

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ФУНДАМЕНТАЛЬНОЙ И КЛИНИЧЕСКОЙ
ИММУНОЛОГИИ»

На правах рукописи

А. Колерова

КОЛЕРОВА АНАСТАСИЯ ВИКТОРОВНА

**РОЛЬ IL-7 В РЕГУЛЯЦИИ CD4⁺ КЛЕТОК ПАМЯТИ
ПРИ ВУЛЬГАРНОМ ПСОРИАЗЕ**

14.03.09 – Клиническая иммунология, аллергология

14.01.10 – Кожные и венерические болезни

Диссертация на соискание ученой степени

Кандидата медицинских наук

Научные руководители:

Академик РАН, д.м.н. профессор Козлов В.А.

Д.м.н. Сергеева И.Г.

Новосибирск – 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

I.	ВВЕДЕНИЕ	5
II.	ОБЗОР ДАННЫХ ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.	Определение и клиническая картина вульгарного псориаза	10
2.	Роль генетических факторов в развитии вульгарного псориаза	10
3.	Триггеры вульгарного псориаза	11
4.	Аутоантигены кожи при вульгарном псориазе	14
5.	Особенности иммунного ответа при вульгарном псориазе	15
6.	Особенности CD4 ⁺ клеток памяти при вульгарном псориазе	19
7.	Происхождение клеток памяти	23
8.	Классификация CD4 ⁺ клеток памяти	27
9.	Регуляция популяции CD4 ⁺ клеток памяти	29
10.	Роль IL-7 в формировании, поддержании иммунных клеток	29
11.	Сигнальный путь рецептора IL-7	30
12.	Регуляция экспрессии рецептора IL-7	31
13.	Роль IL-7 и сигнального пути рецептора IL-7 в развитии патологических состояний. Блокада сигнального пути рецептора IL-7	32
III.	МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	40
IV.	РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	49
1.	Продукция IL-1 β и TNF α мононуклеарами	

периферической крови доноров и пациентов с вульгарным
псориазом_____ 49

2. Фенотип CD4⁺ клеток памяти и внутриклеточное
содержание в них цитокинов в норме и при вульгарном
псориазе_____ 53
3. Фенотип и пролиферация CD4⁺ клеток памяти в
смешанных культурах условно-здоровых доноров и
пациентов с вульгарным псориазом_____ 61
4. Влияние IL-7 на фенотип и пролиферацию CD4⁺ клеток
памяти при вульгарном псориазе и у условно-здоровых
доноров *in vitro*_____ 62
5. Влияние блокады IL-7R α моноклональными антителами
на фенотип и пролиферацию CD4⁺ клеток памяти в норме
и при вульгарном псориазе *in vitro*_____ 65
6. Влияние IL-7 и блокады моноклональными антителами
IL-7R α на продукцию IL-4, IFN γ и IL-17 CD4⁺ клетками
памяти в норме и при вульгарном псориазе *in vitro*_____ 77

V.	ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ_____	90
VI.	ЗАКЛЮЧЕНИЕ_____	101
VII.	СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ_____	104
VIII.	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ_____	106

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы

Одна из главных функций иммунной системы - формирование иммунологической памяти для защиты от инфекционных агентов, что обеспечивается за счет циркулирующих, долгоживущих Т-клеток памяти, которые представлены гетерогенной популяцией. В зависимости от фенотипа Т-клетки памяти делят на центральные ($CD45RO^+CCR7^+CD62L^+$, Tcm), способные рециркулировать в лимфоидных органах, секретировать IL-2; эффекторные ($CD45RO^+CCR7^-CD62L^-$, Tem), которые экспрессируют хемокины для миграции в органы и ткани, продуцируют эффекторные цитокины, перфорин, гранзимы; терминально дифференцированные клетки памяти ($CD45RA^+CCR7^-CD62L^-$), редкую субпопуляцию стволовых клеток памяти ($CD45RA^+CCR7^+CD27^+$), являющуюся переходной между наивными Т-клетками и субпопуляциями клеток памяти [1].

Выживание, поддержание, гомеостатическая пролиферация Т-клеток обеспечивается IL-7, причем в большей степени от него зависят наивные $CD4^+$ -лимфоциты, $CD4^+$ центральные (Tcm) и эффекторные (Tem) клетки памяти [2]. Поддерживающий эффект IL-7 опосредуется связыванием с высоко аффинной α -цепью рецептора к IL-7 (IL-7R α , CD127) и запуском сигнального пути через активацию тирозинкиназ Jak1 и Jak3, связанных с α -цепью и общей γ -цепью (CD132). В результате происходит активация и димеризация транскрипционного фактора STAT5, который мигрирует в ядро и регулирует транскрипцию генов [3]. Несмотря на эквивалентную экспрессию цитокинового рецептора на $CD4^+$ Tcm и Tem, в ответ на стимуляцию IL-2 и IL-7 *in vitro* в центральных клетках памяти был обнаружен более высокий уровень фосфорилированного STAT5 [4], что может говорить в пользу большей отвечаемости на IL-7 и значимой роли данного цитокина в обеспечении высокой продолжительности жизни указанной клеточной популяции.

В последнее время исследователи отмечают важную роль гомеостатического фактора IL-7 в патогенезе аутоиммунных заболеваний. Прямое действие IL-7 на Т-клетки способствует продукции преимущественно цитокинов Th1- и Th17-типа [5]. Он опосредует Т-зависимую активацию макрофагов, дендритных клеток и В-клеток, что сопровождается увеличением экспрессии дифференцировочных факторов, хемокинов, адгезивных и костимуляторных молекул, катаболических ферментов [6]. Кроме того, высказывается предположение, что IL-7 может обеспечивать высокую продолжительность жизни аутореактивных клонов Т-клеток и приводить к хронизации аутоиммунного воспаления.

Впервые об иммунологической памяти при псориазе заговорили после того, как трансплантация клинически здоровой кожи от пациентов с псориазом мышам с иммунодефицитом привела к развитию клинических и гистологических признаков заболевания у реципиентов [7]. Было выявлено, что клинически здоровая кожа при псориазе характеризуется наличием персистирующего воспаления: гены, ассоциированные с функцией Т-лимфоцитов (LCK, TRCb1), и гены провоспалительных цитокинов (IL-17, IL-22, IFN- γ) остаются активными в течение более чем 3 месяцев после начала терапии ингибиторами TNF- α [8]. Установлено, что локальный воспалительный процесс в коже поддерживается деятельностью резидентных клеток памяти (T_{rm}). T_{rm} способны инициировать каскад воспалительных реакций, что приводит к развитию высыпаний в одних и тех же локализациях [9]. Gaide и соавт. установили, что резидентные клетки памяти имеют общее происхождение с центральными клетками памяти (T_{cm}), что указывает на возможность репопуляции пула резидентных клеток памяти кожи за счет центральных Т-клеток памяти [10].

При многих аутоиммунных заболеваниях повышенный уровень IL-7 определяется в сыворотке крови [11], а при ревматоидном артрите его концентрация существенно увеличена в синовиальной жидкости [12]. Кроме того, у пациентов с аутоиммунной патологией наблюдается накопление клеток памяти. Так,

согласно литературным данным, количество центральных клеток памяти ($CD4^+CD45RA^-CD62L^+$ и $CD8^+CD45RA^-CD62L^+$) повышено у пациентов с ревматоидным артритом по сравнению с донорами, в то время как число терминально дифференцированных эффекторных клеток памяти оставалось на уровне донорских значений [13].

Diani и соавт. выявили прямую корреляционную связь между количеством $CD4^+CCR6^+$ эффекторных клеток памяти (Tem) в периферической крови при псориазе и значением PASI, а также с уровнем С-реактивного белка; обратную взаимосвязь количества $CD4^+CXCR3^+$ эффекторных клеток памяти, количества $CD4^+CLA^+$ центральных клеток памяти с тяжестью течения заболевания [6]. Помимо этого была выявлена прямая корреляционная связь между количеством $CD4^+CCR4^+$ центральных клеток памяти со значением PASI и негативная - между количеством $CCR5^+$ центральных клеток памяти и PASI [14]. Эти данные указывают на участие $CD4^+$ центральных и эффекторных клеток памяти в развитии заболевания и его рецидивов, что обуславливает необходимость исследования механизмов регуляции данной популяции при псориазе.

Исходя из указанных данных литературы была сформирована **цель исследования** - оценить влияние блокады альфа-цепи рецептора IL-7 на пролиферацию, фенотип и внутриклеточное содержание цитокинов в $CD4^+$ центральных и эффекторных клетках памяти *in vitro* в норме и при вульгарном псориазе.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Охарактеризовать содержание и фенотип $CD4^+$ центральных и эффекторных клеток памяти периферической крови пациентов с вульгарным псориазом и условно-здоровых доноров.
2. Оценить внутриклеточное содержание IFN- γ , IL-4, IL-17 цитокинов в $CD4^+$ центральных и эффекторных клеток памяти у условно-здоровых доноров и у пациентов с вульгарным псориазом.

3. Установить влияние IL-7 на пролиферацию, фенотип и внутриклеточное содержание IFN- γ , IL-4, IL-17 в сортированных CD4⁺ центральных и эффекторных клетках памяти— условно-здоровых доноров и пациентов с вульгарным псориазом.
4. Оценить влияние блокады α -цепи рецептора IL-7 на пролиферацию, фенотип и внутриклеточное содержание IFN- γ , IL-4, IL-17 в сортированных CD4⁺ центральных и эффекторных клетках памяти условно-здоровых доноров и пациентов с вульгарным псориазом.
5. Сопоставить особенности фенотипа, пролиферации и внутриклеточного содержания IFN- γ , IL-4, IL-17 в CD4⁺ центральных и эффекторных клетках памяти с клиническими характеристиками пациентов с вульгарным псориазом (индекс PASI)

Научная новизна работы

Впервые получены данные о сравнении механизмов поддержания центральных и эффекторных CD4⁺ клеток памяти в норме и при псориазе *in vitro*, а также продемонстрирована возможность модуляции ответа субпопуляций клеток памяти на IL-7 с помощью блокады IL-7R моноклональными антителами. Впервые описаны особенности экспрессии рецептора IL-7 на CD4⁺ клетках памяти при псориазе, а также особенности продукции Th1, Th2 и Th17 цитокинов популяциями центральных и эффекторных клеток памяти. Впервые проведено исследование по изучению блокады α -цепи рецептора IL-7 на пролиферацию, фенотип и внутриклеточное содержание Th1, Th2 и Th17 цитокинов при псориазе.

Теоретическая и практическая значимость

Полученные данные об особенностях экспрессии IL-7R α CD4⁺ клетками памяти при вульгарном псориазе расширяют современное понимание о патогенезе заболевания и механизмах развития его рецидивов.

Мы охарактеризовали взаимосвязь между содержанием CD4⁺ центральных

клеток памяти в периферической крови и тяжестью течения псориаза (значением PASI), а также между продукцией CD4⁺ клетками памяти IL-17 и течением заболевания. Полученные результаты в перспективе могут позволить использовать указанные параметры как дополнительные критерии в оценке активности псориаза. Полученные данные необходимо учитывать при разработке биологической терапии заболевания.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. IL-7 усиливает пролиферацию CD4⁺клеток памяти и повышает внутриклеточное содержание IFN γ и IL-17, уменьшает внутриклеточное содержание IL-4 при вульгарном псориазе *in vitro*.
2. Блокада рецептора IL-7 снижает пролиферацию CD4⁺ клеток памяти, внутриклеточное содержание IL-17 и IFN γ , повышает – IL-4 при вульгарном псориазе *in vitro*.

Апробация материалов

Материалы исследования были доложены и обсуждены на 14 Международном форуме дерматовенерологов и косметологов (г. Москва, 2021), работе присуждено первое место в конкурсе молодых ученых в номинации «Лучшее фундаментальное исследование». Также материалы исследования были доложены и обсуждены на конгрессе Европейской академии аллергологии и иммунологии (онлайн, 2020) на 17 Международном конгрессе по иммунологии (г. Пекин, Китай, 2019).

Объем и структура диссертации

Диссертация написана в традиционном стиле и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения и выводов. Материал изложен на 136 страницах машинописного текста, включающего 10 таблицы и 27 рисунков. Прилагаемая библиография содержит ссылки на 224 литературных источников, в том числе 223 зарубежные.

Публикации

По теме работы опубликовано 6 печатных работ, включая 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Степень достоверности и личное участие автора

Результаты, представленные в данной работе, получены лично автором на базе лаборатории клинической иммунопатологии НИИФКИ, клиники «Аллергосити плюс», г. Новосибирска.

Достоверность полученных результатов подтверждается достаточной выборкой исследования, использованием современных иммунологических, молекулярно-биологических методов и адекватных методов статистической обработки данных. Большинство экспериментов, а также статистическая обработка результатов и интерпретация экспериментальных данных выполнены лично автором. Подготовка 6 основных публикаций по выполненной работе проведена лично автором или при его непосредственном участии.

Благодарности

Автор выражает искреннюю благодарность своим научным руководителям д.м.н., академику Козлову В. А., д.м.н. Сергеевой И.Г. за помощь, оказанную при работе над диссертацией, к.б.н. Блиновой Е.А. за помощь и поддержку при постановке методики, при выполнении анализа данных, в написании статей и самой кандидатской диссертации. Автор выражает глубокую признательность коллективу лаборатории клинической иммунопатологии за создание благоприятной атмосферы для выполнения исследовательской работы, а также за всестороннюю помощь и поддержку во время написания кандидатской диссертации.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Определение и клиническая картина вульгарного псориаза

Псориаз – системное иммунноассоциированное заболевание мультифакториальной природы с доминирующим значением в развитии генетических факторов, характеризующееся ускоренной пролиферацией эпидермоцитов и нарушением их дифференцировки, иммунными реакциями в дерме и синовиальных оболочках, дисбалансом между провоспалительными и противовоспалительными цитокинами, хемокинами; частыми патологическими изменениями опорно-двигательного аппарата. Около 3 % населения Земли поражено данным заболеванием. Наиболее распространенной формой псориаза является вульгарный псориаз, характеризующийся появлением на коже розовато-красных папул и бляшек, покрытых серебристо-белыми чешуйками. Бляшки локализуются на коже волосистой части головы, разгибательных поверхностей коленных и локтевых суставов, в области крестца, поясницы и т.д. У 5% пациентов с вульгарным псориазом развивается псориатический артрит, который, при отсутствии должной терапии, приводит к мутилиации конечностей. Пациенты с псориазом характеризуются более высоким риском развития онкологических заболеваний кожи, депрессии, сердечно-сосудистой патологии, воспалительных заболеваний кишечника [15].

Роль генетических факторов в развитии псориаза

Выявлено более 60 хромосомных локусов, ассоциированных с предрасположенностью к псориазу [16-18]. Наиболее изученным является локус PSORS1, ответственный за более 50% семейных случаев псориаза [19]. PSORS1 локализован на хромосоме 6p21 в области MHC, относится к HLA-Cw6 (C*06:02). Данный аллель ассоциирован с ранним началом заболевания и более тяжелым течением [20, 21], он представлен у 60% пациентов с псориазом и увеличивает риск развития заболевания в 23 раза [22]. PSORS1

содержит также ген десмосомального белка корнеодесмозина (CDSN), ответственного за формирование клеточных контактов между кератиноцитами и процесс десквамации клеток [23]. Аллели HLA-C*12:03, HLA-C*07:01, HLA-C*07:02, HLA-C*07:04, HLA-B*27 и HLA-B*57 также связаны с развитием псориаза [24]. В патогенез заболевания вовлечены гены, ассоциированные с сигнальным путем интерферонов I типа (ELMO1, TYK2, SOCS1, IFIH1/MDA5, RNF114, IRF4, RIG1/DDX58, IFNLR1/IL28RA, IFNGR2), активацией ядерного фактора каппа-би (TNFAIP3, TNIP1, TYK2, REL, NFkBIA, CARD14, CARM1, UBE2L3, FBXL19), дифференцировкой CD8⁺ Т-лимфоцитов (ETS1, RUNX3, TNFRSF9, MBD2, IRF4), а также сигнальным путем Ил-23/Ил-17А (IL23R, IL12B, IL12RB, IL23A, IL23R, TYK2, STAT3, STAT5A/B, SOCS1, ETS1, TRAF3IP2, KLF4, IF3) [25, 26].

Триггеры псориаза

Традиционно одними из основных триггеров заболевания считаются инфекции. Кандидоз ассоциирован с развитием обострений псориаза [27]. Суперантигены *S.albicans* стимулируют экспансию Т лимфоцитов, экспрессирующих кожный лимфоцитарный антиген (CLA⁺) а также пролиферацию кератиноцитов у пациентов с данным заболеванием. Также увеличивается продукция IL-9, IL-17А и IFN-γ, что обеспечивается в большей степени CLA⁺CD4⁺Т-клетками памяти [28], а также секреция IL-23 дендритными клетками кожи [29]. К тому же установлено, что в сыворотке крови пациентов с псориазом содержится достоверно большее количество IgG, реактивных к белкам *S. ruogenes*, по сравнению с группой контроля, что указывает на вероятную роль данного микроорганизма в развитии заболевания [30]. *S. ruogenes* способствует увеличению продукции IL-17А и IL-17F, IL-9 CLA⁺Т-лимфоцитами [31], что способствует увеличению продолжительности жизни CLA⁺Т-лимфоцитов и активации кератиноцитов [32].

