

# ДЕЙСТВИЕ ИНТЕРФЕРОНОВ И ИНДУКТОРОВ ИНТЕРФЕРОНОВ НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ TLR/RLR И ДИФФЕРЕНЦИРОВКУ ОПУХОЛЕВЫХ ЛИНИЙ КЛЕТОК ТНР-1 И НСТ-116

Т.М. Соколова<sup>1</sup>, В.В. Полосков<sup>1</sup>, О.С. Бурова<sup>2</sup>, А.Н. Шувалов<sup>1</sup>, З.А. Соколова<sup>2</sup>, А.Н. Иншаков<sup>2</sup>,  
Ю.В. Шишкин<sup>1</sup>, Ф.И. Ершов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России;  
Россия, 123098, Москва, ул. Гамалеи, 18;

<sup>2</sup>ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478,  
Москва, Каширское шоссе, 24

**Контакты:** Татьяна Михайловна Соколова [tmsokolovavir@mail.ru](mailto:tmsokolovavir@mail.ru)

**Цель исследования** — изучение действия известных препаратов интерферонов (ИФН) 1-го типа и ИФН-индукторов с разной химической структурой на дифференцировку и экспрессию генов паттернраспознающих рецепторов TLR/RLR.

**Материалы и методы.** Линии опухолевых клеток ТНР-1 (острый моноцитарный лейкоз) и НСТ-116 (аденокарцинома толстой кишки) обрабатывали рекомбинантными ИФН 1-го типа (альтевир, реаферон, генфаксон, инфибета  $10^5$ – $10^6$  МЕ), ИФН-индукторами (ридостин  $10^2$ – $10^3$  мкг/мл, циклоферон 625 мкг/мл) и иммуномодулятором (иммуномакс 2 МЕ); препараты добавляли к клеткам на 24 и 96 ч при 37 °С. Экспрессию генов определяли методом количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией на приборе CFX-96, CD-фенотипы клеток ТНР-1 — методом проточной цитометрии с мечеными FITC или PE моноклональными антителами. Измерение делали на проточном цитофлуориметре FACSCanto II.

**Результаты.** Показано, что линии опухолевых клеток ТНР-1 и НСТ-116 имеют на протяжении 5 пассажей низкие и нестабильные уровни экспрессии генов паттернраспознающих рецепторов TLR/RLR. Такой генный статус, возможно, связан с нарушением процессинга зрелых форм мРНК. В клетках ТНР-1 преимущественно активируются гены TLR4, TLR8 и фактор NFκB, а в клетках НСТ-116 — гены TLR7, TLR8, TLR9 и фактор NFκB. Наиболее сильным стимулятором TLR/RLR-рецепторов является ридостин.

Ридостин повышает уровень экспрессии маркера макрофагов CD11b, циклоферон и иммуномакс — раннего Т-клеточного антигена CD7, реаферон — HLA-DR. Препараты циклоферон, иммуномакс, реаферон снижают уровень экспрессии миелоидного маркера CD38.

**Выводы.** Исследованные препараты ИФН и ИФН-индукторов по-разному регулируют экспрессию генов группы паттернраспознающих рецепторов TLR/RLR в опухолевых линиях клеток ТНР-1 и НСТ-116. В клетках острого моноцитарного лейкоза активация генной активности TLR/RLR сопровождается изменением CD-фенотипов дифференцировки.

**Ключевые слова:** экспрессия генов TLR/RLR, CD-фенотип, препараты ИФН и ИФН-индукторов, клетки ТНР-1, НСТ-116

DOI: 10.17650/1726-9784-2016-15-3-28-33

## ACTION INTERFERONS AND IFN-INDUCTORS ON TLR/RLRS GENES EXPRESSION AND DIFFERENTIATION OF TUMOR CELL LINES THP-1 AND HCT-116

T.M. Sokolova<sup>1</sup>, V.V. Poloskov<sup>1</sup>, O.S. Burova<sup>2</sup>, A.N. Shuvalov<sup>1</sup>, Z.A. Sokolova<sup>2</sup>, A.N. Inshakov<sup>2</sup>, Yu. V. Shishkin<sup>1</sup>, F.I. Ershov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>N. F. Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 18 Gamaleya str., Moscow, 123098, Russia;

<sup>2</sup>N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Ministry of Health of Russia; 24 Kashyrskoye shosse, Moscow, 115478, Russia

**Objective.** To study of known interferons (IFN) type I and IFN-inductors drugs different chemical structure on cell differentiation and expression group of genes of TLR/RLRs, referring to group of pattern-recognition receptors.

