ОНКОИММУНОЛОГИИ (НОВОСИБИРСК, 2019)

А.Б.Сагакянц

ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России,
344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

РЕЗЮМЕ

В работе представлена информация об итогах проведения Объединенного иммунологического форума, который проходил с 24 по 29 июня 2019 г. в Новосибирске. Анализируются современные направления развития фундаментальной и прикладной иммунологии. Особое внимание уделено обсуждению вопросов, обозначенных на секции «Иммунопатогенетические основы опухолевого роста», на которой также были представлены результаты проводимых в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России исследований в области выделения и изучения биологических свойств опухолевых стволовых клеток. Обращают на себя внимание новые достижения современной иммунологии, уточняющие иерархическую структуру популяций лимфоцитов, с выделением на основе фенотипических, молекулярно-генетических и функциональных свойств клеток различных минорных субпопуляций, роль которых в обеспечении целостности организма изучена не полностью. Помимо теоретических докладов, в ходе данного Форума были представлены результаты использования новых методических подходов для изучения особенностей структурной и функциональной организации отдельных звеньев врожденного и адаптивного иммунитета как в модельных условиях, так и при развитии различных заболеваний человека, обозначены наиболее перспективные пути совершенствования аналитических и технологических платформ. В рамках Форума были реализованы несколько программ повышения квалификации для сотрудников различных звеньев практического здравоохранения и фундаментальной науки.

Ключевые слова:

фундаментальная и прикладная иммунология, онкоиммунология, состояние и перспективы развития науки, врожденный и адаптивный иммунитет, противоопухолевый иммунитет, лимфоциты, цитокины

Для корреспонденции:

Сагакянц Александр Борисович – к.б.н., доцент, руководитель лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация.

Адрес: 344037, Российская Федерация, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, д. 63

E-mail: asagak@rambler.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0874-5261>

SPIN: 7272-1408, AuthorID: 426904

Scopus Author ID: 24329773900

Researcher ID: M-8378-2019

Информация о финансировании: финансирование данной работы не проводилось.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования:

Сагакянц А.Б. Объединенный иммунологический форум: современные направления развития фундаментальной и прикладной онкоиммунологии (Новосибирск, 2019). Южно-российский онкологический журнал. 2020; 1(2): 36-45. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-2-5>

Получено 11.11.2019, Рецензия (1) 16.01.2020, Рецензия (2) 19.01.2020, Принята к печати 01.06.2020

UNITED IMMUNOLOGICAL FORUM: CURRENT TRENDS IN THE DEVELOPMENT OF FUNDAMENTAL AND APPLIED ONCOIMMUNOLOGY (NOVOSIBIRSK, 2019)

A.B.Sagakyants

National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia,
63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

ABSTRACT

The work provides information on the results of the Joint Immunological Forum, which was held from June 24 to 29, 2019 in Novosibirsk. The modern directions of the development of fundamental and applied immunology are analyzed. Particular attention is paid to the discussion of the most issues identified in the section "Immunopathogenetic bases of tumor growth", which also presented the results of studies conducted at the National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia for the study of isolation and study of the biological properties of tumor stem cells. Noteworthy are the new advances in modern immunology, which clarify the hierarchical structure of lymphocyte populations, with the separation of various minor subpopulations based on the phenotypic, molecular genetic and functional properties of cells, whose role in ensuring the integrity of the body has not been fully studied. In addition to theoretical reports, during this Forum the results of using new methodological approaches to study the structural and functional organization of individual links of innate and adaptive immunity both under model conditions and during the development of various human diseases were presented, the most promising ways to improve analytical and technological platforms were identified. In the crayfish of the Forum, several advanced training programs were implemented for employees of various levels of practical health care and fundamental science.

Keywords:

fundamental and applied immunology, oncoimmunology, state and prospects of development of science, innate and adaptive immunity, antitumor immunity, lymphocytes, cytokines

For correspondence:

Alexander B. Sagakyants – Cand. Sci. (Biol.), associate professor, head of the laboratory of tumor immunophenotyping National Medical Research Centre for Oncology of the Ministry of Health of Russia, Rostov-on-Don, Russian Federation.

Address: 63 14 line str., Rostov-on-Don 344037, Russian Federation

E-mail: asagak@rambler.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0874-5261>

SPIN: 7272-1408, AuthorID: 426904

Scopus Author ID: 24329773900

Researcher ID: M-8378-2019

Information about funding: no funding of this work has been held.

Conflict of interest: authors report no conflict of interest.