Травматизация кожи приводит к высвобождению LL37 и нуклеиновых кислот, что запускает иммунный ответ к собственным клеткам кожи [33, 34]. Появление новых очагов в участках травматизации кожи называется феноменом Кёбнера. Экспрессия базальными кератиноцитами фактора роста нервов (NGF) повышается после повреждения кожи. Клетки эпидермиса при псориазе характеризуются повышенной экспрессией NGF, который, вероятно, играет роль в формировании псориатических очагов на ранней стадии заболевания [35]. Интерфероны I типа, такие как IFN- α и IFN- β , продуцируются дермальными плазмоцитоидными дендритными клетками и поврежденными кератиноцитами, соответственно [36]. Даже механическое растяжение кожи способствует выработке провоспалительных цитокинов [37], а также CCL20 и CXCL8 кератиноцитами, что приводит к хемотаксису нейтрофилов и Th17 лимфоцитов в кожу [38].

Лекарственные препараты также способны индуцировать развитие заболевания. Бета-блокаторы (бисопролол, метопролол, атенолол) приводят к снижению внутриклеточного содержания цАМФ, который в норме приводит к повышению экспрессии генов, ответственных за клеточную дифференцировку и снижение интенсивности пролиферации, результатом чего является гиперпролиферация кератиноцитов [39-41]. Имихимод-ассоциированное воспаление широко используется в качестве экспериментальной мышинной модели вульгарного псориаза [42]. Ингибиторы контрольных точек иммунного ответа также ассоциированы с развитием заболевания [43-45]. Используемые в психиатрии препараты, содержащие литий, инициируют развитие вульгарного, пустулезного, ладонно-подошвенного и эритродермического псориаза [46].

Курение ассоциировано с развитием псориаза [47, 48]. Обработка кератиноцитов бензапиреном приводила к повышению ими продукции CCL20, который обеспечивает миграцию Th17 лимфоцитов в кожу. Это указывает на то,

что курение может быть триггером псориаза [49]. Курение стимулирует продукцию свободных радикалов, интерлейкина-2, -12, ФНО- α , ГМ-КСФ [34], а также повышает экспрессию HLA-Cw6, HLA-DQA1*0201 and CYP1A1 [50].

Алкоголь является триггером развития заболевания [51]. Метаболиты алкоголя увеличивают экспрессию растворимого рецептора TNF α и TNF α -конвертирующего фермента, что ассоциировано с развитием воспаления в коже при псориазе [52]. Более того, кератиноциты характеризуются повышением скорости пролиферации после обработки ацетоном и этанолом. Таким образом, употребление алкоголя может усиливать эпидермальную пролиферацию при псориазе [53].

Стресс также способствует ухудшению состояния кожи при псориазе [54], так как он приводит к активации симпатико-адрено-медуллярной системы и снижению активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы [55], что ассоциировано с уменьшением уровня кортизола и повышением содержания адреналина и норадреналина в крови [56], результатом чего является дегрануляция мастоцитов, нарушение эпидермального барьера и повышение продукции провоспалительных цитокинов [57].

Ожирение является фактором, отягощающим течение псориаза. При ожирении снижена продукция адипонектина, уровень которого негативно коррелирует с содержанием TNF- α и IL-6 [58]. При псориазе уровень адипонектина также понижен и обратно коррелирует со значением индекса PASI [58, 59]. Другой функцией адипонектина является ингибирование NF- κ B, что приводит к повышению уровня противовоспалительного цитокина IL-10 [60, 61]. Тяжесть псориаза также связана с уровнем лептина в сыворотке крови [62, 63]. При этом уровень лептина повышен у пациентов с псориазом без ожирения как в период голодания, так и в состоянии насыщения, что указывает на то, что высокий уровень лептина обеспечивается не только за счет продукции адипоцитами, но и другими клетками: кератиноцитами и

эндотелиоцитами [64]. Кератиноциты наряду с адипоцитами и эндотелиоцитами также продуцируют химерин [65]. Уровень химерина в крови связан со значениями индекса PASI и индекса массы тела (ИМТ) [66], а также было обнаружено, что при псориазе содержание химерина повышено в периферической крови по сравнению с общей популяцией [67].

Аутоантигены кожи при псориазе

Аутоантигенами при вульгарном псориазе являются антимикробные пептиды (β -дефензины, кателицидин LL37), белки S100A8, S100A9, меланоцитарный протеин ADAMTSL5, липиды, генерированные фосфолипазой A2 (PLA2), группа белков IVD (PLA2G4D) и кератин 17. Антимикробные пептиды (алармины) - первая линия врожденной иммунной защиты. Антимикробный пептид LL37, или кателицидин, высвобождается поврежденными кератиноцитами и формирует комплексы с отрицательно заряженными молекулами ДНК и РНК. Данные комплексы взаимодействуют с TLR9 плазмацитоидных дендритных клеток [68]. Активация данных клеток - основное звено в развитии псориазической бляшки - приводит к продукции интерферонов I типа (IFN- α и IFN- β). В результате чего происходит созревание миелоидных дендритных клеток [69-71]. Активированные миелоидные дендритные клетки мигрируют в лимфатические узлы и продуцируют TNF α , IL-23, IL-12, которые в дальнейшем модулируют дифференцировку и пролиферацию Th17- и Th1-клеток, соответственно. [72]. LL37-специфичные Т лимфоциты обнаруживаются как в очагах, так и в крови пациентов с псориазом, а их количество коррелирует с активностью заболевания [73].

Эпидермис при псориазе характеризуется повышенным содержанием белков S100A8, S100A9 [28], которые также являются аутоантигенами, продукция которых стимулируется IL-17A [74], IL-19 [75], IL-36G [76], TNF α [77]. S100A8 и S100A9 продуцируются миелоидными клетками и кератиноцитами. Они стимулируют пролиферацию кератиноцитов и продукцию ими

провоспалительных цитокинов [74]. В псориатических очагах кератиноциты продуцируют дефензины, которые также способны связываться с молекулами ДНК с стимулировать плазмцитоподобные дендритные клетки через TLR9 [78]. Уровень β -дефензина 2 прямо коррелировал с содержанием IL-17A в сыворотке крови пациентов с псориазом и значением PASI. Терапия секукинумабом (моноклональные антитела к Ил-17A) сопровождалась снижением уровня β -дефензина 2 в сыворотке крови [79].

Меланоцитарный протеин ADAMTSL5 является аутоантигеном при HLA-C *06:02-связанном псориазе. Исключительно аутореактивные CD8⁺ Т лимфоциты распознают данный аутоантиген и направляют свое действие на меланоциты [37].

Другими аутоантигенами являются липиды, генерированные фосфолипазой A2 (PLA2), группа белков IVD (PLA2G4D) и кератин 17 [80, 81]. Кератин 17 способствует пролиферации исключительно CD8⁺ Т клеток у HLA-Cw*0602(+)-пациентов [82]. DEFB4A является наиболее специфичным антимикробным пептидом при псориазе [83, 84]. В норме и при других заболеваниях кожи экспрессия DEFB4A практически отсутствует в коже [83-85].

Особенности иммунного ответа при вульгарном псориазе

В настоящее время широко изучаются особенности иммунного ответа при вульгарном псориазе. В прогрессирующую стадию заболевания повышена пролиферация дермальных Т-лимфоцитов с фенотипом Th17, Th22 и Th1 в псориатических очагах. Они продуцируют в большей степени IL-17A, IL-22, IFN- γ [86, 87], которые способствуют пролиферации кератиноцитов, хемотаксису нейтрофильных гранулоцитов, продукции антимикробных пептидов и других провоспалительных цитокинов и хемокинов. Также для псориатической бляшки характерна олигоклональность инфильтрирующих ее CD8⁺ Т-лимфоцитов, что можно объяснить тем, что активация клеток запускается

локальным презентруемым антигеном [38, 80, 88, 89]. Олигоклональные Т-лимфоциты также появляются в очагах при рецидивах высыпаний [88, 89]. Для CD4⁺ клеток характерна, напротив, поликлональность.

Th17 цитокины (IL-17, IL-21, IL-22) активируют пролиферацию кератиноцитов эпидермиса [90], продукцию ими хемокинов (CCL20, CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL5, CXCL8) и индуцируют экспрессию антимикробных пептидов [91]. IL-17 делится на несколько типов: A, B, C, D, E, F, которые продуцируются разными клетками [92]. Воспаление при псориазе обеспечивается за счет действия IL-17A и IL-17F. Оба цитокина действуют через один и тот же рецептор, но IL-17A обеспечивает более продолжительное действие, чем IL-17F. Мыши с повышенной экспрессией IL-17A в кератиноцитах характеризуются наличием распространенных псориазиформных высыпаний и присутствием кожного инфильтрата из воспалительных миелоидных клеток [93]. IL-17A активирует транскрипционный фактор STAT3 кератиноцитов через белок RIP4 [94]. Постоянная активация STAT3 у мышей приводила к развитию очагов на коже, сходных с псориазическими [95], а ингибитор STAT3 STA-21 препятствует развитию новых элементов на мышинных моделях псориаза [96]. Также он IL-17A индуцирует IL-19, который обладает митогенным эффектом на кератиноциты [69]. Продукция IL-17A приводит к нарушению барьерных функций кожи в результате снижения экспрессии филлагрина [98]. IL-17 способствует увеличению продукции IL-8, IL-36, CXCL1, CXCL2 и CXCL8 (факторы хемотаксиса нейтрофилов) [99, 100], G-CSF (фактор выживаемости нейтрофилов), CCL20 (фактор миграции Th17-клеток), а также IL-1 β и IL-6 (ключевые поляризирующие цитокины Th17 пути). Сигнальный путь NF- κ B вовлечен в продукцию IL-17 и ФНО- α [101]. Активность NF- κ B повышена в псориазических очагах, снижение ее происходит при эффективной терапии заболевания [102]. Ген IL-17A характеризуется повышенной экспрессией в клинически здоровой коже у пациентов с псориазом. Это указывает на то, что кожа вне псориазических очагов является также субклинически

пораженной при псориазе [103]. Продуцируют IL-17 не только Th17 лимфоциты, но и NK-клетки, миелоидные клетки, $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты, LTi-клетки, нейтрофилы, макрофаги, В-лимфоциты [104], ILC клетки III типа [105], тучные клетки [106]. Сами кератиноциты при псориазе продуцируют IL-17C способствующий повышению продукции IL-17A Th17 клетками [107]. Внутридермальные инъекции IL-17C приводили к утолщению эпидермиса и инфильтрации нейтрофилов [108], что ассоциировано с формированием микроабсцессов в роговом слое эпидермиса. IL-17A стимулирует продукцию IL-19 кератиноцитами [109, 110], который повышает скорость миграции кератиноцитов в эпидермисе, а также увеличивает продукцию фибробластами фактора роста кератиноцитов, увеличивающего скорость их пролиферации [111]. IL-17A активирует EGFR [112, 113], что также повышает пролиферацию клеток.

Одним из ключевых цитокинов в развитии вульгарного псориаза также является IL-22. Он повышает экспрессию транскрипционного фактора STAT3, что способствует повышению экспрессии генов, кодирующих белки, усиливающие пролиферацию клеток эпидермиса [114]. У пациентов с вульгарным псориазом уровень данного цитокина повышен по сравнению с здоровыми людьми [115]. IL-22 увеличивает экспрессию антимикробных пептидов совместно с IL-17 [91], усиливает пролиферацию эпидермальных клеток и нарушает дифференцировку кератиноцитов [116]. Мыши с дефицитом IL-22-связывающего белка (IL-22BP) характеризовались тяжелыми формами псориаза и высокой экспрессией антимикробных пептидов [117]. Введение моноклональных антител к IL-22BP приводило к ухудшению состояния псориазных очагов при псориазе. Более того, индекс IL-22/IL-22BP прямо коррелирует с тяжестью течения заболевания [118], что указывает на роль данного цитокина в развитии заболевания.

IL-23 также играет роль в развитии вульгарного псориаза, способствуя увеличению количества Th17-лимфоцитов, которые продуцируют IL-17.

Однонуклеотидный полиморфизм одной из субъединиц IL-23 или рецептора IL-23 увеличивает риск развития псориаза [108, 119, 120]. Введение IL-23 приводило к развитию клинически сходных с псориатическими высыпаний на мышинных моделях [121]. Моноклональные антитела к IL23R показали клиническую эффективность в лечении пациентов с псориазом [122].

Повышенный уровень IL-21 и высокая экспрессия IL-21R обнаружены в коже пациентов с псориазом. IL-21 способствует пролиферации CD4⁺ Т-лимфоцитов, дифференцировке наивных Th0 клеток в Th17 лимфоциты, а также снижению функции Т регуляторных клеток через повышение экспрессии ROR γ t и снижение – Foxp3. Это приводит к повышению продукции IL-17A и IL-22 при псориазе. Моноклональные антитела к IL-21 приводили к улучшению состояния кожи у пациентов с псориазом [123]

IFN- γ активирует моноциты, дендритные клетки и эндотелиальные клетки, а также подавляет апоптоз кератиноцитов, что способствует формированию акантоза при псориазе [124]. IFN- γ способствует продукции кератиноцитами хемокинов, способствующих хемотаксису моноцитов, Th1, Th17 клеток (CCL2, CCL5, CXCR3), дендритных клеток (CCL13, CCL20) и CLA(+) Т-лимфоцитов (CCR10) [125], а также индуцирует экспрессию β -дефензинов и S100 клетками кожи. Однако анти-IFN- γ моноклональные антитела не приводят к улучшению состояния кожи пациентов с псориазом [126], что указывает на то, что данный цитокин не является основным в патогенезе заболевания.

Терапевтический эффект при псориазе может быть достигнут при сдвиге иммунного ответа в сторону Th2 через продукцию таких цитокинов как IL-4 [127], которые ингибируют функцию Th17 лимфоцитов через индукцию экспрессии транскрипционного фактора GATA3 [128, 129].

В стационарную фазу заболевания формируется стабильное цитокиновое микроокружение в псориатических очагах, в большей степени

представленное IFN- γ , IL-17, TNF- α и IL-22. Под влиянием такого микроокружения кератиноциты характеризуются нарушенной пролиферативной способностью, нарушением дифференцировки и устойчивостью к апоптозу [1,47-49].

Особенности CD4⁺клеток памяти при вульгарном псориазе

Трансплантация клинически здоровой кожи от больных псориазом в ремиссии с последующим ведением CD4⁺ Т-лимфоцитов крови этих же пациентов мышам с иммунодефицитом приводила к развитию псориазных очагов в областях трансплантации [37]. После проведенного эксперимента впервые был сделан вывод о том, что в коже пациентов с вульгарным псориазом присутствуют клетки, способствующие развитию очагов после ремиссии заболевания.

Ассоциированные с Т-лимфоцитами гены (LCK и TRCB1) и гены, ассоциированные с воспалением при псориазе (IL17, IL22, IFN γ) характеризуются высокой экспрессией в клинически здоровой коже после специфической терапии [8]. После разрешения высыпаний в коже также в течение длительного периода определяются олигоклональные IL-17-продуцирующие $\alpha\beta$ -Т-лимфоциты [130]. Аллогенная трансплантация костного мозга пациентам с псориазом приводит к разрешению псориазных очагов, что указывает на то, что не только резидентные, но и циркулирующие иммунные клетки играют роль в развитии и поддержании заболевания [131]. На мышинных моделях имихимод активирует IL-17-продуцирующие V γ 4+ $\gamma\delta$ Т-лимфоциты, что приводит к миграции $\gamma\delta$ -Т-клеток в лимфатические узлы, их пролиферации и увеличению продолжительности жизни клеток данной популяции. После активации $\gamma\delta$ -Т-лимфоциты снова мигрируют в кожу благодаря действию хемокина CCR2 и аккумулируются в псориазных очагах, что способствует обострению заболевания. $\gamma\delta$ -Т-клетки также мигрируют в периферическую кровь, где сохраняются в течение 3 месяцев и более [132]. Повторное воздействие имихимода

приводит к более выраженным кожным высыпаниям за счет наличия указанной популяции $\gamma\delta$ -Т-клеток в коже и высокой скорости и интенсивности их ответа на действие триггера. Также было установлено, что первое воздействие имихимода на кожу мышей приводило к необратимому изменению конформации хроматина кератиноцитов и степени доступности определенных его участков, в особенности локуса Aim2 (NOD-подобный рецептор), экспрессия которого увеличена у пациентов с псориазом. Повторное воздействие имихимода приводило к более быстрой и выраженной воспалительной реакции [133].

В прогрессирующую стадию псориаза интрадермальные $CD3^+CD45RO^+$ Т-клетки памяти характеризуются высокой экспрессией Ki-67, что указывает на высокую скорость пролиферации. Это приводит к формированию локусов лимфоидной ткани в коже в активную фазу псориаза, что является характерных признаком аутоиммунных заболеваний [134-136].

Резидентные Т-клетки памяти (T_{rm}), продуцирующие IL-17 и IL-22, вовлечены в развитие и поддержание воспаления при псориазе [137]. Данная популяция клеток считается основным фактором развития рецидивов высыпаний [138]. Количество $CD49^+T_{rm}$ в псориатических очагах коррелирует с тяжестью течения псориаза. Эпидермальные $CD8^+CD49^+$ лимфоциты характеризуются цитотоксической активностью. [139]. Установлено, что клетки волосяного фолликула продуцируют IL-7 и IL-15 при псориазе, что способствует поддержанию T_{rm} [140]. Однако клинически эффективная анти-IL-17 таргетная терапия заболевания не приводит к снижению количества IL-17-продуцирующих T_{rm} , но снижает общее количество T_{rm} [141]. В другом исследовании было показано снижение скорости пролиферации кератиноцитов на фоне таргетной терапии заболевания, при этом количество IL-17-продуцирующих T_{rm} оставалось неизменным [130, 138]. $IL-17^+CD8^+$ T_{rm} , а также $IL23^+CD4^+$ T_{rm} остаются в эпидермисе более 6 месяцев после

окончания анти-TNF терапии [130]. Наружная терапия кальципотриолом и кортикостероидами снижала количество IL-17A-продуцирующих T_h17 в коже [142, 143]. CD8⁺CCR10⁺ T_h17 являются признаком, дифференцирующим псориаз от псориатического артрита: клетки данной клеточной популяции обнаружены в псориатических бляшках и в клинически здоровой коже, но отсутствуют в синовиальной жидкости при поражении суставов [144].