**Materials and methods.** Cellular lines THP-1 (acute monocytic leukemia) u HCT-116 (colon adenocarcinoma) were treated by interferons drugs Reaferon, Altevir, Genfakson, Infibeta  $10^5$ – $10^6$  ME, IFN-inductors Ridostin  $10^2$ – $10^3$  μg/ml, Cycloferon 625 μg/ml and Immunomax 2 ME during 24 h or 96 h at 37 °C. Gene expression were estimated by method qRT-PCR (CFX-96, Bio-Rad). CD-immunophenotypes of THP-1 cells were detected by flow cytometric fluorescence method with FITC and PE monoclonal antibodies (FACSCanto II, Becton Dickinson).

**Results.** It was shown that tumor cells THP-1 and HCT-116 have low and variable constitutive levels gene expression of TLR-receptors 2, 3, 4, 7, 8, 9 during passages. This gene status may be connected with incorrect processing of mature mRNA forms. Genes TLR4, TLR8 and factor NFκB are stimulated by interferons and IFN-inductors more high in THP-cells and genes TLR7, TLR8, TLR9 and NFκB — in HCT-cells. Ridostin (mix ssRNA and dsRNA *S. cerevisiae*) is the best activator of TLR/RLRs receptors. Ridostin increases

*macrophage marker CD11b, Cycloferon, Imunomax stimulate levels of early T-cell antigen CD7, interferons results in growth of HLA DR. The drugs Cycloferon, Imunomax and Reaferon decrease levels of myeloid suppressor CD38.*

**Conclusion.** *Group of recombinant IFNs and IFN-inductor drugs various chemical structures regulate TLR/RLRs genes expression differently in THP-1 and HCT-116. TLR/RLRs genes activation are accompanied by CD-phenotypes changes in THP-1 monocytic cell line.*

**Key words:** *TLR/RLRs gene expression, CD-phenotype, interferons, IFN-inductors drugs, human tumor cell lines THP-1 and HCT-116*

## Введение

У человека известны 10 видов толлподобных рецепторов, которые инициируют клеточные иммунные ответы к разным молекулярным структурам: микробным липопептидам (TLR1, TLR2, TLR6), липополисахаридам (TLR4), флагеллину (TLR5) и нуклеиновым кислотам (TLR3, TLR7, TLR8, TLR9) [1]. Последние имеют эндосомальную локализацию. Дополнительно существуют 2 цитоплазматических сенсора RIG1 и MDA5 для вирусных и клеточных осРНК и дсРНК. Перечисленные рецепторы являются паттернраспознающими. Они широко представлены в иммунокомпетентных клетках и ткани эпителия. В реализации рецепторных TLR- и RLR-сигналов ключевую роль играет универсальный фактор транскрипции NFκB – активатор промоторов генов воспалительных цитокинов [2].

В отношении регуляции транскрипции генов TLR/RLR-рецепторов опухолевых клеток известно крайне мало. В промоторах TLR-генов имеется нуклеотидный полиморфизм, ассоциированный с риском развития ряда форм рака [3]. При этом способность TLR-рецепторов опухолевых клеток к специфическому взаимодействию с химическими структурами лигандов сохраняется.

Роль TLR/RLR-рецепторов в процессах канцерогенеза рассматривается неоднозначно. Их активация может оказывать на развитие опухоли как положительное, так и отрицательное влияние [4]. Клетки лейкозов, меланомы, рака предстательной железы и рака молочной железы имеют повышенное количество рецепторов, которые рассматриваются как маркеры воспаления [5, 6]. В какой мере это свойственно трансформированным клеточным линиям и может регулироваться препаратами интерферонов (ИФН) и лигандами TLR/RLR-рецепторов, остается неизвестным.