For citation:

Sagakyants A.B. United Immunological Forum: current trends in the development of fundamental and applied oncoimmunology (Novosibirsk, 2019). South Russian Journal of Cancer. 2020; 1(2): 36-45. <https://doi.org/10.37748/2687-0533-2020-1-2-5>

ВВЕДЕНИЕ

Достижения практической онкологии во многом связаны с новыми данными, полученными с использованием ряда современных методических подходов, позволяющих выявить особенности структурной и функциональной организации элементов врожденного и адаптивного иммунитета. Общеизвестным является факт вовлечения иммунной системы в контроль антигенного гомеостаза организма человека и, как следствие, принципиальной важности данной системы как в борьбе с раком, так и, при ряде дефектов или ее несостоятельности, в возникновении и прогрессии опухоли.

Для дальнейшего развития онкоиммунологии важными являются обмен опытом представителей различных научно-практических коллективов, обсуждение полученных ими новых экспериментальных данных, привлечение перспективных теоретических подходов к объяснению наблюдаемых практикой фактов, что происходит на форумах, съездах различного уровня.

Целью данного сообщения являлось краткое освещение результатов работы на Объединенном иммунологическом форуме с международным участием. Источником информации было непосредственное личное участие в работе Форума, а также изучение новых теоретических и практических результатов онкоиммунологии, представленных в публикациях.

Одним из значимых мероприятий для иммунологов в текущем году являлось проведение «Объединенного иммунологического форума – 2019» с международным участием в г. Новосибирске с 24 по 29 июня 2019 г.

Данный форум объединил целый ряд мероприятий: VI Съезд Российского научного иммунологического общества (РНОИ); VIII Конференцию Российского цитокинового общества (РЦО); VIII Конференцию по иммунологии репродукции; VIII Конференцию по нейроиммунологии; XV Конференцию иммунологов Урала; Конференцию по таргетной и клеточной иммунотерапии; Конференцию по онкогематологии и онкоиммунологии; Международную конференцию по первичным иммунодефицитам; Школу по проточной цитометрии; Школу по ревматологии; Циклы повышения квалификации.

В работе форума приняли участие более 500 человек (12 академиков РАН, 12 член-корреспондентов РАН, 111 докторов наук, 102 кандидата наук,

более 190 человек – работники практического здравоохранения, аспиранты и студенты). Участники форума – представители 30 городов России, спикеры и участники форума из ближнего и дальнего зарубежья: США, Нидерландов, Японии, Чехии, Венгрии, Бангладеш, Узбекистана, Казахстана.

За время работы форума были представлены 376 устных докладов на 43 симпозиумах, 22 доклада – на 7 пленарных заседаниях, проведено два круглых стола (проблемы преподавания иммунологии в медицинских вузах, состояние и перспективы журналов иммунологического профиля). Более подробная информация представлена на официальных сайтах мероприятия (<http://niikim.ru/ru>; <http://rnoi.ru>; <https://bs-sib.ru>).

Анализ работы «Объединенного иммунологического форума – 2019»

Во время работы Форума на различных профильных секциях и пленарных заседаниях обсуждались вопросы молекулярно-генетических основ врожденного иммунитета, инфекционно-воспалительных заболеваний слизистых оболочек и лимфоидных органов: новые аспекты диагностики и терапии иммуноопосредованных заболеваний, возможности современной проточной цитометрии в решении задач фундаментальной и прикладной иммунологии. На соответствующих секциях затрагивались такие аспекты, как использование цитокинов в диагностике, патогенезе и лечении заболеваний человека, состояние проблемы аутоиммунитета, офтальмоиммунологии, иммунологии туберкулеза, иммунологические аспекты атеросклероза, опухолей иммунной системы, вакцинопрофилактики. Рассматривались вопросы фундаментальной и клинической психонейроиммунологии, состояние и перспективы трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, генотерапии и клеточных технологий в иммунологии, вопросы аллергологии и клинической иммунологии и др.

Несомненно, особое внимание привлекла работа секции «Иммунопатогенетические основы опухолевого роста» (27.06.2019). В рамках работы данной секции были представлены доклады, затрагивающие вопросы как фундаментальной, так и прикладной онкоиммунологии.

Хотелось бы остановиться на докладе И.А.Балдуевой (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Петрова» МЗ РФ, Санкт-Петербург), в котором была пред-

ставлена информация о иммуноопосредованных нежелательных явлениях (иоНЯ), возникающих в организме онкологического больного при проведении иммунотерапии (ИТ) препаратами – ингибиторами контрольных точек (ИКТ) иммунного ответа (анти CTLA-4 и анти PD-1/PDL-1). Развитие иоНЯ связано с избыточной активностью эффекторных механизмов иммунной системы на фоне ИТ, что может приводить к аутоиммунному повреждению практически любого органа и системы органов [1].