Выявлены две популяции CD8⁺ T_h17: IL-17⁺CD49⁻ и IFN-γ⁺CD49⁺ T_h17. Эпидермальные IL17-продуцирующие лимфоциты характеризуются большей продукцией цитокина, чем дермальные. Однако в чистых культурах T_h17 не продуцируют IL-17, что говорит том, что для этого необходим контакт с TCR [145]. После разрешения высыпаний количество эпидермальных CD4⁺ T_h17 снижается, при этом уровень дермальных CD4⁺ и CD8⁺ T_h17 остается высоким. Транскрипционный анализ изолированных эпидермальных T_h17 псориатических очагов выявил повышение экспрессии Th17-ассоциированных генов (RORC, IL17A, IL22) по сравнению с клетками дермы. Эпидермальные CD8⁺ Т-лимфоциты участков кожи, где до лечения были псориатические бляшки, в ответ на стимуляцию *ex vivo* продуцировали достоверно больше IL-17A по сравнению с клетками здоровой кожи, что говорит о том, что данная популяция все еще является функционирующей несмотря на терапию заболевания [138]. Культуры клеток кожи псориатических очагов после терапии характеризовались повышенной продукцией IFN-γ и IL-17 в ответ на активацию анти-CD3 антителами [146].

Число CD8⁺CD103⁺ T_h17 в эпидермисе коррелирует с толщиной эпидермиса, что указывает на роль данной клеточной популяции в формировании псориатических очагов. Количество CD4⁺CD103⁺ T_h17 в эпидермисе при псориазе незначительно. Часть CD8⁺CD103⁺ T_h17 продуцирует IFN-γ, IL-17A и IL-22. К тому же, CD8⁺CD103⁺ T_h17 чаще характеризуются продукцией IL-17A по сравнению с CD8⁺CD103⁻ и CD4⁺CD103⁺ T_h17. Численность

популяции CD8+CD103+IL17A+ T_{rm} выше у пациентов после курса системной или биологической терапии псориаза по сравнению с другими пациентами [147]. Vu и соавт. сравнили фенотипы T_{rm} в псориазных очагах, в коже во время ремиссии заболевания и в клинически здоровой коже. CD103+CD8+ T_{rm} были доминирующей популяцией при всех указанных локализациях по сравнению с кожей здоровых доноров. [148].

Увеличение количества эпидермальных IL-17 и IL-22-продуцирующих CCR6+ T_{rm} в ответ на инвазию микробного агента в кожу является генетически запрограммированной реакцией, которая характерна для кожи при псориазе. Следствием этого является повышение продукции IFN- γ и активация кератиноцитов [149].

IL-17-продуцирующие $\alpha\beta$ Т-лимфоциты сохраняются в коже пациентов с псориазом в ремиссию заболевания [130, 150]. IL-17A/F-продуцирующие V γ 4+V δ 4+ Т-лимфоциты присутствуют в дерме мышей с псориазом сразу после обработки кожи имихимодом [151]. T_{rm} оставались в эпидермисе пациентов с псориазом после клинически успешной терапии (сравнивали три вида терапии: узкополосная фототерапия, лечение анти-TNF α -антителами и анти-IL-12/23-антителами). В ответ на *Ex vivo* стимуляцию клеток IL-17A клетки продуцировали IL-22 [138].

Установлено, что T_{cm} и T_{rm} имеют общее клональное происхождение [152-156]. CCR4 (маркер хоминга кожи) и CLA (кожный лимфоцитарный антиген) экспрессированы в большей степени на CD4+ и CD8+ центральных клетках памяти. T_{cm} экспрессируют преимущественно CXCR3 и CCR5, при этом экспрессия CCR4 у них ниже, чем у T_{cm}. Среди циркулирующих CD4+ и CD8+ клеток памяти (CD45RA-) при псориазе преобладают CCR4+ лимфоциты, а их количество коррелирует с тяжестью течения заболевания [157]. У пациентов с псориазом выявили большее количество CD8+CLA+CCR4+ T_{cm} по сравнению со здоровыми людьми.

При псориазе количество CD4⁺ клеток памяти периферической крови повышено по сравнению с контролем. Обнаружено, что количество циркулирующих CD103⁺CCR4⁺CCR5⁺ и CCR4⁺CCR6⁺CD8⁺ Т_{em} коррелирует с уровнем С-реактивного белка сыворотки крови, а также со значением индекса PASI [158].

Количество циркулирующих CCR6⁺CD4⁺ Т_{em} коррелирует с тяжестью течения псориаза и с уровнем С-реактивного белка в периферической крови. При этом содержание CXCR3⁺CD4⁺ Т_{em} обратно коррелирует со значением PASI. Более того, наличие CLA⁺CD4⁺ Т_{em} обратно коррелирует с тяжестью заболевания. Экспрессия CLA связана с миграцией CD4⁺CCR4⁺ и CD4⁺CCR6⁺ Т_{em} в кожу [159]. Установлено, что ингибирование CCR7/CCL19 является необходимым условием для развития ремиссии псориаза при терапии ингибиторами TNF-α [160]. Количество CD4⁺CCR4⁺ ассоциировано с тяжестью течения заболевания, а количество CD4⁺CCR5⁺ Т-лимфоцитов негативно коррелирует с PASI. Популяция CCR4⁺CD8⁺CD103⁺ Т-лимфоцитов также связана с тяжелыми формами заболевания и уровнем С-реактивного белка в периферической крови [158].

Исходя из вышеупомянутых данных, можно предположить, что CD4⁺ Т_{em} и Т_{em} участвуют в развитии псориаза.

Происхождение клеток памяти

Существуют несколько моделей дифференцировки CD4⁺ лимфоцитов в клетки памяти: линейная модель, модель снижения потенциала, дивергентная и интегративная модели. Традиционная линейная модель указывает, что после активации CD4⁺ Т лимфоциты пролиферируют, приобретают эффекторные функции, выживают в фазу контракции и становятся клетками памяти [161, 162]. Согласно модели снижения потенциала первичные эффекторные клетки становятся более дифференцированными с увеличением силы и продолжительности активации TCR и костимулирующих сигналов [162, 163]. Способность

эффекторов генерировать клетки памяти ограничена интенсивностью полученного сигнала. Способность эффекторных клеток переходить в клетки памяти, таким образом, согласно модели снижения потенциала, зависит от того, когда происходит элиминация антигена. Другое толкование данной модели описано Moulton et al.: малая продолжительность контакта с антигеном способствует формированию $CD62L^{High}$ T_{cm}, в то время как высокая продолжительность контакта с антигеном приводит к переходу клеток в $CD62L^{Lo}$ T_{em} [164]. Согласно дивергентной модели, активированные пролиферирующие клетки по-разному распределяют между дочерними клетками факторы, способствующие переходу в клетки памяти. Таким образом, формирование клеток памяти происходит без влияния антигена. [165]. Интегративная модель объединяет все вышеперечисленные механизмы генерации пула клеток памяти.

Согласно традиционной модели, Т-клеточный иммунный ответ начинается при контакте зрелых наивных Т-клеток с антигеном и состоит из 3-х фаз. При контакте с антигеном в присутствии ко-стимулирующих сигналов происходит активация Т-клеток. Далее происходит клональная пролиферация и дифференцировка в эффекторные $CD4^{+}$ Т клетки в фазу экспансии. Прайминг Т-лимфоцитов занимает 24-48 часов, в течение которых формируется транскрипционная программа, обеспечивающая Т-клетки эффекторной функцией и усиливающая пролиферационную активность [166]. Это также приводит к изменению фенотипа Т-клеток. Усиливается экспрессия маркера активации $CD44$ и молекул $CD62E$ и $CXCR5$, обеспечивающих миграцию клеток на периферию и в фолликулярные лимфоидные зоны, снижается экспрессия молекул адгезии - $CD62L$ и $CCR7$ [167, 168]. Пролиферация Т-лимфоцитов в стадию экспансии зависит от продолжительности контакта TCR с MHCII. Взаимодействие продолжается в течение нескольких дней или, возможно, в течение всей фазы экспансии [169]. Считается, что выживаемость клеток памяти зависит от функциональной авидности TCR к MHC II: чем выше авидность,

тем выше выживаемость клеток [163, 170]. Элиминация антигена приводит к смерти большей части эффекторных Т-лимфоцитов в фазу контракции. Небольшое количество выживших в фазу контракции лимфоцитов формирует пул клеток памяти. Продолжительность фазы контракции CD4⁺ Т лимфоцитов составляет 1-4 недели [171]. В основе данного этапа лежат апоптотический и неапоптотический механизмы клеточной смерти, а также анти-апоптотические механизмы, позволяющие эффекторным клеткам переходить в клетки памяти [172]. Экспрессия CD47 влияет на выживаемость CD4⁺ клеток во время фазы контракции. Активированные CD4⁺ лимфоциты теряют экспрессию CD47, что делает их подверженными апоптозу [173]. Клетки памяти характеризуются высокой экспрессией CD47. IL-7 не влияет на фазу контракции, хотя является фактором выживаемости клеток памяти [174]. Фазы иммунного ответа повторяются при повторном контакте с антигеном, характеризуются более быстрым развитием по сравнению с первичным контактом [161,175].

Для Т-клеточного иммунного ответа необходимо также взаимодействие CD40-CD40L и B7-CD28 рецепторов поверхностей клеток. CD40 на АПК связывается с CD40L (CD154) на Т-лимфоците, что способствует запуску нескольких сигнальных каскадов в обеих клетках [176, 177]. В отсутствии CD40-CD40L взаимодействия нарушается клональная экспансия антиген-специфических CD4⁺ Т-клеток. При связи TCR с МНС II повышается экспрессия CD40L на Т-лимфоцитах и CD40 на АПК. Это указывает на то, что одна из функций CD40L - предотвращение неспецифической активации Т-клеток [176]. Активация сигнального пути CD28 необходима для обеспечения максимальной клональной экспансии Т-клеток и формирования пула клеток памяти [172]. Активированные АПК увеличивают экспрессию B7, а связывание B7 с CD28 уменьшает порог чувствительности клеток к взаимодействию TCR и МНСII. Таким образом, CD4⁺ лимфоциты более чувствительны к МНСII, когда АПК активированы. К тому же, CD28 сигнальный путь увеличивает

транскрипцию IL-2 и ингибирует апоптоз, что приводит к усилению пролиферации и выживаемости клеток в фазу контракции [178, 179].

Цитокины также играют роль в формировании пула клеток памяти. IL-2 действует как фактор роста для CD4⁺ Т-лимфоцитов, запускает клеточный цикл, увеличивает выживаемость CD4⁺ Tem [180]. CD4⁺ наивные Т-лимфоциты и клетки памяти относительно рефрактерны к действию IL-2 при отсутствии контакта с антигеном. Связывание антигена с TCR способствует увеличению экспрессии рецептора IL-2 на клетках. Это важно для генерации клеток памяти, так как действие IL-2 увеличивает пролиферативный ответ CD4⁺ лимфоцитов, особенно Th1 и Th2 клеток. IL-2 модулирует экспрессию bcl-2 и STAT5 в CD4⁺ клетках памяти, что играет роль в поддержании данной популяции [181, 182], а также приводит к повышению экспрессии рецептора IL-7 на эффекторных CD4⁺ Т-лимфоцитах, что увеличивает пул клеток, которые далее станут клетками памяти.

Установлено, что гомеостатическая быстрая пролиферация (более 7 делений в неделю) CD4⁺ эффекторных клеток памяти в большей степени зависит от контакта с антигеном и взаимодействия OX40-OX40L, а медленная пролиферация (от 1 до 3 делений в неделю) – от IL-7. OX40-обусловленная пролиферация способствовала формированию IL-17 продуцирующих Т-лимфоцитов. Медленная пролиферация сопровождается сохранением фенотипа наивных Т-клеток памяти. Th1 клетки памяти формируются в результате как быстрой, так и медленной гомеостатической пролиферации, что говорит о наличии других механизмов регуляции для данного типа клеток [183]. Супрессор сигнала цитокинов 1 (SOCS1) у мышей способствует аккумуляции CD4⁺CD44^{high} Т-лимфоцитов, что соответствует формированию фенотипа клеток памяти. Это сопровождается снижением количества наивных CD4⁺ и CD8⁺ лимфоцитов в селезенке и двойных позитивных клеток в тимусе. Данная закономерность выявлена также у мышей с отсутствием экспрессии CD28,

необходимого для первичной активации Т-лимфоцитов антигеном. Перенос тимоцитов облученным мышам приводила к экспрессии Т-лимфоцитами CD44 спустя 7-10 дней. Аналогичная закономерность выявлена при высокой экспрессии SOCS1 у мышей-доноров. При переносе тимоцитов не облученным мышам без потенциала к гомеостатической пролиферации соотношение наивных Т-лимфоцитов и клеток памяти оставалось неизменным. Это говорит о том, что генерация клеток памяти в периферических тканях при высокой экспрессии SOCS1 является не пассивной [184].

Классификация CD4+ клеток памяти

Классификация, предложенная Sallusto, разделяет CD4+ клетки памяти на центральные и эффекторные [185]. Центральные CD4+ клетки памяти характеризуются способностью мигрировать между вторичными лимфоидными органами и кровяным руслом. Особенностью T_{cm} также является высокая экспрессия хоминг-рецепторов CD62L и CCR7. Эти клетки имеют высокий пролиферативный потенциал. При повторной стимуляции антигеном данные клетки продуцируют в большей степени IL-2, а не специфические для CD4+ клеток цитокины. Эффекторные клетки памяти характеризуются способностью к миграции между селезенкой и тканями нелимфоидной природы, а также отсутствием или низкой экспрессией CD62L и CCR7, в то время как молекулы адгезии экспрессированы в высокой степени [186]. Цитокиновый профиль эффекторных клеток памяти совпадает с цитокинами, продуцируемыми CD4+ эффекторными лимфоцитами, при этом пролиферативный потенциал таких клеток значительно меньше. При определенных условиях T_{em} способны приобретать фенотип T_{cm} [187]. Цитокины и факторы транскрипции определяют переход CD4+ клеток памяти в центральный или эффекторный пулы. Активация сигнального пути IL-2 и экспрессия фактора транскрипции Bcl-6 способствует формированию фенотипа T_{cm}, а дифференцировка в T_{em} происходит при активации IL-2/Stat5 сигнального пути [181, 182].

Выделяют также резидентные CD4⁺ клетки памяти (T_{rm}). Данная популяция клеток характеризуется отсутствием экспрессии CD62L и CCR7, а также способностью мигрировать в периферические ткани, а именно в кожу и слизистые, но неспособностью к рециркуляции [188]. CD4⁺ эффекторные T_{rm} клетки локализованы в дерме и подслизистом слое слизистых оболочек, в то время как CD8⁺ резидентные клетки памяти в большей части расположены интраэпидермально. CD4⁺ резидентные клетки также характеризуются отсутствием CD103, который экспрессируется CD8⁺ резидентными клетками памяти [189]. T_{rm} также экспрессируют CD69, CD103 и S1PR1 [190-192]. Данная популяция нуждается в TGF-β, который продуцируется фибробластами, эпителиоцитами, кератиноцитами, энтероцитами [152, 167]. TGF-β индуцирует экспрессию CD103 T_{rm}, что способствует миграции клеток в ткани. Выделяют популяцию циркулирующих T_{rm} (ex-T_{rm}) [193]. Ex-T_{rm} экспрессируют молекулы кожного хоминга CD103 и CLA и имеют общее происхождение с T_{rm} [188].

Регуляция популяции CD4⁺ клеток памяти

Поддержание CD4⁺ клеток памяти осуществляется за счет гомеостатического сигнального пути TCR и цитокинов IL-7, IL-15 [194]. Показано, что активация сигнального пути TCR не является обязательным условием для перехода первичных эффекторных CD4⁺ клеток в клетки памяти, однако, он необходим для поддержания и обеспечения выживаемости CD4⁺ клеток памяти. Установлено, что блокада TCR снижает ответ клеток памяти на IL-7 [119,120]. IL-7 необходим для перехода эффекторных CD4⁺ лимфоцитов в клетки памяти [93, 114, 118, 121, 122]. Также CD4⁺ клетки памяти нуждаются в IL-15 для вторичного иммунного ответа [16, 117, 123]. IL-15 продуцируется АПК, стромальными клетками красного костного мозга, эпителиоцитами кожи, респираторного и желудочно-кишечного трактов [123]. Как T_{sm}, так и T_{em} характеризуются высокой экспрессией IL-7Rα, которая снижается при

контакте с антигеном [48, 53]. Показано, что поликлональные CD4⁺ клетки памяти способны пролиферировать без действия IL-7, однако они не выживают в его отсутствии [71].