ИФН стимулируют транскрипцию сотен клеточных генов, участвующих в антивирусном и пролиферативном ответах. В числе ИФН-регулируемых находится группа TLR-генов [7]. Стимуляция наблюдается в нормальных типах клеток, чувствительных к ИФН. Рекомбинантные ИФН α-2 – наиболее применяемые в противоопухолевой терапии [8]. Исследованные нами препараты ридостин, циклоферон и иммуномакс сочетают в себе свойства ИФН-индукторов и TLR-лигандов [9]. Они имеют широкое применение

в медицине как противовирусные и иммуномодулирующие средства [10]. Ридостин (смесь дсРНК и осРНК киллерных штаммов грибов *Sacharomyces cerevisiae*) является агонистом рецепторов TLR3, TLR8 и MDA5. Циклоферон (N-метилглюкаминавая соль акридонуксусной кислоты) взаимодействует с клеточными ДНК и РНК, модифицирует их структуры и делает их «узнаваемыми» TLR3- и TLR9-рецепторами. Иммуномакс (растительный пептидогликан) проявляет лигандсвязывающие свойства в отношении TLR4-рецептора; возможно, является активатором и других сигнальных путей [11].

Взаимодействие TLR/RLR-рецепторов со специфическими агонистами активирует процессы апоптоза, иммунного распознавания и клеточной дифференцировки опухолевых клеток [12].

Нами исследована экспрессия генов 6 видов TLR и 2 видов RLR в разных линиях опухолевых клеток: THP-1 и HCT-116. Клетки THP-1 (острый моноцитарный лейкоз) – известная модель *in vitro* для изучения процессов превращения моноцитов в макрофаги и испытания активности иммунопрепаратов [13]. Представляют интерес анализ CD-фенотипа в этих клетках под действием препаратов и сопоставление его с реакцией генов паттернраспознающих рецепторов TLR/RLR. Клетки HCT-116 (аденокарцинома толстой кишки) были изучены нами ранее в отношении экспрессии генов системы ИФН и апоптоза; согласно полученным данным они имеют существенные нарушения в регуляции рецепторных механизмов и экспрессии генов системы ИФН [14].

## Материалы и методы

### Препараты ИФН:

альтевир – субстанция ИФН α-2b, 100 млн МЕ/мл («Фармапарк», Россия);

реаферон – ИФН α-2b, ампула 1 млн МЕ («Вектор», Россия);

генфаксон – ИФН β-1a, шприц 0,5 мл, содержащий 22 мкг 6 млн МЕ (Laboratorio TUTEUR S.A.C.I.F.I.A., Аргентина);

инфибета – ИФН β-1b, флакон 8 млн МЕ/мл (ЗАО «Генериум», Россия);

ридостин – рибонуклеат натрия, смесь осРНК и дсРНК (~10 %) киллерных штаммов грибов *Sacharomyces cerevisiae*, ампула 5 мг («Диафарм», Россия);

циклоферон – N-метилглукामीновая соль акридонуксусной кислоты, 12,5 % раствор, ампула 2 мл («Полисан», Россия);

иммуномакс – растительный пептидогликан, иммуномодулятор, флакон 200 ЕД («Иммафарма», Россия).

#### Клетки

НСТ-116 (аденокарцинома толстой кишки из АТСС-коллекции) и ТНР-1 (острый моноцитарный лейкоз из АТСС-коллекции) были предоставлены лабораторией экспериментальной диагностики и биотерапии опухолей НИИ ЭДитО ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России.

Клетки культивировали в среде RPMI-1640 с 10 % эмбриональной сывороткой телят и антибиотиками. Постановку опытов с препаратами осуществляли в культуральных флаконах 25 см<sup>2</sup>. Плотность клеток суспензионной культуры ТНР-1 составляла 1 млн/мл. Клетки инкубировали с препаратами ИФН 24 ч при 37 °С в опытах по определению экспрессии генов методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ–ПЦР) и 96 ч при 37 °С в опытах по определению CD-фенотипа методом проточной цитометрии.