После рассмотрения основных механизмов иоНЯ внимание было обращено на синдром выброса цитокинов как модулятора клеточноопосредованных реакций. На основе разбора клинического случая пациента с меланомой кожи, с прогрессированием заболевания после оперативного лечения, был рассмотрен механизм развития иоНЯ на фоне применения ИТ (анти-CTLA терапия). Осуществлено определение особенностей изменения некоторых клеточных параметров иммунного статуса (ИС). Показано увеличение отдельных субпопуляций цитотоксических лимфоцитов ($CD3^+CD8^+$, $CD8^+HLA-DR^+$, $CD3^+CD38^+$, $CD3^+CD16^+CD56^+$) после проведения ИТ. В организме пациента отмечены элиминация $FoxP3^+$ Трег, увеличение количества эозинофилов и их активация, что сопровождается высвобождением ряда хемокинов (CXCL9, CXCL10, CCL5), которые обуславливают хемотаксис цитотоксических $CD8^+$ Т-лимфоцитов, их миграцию в опухоль. Докладчиком было отмечено, что «иоНЯ возникают из общего иммунного ответа на опухоль, и в большинстве случаев эффективное лечение ИКТ может временно подвергаться иммуносупрессии глюкокортикостероидами (ГКС)». ГКС не подавляют цитотоксическую активность активированных Т-лимфоцитов, а в ряде исследований доказан синергизм их применения с отдельными видами иммунной терапии.

Подводя итог, И.А.Балдуева отметила: механизмы развития противоопухолевого иммунного ответа и иоНЯ идентичны; ГКС являются патогенетической терапией иоНЯ, поддерживают специфический противоопухолевый $CD8^+$ -клеточный иммунный ответ на терапию модуляторами иммунного синапса.

Новик А.В. (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н.Петрова» МЗ РФ, Санкт-Петербург) в докладе «Проблемы проведения иммунотерапии в клинической практике: необходимость иммунологических

исследований» продолжил обсуждение вопросов, связанных с ИТ, отметив острую необходимость в проведении иммунологических исследований. Оценка количественных и качественных (функциональных) параметров отдельных звеньев врожденного и адаптивного иммунитета у онкологических больных на фоне проведения ИТ позволит выявить новые факторы прогноза, вероятность развития, достижение/окончание эффекта, а также осуществлять определение и управление рисками.

Савченко А.А. (ФИЦ «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», г. Красноярск) в докладе «Регуляторные механизмы формирования фенотипа и функциональной активности дендритных клеток», рассмотрев современные представления о гетерогенности и механизмах созревания дендритных клеток (ДК), а также факторов, определяющих указанные процессы, остановился на особенностях фенотипа моноцитов крови ($CD14^+CD16^+$) больных раком почки [2]. Докладчиком отмечено, что в ходе проведенной работы обнаружено снижение количества и функциональной активности моноцитов крови на фоне увеличения содержания Трег-лимфоцитов, а фенотипические отличия между ДК заключаются в уровне экспрессии CD80 и HLA-DR. Повышенное содержание активированных Трег-лимфоцитов при раке почки сопровождается увеличением количества зрелых ДК с повышенной экспрессией CD80-маркера, который способствует формированию иммунной супрессии в организме пациента. Подводя итог, Савченко А.А. отметил, что толерогенный эффект опухоли реализуется в формировании регуляторных взаимодействий с иммунной системой, фенотип и функциональная активность ДК зависят от состояния моноцитов, из которых они образуются, а при онкологическом заболевании важным фактором будут выступать опухоль-ассоциированные факторы прогрессии.

Хочется обратить внимание на ряд фактов, представленных в сообщении Чердынцевой Н.В. (НИИ онкологии, «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», г. Томск) «Макрофаги и опухолевая прогрессия: на пути к макрофагспецифичной терапии». В частности, не вызывает сомнения, что каждый человек – это уникальная экосистема, в которой при образовании опухоли исход заболевания определяется экспозицией повреждающих факторов,

конститутивными генетическими параметрами человека, особенностями системной и локальной (микроокружение) регуляции, а также тканевой архитектурой, которые направляют развитие соматической клетки. В возникновении опухоли и выраженности противоопухолевого иммунитета особая роль отводится опухоли-ассоциированным макрофагам (ОАМ), для которых показана высокая пластичность, участие в таких ключевых процессах, как регуляция пролиферативной активности опухолевых клеток, влияние на их инвазивные свойства, ангиогенез, выраженность эпителиально-мезенхимального перехода, способность к метастазированию и устойчивость к радио- и химиотерапии. Были обсуждены накопленные к настоящему времени представления о разрабатываемых способах перепрограммирования стромально-воспалительных элементов для противодействия опухоли, при этом специализированные популяции опухоли-промотирующих макрофагов могут выступать в качестве мишени для терапии рака.