Роль IL-7 в формировании, поддержании иммунных клеток

IL-7 является членом группы цитокинов с общей гамма-цепью, в которую входят IL-2, IL-4, IL-9, IL-15 и IL-21 [195-197]. IL-7 продуцируется в лимфоидных органах стромальными клетками [198], а также кератиноцитами, фибробластами, стромальными клетками костного мозга, эпителиоцитами тонкого кишечника, печени, дендритными клетками и макрофагами [199]. В отличие от других цитокинов семейства IL-2 IL-7 не продуцируется гематopoэтическими клетками [200-204]. Продукция IL-7 регулируется степенью использования данного цитокина клетками. Продуцируемое количество IL-7 достаточно для поддержания оптимального количества Т-лимфоцитов, и не приводит к их избытку: при снижении числа Т-лимфоцитов продукция IL-7 увеличивается по механизму обратной связи до тех пор, пока число клеток не нормализуется. При этом, дефицит IL-7 приводит к развитию лимфопении [205].

Показано, что IL-7 необходим для поддержания Т-лимфоцитов периферической крови, а также для формирования пула клеток памяти [10, 11]. При дефиците IL-7 у человека не наблюдается снижение количества В-клеток [12], при этом данный цитокин необходим для гомеостатической пролиферации наивных Т-лимфоцитов, а также CD4⁺ и CD8⁺ клеток памяти [14-18] а IL-7-STAT5 сигнальный путь обеспечивает высокую продолжительность жизни наивных CD4⁺ клеток [18]. Рекомбинатный IL-7 способствует активации, увеличению продолжительности жизни, модуляции функции CD8⁺ Т-лимфоцитов [15-19, 30] и формированию CD8⁺ клеток памяти [20]. Дендритные клетки активируются в результате воздействия IL-7 и, в свою очередь, активируют CD8⁺ Т-лимфоциты [19]. Как уже было сказано, продукция IL-7 не является

обязательным условием для развития В-лимфоцитов. У человека мутация IL-7R не способствует нарушению формирования В-клеточного звена иммунитета [35]. Рецептор IL-7 экспрессирован на про-В-лимфоцитах, но отсутствует на пре-В-лимфоцитах. В стромальной системе, содержащей только IL-7, на 2-й день культивирования пре-В-лимфоциты погибали, при этом про-В клетки выживали, а их пролиферация усиливалась. На 6-й день про-В клетки составляли более 98% популяции, и подвергались V(D)J рекомбинации в локусе IgH [17].

Сигнальный путь IL-7R

Рецептор IL-7 состоит из 2-х цепей: альфа-цепи (CD127) и общей гамма-цепи (CD132), внутриклеточные домены которых связаны с янус-киназами JAK1 и JAK3, соответственно. Гамма-цепь экспрессирована на практически всех гематopoэтических клетках, в то время как альфа-цепь представлена исключительно на клетках лимфоидного ряда. Экспрессия IL-7R характерна для гематopoэтических клеток, врожденных лимфоидных клеток [94], а также для клеток эндотелия сосудов человека.

Активация сигнального пути рецептора IL-7 происходит, когда IL-7 связывается с внеклеточным доменом α - и γ -цепей рецептора, что приводит к взаимному фосфорилированию JAK1 и JAK3, что увеличивает их активность. Затем JAK белки фосфорилируют альфа-цепь рецептора, что делает его доступным для взаимодействия с сигнальными молекулами. Ключевой сигнальной молекулой является STAT5 (активатор транскрипции 5). Фосфорилированный STAT5 затем димеризуется и транслоцируется в ядро, где он стимулирует транскрипцию генов. Активация сигнального пути рецептора IL-7 приводит к увеличению экспрессии белков, обеспечивающих выживаемость клетки (Bcl-2 и MCL1) и к уменьшению экспрессии белков, обуславливающих клеточную смерть (BAX и BAD) [15].

Экспрессия рецептора IL-7 зрелыми Т-лимфоцитами зависит от цитокинов и наличия антигенной стимуляции. Чем выше плотность экспрессии рецептора, тем более интенсивный сигнал для выживаемости и пролиферации может получить клетка. Клетка с большей экспрессией IL-7R α получит большее количество IL-7 по сравнению с клетками окружения, что обеспечит ей превосходство в продолжительности жизни и степени пролиферации. После активации сигнального пути IL-7 происходит снижение экспрессии альфа-цепи рецептора цитокина, что обеспечивает доступ других клеток к данному цитокину [24,25]

IL-7R α экспрессирован на двойных негативных $\alpha\beta$ Т-клетках (CD4⁻CD8⁻) в тимусе, отсутствует на двойных позитивных, и его экспрессия возобновляется на моно-позитивных Т-лимфоцитах. Для двойных негативных Т-клеток сигнальный путь IL-7 обеспечивает защиту клеток от апоптоза в процессе реарранжировки генов, кодирующих TCR. Пролиферация двойных негативных Т-лимфоцитов в тимусе также обеспечивается IL-7 [35-37]. Дефицит IL-7 может компенсироваться увеличением экспрессии Bcl-2 и снижением транскрипции Bax гена. IL-7 способствует выживаемости и стимуляции монопозитивных Т-клеток [18]. Тимический IL-7 обеспечивает дифференцировку Т-клеток в CD8(+) [18].

Регуляция экспрессии IL-7R

Молекулярный механизм регуляции экспрессии IL7R остается неизученным. Известно, что эндоцитоз альфа-цепи рецептора осуществляется клаатрин-опосредованным механизмом, а далее осуществляется ее деградация, опосредованная действием Jak3 и протеасом [39]. Возобновление синтеза альфа-цепи регулируется транскрипционными факторами GFI1 и Foxo1 [24,41].

Активация TCR-сигнального пути снижает экспрессию IL-7R α наивными CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитами. Можно предположить, что причиной

этому является зависимость данных клеток от других цитокинов (IL-2 и IL-4) или альтруистическое прекращение использования IL-7. У людей старше 65 лет происходит снижение экспрессии IL-7R α CD8⁺ клетками памяти, что приводит к снижению выживаемости клеток и интенсивности ответа на IL-7 по сравнению с людьми моложе 40 лет [88].

Глюкокортикостероиды увеличивают экспрессию IL-7R α [46,81,82]. Интерфероны I типа [83], TNF α [24] также повышают экспрессию рецептора. Увеличение экспрессии осуществляется за счет действия NF- κ B [84].

Избыток IL-7 снижает экспрессию рецептора на Т-лимфоцитах на разных стадиях развития [24]. Также снижение экспрессии рецептора происходит под действием IL-2, IL-4, IL-15, IL-6 [24].

Роль IL-7 и сигнального пути IL-7R в развитии патологических состояний. Блокада сигнального пути

IL-7R.

Блокада моноклональными антителами рецептора IL-7 у мышей приводила к уменьшению количества циркулирующих лимфоцитов [21], а у бабуинов [83], яванских макаков [84] и когтистых обезьян [85] она, напротив, не оказывала значимого влияния на количество Т-лимфоцитов в периферической крови.

Установлено, что IL-7 способствует активации аутореактивных Т-лимфоцитов, ассоциированных с развитием аутоиммунных заболеваний [9,10]. Блокада альфа-цепи рецептора IL-7 показала эффективность в терапии животных моделей таких заболеваний как сахарный диабет I типа [27,28], рассеянного склероза [29,30], ревматоидного артрита [31-33], колита [22,34], системной красной волчанки [35], синдрома Шегрена [36].

Блокада IL-7R увеличивала количество T_{em}, экспрессирующих PD-1, T_{reg} в островках Лангерганса поджелудочной железы мышей с сахарным

диабетом I типа. Это можно объяснить тем, что IL-7 снижает PD-1-опосредованное ингибирование аутореактивных Т-лимфоцитов, что делает их патогенными Тем. При этом блокада PD-1 приводила к снижению защитных эффектов блокады рецептора IL-7 [2,3]. Мыши, достигшие регресса сахарного диабета I типа после блокады рецептора IL-7, снова развивали гипергликемию после блокады PD-1 [2]. У мышей без ожирения с сахарным диабетом I типа моноклональные антитела к IL-7Ra 28G9 увеличивали возраст дебюта заболевания [170]. В исследовании на яванских макаках было показано уменьшение степени фосфорилирования STAT5 CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов периферической крови после терапии блокаторами IL-7R [171]. Моноклональные антитела PF06342674/RN168 прошли фазу I клинических исследований, в результате чего было показано, что терапия данным препаратом сопровождается снижением выживаемости Т-клеток памяти без влияния на наивные Т-лимфоциты и регуляторные Т-клетки [172]. Также было показано, что ингибиторный эффект, оказываемый PF06342674/RN16, в 20 раз более выражен по отношению к эффекторным Т-лимфоцитам по сравнению с Treg [173]. Человеческие анти-IL-7Ra моноклональные антитела GSK261896 также прошли I фазу клинических исследований: не было обнаружено значимого влияния на Т-лимфоциты и содержание провоспалительных лимфоцитов в периферической крови [177].

Гиперэкспрессия рецептора IL-7 у мышей ассоциирована с развитием хронического колита и хронического дерматита. Как кожа, так и стенка кишечника при этом инфильтрированы $\gamma\delta$ -Т-лимфоцитами [24, 25]. Также показана повышенная экспрессия генов сигнального пути IL7R у CD8⁺ Т-лимфоцитов пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника [40, сама статья], а высокая экспрессия была ассоциирована с устойчивостью к терапии ингибиторами TNF- α и коррелировала с экспрессией генов Th17 (IL-17A, IL-22, IL-23). IL-7 индуцирует экспрессию и повышает функциональную активность $\alpha_4\beta_7$ -интегринов на мембранах эффекторных Т-лимфоцитов без

значимых изменений на мембранах Treg [57]. Это указывает на то, что IL-7 способствует миграции данной популяции клеток в слизистую кишечника. Введение анти-IL7R антител в слизистую кишечника мышей с экспериментальным колитом приводило к увеличению доли Treg в клеточном инфильтрате и снижению содержания ИНФ- γ в супернатанте клеток биоптата кишечника.

Показано, что экспрессия IL-7 и его рецептора повышена в цереброспинальной жидкости при рассеянном склерозе и в слюне при синдроме Шегрена, а их экспрессия также коррелирует с тяжестью течения данных заболеваний [37-37]. Мутация гена, экспрессирующего альфа-цепь рецептора IL-7 является одним из факторов развития рассеянного склероза [4-6]. Содержание IL-7 и экспрессия мРНК IL-7 в цереброспинальной жидкости пациентов с рассеянным склерозом повышено по сравнению со пациентами с невоспалительными неврологическими заболеваниями [4]. Более того, содержание IL-7 было ассоциировано с отвечаемостью пациентов на терапию ИНФ- β . Мышечные и человеческие наивные Т-лимфоциты дифференцировались в Th1 клетки под влиянием IL-7. Интратекальное введение IL-7 приводило к увеличению интенсивности апоптоза нейронов, что объясняли повышением количества активированных макрофагов/моноцитов и продукцией ими провоспалительных медиаторов. IL-7 активировал сигнальный путь JAK/STAT5, определяющий судьбу клетки и способствующий продукции провоспалительных цитокинов Ил-1 β и ФНО- α . 28G9/Ab1 моноклональные антитела к IL-7R снижали тяжесть течения экспериментального аутоиммунного энцефаломиелимита у мышей [169]. У когтистых обезьян блокада альфа-цепи рецептора IL-7 приводила к прекращению активации STAT5 при связывании IL-7 с рецептором. Также было выявлено более позднее начало заболевания у 3 из 12 исследуемых обезьян. При этом IL-7 повышал количество высокоаффинных миелин-специфичных CD4+ Т-лимфоцитов у пациентов с рассеянным склерозом [203].

Рецептор IL-7 экспрессируется хондроцитами хрящевой ткани при ревматоидном артрите [52]. Повышенное содержание IL-7 в периферической крови [6, 7, 11-13] и синовиальной жидкости [7] было обнаружено при ревматоидном артрите, что коррелировало с активностью заболевания [12], а экспрессия рецептора IL-7 была повышена у пациентов с ревматоидным артритом, резистентным к терапии блокаторами ФНО- α , по сравнению с группой контроля [6], а также по сравнению с пациентами с остеоартрозом. Содержание TNF- α периферической крови коррелировало с содержанием IL-7 у пациентов с ревматоидным артритом [6]. Установлено, что IL-7 увеличивает продукцию IFN γ изолированными Т-лимфоцитами периферической крови пациентов с ревматоидным артритом [15]. К тому же IL-7 стимулировал Т-клеточнопосредованную экспрессию маркеров активации моноцитов/макрофагов, что приводило к повышению продукции ФНО- α и металлопротеиназ [6, 7]. Блокада рецептора IL-7 предотвращала развитие gp130-зависимого артрита у мышей [19]. Для пациентов с ревматоидным артритом была характерна высокая экспрессия рецептора IL-7 на Т-лимфоцитах синовиальной жидкости с высокой пролиферативной активностью. ФНО- α , Ил-1 β и Ил-17 индуцируют экспрессию рецептора IL-7 фибробластподобными синовиальными клетками суставов при ревматоидном артрите, а также повышают продукцию растворимой формы рецептора IL-7. Также обнаружено, что количество CD4⁺ Т-лимфоцитов, продуцирующих растворимую форму IL-7R, выше у пациентов с ревматоидным артритом, а содержание sIL-7R в сыворотке крови и синовиальной жидкости ассоциировано с резистентностью к биологической терапии. IL-7 индуцирует продукцию металлопротеиназ при РА, что сопровождается увеличением высвобождения протеогликанов из матрикса хряща [52]. Таким образом, IL-7 способствует разрушению костной и хрящевой ткани при РА через аутокринную и паракринную секрецию.

У мышей с предрасположенностью к развитию системной красной волчанки после контакта с антигеном развивается лимфаденопатия,

сопровождающаяся высоким содержанием IL-7 в тканях лимфоузлов. Это можно объяснить пролиферацией ретикулярных фибробластов. Избыток IL-7 не используется CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитами из-за снижения экспрессии альфа-цепи рецептора IL-7, но стимулирует гомеостатическую пролиферацию двойных негативных Т-лимфоцитов в тимусе, которую ингибировали анти-ILR α моноклональные антитела [206].

Уровень IL-7, а также экспрессия мРНК IL-7 повышены при синдроме Шегрена по сравнению с контролем. Интраперитонеальное введение IL-7 мышам с синдромом Шегрена приводило к формированию лимфоцитарного инфильтрата в тканях слюнных желез и сопровождалось массивным апоптозом эпителиальных клеток и увеличением содержания антинуклеарных антител в сыворотке крови. Мыши исследуемой группы характеризовались снижением слюноотделения под влиянием пилокарпина по сравнению с контрольной группой. IL-7 повышал количество CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов, продуцирующих ИНФ- γ , в слюнных железах, селезенке и лимфатических узлах. Содержание Th17 лимфоцитов и уровень экспрессии мРНК Ил-17 при этом не менялись. IL-7 также повышал экспрессию лигандов CXCR3 (CXCL9, -10, -11), усиливающих хемотаксис эффекторных Т-лимфоцитов, в тканях слюнных желез через повышение продукции ИНФ- γ . Блокада aIL7R сопровождалось снижением выраженности лимфоцитарной инфильтрации ткани слюнной железы, апоптоза ацинарных клеток, а также понижением содержания антинуклеарных антител в сыворотке крови мышей. Анти-IL-7R антитела уменьшали количество мононуклеарных клеток, CD4⁺ и CD8⁺ ИНФ- γ -продуцирующих Т-лимфоцитов в ткани пораженного органа. Содержание Th17 лимфоцитов и Fox3⁺ CD4⁺ Т-лимфоцитов (Treg) в селезенке, слюнных железах и лимфатических узлах не менялось [207].

A7R34 анти-CD127 антитела приводили к снижению количества Т- и В-лимфоцитов, включая CD4⁺ и CD8⁺ клетки, а также тимоцитов в тимусе у

мышей после трансплантации островков Лангерганса по сравнению с группой контроля. При этом повышалась экспрессия PD-1 и количество CD4+CD25+FOXP3+ Т-регуляторных клеток в лимфатических узлах и селезенке. Было показано, что анти-IL7R антитела не приводят к значимым изменениям в поведении трансплантата у мышей [208]. Mai и соавт., напротив, обнаружили, что введение блокаторов IL7R мышам за 3 недели до аллогенной трансплантации островков поджелудочной железы способствовало снижению частоты отторжения трансплантата и ингибировало как клеточный, так и гуморальный иммунный ответ. С помощью смешанной лимфоцитарной реакции было показано, что анти-IL7R антитела подавляют ответ на АПК донора, при этом сохраняется реакция на АПК третьих лиц, что указывает на донор-специфичную толерантность. Также снижалось количество ИНФ- γ -продуцирующих Т-клеток памяти [209].

При травме спинного мозга блокада рецептора IL-7 моноклональными антителами A7R34 приводила к генерации макрофагов 2 типа и снижала количество макрофагов 1 типа [210]. Это приводило к уменьшению периода восстановления мышей после травмы. Также блокада сопровождалась локальным повышением продукции IL-4 и IL-13, что, вероятно, стимулировало активность макрофагов 2 типа. Также снижалась продукция IFN- γ и TNF- α , что ингибировало активность макрофагов 1 типа.

Установлено, что IL-7 индуцирует функцию остеокластов [211]. Повышение экспрессии IL-7 у мышей индуцировало резорбцию костей, что приводило к остеопении и разрушению костной ткани. Терапия анти-ILR7 антителами снижала тяжесть течения коллаген-индуцированного артрита у мышей. Это также сопровождалось снижением численности популяций клеток тимуса и селезенки (CD4+ и CD8+ наивных Т-лимфоцитов и Т-клеток памяти) и снижением продукции ассоциированных с Т-лимфоцитами цитокинов в периферической крови (IFN γ , IL-5, IL-17) и в тканях сустава (TNF- α , IL-1 β , IL-6).