#### Анализ экспрессии генов методом ОТ–ПЦР в реальном времени

Клетки в количестве 1 млн, промытые 0,1 М фосфатного буфера рН 7,2, лизировали реагентом Trizol (Invitrogen, США) согласно инструкции производителя и замораживали при –20 °С. Выделенную суммарную ДНК/РНК осаждали изопропанолом и обрабатывали ДНКазой из набора «DNA-free» (Ambion, США). В реакции ОТ с праймерами oligo (dT) 15 или «случайными» (*random*) получали кДНК. Использовали реактивы (фермент MMuLV, RNAsin, 4 вида dNTP) (Promega (США)). В количественной ПЦР анализировали кДНК в разведении 1:5. Добавляли пары специфических праймеров и 2-кратную смесь SsoFast EvaGreen Supermix (Bio-Rad, США). Структуры праймеров на исследованные гены рецепторов TLR3, TLR4, TLR7, TLR8, TLR9 описаны нами ранее [9, 11, 14]. Дополнительно в программе Primer 3 Blast были рассчитаны пары праймеров к мРНК TLR2: прямой 5'– tgcctggcctctctacaаа и обратный 5'– gtgtctgggaatgcagcct. ПЦР ставили на приборе CFX-96 (Bio-Rad, США) в режиме реального времени. Протокол ПЦР: 96 °С 2 мин, далее 55 циклов – 94 °С 10 с, 50–54 °С 20 с, 72 °С 30 с. Пороговые циклы (Cq) логарифмической фазы синтеза регистрировали по нарастанию флуоресцентного сигнала красителя EvaGreen, интеркалирующего в ДНК. Анализ экспрессии генов выполняли с помощью программы Data analysis CFX-96. В конечной точке ПЦР по тем-

пературным пикам плавления устанавливали специфичность ДНК-амплификатов, которые анализировали электрофорезом в 1,5 % агарозном геле с бромистым этидием. В отдельных случаях ДНК-амплификаты подвергали секвенированию. В программе Bioedit устанавливали гомологию их первичных структур с имеющимися в GenBank NCBI данными транскриптов мРНК.

#### Иммуноцитофлуориметрическое определение CD-антигенов

Ставили реакцию иммунофлуоресценции с меченными FITC или PE моноклональными антителами и проводили измерение на проточном цитофлуориметре FACSCanto II (Becton Dickinson, США).

#### Результаты и обсуждение

##### Экспрессия TLR-генов

TLR/RLR-рецепторы – важные пусковые регуляторы клеточного иммунного ответа. Показано, что активность TLR-рецепторов влияет на рост опухолей и их метастазирование [4]. Сегодня роль иммунных рецепторов рассматривается в более широком плане и включает процессы клеточной дифференцировки [12, 15]. Молекулярные механизмы гематологических заболеваний связаны с функциональным состоянием сигнальных путей иммунного ответа. Комбинация TLR-лигандов с препаратами ИФН оказывает синергичные эффекты на сигнальные клеточные реакции [12].

В табл. 1 представлены конститутивные уровни транскрипции генов рецепторов TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR8, TLR9, фактора NFκB и 18S рибосо-

**Таблица 1.** Сравнение конститутивной транскрипционной активности генов TLR-рецепторов и фактора NFκB в культурах опухолевых клеток и цельной крови здоровых доноров

Гены/ мРНК	Специфический ПЦР-продукт	Клетки		
		крови* Cq	ТНР-1 Cq*	НСТ-116 Cq*
TLR2	224 пн, 79 °С	30	37*	42*
TLR3	149 пн, 79 °С	34	> 45	> 45*
TLR4	177 пн, 86 °С	25	37*	> 45*
TLR7	150 пн, 80 °С	33	> 45	> 45
TLR8	133 пн, 80 °С	25	37	38
TLR9	231 пн, 88 °С	35	> 45	> 45
NFκB	113 пн, 78 °С	27	37*	40*
рибРНК	151 пн, 82 °С	20	27	28

**Примечание.** Cq – пороговые циклы амплификации.

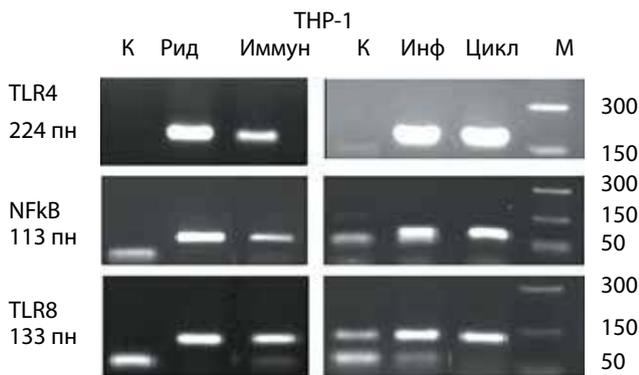
\*Культура клеток цельной крови здоровых доноров.