На данной секции были представлены результаты проводимых в ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России исследований, направленных на выделение и изучение биологических свойств опухолевых стволовых клеток (доклад «Опухолевые стволовые клетки и их микроокружение: роль в развитии опухоли», Сагакянц А.Б.), реализуемых в рамках ГЗ «Изучение возможности применения опухолевых стволовых клеток человека для

создания модели ксеногенной опухоли в эксперименте». Проведено 19 выделений опухолевых клеток с фенотипом стволовых из постоперационного материала больных методом иммуномагнитной сепарации с применением реагентов от MiltenyiBiotec (Germany). Выделение проводилось в соответствии с инструкциями производителя. Для каждого случая, в зависимости от типа опухоли, подбирался необходимый набор первичных антител, конъюгированных с магнитными частицами. Также в зависимости от количества клеток подбирались концентрации реагентов и тип магнитной колонки. Клетки целевой популяции адсорбировались (положительная сепарация) на магнитных сферах и по завершении сепарации выделялись в единую фракцию. Для выделения опухолевых стволовых клеток (ОСК) применялись антитела к следующим антигенам (табл. 1).

Из них глиальные опухоли головного мозга составили 9 случаев, рак молочной железы – 7 случаев и еще 3 случая – метастазы в головной мозг (рак яичников, рак легкого).

Выделенная в результате сепарации клеточная популяция (положительная фракция) составляла от 0,2 до 1 млн клеток. Клетки переносили во флакон T25 в питательной среде без сыворотки с инсулином, трансферрином и L-глутамином (GMP DC, CellGenix, Germany) в количестве не менее 0,5 млн на флакон с 5 мл среды. В качестве контроля использовали отрицательную фракцию, не содержа-

Таблица 1. Перечень маркеров и наборов реагентов, использованных для выделения опухолевых клеток с фенотипом стволовых

№	Антиген ОСК	Набор реагентов	Тип новообразования
1	CD133	CD133 MicroBeadKit, human (130-097-049)	Глиальные опухоли; метастаз рака легкого в головной мозг (ГМ); метастаз рака яичников в ГМ; рак молочной железы (РМЖ)
2	CD90	CD90 MicroBeads, human (130-096-253)	Глиальные опухоли
3	CD44	CD44 MicroBeads, human (130-095-194)	РМЖ, метастаз рака легкого в ГМ
4	CD24	CD24 MicroBeadKit, human (130-095-951)	РМЖ
5	CD117	CD117 MicroBeadKit, human (130-091-332)	Метастаз рака яичников в ГМ

щую целевой популяции клеток. Состав и объем среды, тип флакона и количество клеток в отрицательной фракции были аналогичны положительной фракции. Спустя 1–3 дня во флаконах наблюдался рост свободно плавающих сферических колоний — онкосфер, при этом количество колоний во флаконах с обогащенной целевой фракцией клеток было в несколько раз больше, чем в соответствующих им контрольных образцах, что является доказательством наличия свойств стволовости у выделенных субпопуляций опухолевых клеток. Известно, что в условиях низкой адгезии дифференцированные клетки опухоли и немалигнизированные клетки претерпевают апоптоз — апоптоз в результате неправильной адгезии клеток или ее отсутствия [3], в то время как ОСК выживают и селективно размножаются, образуя свободно плавающие в среде онкосферы [4, 5]. В дальнейшем осуществляли первые опыты по экспериментальному созданию ксеногенной модели опухоли головного мозга человека на иммунодефицитных мышах. Всего было выполнено 6 трансплантаций онкосфер с фенотипом CD90⁺CD133⁺, полученных из ОСК, выделенных из глиом [6].

Предпринятые попытки по созданию ксенографтных моделей глиом путем пересадки выделенных ОСК не дали ожидаемого результата — видимого макроскопического роста опухоли в эксперименте через 3 мес не получено. Учитывая ряд методических особенностей и полученный практический опыт, работа в данном направлении продолжается.

Суммируя представленную в докладах на данной секции информацию, следует отметить, что большое внимание было уделено современным представлениям относительно иммунологии опухолей, роли как отдельных лимфоцитарных, так и миелоидных представителей в возникновении, прогрессии и ответе на лечение различных опухолей. Особое внимание уделялось рассмотрению дендритных клеток, моноцитов, макрофагов при онкологических заболеваниях.

В ходе докладов обсуждались механизмы возникновения опухолей в многоклеточных организмах, признание мутационной теории многостадийного канцерогенеза, в соответствии с которой злокачественные свойства клетки — следствие накопления генетических нарушений (мутаций и хромосомных aberrаций). Драйверными нарушениями являются изменения активности генов,

определяющих жизненный цикл клеток — протоонкогенов и антионкогенов [7].