Блокада рецептора IL-7 достоверно снижала содержание IFN γ , IL-5, IL-17 в синовиальной жидкости по сравнению с группой контроля, а также снижала концентрацию IFN γ -индуцибельных хемокинов, таких как IP-10, лимфотактин, моноцитарный хемотактический белок 5, MIP-2, MIP-3 β , костномозговой фактор α ; и факторов роста, ассоциированных с деструкцией/ремоделлированием тканей сустава (RANKL, онкостатин M, матриксные металлопротеиназы 9, фактор роста фибробластов. При этом повышалась концентрация базового фактора роста фибробластов. В12 анти-IL7Ra антитела показали эффективность в терапии аутоиммунного артрита на мышинных моделях [205].

Гомеостатическая пролиферация Т-лимфоцитов после иммуносупрессивной терапии для предотвращения отторжения тканей или органов после трансплантации индуцирует дифференцировку наивных Т-лимфоцитов в долгоживущие клетки памяти, что является препятствием для завершения процесса трансплантации. Показано, что анти-IL-7 моноклональные антитела совместно с блокадой костимулирующих молекул ингибировали пролиферацию CD4 $^{+}$ клеток памяти в тканях трансплантата [212]. Также терапия анти-IL-7 антителами в течение 4 недель после трансплантации снижала частоту развития реакции «трансплантат-против-хозяина» и смертность среди исследуемых мышей по сравнению с контрольной группой. У выживших мышей не развивалось заболевание спустя 8 месяцев после начала терапии. Это сопровождалось снижением количества CD4 $^{+}$ и CD8 $^{+}$ Т-лимфоцитов в тканях трансплантата спустя 30 дней после операции, а также элиминацией аллореактивных Т-лимфоцитов. Парадоксальным было отсутствие влияния на тимопоэз несмотря на то, что IL-7 играет роль в развитии Т-лимфоцитов. Это объясняли широкой магнитудой защитных механизмов тимуса, которые превосходят блокирующее действие анти-IL-7 антител [213].

Центральные CD4 $^{+}$ клетки памяти мышей с хроническим лейшманиозом характеризуются высокой экспрессией IL7R. Большая часть Tem

характеризовались высокой экспрессией локуса IFN- γ и транскрипционного фактора T-bet, то есть относились к Th1 клеткам. Блокада IL7R приводила к снижению количества T-bet+CD4⁺ Т-лимфоцитов и содержания ИНФ- γ в периферической крови [214].

Согласно анализу данных литературы блокада альфа-цепи рецептора IL-7 показала эффективность в терапии аутоиммунных, инфекционных и воспалительных заболеваний. Терапия моноклональными антителами к IL-7Ra особенно эффективна в терапии заболеваний, обусловленных действием Th1 и Th17 Т-лимфоцитов, что указывает на необходимость исследования их применения у пациентов с вульгарным псориазом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1. Объект и предмет исследования

Объектами исследования являлись $CD4^+$ клетки памяти, полученные из фракции моноклеарных клеток (МНК) периферической крови 21 больного вульгарным псориазом (11 мужчин и 10 женщин, средний возраст $36 \pm 5,7$ лет, среднее значение PASI – $21,1 \pm 5,48$) и 29 условно-здоровых доноров (12 мужчин и 17 женщин, средний возраст $42 \pm 4,4$ года). Диагноз устанавливали на основании анамнеза и данных осмотра. Все пациенты на момент исследования находились на амбулаторном лечении в медицинском центре “Аллергосити плюс” (г. Новосибирск). Тяжесть заболевания оценивали в соответствии с методикой расчета индекса PASI (Psoriasis Area Severity Index), которая включает оценку выраженности эритемы, инфильтрации, шелушения и распространенности высыпаний.

Демографическая и клиническая характеристика включенных пациентов и здоровых доноров представлены в таблице 1.

Кровь для исследования забиралась у пациентов в стадии обострения заболевания. Критериями исключения из исследования были: наличие онкологических, гематологических и других аутоиммунных заболеваний в анамнезе, прием системных иммуносупрессивных препаратов в течение 3 месяцев до начала исследования. Набор участников в исследование осуществлялся после подписания добровольного информированного согласия.

В качестве предмета исследования изучался фенотип, продукция цитокинов $CD4^+$ центральными и эффекторными клетками памяти периферической крови пациентов с псориазом в сравнении с условно-здоровыми донорами.

Таблица 1. Характеристика пациентов с вульгарным псориазом и условно-здоровых доноров, включенных в исследование

		Пациенты	Условно-здоровые доноры
Пол	Женщины, n (%)	10 (47,6)	17 (58,6)
Возраст	Медиана (ИКР)	36 (30,8:42,2)	42 (37,6:46,4)
PASI < 10	N (%)	10 (47,6)	-
PASI > 10	N (%)	11 (52,4)	-

2.3. Выделение мононуклеарных клеток из периферической крови

Забор венозной крови у доноров и пациентов с вульгарным псориазом производился из кубитальной вены в стерильных условиях в вакуумные пробирки с гепарином (Vacuette, тип наполнителя - Li-гепарин, Greiner Bio-One GmbH, Austria). Выделение мононуклеарных клеток (МНК) осуществляли методом центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографина ($\rho=1,082$). 4,5 мл крови разводили в два раза раствором фосатно-солевого буфера (PBS, «Росмедбио», Россия), содержащим 0,02% EDTA (этилендиаминтетрауксусная кислота), перемешивали. Затем наслаивали на 3мл фиколл-урографина ($\rho=1,082$ г/л) (фиколл – Pharmacia Fine Chemical, Швеция, урографин – Schering AG, Германия), центрифугировали при 2700 оборотов в минуту в течение 25 минут. Интерфазное кольцо МНК периферической крови аккуратно собирали и дважды отмывали раствором PBS путем ресуспендирования с дальнейшим центрифугированием при 1500 оборотов в минуту в течение 5 минут и удалением надосадочной жидкости. Клеточный осадок ресуспендировали в полной среде RPMI-1640 с содержанием L-глутамина (ФГУП ГНЦ ВБ Вектор, Россия - 0,3 мг/мл), гентамицина (Дальхимфарм, Россия - 50 мкг/мл), тиенама (Merck Sharp & Dohme, Нидерланды - 25 мкг/мл) и 10%

фетальной бычьей сыворотки (FCS HyClone, UK). Затем производился подсчет числа полученных клеток в камере Горяева.

Прилипающую фракцию получали путем культивирования выделенных МНК в чашке Петри ($d = 7$ мм) в среде RPMI-1640 (ООО «ПанЭко»), дополненной гентамицином (50 мкг/мл), тиенамом (25 мкг/мл) и 10% FCS (полная культуральная среда), в течение 1 часа во влажной атмосфере с 5 % CO_2 при 37°C. Неприлипающую фракцию клеток аккуратно собирали и использовали для последующей сортировки на CD4^+ центральные и эффекторные клетки памяти.

Прилипающую фракцию переносили в лунки 24-луночных планшетов (BioFill, Китай) и культивировали в объеме 0,5 мл в полной культуральной среде в отсутствии и присутствии LPS 055:b5 (Sigma, США) в конечной концентрации 10 мкг/мл. Оптимальное время для культивирования составило 18-20 часов. Далее клетки прилипающей фракции собирали, центрифугировали, затем удаляли супернатант. После чего клетки сокультивировали с сортированными CD4^+ центральными или эффекторными клетками памяти в 24-луночных планшетах (BioFill, Китай) в присутствии или отсутствии IL-7 (50 нг/мл, PeproTech) в течение 6 дней во влажной атмосфере с 5 % CO_2 при 37°C. Модель эксперимента изображена на рисунке 1.

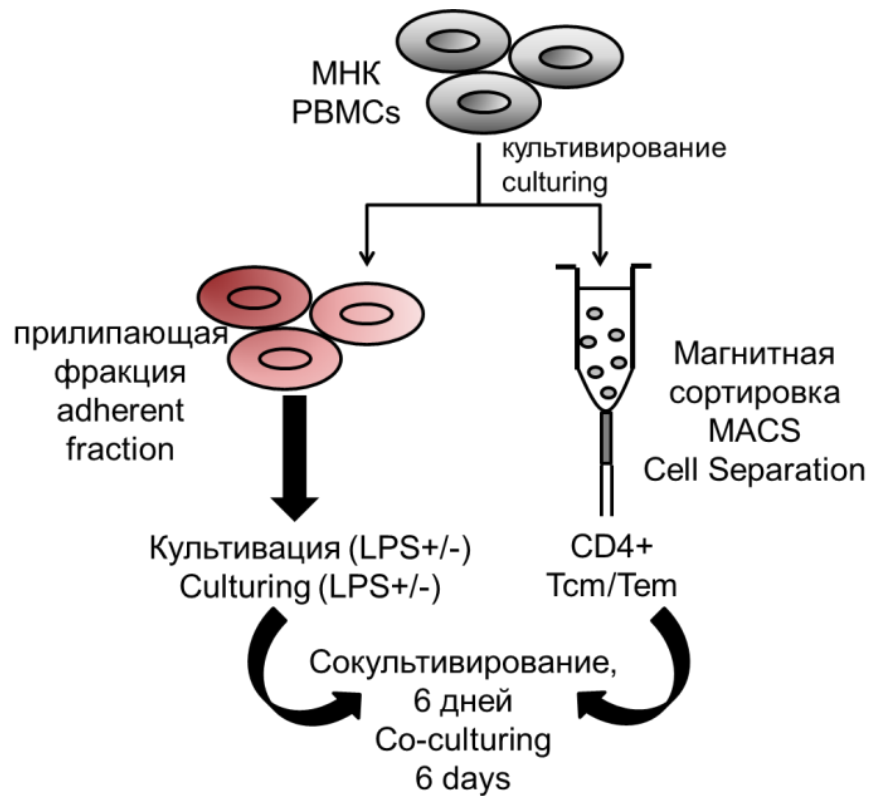


Рисунок 1. Дизайн эксперимента.

МНК - моноклеарные клетки, LPS - липополисахарид, Tcm – CD4⁺ центральные клетки памяти, Tem – CD4⁺ эффекторные клетки памяти

Иммуномагнитная сепарация CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти

Популяции CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти получали из неприлипающей фракции МНК методом иммуномагнитной сепарации, используя частицы, колонки и необходимое оборудование компании Miltenyi Biotec, США (MACS Memory cell Isolation Kit). CD4⁺45RO⁺CCR7⁻ эффекторные клетки памяти получали с помощью негативной магнитной сортировки, CD4⁺45RO⁺CCR7⁺ центральные клетки памяти получали в 2 этапа: сначала проводили негативную сортировку CD4⁺45RO⁺ клеток, потом из данной популяции - позитивную сортировку CCR7⁺ клеток. Для сортировки использовалось в среднем $5-7 \times 10^7$ МНК. Чистота сортировки для CD4⁺ центральных

клеток памяти в среднем составила 92%, чистота сортировки для CD4⁺ эффекторных клеток памяти – 78%.

В процессе сепарации CD4⁺ эффекторных клеток памяти сначала МНК связываются с биотин-конъюгированными антителами к молекулам CD8, CD14, CD15, CD16, CD19, CD34, CD36, CD45RA, CD56, CD123, CD235a (Glycophorin A), TCR γ/δ и с APC-конъюгированными антителами к молекуле CD197 (CCR7), которые в свою очередь связываются с антителами к биотину и к APC, которые конъюгированы с ферромагнитными частицами. Далее помеченные клетки удерживаются магнитным полем в LD колонке (колонки для негативной селекции). Фракция обогащенных CD4⁺ Тем клеток, прошедших через колонку, собирается в стерильную пробирку.

На первом этапе (негативная селекция) клетки связываются с биотин-конъюгированными антителами к молекулам: CD8, CD14, CD15, CD16, CD19, CD25, CD36, CD45RA, CD56, CD123, TCR γ/δ , CD235a (Glycophorin A), которые связываются с антителами к биотину, которые конъюгированы с ферромагнитными частицами. В дальнейшем такие помеченные клетки удерживаются магнитным полем в LD колонке. Фракция обогащенных CD4⁺ клеток памяти, прошедших через колонку, собирается в стерильную пробирку. На втором этапе CD4⁺ клетки памяти из обогащенной фракции напрямую связываются с CD197 ферромагнитными частицами и удерживаются магнитным полем в MS колонке – позитивная селекция. После удаления MS колонки из магнитного поля CD4⁺CD197⁺ клетки памяти вымываются из колонки путем промывания буферным раствором.

Для предотвращения неспецифического связывания антител вся работа проводилась на холоде с использованием растворов, охлажденных до 2° – 8°C. Для предотвращения слипания клеток проводилось тщательное перемешивание клеточной суспензии с использованием Vortex или пипетирования на каждом этапе.

Перед сокультивированием с прилипающей фракцией отсортированные клетки окрашивали витальным красителем CFSE (4мкМ, Molecular probe, США) для последующей оценки пролиферативного ответа клеток памяти на IL-7.

Окрашивание лимфоцитов витальным красителем CFSE

Витальный краситель CFSE позволяет оценить пролиферативную активность различных популяций клеток и разделить делящиеся и неделящиеся клетки по уровню флуоресцентного сигнала. Неделящиеся клетки обладают максимальной флуоресценцией. При делении клетки краситель равномерно распределяется между дочерними клетками, что приводит к уменьшению флуоресценции. Каждое поколение клеток появляется в виде отдельного пика на гистограмме проточной цитометрии. Возбуждение флуоресценции вызывается голубым лазером с длиной волны 488nm, пик эмиссии 517nm, детекция флуоресцентного сигнала происходит на канале 530/30. Для окрашивания клетки в количестве $1-10 \times 10^6$ дважды отмываются в растворе PBS от свободного белка центрифугированием при 1500 об/мин. Затем клеточный осадок аккуратно ресуспендируется и разбавляется бессывороточной средой RPMI-1640 в объеме 1mL. К полученной клеточной суспензии добавляют стоковый раствор CFSE, чтобы конечная концентрация составляла 4мкМ, тщательно перемешивают и инкубируют в термостате при 37°C в течение 20 минут. Избыточное количество красителя CFSE удаляется путем добавления эквивалентного объема FCS и центрифугирования 5 минут при 1200 об/мин.. Для окончательного удаления избыточного CFSE клетки отмываются еще раз с помощью среды RPMI-1640 с 10% FCS в объеме 10mL. Клеточный осадок ресуспендируется и разбавляется необходимым объемом полной среды. В качестве контроля использовались клетки из культуры без стимуляции.

Цитофлуориметрический анализ

Фенотипирование CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти проводилось методом многоцветной проточной цитометрии. Клетки периферической крови и клетки после культивирования окрашивали конъюгированными с флуорохромами человеческими моноклональными антителами к поверхностным маркерам центральных и эффекторных CD4⁺ клеток памяти, α-цепи рецептора для IL-7, общей γ-цепи в количестве рекомендуемом производителем 15 минут при комнатной температуре в темноте. После чего клетки отмывали 1 мл раствора PBS с 0,02% EDTA и 0,5% FCS (Staining Buffer). Анализ проб проводили в 250-300 мкл Staining Buffer. Использовались следующие панели: 1. CD4-PE (ООО «Сорбент»), CD45RO-PE/Cy7, CD197(CCR7)-APC/Cy7, CD127-PerCP/Cy5.5, CD132-APC (BioLegend, США), 2. CD4- , CD45RO-APC, CD197(CCR7)-APC/Cy7, CD5-PE/Cy7 (BioLegend, США). Окрашивание проводили комбинацией антител согласно протоколу, рекомендованному производителем. Фенотипирование клеточных популяций и исследование пролиферативной активности проводили на клеточном анализаторе FACS Canto II (BD, США) с использованием программного обеспечения FACS Diva 6.1. Для определения позитивной популяции при оценке экспрессии изучаемых молекул использовался FMO-контроль (Fluorescence Minus One).

Анализ пролиферативной активности на IL-7 заключался в определении относительного числа пролиферирующих клеток, окрашенных CFSE, по уровню их флуоресценции, и не включал в себя пик неделящихся клеток.

Определение содержания внутриклеточных

цитокинов

Для определения содержания цитокинов внутри клеток мы выбрали время культивирования клеток и внесения активаторов продукции цитокинов, блокатора транспорта из эндоплазматического ретикулума. Оказалось, что без активаторов цитокиновой продукции в культурах со стимуляцией IL-7, как и

без нее, практически отсутствует продукция IL-4 и INF- γ . Поэтому в дальнейшем мы добавляли активаторы для продукции цитокинов во все варианты культур. Протокол по определению содержания цитокинов внутриклеточно состоял из 4 дней, и на первых этапах был аналогичен описанной ранее методике культивирования. В первый день производилось выделение МНК, получение прилипающей и неприлипающей фракции, активация части клеток прилипающей фракции LPS, магнитная сепарация клеток неприлипающей фракции и окрашивание их CFSE. На 2-й день отсортированные центральные и эффекторные CD4⁺ клетки памяти ссаживали с клетками прилипающей фракции в присутствии и отсутствии IL-7/aIL-7R α , сокультивировали в течение суток. На 3-й день к культурам добавляли форбол-12-мирикат-13-ацетат (PMA, 15 нг/мл; Sigma, США) и Ionomycin (2 мкг/мл; Sigma, США) для активации продукции цитокинов. Через 2 часа к культурам добавляли блокатор внутриклеточного транспорта Brefeldin A (5 мкг/мл; BioLegend, США) и инкубировали 20 часов для накопления цитокинов. На 4-й день клетки снимали, отмывали PBS+EDTA, метили моноклональными антителами к поверхностным антигенам CD4, CD45RO, CCR7 (BioLegend, США). После клетки фиксировали и пермеабелизировали, используя набор Fixation/Permeabilization Solution Kit (BD Cytotfix/CytopermTM, США), после чего метили моноклональными антителами к IL-4, INF- γ и IL-17 (BioLegend, США).