\*Дополнительные ПЦР-продукты.

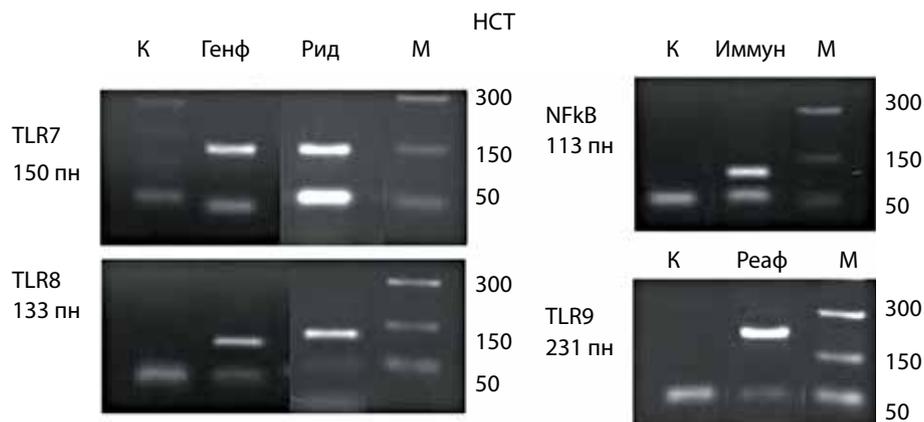
мальной РНК в культурах клеток ТНР-1 и НСТ-116. Для сравнения приведены данные определения уровня экспрессии 18S рибосомальной РНК и мРНК TLR-генов в культуре клеток цельной крови здоровых доноров – модели, наиболее приближенной к норме иммунного ответа *in vitro* [11]. Видно, что в 2 типах опухолевых клеток уровни экспрессии исследованных генов значительно ниже, чем в клетках крови. При этом разница С<sub>q</sub> между 18S рибосомальной РНК и мРНК TLR-рецепторов и фактора транскрипции NFκB больше в опухолевых клетках. Практически не выявляемыми на протяжении 45 циклов и более амплификации в обоих типах клеток оказались транскрипты генов рецепторов TLR3, TLR7, TLR9 и, дополнительно, TLR4 в клетках НСТ-116. Все эти рецепторы важны для противовирусного иммунитета и иницируют сигнальные пути, ведущие к синтезу ИФН [1, 9, 12]. Экспрессия генов ре-

цепторов TLR2 и TLR4, а также фактора NFκB была выше в клетках острого моноцитарного лейкоза ТНР-1. Ген рецептора TLR8 был активным в обоих типах опухолевых клеток (см. табл. 1). Между клеточными линиями выявлены определенные различия в конститутивной регуляции транскрипции рецепторных генов, которые, возможно, отражают индивидуальные особенности источников получения клеток.

Данные электрофореза ПЦР-продуктов в агарозных гелях, представленные на рис. 1 и 2, демонстрируют наряду со специфическими ДНК-амплификатами появление в опухолевых линиях ДНК-амплификатов меньшего размера. Следует отметить нестабильную транскрипционную активность исследованных генов в пассажах опухолевых клеток. Стимулирующий эффект препаратов ИФН и ИФН-индукторов в опухолевых клетках был выше при низком или не выявляемом уровне экспрессии TLR-генов. Препараты ИФН и индукторы ИФН были эффективными в высоких дозах (генфаксон и инфибета  $10^5$ – $10^6$  МЕ, ридостин  $10^2$ – $10^3$  мкг/мл, циклоферон 625 мкг/мл, иммуномакс 2 МЕ). Они индуцировали в клетках ТНР-1 и НСТ-116 синтез специфических ПЦР-продуктов. При этом в клетках ТНР-1 ридостин, циклоферон, инфибета и иммуномакс сильнее активировали гены TLR4, TLR8 и NFκB. В клетках НСТ-116 реакция генов рецепторов TLR7, TLR8, TLR9 и NFκB на препараты также была положительной, но менее выраженной (см. рис. 2). Низкая и нестабильная активность рецепторных генов в пассажах этих опухолевых линий клеток, по-видимому, согласуется с другими известными нарушениями в рецепторных свойствах [15]. Обнаружение в составе ПЦР-продуктов опухолевых клеток наряду со специфическими дополнительными ДНК-амплификатами меньшего размера дает основание предполагать нарушения в образовании