Отмечено, что возникновение и развитие опухоли далеко не всегда сопровождаются наличием выраженного иммунодефицита или признаков иммунных нарушений. Так, заболеваемость большинством типов солидных опухолей не увеличивается при иммуносупрессии, а заболеваемость раком молочной железы — фактически снижается. Кроме того, частота возникновения спонтанных опухолей у бестимусных мышей не выше, чем у иммунокомпетентных животных. Неоднозначный опыт использования стимуляции иммунной системы у подавляющего большинства больных злокачественными опухолями — все это указывает на сложный, противоречивый характер взаимодействия опухоли и иммунной системы, неоднозначную роль последней в прогрессии заболевания, что находит отражение в такой концепции, как представление об иммуноредактировании опухолей [8].

Развитие злокачественной опухоли — результат сочетания факторов экзогенной и эндогенной природы, повышающих вероятность выживания, увеличения количества и распространения опухолевых клеток, что является следствием генетической нестабильности, перепрограммирования метаболизма клетки, проявляющегося в изменении характера биохимических процессов и затрагивающих практически все их стороны. Особое значение в возникновении и прогрессии опухоли имеют ее способность «ускользнуть» от иммунного надзора, а также воздействие опухоль-прототирующего хронического воспаления [7, 9].

Рассматривая механизмы «ускользания» опухоли от иммунного ответа, была выделена особая роль иммунной селекции опухолевых клеток (утрата неоантигенов и/или изменение экспрессии молекул МНС-I и костимуляторных молекул), а также формирование индифферентного микроокружения и индукция иммуносупрессии, что, в свою очередь, может быть связано:

- с экспрессией молекул, индуцирующих апоптоз эффекторных клеток (растворимые формы FasL и MICA);
- высвобождением растворимых лигандов, блокирующих рецепторы Т-клеток;
- секрецией цитокинов, ингибирующих активность лимфоцитов и дендритных клеток (IL-10, TGF- β , VEGF);

– выделением цитокинов и факторов, привлекающих T-reg и макрофаги, обладающих иммуносупрессорной активностью (GM-CSF, G-CSF, IL-6, IL-10, VEGF, PGE2, IL-1).

Не вызывает сомнения особая роль в индукции иммунной супрессии контрольных точек иммунитета, обсуждению которых были посвящены несколько докладов.

Изучение максимально широкого спектра факторов опухолевого микроокружения – залог лучшего понимания биологии опухолей, поиска наиболее эффективных способов диагностики и терапии данных заболеваний. Важное значение имеют определение молекулярно-генетических характеристик опухолей, изучение системы контроля экспрессии генов: эпигенетических, посттранскрипционных, посттрансляционных. Кроме того, продолжается изучение транскрипционных факторов и функциональной специализации лимфоцитов и лейкоцитов [10], роли гетерогенных микро-РНК в качестве регуляторов воспалительных и иммунных реакций в ходе опухолевого роста [11].

Интересной была информация о классификации опухолей в зависимости от особенностей фенотипа трансформированных клеток (экспрессии PD-L1) и превалирующих иммунологических компонентов (TIL – опухоль-инфильтрирующих лимфоцитов) в их микроокружении [12]:

– тип 1 – приобретенная устойчивость к реакциям клеточного иммунитета, что связано с выраженной экспрессией опухолевыми клетками PD-L1 на фоне наличия TILs с явлением ингибирования их активности;

– тип 2 – иммунологическое игнорирование, развивающееся при отсутствии PD-L1 одновременно с рядом особенностей антигенных свойств опухоли, без ее инфильтрации TILs. В этом случае ИКК не идентифицируют трансформированные клетки и не реагируют на них;

– тип 3 – внутренняя индукция PD-L1, ряд факторов способствуют экспрессии PD-L1 раковыми клетками, но не происходит проникновения в опухоль цитолитических лимфоцитов;

– тип 4 – иммунологическая толерантность, возникающая без наличия PD-L1 на опухолевых клетках в условиях выраженной ее инфильтрации TILs, не проявляющих цитолитической активности. Вероятно, в данном случае происходит задействование дополнительных иммуносупрессивных путей.

Несмотря на то что предложенная авторами схема классификации опухолей является упрощенной, она, вероятно, может быть использована для обсуждения стратегии иммунотерапевтического воздействия, в зависимости от микроокружения опухоли.

Отдельно стоит упомянуть рассмотрение роли микробиоты в определении типа иммунного ответа, вероятности развития опухолей, а также в характере ответной реакции организма на проводимое противоопухолевое лечение, в том числе и ингибиторами контрольных точек иммунного ответа, что нашло отражение в докладе Кармаковой Т.А. [13, 14].