Иммуноферментный анализ

Оценка уровня продукции TNF- α , IL-6 в супернатантах культур прилипающей фракции спустя 18-20 часов культивирования и культур клеток спустя 6 дней культивирования была проведена с использованием готовых коммерческих наборов (IL-6 – ИФА-БЕСТ, НПК Вектор, Россия и ФНО- α ИФА-БЕСТ, НПК Вектор, Россия) для проведения «sandwich»-варианта твердофазного иммуноферментного анализа. Кондиционные среды собирались в объеме 300 μ L на первые сутки культивирования МНК в присутствии/отсутствии LPS,

а также на 6 день совместного культивирования МНК и CD4⁺ клеток памяти и замораживались при -80°C. Для проведения ИФА среды были разморожены и проанализированы согласно протоколу фирмы-производителя набора. Для отмывки планшета использовали промыватель планшетов автоматический ППА-01 ПРОПЛАН™ (Россия). Оптическую плотность окрашенных растворов в лунках измеряли на длине волны 450 нм с рференсом на длине волны 620 нм при помощи спектрофотометра Infinite F50 TECAN (Швейцария)

Методы статистической обработки

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Поскольку согласно критерию Шапиро-Уилка, не всегда соответствовало нормальному распределению, применялись методы непараметрической статистики. Для сравнения связанных переменных использовали парный критерий Вилкоксона, а для оценки несвязанных переменных – критерий Манна-Уитни. Для оценки коэффициента корреляции использовали метод Спирмана. Выявленные отличия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Продукция IL-1 β и TNF α МНК периферической крови доноров и пациентов с псориазом

Действие LPS через 20 часов приводило к достоверному повышению содержания IL-1 β и TNF α в супернатантах культур прилипающей фракции МНК периферической крови, по сравнению с культурами, не стимулированными LPS (рисунок 2, 3). Указанные изменения обнаружены как в группе условно-здоровых доноров так и в группе пациентов с вульгарным псориазом.

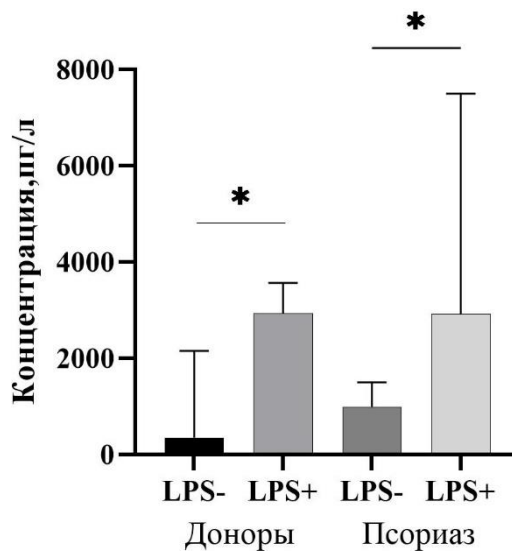


Рисунок 1. Спонтанная и LPS-индуцированная продукция IL-1 β в супернатантах культур прилипающей фракции МНК периферической крови условно-здоровых доноров и пациентов с вульгарным псориазом.

Примечание: LPS⁺ - клеточные культуры МНК периферической крови, стимулированные липополисахаридом; LPS⁻ - культуры МНК периферической крови без стимуляции липополисахаридом. * - достоверные отличия по сравнению со спонтанной продукцией (парный тест Вилкоксона), $p < 0,05$.

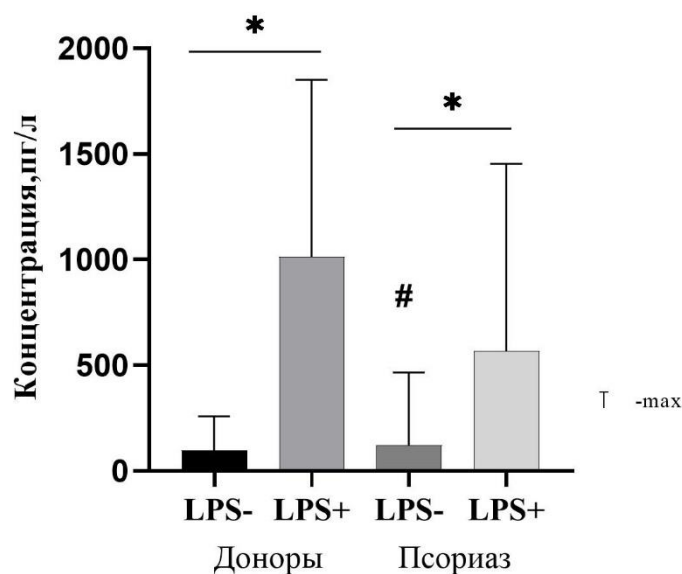


Рисунок 2. Спонтанная и LPS-индуцированная продукция $\text{TNF}\alpha$ в супернатантах культур прилипающей фракции МНК периферической крови условно-здоровых доноров и пациентов с вульгарным псориазом.

Примечание: LPS^+ - клеточные культуры МНК периферической крови, стимулированные липополисахаридом; LPS^- - культуры МНК периферической крови без стимуляции липополисахаридом. * - достоверные отличия по сравнению со спонтанной продукцией (парный тест Вилкоксона), $p < 0,05$. # - достоверные отличия по сравнению со спонтанной продукцией в группе условно-здоровых доноров (парный тест Вилкоксона)

Таким образом, в условиях действия липополисахарида происходит повышение продукции провоспалительных цитокинов прилипающей фракции МНК периферической крови.

Клетки прилипающей фракции периферической крови при псориазе продуцировали достоверно больше $\text{TNF}\alpha$ и $\text{IL-1}\beta$ по сравнению с прилипающей фракцией МНК условно-здоровых доноров в аналогичных условиях.

Супернатанты культур клеток также собирали на седьмой день совместного культивирования прилипающей фракции МНК периферической крови и

отсортированных $CD4^+$ центральных и эффекторных клеток памяти. Смешанные культуры клеток, в которых прилипающая фракция МНК предварительно была обработана LPS, характеризовались повышенной продукцией $IL-1\beta$ по сравнению с контролем и с культурами без предобработки LPS. Указанные изменения были характерны как в условиях добавления блокирующих моноклональных антител к рецептору $IL-7$, так и в условиях отсутствия блокады. Разницы между продукцией данного цитокина $CD4^+$ клетками памяти с/без добавления моноклональных антител к альфа-цепи рецептора $IL-7$ обнаружено не было. Мы также наблюдали повышение продукции $IL-1\beta$ в культурах клеток, стимулированных $IL-7$ в присутствии и отсутствии LPS по сравнению с контролем (Рисунок 4).

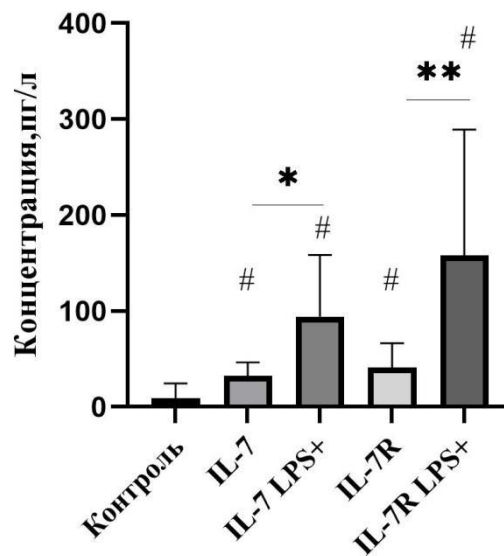


Рисунок 3 Содержание $IL-1\beta$ в супернатантах смешанных культур прилипающей фракции МНК и $CD4^+$ центральных клеток памяти при вульгарном псориазе.

Примечание: контроль – клеточные культуры без добавления $IL-7$, LPS и моноклональных антител к $IL-7R$; $IL-7$ – культуры клеток, стимулированные $IL-7$; $IL-7$ LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные $IL-7$; $IL-7R$ – культуры клеток с добавлением

моноклональных антител aIL-7R, стимулированные IL-7; IL-7R LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител aIL-7R, стимулированные IL-7. * - достоверные отличия по сравнению с культурами, стимулированными IL-7, $p < 0,05$; ** - достоверные отличия по сравнению с культурами, стимулированными IL-7, с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , $p < 0,05$. # - достоверные отличия по сравнению с контролем, $p < 0,05$.

Повышение продукции TNF α в условиях действия LPS также наблюдалось в культурах клеток, стимулированных IL-7, по сравнению с клетками без предобработки провоспалительными факторами. В условиях действия блокады продукция TNF α также повышалась под влиянием LPS, но изменения имели характер тенденции ($p = 0,08$). Достоверных изменений в продукции данного цитокина под влиянием IL-7 по сравнению с контролем обнаружено не было (Рисунок 5).

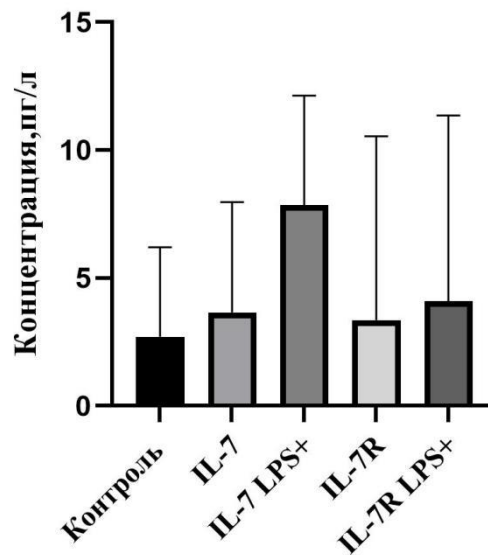


Рисунок 4. Продукция TNF α в супернатантах смешанных культур *in vitro* прилипающей фракции МНК и CD4⁺ центральных клеток памяти на 7-й день культивирования при вульгарном псориазе.

Примечание: контроль – клеточные культуры без добавления IL-7, LPS и моноклональных антител к IL-7R; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7 LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7; IL-7R – культуры клеток с добавлением моноклональных антител aIL-7R, стимулированные IL-7; IL-7R LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител IL-7R α , стимулированные IL-7.

Таким образом, на 7-й день культивирования сохранялся повышенный уровень провоспалительных цитокинов в культурах клеток с прилипающей фракцией, предварительно предобработанной LPS.

Фенотип CD4⁺ клеток памяти и внутриклеточное содержание в них цитокинов в норме и при вульгарном псориазе

У пациентов с псориазом наблюдалось накопление CD4⁺ центральных клеток памяти в периферической крови относительно здоровых доноров, при этом количество эффекторных клеток памяти было снижено ([Таблица 1](#)). Мы исследовали экспрессию α - (CD127) и γ -субъединиц (CD132) рецептора IL-7 на поверхности CD4⁺ клеток памяти в норме и при вульгарном псориазе. В периферической крови пациентов с псориазом мы выявили достоверно меньшее число Т-клеток с экспрессией общей γ -цепи CD127⁺CD132⁺ лимфоцитов, а также CD127⁺CD132⁺ клеток) как среди центральных, так и среди эффекторных CD4⁺ клеток памяти, при этом доля CD127⁺CD132⁺ эффекторных CD4⁺ клеток памяти у пациентов была повышена. Количество CD127⁺CD132⁺ Tcm и Tem при псориазе не отличалось от группы контроля (Рисунок 6, 7).

Таблица 2. Фенотип CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти периферической крови условно-здоровых доноров и пациентов с псориазом

	Контроль	Псориаз
--	----------	---------

Tcm, %	33,4±10,14	40,8±11,07
CD127 ⁺ 132 ⁻ , %	29,40±14,96	26,90±17,08
CD127 ⁺ 132 ⁺ , %	10,55±1,49	1,68±1,94*
CD127 ⁻ 132 ⁻ , %	50,31±9,63	69,46±18,01
CD127 ⁻ 132 ⁺ , %	9,73±6,78	1,94±2,26*
Tem, %	28,70±9,51	23,83±10,10
CD127 ⁺ 132 ⁻ , %	27,45±12,05	28,57±16,67
CD127 ⁺ 132 ⁺ , %	12,26±5,83	1,17±2,05*
CD127 ⁻ 132 ⁻ , %	48,87±10,07	69,84±26,61*
CD127 ⁻ 132 ⁺ , %	11,14±4,86	0,70±1,00*

Примечание: данные представлены в виде медианы с интерквартильным размахом (25-75%)

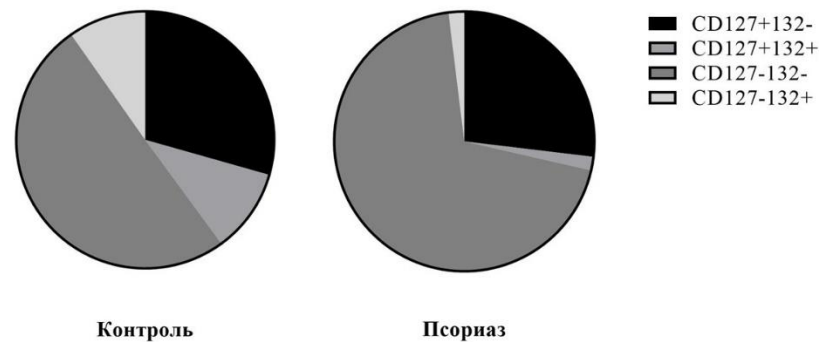


Рисунок 5. Соотношение CD4⁺ центральных клеток памяти в периферической крови условно-здоровых доноров и пациентов с вульгарным псориазом

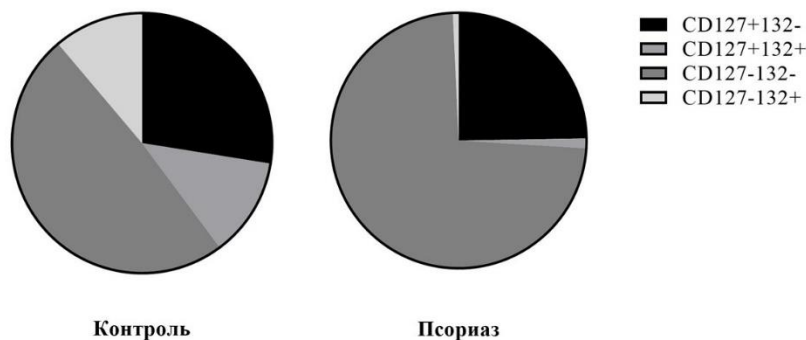


Рисунок 6. Соотношение CD4⁺ эффекторных клеток памяти в периферической крови условно-здоровых доноров и пациентов с вульгарным псориазом.

CD4⁺ центральные и эффекторные клетки памяти при псориазе характеризовались достоверно меньшей продукцией IFN γ по сравнению с контролем (Таблица 3). Значимых отличий в содержании IL-4 и IL-17 в CD4⁺ клетках памяти пациентов с псориазом и условно-здоровых доноров выявлено не было.

Таблица 3. Содержание IL-4⁺, IFN- γ ⁺ и IL-17⁺ CD4⁺ центральных и эффекторных клеткок памяти в культурах клеток условно-здоровых доноров и пациентов с псориазом

	Контроль	Псориаз
Tcm, %		
IL-4 ⁺ , %	2,50 (1,30-4,10)	2,25 (1,20-5,30)
IFN ⁺ , %	17,70 (4,90-21,80)	0,80 (0,15-8,20)*
IL-17 ⁺ , %	5,20 (1,00-7,60)	5,10 (2,55-32,75)
Tem, %		
IL4 ⁺ , %	1,60 (0,30-4,50)	1,70 (0,70-2,30)
IFN ⁺ , %	17,90 (15,40-28,20)	3,20 (1,63-11,73)*
IL-17 ⁺ , %	1,40 (1,40-2,90)	2,35 (1,13-3,40)

Примечание: данные представлены в виде медианы с интерквартильным размахом (25-75%)

Была обнаружена прямая корреляционная связь между содержанием CD4⁺ центральных клеток памяти, экспрессирующих одновременно α - и γ -цепи рецептора IL-7 (CD127⁺CD132⁺) и значением PASI (коэффициент корреляции Спирмана R=0,57, p<0,05) [\(Рисунок 8\)](#).

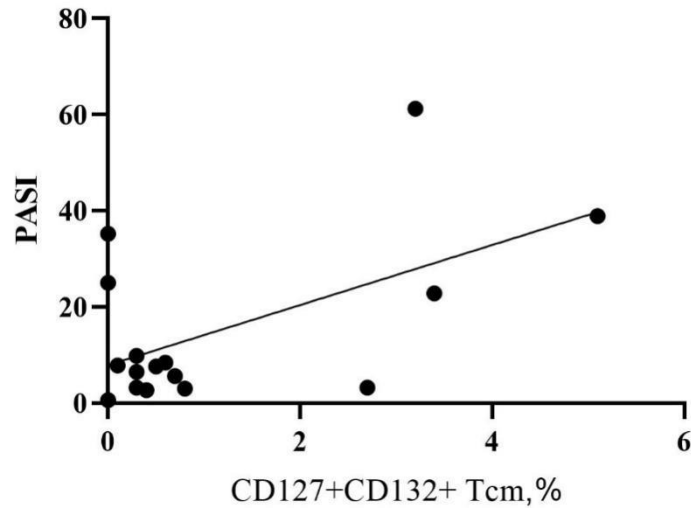


Рисунок 7. Прямая корреляционная связь между содержанием CD127⁺CD132⁺ Tcm в периферической крови и значением индекса PASI. Значение коэффициента корреляции Спирмана $R=0,57$, $p=0,02$.