**Рис. 1.** Электрофорез ПЦР-продуктов генов TLR4, NFκB, TLR8 клеток ТНР-1, стимулированных препаратами ридостин (Рид), иммуномакс (Иммун), инфибета (Инф), циклоферон (Цикл). Дозы препаратов: ридостин – 1000 мкг/мл, иммуномакс – 2 МЕ/мл, инфибета – 1 МЕ/мл, циклоферон – 625 мкг/мл. М – ДНК-маркеры с известными размерами пар нуклеотидов. Слева – название генов и размеры специфических ПЦР-продуктов



**Рис. 2.** Электрофорез ПЦР-продуктов генов TLR7, TLR8, NFκB, TLR9 клеток НСТ-116, стимулированных препаратами генфаксон (Генф), ридостин (Рид), иммуномакс (Иммун), реаферон (Реаф). Дозы препаратов: генфаксон – 1 МЕ/мл, ридостин – 1000 мкг/мл, иммуномакс – 2 МЕ/мл, реаферон – 1 МЕ/мл. М – ДНК-маркеры с известными размерами пар нуклеотидов. Слева название генов и размеры специфических ПЦР-продуктов.

зрелых форм мРНК. Такие аномальные ПЦР-продукты отсутствовали в пробах мРНК TLR/RLR генов клеток крови здоровых доноров при использовании тех же пар праймеров [9, 11].

Действие ридостина изучено более подробно. Препарат по химической структуре представляет собой смесь осРНК и дсРНК грибка *Sacharomyces cerevisia* и является ИФН-индуктором и стимулятором транскрипции фактора NFκB. Ридостин – активатор транскрипции генов иммунных рецепторов TLR3, TLR8 в эндосомах и в цитоплазме (MDA5) [9]. В опухолевых клетках ТНР-1 и НСТ-116 препарат показал себя эффективным стимулятором этих рецепторных генов (табл. 2). В клетках моноцитарного лейкоза ТНР-1 препарат индуцировал широкий спектр генов рецепторов TLR2, TLR4, TLR8, RIG1, MDA5 и фактор транскрипции NFκB, не активированным оставался только ген рецептора TLR3. В клетках аденокарциномы толстой кишки НСТ-116 ридостин также оказывал стимулирующее действие на широкий спектр генов, но эффект был несколько слабее. В составе активированных генов в этом случае был ген рецептора TLR3, но отсутствовал ген рецептора TLR9. Таким образом, в 2 линиях клеток разных типов опухолей имелись определенные различия – как в конститутивных, так и в индуцированных спектрах TLR-генов. Тем не менее исследованные препараты ИФН и ИФН-индукторов в опухолевых клетках являлись активаторами иммунных рецепторов на транскрипционном уровне.

**Таблица 2.** Стимулирующее действие ридостина на экспрессию генов паттернраспознающих рецепторов TLR/RLR в клетках ТНР-1 и НСТ-116

Гены/мРНК	ТНР-1 Сq*		НСТ-116 Сq*	
	Контроль	Ридостин	Контроль	Ридостин
TLR2	39	34↑	43	42
TLR3	> 45	> 45	> 45	42↑
TLR4	40	33↑	> 45	39↑
TLR7	> 45	43	> 45	38↑
TLR8	40	34↑	45	36↑
TLR9	42	40	> 45	> 45
RIG1	> 45	38↑	42	37↑
MDA5	45	34↑	40	38↑
NFκB	43	35↑	43	41

**Примечание.** \*Сq – пороговый цикл амплификации. Представлены результаты 5-го пассажа клеток. Дополнительно исследованы клетки 3-го и 10-го пассажей. Различия в Сq исследованных генов имели подобную закономерность. Стандартная ошибка повторных измерений ПЦР SD ± 1с.