При обсуждении стратегических перспектив развития иммунобиологии опухолей указывалось на необходимость осуществления характеристики индивидуальных особенностей иммунного ответа у каждого пациента, а также мониторинг изменений показателей иммунитета в процессе лечения, что является всеобщей тенденцией в онкологии на данный момент. Спектр определяемых показателей, а также кратность проводимого исследования не являются унифицированными, а активно обсуждаются на различных профильных мероприятиях. Однако разрабатываются общие подходы к выработке данных стандартов и определению наиболее информативных показателей, отражающих состояние иммунной системы организма онкологического больного.

Рассматривая методические аспекты изучения иммунного ответа при развитии опухолей, указывалось на необходимость реконструкции сети межклеточных сигналов, что предполагает использование новых информационных технологий и накопленных эмпирических данных, изучение взаимосвязи местных и системных показателей иммунной системы, а также необходимость гармонизации данных, полученных с применением современных технологий.

Не затрагивая методических сторон, что не являлось целью данной работы, следует отметить те современные технологии, которые, по нашему мнению и мнению коллег, являются перспективными для изучения иммунного ответа [15]:

- мультиплексная иммуногистохимия;
- масс-цитометрия;
- мультиплексные методы анализа;
- омиксные технологии;
- кластерный анализ.

На секции «Новые модели, методы исследования и диагностические системы в иммунологии» (28.06.2019) наше внимание привлек доклад Тарасевич А.А. на тему «От клеток к тканям: масс-цитометрия — новейший метод фенотипирования клеток в иммунологии и онкологии».

В данном сообщении была представлена информация о новой технологии — СуТОF®, используемой для фенотипирования клеток и объединяющей уже традиционные подходы в цитометрии с масс-спектрометрией [16].

Известно, что стандартные подходы к фенотипированию, такие как иммуногистохимия в сочетании с микроскопией, проточная цитометрия, высокопроизводительный скрининг (High-content Screening), основаны на анализе флуоресценции меченых антител, взаимодействующих с соответствующими маркерами на целевых клеточных популяциях. Однако известен целый ряд особенностей, которые необходимо учитывать при использовании данных технологий: вероятность перекрытия спектров красителей, разная интенсивность сигнала от разных флуорофоров, а также фоновая флуоресценция, что накладывает ряд ограничений при многопараметрическом анализе. Эти ограничения значительно усложняют дизайн эксперимента и интерпретацию получаемых данных.

Технология СуТОF® позволяет избавиться от ограничений флуоресценции, так как разделение сигналов основано на детекции массы меток, а не длины волны флуоресцентной молекулы. В этом случае используются специальные метки, состоящие из нерадиоактивных изотопов редкоземельных металлов (лантаноидов), присоединенных к различным зондам — тем же моноклональным антителам, интеркаляторам и др. Основным преимуществом использования редкоземельных металлов является то, что они не обнаруживаются эндогенно в биологических образцах. После проведения всех необходимых преаналитических процедур образцы исследуются на масс-цитометре (масс-спектрометре), в котором происходит распыление материала в специальных средах на отдельные капли. В дальнейшем содержащиеся клетки капли разделяются с последующим измерением изотопов металлов на каждой отдельной клетке в суспензии. Современные приборы могут анализировать более 40 параметров [16].

Однако, по мнению ряда авторов, данная технология не лишена недостатков: наличие примесей используемых в анализе металлов в сопутствующих образцах; вероятность образования оксидов металлов, что сдвигает сигналы по величине молекулярной массы и, как следствие, приводит к перекрытию между зондами; несовместимость работы с живыми клетками; относительно низкая пропускная способность (5–7 мин на образец) [17].

Несмотря на это, масс-цитометрия находит все больше приложений в различных областях фундаментальной и прикладной науки, и ее использование позволяет получить новые данные. Так, Li N. и коллеги, исследуя биопсии замороженной ткани кишечника человеческих эмбрионов, показали наличие у эмбрионов Т-клеток памяти, что позволяет констатировать факт большей зрелости иммунной системы эмбриона, чем считалось ранее [18].

Использование перечисленных методических подходов позволит наиболее эффективно осуществить моделирование процессов опухолевого роста, выполнить прогноз ответа на иммунотерапию и подобрать адекватное персонализированное лечение.

Перспективным направлением является разработка релевантных экспериментальных моделей [19]:

- новое поколение гуманизированных мышиных моделей (трансгенная экспрессия цитокинов, HLA-антигенов, гормонов, молекул МНС человека);
- изучение генетики индуцированных опухолей (поиск моделей с высокой мутационной нагрузкой);
- сравнительная иммунология и иммуногенетика человека и лабораторных животных;
- суррогатные модели *ex vivo* (первичные органоидные культуры: со-культивирование с лимфоцитами и моноцитами, подбор персонализированной схемы лечения, генетические манипуляции (CRISP-CAS9; SIRNA), исследование стволовых опухолевых клеток).