Также выявлена взаимосвязь между количеством Tcm, продуцирующих IL-17, и тяжестью течения заболевания ($R=0,64$, $p<0,05$) (Рисунок 9). Аналогичные данные были получены по поводу взаимосвязи числа IL-17⁺CD4⁺ эффекторных клеток памяти в периферической крови и тяжестью заболевания ($R=0,67$, $p=0,006$) (Рисунок 10).

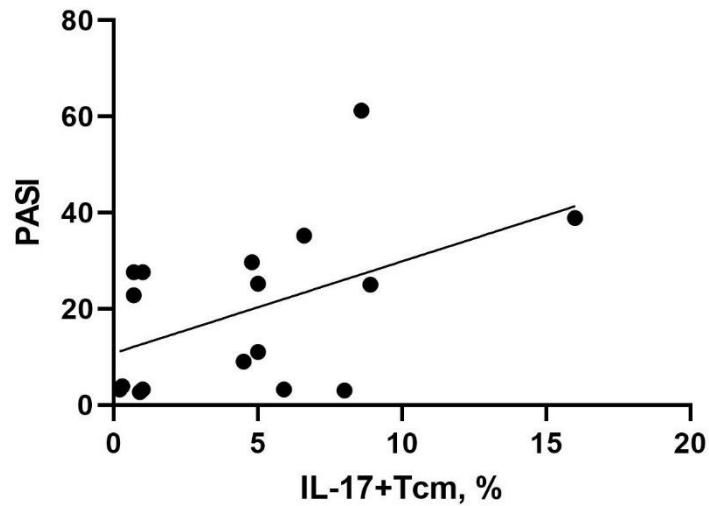


Рисунок 8. Прямая корреляционная связь между количеством $CD4^+$ центральных клеток памяти, продуцирующих IL-17, и значением индекса PASI ($R=0,50$; $p=0,03$)

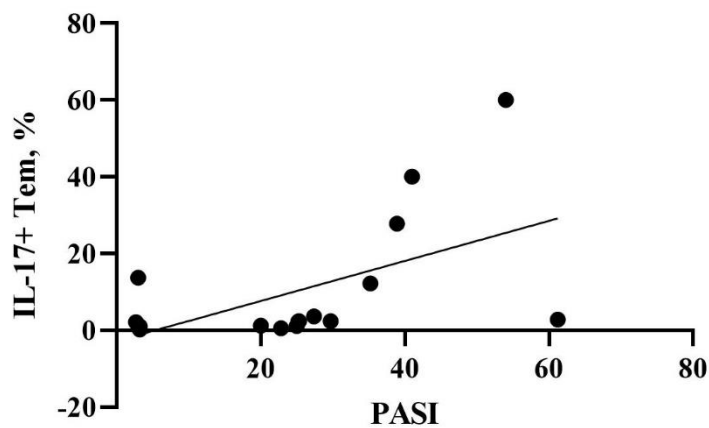


Рисунок 9. Прямая корреляционная связь между количеством $CD4^+$ эффекторных клеток памяти, продуцирующих IL-17, и значением индекса PASI ($R=0,67$; $p=0,002$).

Установлено, что пациенты с тяжелой формой вульгарного псориаза ($PASI > 10$) характеризуются достоверно большим количеством $CD4^+$ центральных и эффекторных клеток памяти, содержащих IL-17, по

сравнению с пациентами из группы с легким лечением заболевания (PASI<10) (Рисунок 11, Таблица 4). Также для группы пациентов с PASI>10 характерно большее количество CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти в периферической крови по сравнению с пациентами с легкой формой вульгарного псориаза. Значимых отличий в экспрессии CD127 и CD132, а также в продукции IL-4 и IFN γ между пациентами с PASI более 10 и менее 10 обнаружено не было.

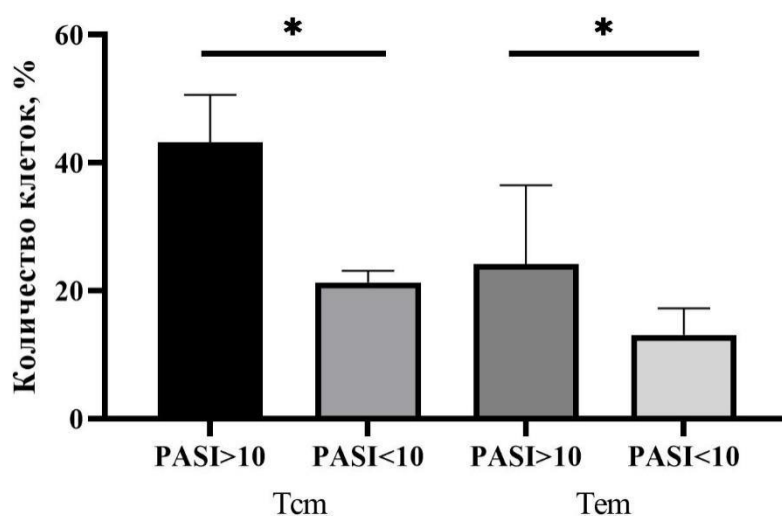


Рисунок 10. Количество CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти в периферической крови пациентов с вульгарным псориазом. *- p<0,05. Примечание: данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (25-75%)

Таблица 4. Сравнение продукции IL-4, IFN γ , IL-17 и экспрессии CD127 и CD132 CD4⁺ центральными и эффекторными клетками памяти пациентов с PASI>10 и с PASI<10.

		PASI>10	PASI<10
IL-4 ⁺	Tcm	1,40 (0,60- 2,58)	1,70 (0,75- 7,55)

	Tem	2,30 (0,70-3,40)	1,70 (0,00-30,45)
IFN γ ⁺	Tcm	0,72 (0,00-5,40)	0,10 (0,00-50,00)
	Tem	2,90 (1,80-11,10)	3,50 (0,70-25,15)
IL-17 ⁺	Tcm	4,40 (3,70-6,30)	0,50 (0,20-0,95)*
	Tem	2,40 (1,18-5,75)	1,00 (0,60-1,55)*
Tcm, %		43,20 (31,50-50,60)	21,30 (15,70-23,10)*
Tem, %		24,20 (11,90-36,50)	13,10 (11,00-17,25)*
CD127 ⁺ CD132 ⁻	Tcm	27,50 (13,60-45,40)	26,60 (14,10-45,55)
	Tem	23,50 (21,50-33,30)	32,40 (24,35-45,65)
CD127 ⁺ CD132 ⁺	Tcm	0,40 (0,00-3,40)	0,40 (0,30-0,68)
	Tem	0,00 (0,00-1,00)	0,50 (0,25-1,00)
CD127 ⁻ CD132 ⁻	Tcm	72,40 (47,80-84,80)	72,80 (53,35-83,35)

	Tem	75,65 (71,12- 79,48)	66,20 (52,45- 86,00)
CD127 ⁺ CD132 ⁺	Tcm	0,10 (0,00- 3,80)	0,60 (0,35- 0,70)
	Tem	0,30 (0,00- 1,10)	0,85 (0,25- 0,98)

Примечание: * - достоверные отличия, $p < 0,05$. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха.

Фенотип и пролиферация CD4⁺ клеток памяти в смешанных культурах условно-здоровых доноров и пациентов с вульгарным псориазом

У пациентов с псориазом культуры клеток без стимуляции характеризовались достоверно меньшим относительным количеством CD4⁺ центральных клеток памяти по сравнению с условно-здоровыми донорами (Рисунок 17). Также наблюдалось большее количество CD127⁺CD132⁺ Tcm у здоровых доноров по сравнению с пациентами. Отличий в содержании Tcm, экспрессирующих α - и/или γ -цель рецептора IL-7, обнаружено не было.

Не было обнаружено отличий в количестве CD4⁺ эффекторных клеток памяти в исследуемых группах. При этом у пациентов с псориазом отмечалось меньшее количество CD127⁺ и CD127⁺CD132⁺ Tem по сравнению с условно-здоровыми донорами.

Влияние IL-7 на фенотип и пролиферацию CD4⁺ клеток памяти при псориазе и у условно-здоровых доноров *in vitro*

В группе доноров действие IL-7 приводило к повышению пролиферации CD4⁺ центральных клеток памяти по сравнению с клетками без стимуляции (Рисунок 12). Относительное количество Tcm не менялось в ответ на действие IL-7. CD4⁺ центральные клетки памяти характеризовались снижением экспрессии CD127 в результате действия IL-7 в норме и в условиях действия провоспалительных факторов (Рисунок 14). При этом повышалась экспрессия CD132 в аналогичных условиях. Количество CD127⁺CD132⁺ центральных клеток памяти не менялось. Достоверных отличий в экспрессии CD127 и CD132 CD4⁺ центральными клетками памяти в присутствии и отсутствии провоспалительных факторов выявлено не было.

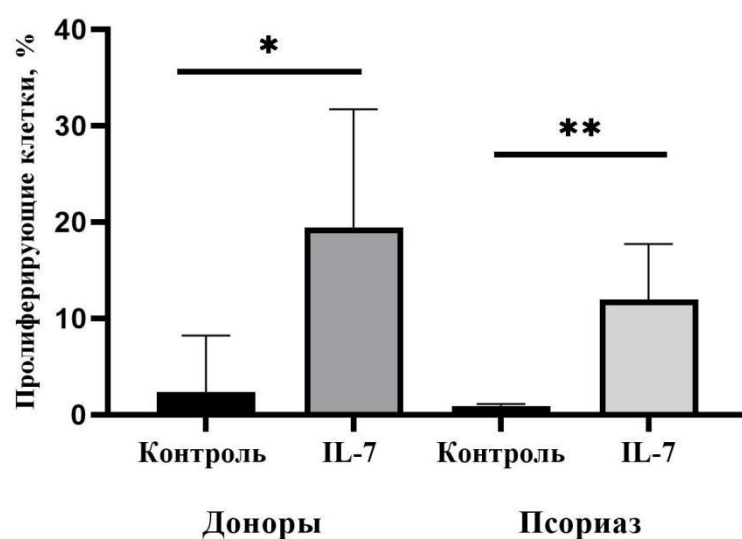


Рисунок 11. Влияние IL-7 на пролиферацию CD4⁺ центральных клеток памяти доноров и пациентов с вульгарным псориазом. Примечание: контроль – клеточные культуры без добавления IL-7; IL-7 – клеточные культуры, стимулированные IL-7. *- p=0,02; **-p=0,0006

В группе доноров относительное количество Т_{em} не менялось в ответ на действие IL-7 (Рисунок 13). Количество CD127⁺ эффекторных клеток памяти снижалось в условиях действия IL-7, а в условиях действия провоспалительных факторов экспрессия CD127 имела тенденцию к снижению ($p>0,99$). Также в условиях действия IL-7 и LPS снижалось количество клеток, экспрессирующих как CD127, так и CD132. Как и в популяции CD4⁺ центральных клеток памяти, среди Т_{em} увеличивалось содержание CD132⁺ лимфоцитов с/без действия провоспалительных факторов. Пролиферация Т_{em} повышалась под влиянием IL-7.

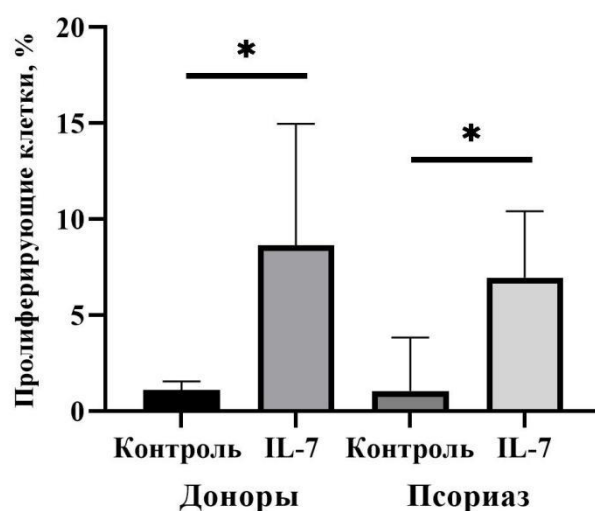


Рисунок 12. Влияние IL-7 на пролиферацию CD4⁺ эффекторных клеток памяти доноров и пациентов с псориазом. Примечание: контроль – клеточные культуры без стимуляции IL-7; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; *- $p<0,05$.

Пролиферация CD4⁺ центральных клеток памяти достоверно повышалась в ответ на действие IL-7 при вульгарном псориазе. Относительное количество Т_{em} имело тенденцию к снижению в условиях действия IL-7 ($p=0,24$). При этом уменьшалось количество клеток, экспрессирующих α-цепь рецептора IL-7 (CD127), а также повышалось количество CD132⁺

центральных клеток памяти по сравнению с культурами клеток без стимуляции. Относительное количество $CD127^+CD132^+$ Тем не менялось в ответ на действие IL-7.

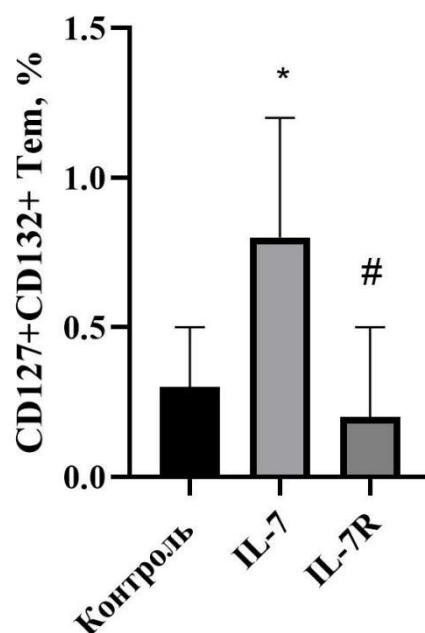


Рисунок 13. Влияние IL-7 и блокады IL-7R α на содержание $CD127^+CD132^+CD4^+$ эффекторных клеток памяти у пациентов с легкой формой вульгарного псориаза. Примечание: контроль – клеточные культуры без добавления IL-7 и моноклональных антител к IL-7R; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7R – культуры клеток с добавлением моноклональных антител aIL-7R, стимулированные IL-7 *- изменения по сравнению с контролем без стимуляции, $p=0,03$; # - изменения по сравнению с клетками, стимулированными IL-7, $p=0,006$

Снижалось количество $CD4^+$ эффекторных клеток памяти, экспрессирующих CD127 по сравнению с контролем. Количество Тем, экспрессирующих γ -цепь IL-7R, напротив, повышалось под влиянием IL-7. Пролиферация Тем достоверно повышалась в условиях действия IL-7 по сравнению с контролем. В группе пациентов с PASI менее 10

наблюдалось достоверное повышение количества CD127⁺CD132⁺CD4⁺ эффекторных клеток памяти в ответ на действие IL-7, при этом у пациентов с тяжелой формой заболевания количество таких клеток имело тенденцию к снижению ($p=0,33$).

Влияние блокады IL-7R α моноклональными антителами на фенотип и пролиферацию CD4⁺ клеток памяти в норме и при вульгарном псориазе *in vitro*

В культурах клеток условно-здоровых доноров блокада рецептора IL-7 приводила к снижению относительного количества CD4⁺ центральных клеток по сравнению с клетками, культивируемыми в условиях действия IL-7 (Рисунок 15). Также снижалось количество клеток, экспрессирующих α -цепь рецептора IL-7 с/без действия LPS (без предобработки прилипающей фракции LPS $p=0,46$; с предобработкой прилипающей фракции LPS ($p=0,66$). Экспрессия γ -цепи рецептора IL-7 достоверно снижалась под влиянием блокады IL-7R α . Количество CD127⁺CD132⁺ CD4⁺ центральных клеток памяти также уменьшалось в условиях действия анти-CD127 моноклональных антител и провоспалительных факторов. Блокада в условиях действия IL-7 также приводила к снижению числа клеток указанной популяции, но изменения имели характер тенденции ($p=0,22$). В условиях блокады пролиферация CD4⁺ центральных клеток памяти достоверно снижалась по сравнению с культурами клеток, стимулированными IL-7.

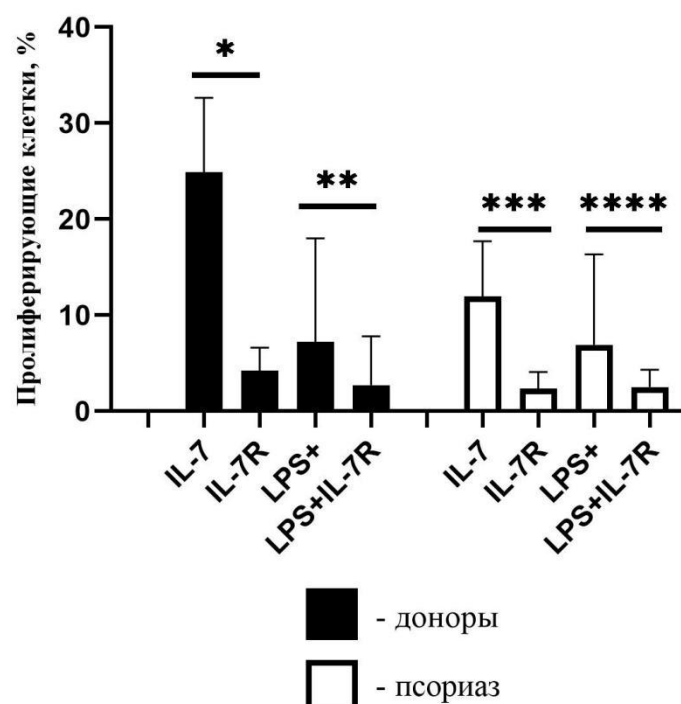


Рисунок 14. Влияние блокады IL-7R α моноклональными антителами на пролиферацию CD4⁺ центральных клеток памяти. Примечание: IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7 LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7 ; IL-7R – культуры клеток с добавлением моноклональных антител aIL-7R, стимулированные IL-7; IL-7R LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител aIL-7R, стимулированные IL-7. *-p=0,002; **-p=0,02; ***-p=0,01; ****-p=0,03.