Таким образом, впервые показано стимулирующее действие группы препаратов ИФН (реаферон, инфибета, генфаксон), ИФН-индукторов (ридостин и циклоферон) и иммуномодулятора иммуномакс в опухолевых линиях клеток ТНР-1 и НСТ-116 на гены паттернраспознающих рецепторов. Позитивная регуляция транскрипции TLR/RLR-генов демонстрирует возможность коррекции ими нарушений сигнальных механизмов иммунного ответа в опухолевых клетках ТНР-1 и НСТ-116.

### Характеристика CD-фенотипа клеток ТНР-1

Анализ CD-антигенов на поверхности клеток ТНР-1 характеризует их как полиморфную популяцию (табл. 3). В ее составе доминируют (70–90 %) CD3<sup>+</sup>-, CD5<sup>+</sup>-, CD13<sup>+</sup>-, CD14<sup>+</sup>-, CD23<sup>+</sup>-, CD45<sup>+</sup>-лимфоциты и моноциты. Популяция имеет низкое содержание клеток с фенотипом CD11b дифференцированных макрофагов и комплекса HLA-DR. В то же время в популяции выявляются клетки CD38<sup>+</sup>, свойственные моноцитарному лейкозу.

Под действием реаферона, циклоферона и иммуномакса уровень экспрессии миелоидного антигена

**Таблица 3.** Влияние исследуемых препаратов на CD-кластеры дифференцировки клеток ТНР-1

Иммуно-фенотип	Контроль	Реаферон	Ридостин	Циклоферон	Иммуномакс
CD3 <sup>+</sup>	85	85	92	91	94
CD5 <sup>+</sup>	98	94	98	96	87
CD7 <sup>+</sup>	66	62	<u>77</u>	<u>76</u>	<u>80</u>
CD13 <sup>+</sup>	86	82	92	89	93
CD14 <sup>+</sup>	73	71	85	84	85
CD23 <sup>+</sup>	99	92	96	95	98
CD38 <sup>+</sup>	74	<u>36</u>	67	<u>28</u>	<u>32</u>
CD45 <sup>+</sup>	87	81	88	86	93
CD4 <sup>+</sup>	45	<u>39</u>	<u>58</u>	<u>24</u>	<u>31</u>
CD95 <sup>+</sup>	30	27	37	<u>14</u>	<u>11</u>
CD8	0	0	0	0,1	0,1
CD11b	2,2	1,1	<u>5,5</u>	1,0	1,3
CD25	8,0	<u>1,5</u>	6,4	<u>2,0</u>	<u>1,1</u>
HLA-DR	2,2	<u>16,3</u>	3,8	2,2	3,5

**Примечание.** Показатели иммунофенотипов клеток ТНР-1 выражены в % содержания. Подчеркиванием выделены изменения CD. Представлены результаты типичного эксперимента. Средняя стандартная ошибка измерения в 3 независимых исследованиях не превышала 10 %. Достоверность оценивали по критерию Стьюдента при p < 0,05.

CD38 снижается. Антиген CD38 рассматривают как прогностический показатель при Т- и В-лейкозах и мишень для терапии моноклональными антителами [15]. Пока остается неясным, в какой мере снижение его экспрессии связано с активацией генов иммунных TLR/RLR-рецепторов. Для ответа на этот вопрос требуются дополнительные исследования с разными TLR-агонистами и мутантными клетками [12].

Реаферон повышает уровень экспрессии главного комплекса гистосовместимости II класса HLA-DR, эффект ридостина проявляется небольшим ростом числа клеток CD11b<sup>+</sup> и CD4<sup>+</sup>. Иммуномакс, циклоферон и ридостин повышают в составе клеточной популяции уровень CD7<sup>+</sup> клеток. Все препараты, кроме ридостина, незначительно снижают содержание CD25<sup>+</sup>-лимфоцитов, а циклоферон и иммуномакс понижают уровень экспрессии антигена CD95.