Отдельно следует отметить, что в рамках форума проходила очная часть повышения квалификации по программе «Проточная цитометрия в клинической практике». В рамках программы были затронуты следующие вопросы (некоторые из обсужденных):

- Многоцветный анализ — основные принципы и подходы (Кудрявцев И.В., г. Санкт-Петербург);

– Применение стандартизированной технологии иммунофенотипирования лейкоцитов в клинике. Роль оценки малых субпопуляций лимфоцитов (Зурочка А.В., г. Челябинск);

– Оценка клеточной составляющей «иммунного статуса» для мониторинга состояния иммунной системы (Хайдуков С.В., г. Москва);

– Особенности оценки клеточного иммунитета у новорожденных и детей раннего возраста (Семькина Е.Л., г. Москва);

– Исследование маркеров активации лимфоцитов в клинике различных патологических состояний (Калинина Н.М., г. Санкт-Петербург);

– Иммунограммы. Диагностические возможности оценки клеточного звена иммунитета (Никитин Ю.В., г. Санкт-Петербург);

– Роль проточной цитометрии в онкогематологии (Луговская С.А., г. Москва);

– Проточная цитометрия в клинической онкоиммунологии (Заботина Т.Н., г. Москва);

– Многоцветная проточная цитометрия. Преимущества и методические подходы (Савицкий В.П., г. Москва).

Слушатели курсов и участники Форума имели возможность получить новую информацию о современных разработках в создании наиболее эффективных флуорохромов, используемых для идентификации фенотипических маркеров иммунокомпетентных клеток, что, в свою очередь, позволяет совершенствоваться мультипараметрической проточной цитофлуориметрии. Несомненно, затрагивались и появляющиеся новые вопросы и проблемы, связанные с необходимостью совершенствования программного обеспечения, используемого при анализе получаемых данных, а также обсуждение правил составления рабочих панелей моноклональных антител, наиболее адекватных стратегий гейтирования.

На практических занятиях была возможность ознакомиться с работой и возможностями нового цитометра, рассмотреть и проанализировать результаты анализа иммунного статуса (проточная цитометрия) при первичных и вторичных иммунодефицитах, аллергических заболеваниях, различных онкогематологических заболеваниях. Была представлена общая стратегия обработки и анализа результатов определения параметров клеточного иммунитета с использованием проточной цитометрии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По итогам посещения и работы ряда секций, пленарных заседаний Форума можно выделить следующие общие тенденции в изучении механизмов функциональной организации иммунной системы при различных заболеваниях человека:

1) выделение и оценка вклада гетерогенных субпопуляций (минорных) лейкоцитов и лимфоцитов в работу иммунной системы и иммунопатогенез заболеваний;

2) особый акцент на изучении эффекторных лейкоцитов (моноцитов, макрофагов, дендритных клеток, нейтрофилов) и лимфоцитов (Т-, В-, НК), механизмов реализации их функциональной активности и взаимодействия друг с другом в условиях развития патологического процесса;

3) изучение гетерогенности и функциональной активности регуляторных субпопуляций лейкоцитов и лимфоцитов с выделением в каждой популяции по 3–4 отдельных функциональных типа клеток с регуляторной функцией;

4) оценка уровня экспрессии PD-1/PD-L1, -L2 на различных соматических клетках и изучение их вклада в реализацию функции иммунной системы у конкретного индивидуума (норма и патология);

5) актуальность проведения скрининговых исследований с использованием современных методических подходов (например, мультиплексного анализа), что позволяет выявлять новые закономерности работы иммунной системы как в норме, так и в условиях различных патологических состояний;

6) определенные перспективы развития иммунологии связывают с дальнейшим совершенствованием и внедрением математического моделирования иммунологических реакций, работы отдельных органов иммунной системы в норме и при патологии.

Таким образом, итогом работы «Объединенного иммунологического форума – 2019» с международным участием являлись аккумуляция и систематизация информации об иммунологии опухолей, современных представлениях относительно иммунологических механизмов развития инфекционно-воспалительных, аллергических заболеваний, тенденциях в подходах к диагностике и терапии данных патологий, а также обозначение ряда перспективных направлений в организации и проведении научно-исследовательских работ в области фундаментальной и прикладной иммунологии.

Участие авторов:

Сагалянц А.Б. – концепция и дизайн исследования, написание текста, обработка материала.