### Заключение

Эффекты препаратов ИФН и ИФН-индукторов на CD-антигены показывают их способность изменять процессы клеточной дифференцировки. В дальнейшем необходим поиск более эффективных комбинаций препаратов рекомбинантных ИФН 1-го типа с TLR/RLR-лигандами, которые сегодня уже применяются как специфические агонисты [1, 12]. Более детальный анализ их действия на CD-фенотипы линий опухолевых клеток позволит подбирать препараты с аддитивными эффектами. Дифференцировка клеток ТНР-1 и НСТ-16 регулируется как на транскрипционном уровне с участием фактора NFκB, так и на посттранскрипционном (созревание мРНК). В дальнейшем необходимо изучить препарат ридостин, сочетающий свойства ИФН-индуктора и лиганда нескольких рецепторов (TLR3, TLR8, MDA5) на клетках, полученных из образцов опухолей и их микроокружения.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Paul-Clark M.J., George P.M., Catheral T. et al. Pharmacology and therapeutic potential of pattern recognition receptors. *Pharmacol Ther* 2012;135(2): 200–15. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2012.05.007. PMID: 22627269.
- Kawai T., Akira S. Signaling to NF-κappaB by toll-like receptors. *Trends Mol Med* 2007;13(11):460–9. DOI: 10.1016/j.molmed.2007.09.002. PMID: 18029230.
- Kutikhin A.G. Association of polymorphisms in TLR genes and in genes of the toll-like receptors signaling pathway with cancer risk. *Hum Immunol* 2011;72:1095–116. DOI: 10.1016/j.humimm.2011.07.307. PMID: 21872627.
- Pandey S., Singh S., Anang V. et al. Pattern recognition receptors in cancer progression and metastasis. *Sanjay Cancer Growth Metastasis* 2015;8:25–34. DOI: 10.4137/CGM.S24314. PMID: 26279628.
- Li T.T., Ogino S., Qian Z.R., World J. Toll-like receptor signaling in colorectal cancer: carcinogenesis to cancer therapy. *Gastroenterol* 2014;20(47):17699–708. DOI: 10.3748/wjg.v20.i47.17699. PMID: 25548469.
- Cannova J., Breslin S.J. P., Zhang J. Toll-like receptor signaling in hematopoietic homeostasis and the pathogenesis of hematologic diseases. *Front Med* 2015;9(3):288–303. DOI: 10.1007/s11684-015-0412-0. PMID: 26297301.
- Khoo J.J., Forster S., Mansell A. Toll-like receptors as interferon-regulated genes and their role in disease. *J Interferon and Cytokine Res* 2011;31(1):13–25. DOI: 10.1089/jir.2010.0095. PMID: 21198355.
- Zitvogel L., Galluzzi L., Kepp O. et al. Type I interferons in anticancer immunity. *Nat Rev Immunol* 2015;15(7):405–14. DOI: 10.1038/nri3845. PMID: 26027717.
- Соколова Т.М., Шувалов А.Н., Полосков В.В., Ершов Ф.И. Стимуляция генов сигнальной трансдукции препаратами Ридостин, Циклоферон и Ингавирин. Цитокины и воспаления 2015;2:26–34.
- Ершов Ф.И. Антивирусные препараты. Справочник. 2-е изд. М., 2006.
- Соколова Т.М., Шувалов А.Н., Шаповал И.М. и др. Активация генов сигнальных путей иммунитета: различная индивидуальная чувствительность клеток крови человека к препаратам интерферонов и индукторов ИФН. *Медицинская иммунология* 2015;1:7–18. DOI: 10.15789/1563-0625-2015-1-7-18.
- Kaczanowska S., Joseph A.M., Davila E. TLR agonists: our best frenemy in cancer immunotherapy. *Cellular & Molecular Immunology* 2011;8:341–47. DOI: 10.1189/jlb.1012501. PMID: 23475577.
- Chanput W., Mes J.J., Wichers H.J. THP-1 cell line: an in vitro cell model for immune modulation approach. *Int Immunopharmacol* 2014;23(1):37–45. DOI: 10.1016/j.intimp.2014.08.002. PMID: 25130606.
- Соколова Т.М., Кособокова Е.Н., Шувалов А.Н. и др. Активность генов системы интерферона в клетках аденокарциномы толстого кишечника НСТ-116: регуляция рекомбинантными интерферонами альфа-2 из бактериальных и растительных продуцентов. *Российский биотерапевтический журнал* 2013;3:39–44.
- Nguyen-Pham T-N., Lim M-S., Nguyen T.A. et al. Type I and II interferons enhance dendritic cell maturation and migration capacity by regulating CD38 and CD74 that have synergistic effects with TLR agonists. *Cell Mol Immunol* 2011;8(4): 341–7. DOI: 10.1038/cmi.2011.7. PMID: 21423200.