Список литературы

1. Проценко С. А., Антимоник Н. Ю., Берштейн Л. М., Новик А. В., Носов Д. А., Петенко Н. Н. и др. Практические рекомендации по управлению иммуноопосредованными нежелательными явлениями. Злокачественные опухоли: Практические рекомендации RUSSCO #3s2. 2018; 8(3s2): 636–665. <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2018-8-3s2-636-665>
2. Савченко А. А., Борисов А. Г., Кудрявцев И. В., Гвоздев И. И., Мошев А. В. Особенности фенотипа дендритных клеток, дифференцированных из моноцитов крови, у больных раком почки. Медицинская иммунология. 2018; 20(2): 215–226. <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2018-2-215-226>
3. Vlahakis A, Debnath J. The Interconnections between Autophagy and Integrin-Mediated Cell Adhesion. *J Mol Biol.* 2017 Feb 17; 429(4): 515–530. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2016.11.027>
4. Ricci-Vitiani L, Lombardi DG, Pilozzi E, Biffoni M, Todaro M, Peschle C, et al. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature.* 2007 Jan 4; 445(7123): 111–115. <https://doi.org/10.1038/nature05384>
5. Qureshi-Baig K, Ullmann P, Rodriguez F, Frasilho S, Nazarov PV, Haan S, et al. What Do We Learn from Spheroid Culture Systems? Insights from Tumorspheres Derived from Primary Colon Cancer Tissue. *PLoS ONE.* 2016 Jan 8; 11(1): e0146052. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146052>
6. Сагалянц А. Б., Новикова И. А., Ульянова Е. П., Золотарева Е. И., Шапошников А. В., Дженкова Е. А. Опухолевые стволовые клетки и их микроокружение: роль в развитии опухоли. *Российский иммунологический журнал.* 2019; 13(22) (2): 512–514.
7. Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. *Cell.* 2000 Jan 7; 100(1): 57–70. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81683-9)
8. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoeediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science.* 2011 Mar 25; 331(6024): 1565–1570. <https://doi.org/10.1126/science.1203486>
9. Mantovanni A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature.* 2008 Jul 24; 454(7203): 436–444. <https://doi.org/10.1038/nature07205>
10. Fang D, Zhu J. Dynamic balance between master transcription factors determines the fates and functions of CD4 T cell and innate lymphoid cell subsets. *J. Exp. Med.* 2017 Jul 3; 214(7): 1861–1876. <https://doi.org/10.1084/jem.20170494>
11. Rupaimoole R, Calin GA, Lopez-Berestein G, Sood AK. MicroRNA deregulation in cancer cells and the tumor microenvironment. *Cancer Discov.* 2016 Mar; 6(3): 235–246. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-15-0893>
12. Teng MWL, Ngiow SF, Ribas A, Smyth MJ. Classifying Cancers Based on T-cell Infiltration and PD-L1. *Cancer Res.* 2015 Jun; 75(11): 2139–2145. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-15-0255>
13. Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell.* 2014 Mar 27; 157(1): 121–141. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.011>
14. Villéger R, Lopès A, Veziat J, Gagnière J, Barnich N, Billard E, et al. Microbial markers in colorectal cancer detection and prognosis. *World J. Gastroenterol.* 2018 Jun 14; 24(22): 2327–2347. <https://doi.org/10.3748/wjg.v24.i22.2327>
15. Greenplate AR, Johnson DB, Ferrell JrPB, Irish JM. Systems immune monitoring in cancer therapy. *Eur J Cancer.* 2016 Jul 1; 61: 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2016.03.085>
16. Spitzer MH, Nolan GP. Mass Cytometry: Single Cells, Many Features. *Cell.* 2016 May 5; 165(4): 780–791. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2016.04.019>
17. Chattopadhyay PK, Roederer M. A mine is a terrible thing to waste: high content, single cell technologies for comprehensive immune analysis. *American Journal of Transplantation* 2015; 15: 1155–1161. <https://doi.org/10.1111/ajt.13193>
18. Li N, V van Unen, Abdelaa T, Guo N, Kasatskaya SA, Ladell K, et al. Memory CD4+ T cells are generated in the human fetal intestine. *Nat Immunol.* 2019; 20(3): 301–312. <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0294-9>
19. Chen Z, Huang A, Sun J, Jiang T, Qin F, Wu A. Inference of immune cell composition on the expression profiles of mouse tissue. *Sci Rep.* 2017 Jan 13; 7: 40508. <https://doi.org/10.1038/srep40508>

Информация об авторах:

Сагалянц Александр Борисович – к.б.н., доцент, руководитель лаборатории иммунофенотипирования опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, г. Ростов-на-Дону, Российская Федерация. ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0874-5261>, SPIN: 7272-1408, AuthorID: 426904