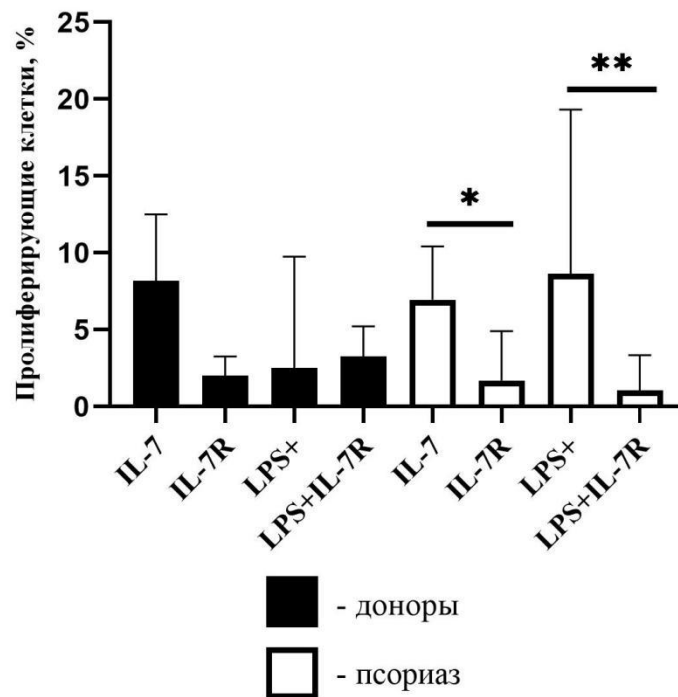


Рисунок 15. Влияние блокады IL-7R α моноклональными антителами на пролиферацию CD4⁺ эффекторных клеток памяти. Примечание: IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7 LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7 ; IL-7R – культуры клеток с добавлением моноклональных антител aIL-7R, стимулированные IL-7; IL-7R LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител aIL-7R, стимулированные IL-7. *-p<0,01; **-p=0,008.

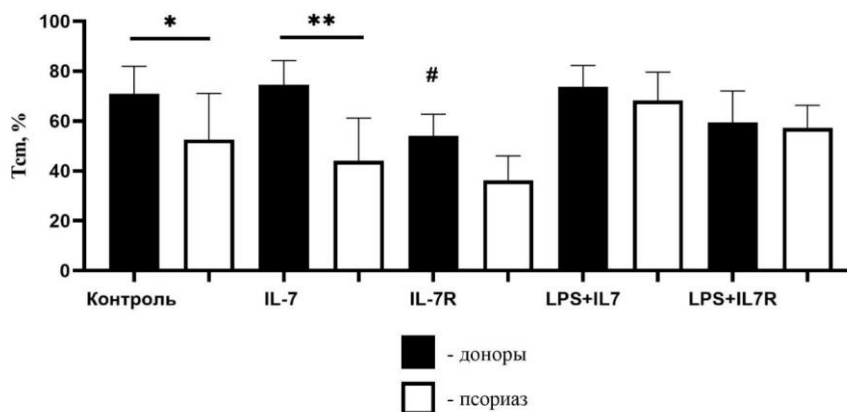


Рисунок 16. Содержание $CD4^+$ центральных клеток памяти в клеточных культурах условно-здоровых доноров и пациентов с псориазом. Примечание: контроль – клеточные культуры без добавления IL-7, LPS и моноклональных антител к IL-7R; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7 LPS+ – культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7 ; IL-7R – культуры клеток с добавлением моноклональных антител aIL-7R, стимулированные IL-7; IL-7R LPS+ – культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител aIL-7R, стимулированные IL-7. *-p=0,03; **-p=0,0006; #-достовверные изменения по сравнению с культурами клеток доноров, стимулированными IL-7, p=0,02.

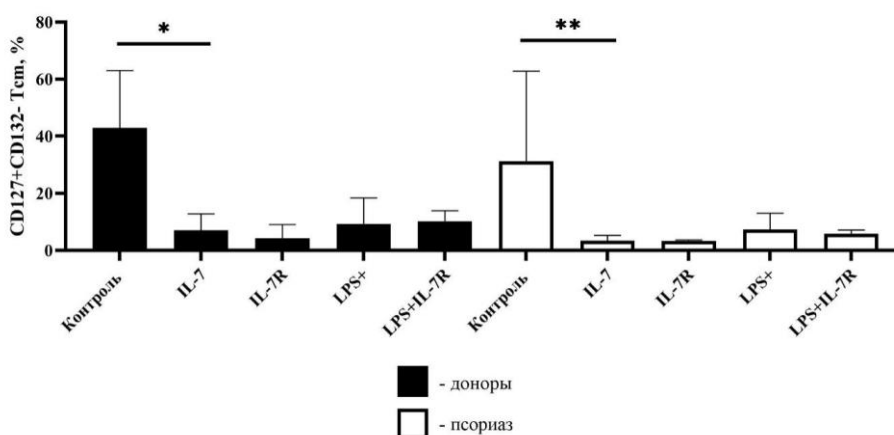


Рисунок 17. Количество $CD4^+CD127^+CD132^-$ центральных клеток памяти в культурах клеток условно-здоровых доноров и пациентов с вульгарным

псориазом. Примечание: контроль – клеточные культуры без добавления IL-7, LPS и моноклональных антител к IL-7R; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7 LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7 ; IL-7R – культуры клеток с добавлением моноклональных антител aIL-7R, стимулированные IL-7; IL-7R LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител aIL-7R, стимулированные IL-7. *-p<0,0001; **-p=0,006.

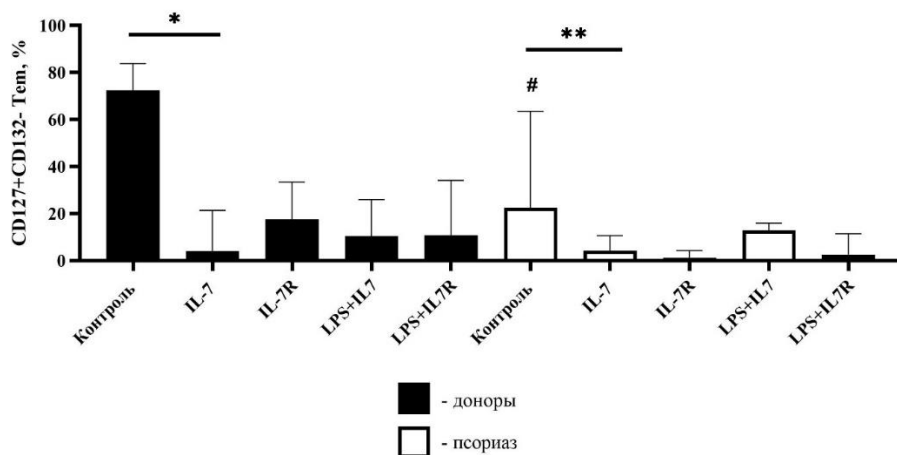


Рисунок 18 Количество CD4⁺CD127⁺CD132⁻ эффекторных клеток памяти в культурах клеток условно-здоровых доноров и пациентов с псориазом. Примечание: контроль – клеточные культуры без добавления IL-7, LPS и моноклональных антител к IL-7R; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7 LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7 ; IL-7R – культуры клеток с добавлением моноклональных антител aIL-7R, стимулированные IL-7; IL-7R LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител к IL-7Rα, стимулированные IL-7. *-p=0,001; **-p=0,0001; #- достоверные отличия по сравнению с культурами условно-здоровых доноров без стимуляции, p=0,03.

У условно-здоровых доноров содержание $CD4^+$ эффекторных клеток памяти не менялось под влиянием блокады рецептора IL-7. Моноклональные антитела к IL-7R α снижали экспрессию CD127 в популяции Tem как без стимуляции, так в условиях действия провоспалительных факторов *in vitro* по сравнению с контролем. Количество $CD127^+CD132^+$ эффекторных клеток памяти достоверно уменьшалось в ответ на блокаду IL-7R α в присутствии провоспалительных факторов (Рисунок 19). При этом количество Tem, экспрессирующих γ -цепь рецептора IL-7 также снижалось в норме и в условиях действия LPS по сравнению с клетками, культивируемыми в присутствии IL-7. Пролиферация $CD4^+$ эффекторных клеток памяти снижалась в ответ на блокаду рецептора IL-7 по сравнению с клетками, стимулированными IL-7 с/без LPS (Рисунок 16).

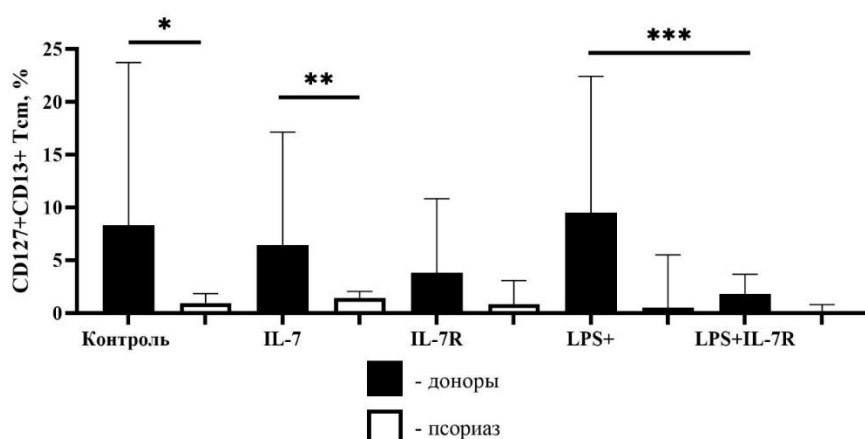


Рисунок 19. Содержание $CD4^+CD127^+CD132^+$ центральных клеток памяти в культурах клеток периферической крови условно-здоровых доноров и пациентов с вульгарным псориазом. Примечание: контроль – клеточные культуры без добавления IL-7, LPS и моноклональных антител к IL-7R; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7 LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7 ; IL-7R – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7; IL-7R LPS+ -

культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7. *-p=0,003; **-p=0,004; ***-изменение по сравнению с культурами клеток пациентов с вульгарным псориазом, стимулированными липополисахаридом и IL-7, p=0,009.

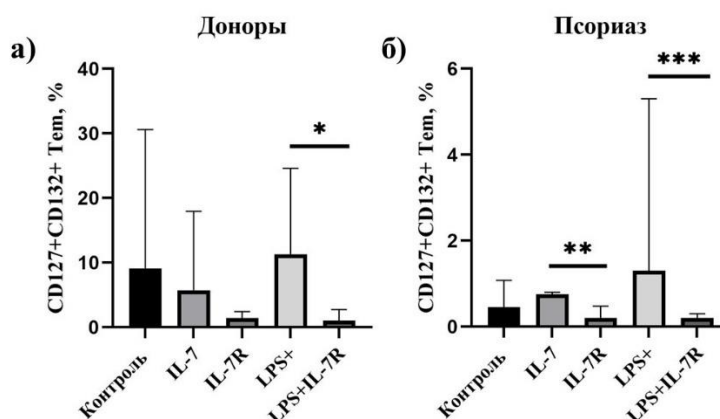


Рисунок 20. Содержание CD127⁺CD132⁺CD4⁺ эффекторных клеток памяти в культурах клеток периферической крови. Примечание: контроль – клеточные культуры без добавления IL-7, LPS и моноклональных антител к IL-7R; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7 LPS+ – культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7; IL-7R – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7; IL-7R LPS+ – культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7. *-p=0,002; **-p=0,001; ***-p=0,003.

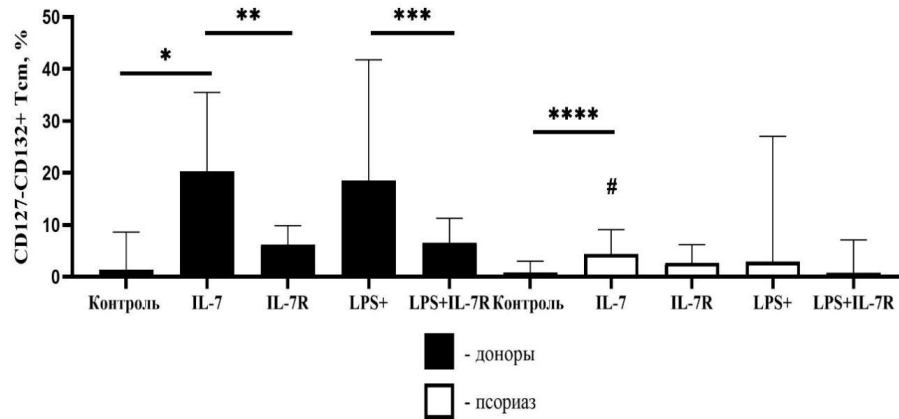


Рисунок 21. Содержание $CD4^+CD127^-CD132^+$ центральных клеток памяти в культурах клеток периферической крови условно-здоровых доноров и пациентов с вульгарным псориазом. Примечание: контроль – клеточные культуры без добавления IL-7, LPS и моноклональных антител к IL-7R; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7 LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7 ; IL-7R – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7; IL-7R LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7. *- $p < 0,0001$; **- $p < 0,01$; ***- $p = 0,03$; #- достоверные отличия по сравнению с культурами клеток условно-здоровых доноров, стимулированных IL-7, $p = 0,001$.

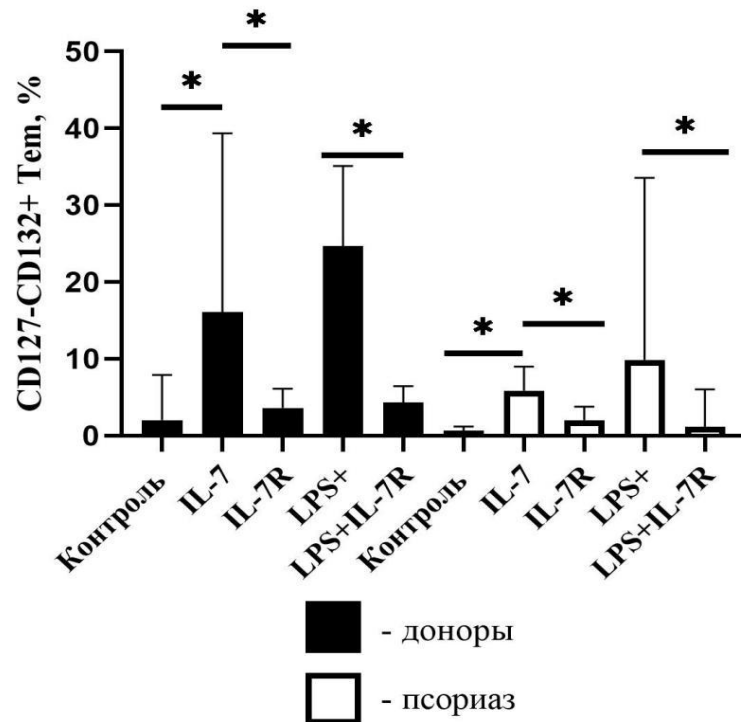


Рисунок 22. Содержание $CD4^+CD127^+CD132^+$ эффекторных клеток памяти в культурах клеток периферической крови условно-здоровых доноров и пациентов с вульгарным псориазом. Примечание: контроль – клеточные культуры без добавления IL-7, LPS и моноклональных антител к IL-7R; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7 LPS+ – культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7 ; IL-7R – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7; IL-7R LPS+ – культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7. *- $p < 0,05$.

Таблица 5. Влияние IL-7 и блокирующих антител aIL-7R на экспрессию субъединиц рецептора IL-7 CD127, CD132 и пролиферацию CD4⁺ центральных клеток памяти условно-здоровых доноров

	k	IL-7	IL-7R α	LPS+	IL-7R α LPS+
CD127 ⁺ 132 ⁻ , %	64,8 (41,7- 80,5)	6,5 (3,2- 12,1) *	6,2 (1,9- 16,3) *	9,4 (3,4- 16,9) *	10,4 (3,4- 18,8) *
CD127 ⁺ 132 ⁺ , %	5,4 (2,2- 7,4)	2,8 (2,1- 6,5)	3,8 (0,4- 9,9)	3,2 (2,0- 5,5)	1,8 (0,5- 3,6)
CD127 ⁻ 132 ⁺ , %	0,9 (0,1- 2,6)	19,1 (15,7- 25,0) *	6,2 (3,7- 9,3) * [#]	12,9 (9,4- 22,8) *	6,7 (5,0- 10,1) * ^{#ξ}
Пролиф. клетки, %	2,3 (1,5- 3,8)	24,9 (7,5- 26,8) *	2,6 (0,8- 4,6) ^{#ξ}	12,3 (2,2- 18,5)	3,2 (1,9- 7,8) [#]

Примечание к - клеточные культуры без добавления IL-7, LPS и моноклональных антител к IL-7R; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7R α – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7; LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7 ; IL-7R α LPS+ - культуры клеток с

предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7.; Пролиф. клетки – число клеток, у которых происходило снижение флюоресценции по CFSE. * - достоверные отличия по сравнению с контролем без стимуляции (k), $p < 0,05$; # - достоверные отличия по сравнению с клетками, стимулированными IL-7, $p < 0,05$; ξ – достоверные отличия по сравнению с клетками, стимулированными IL-7, с предобработанной прилипающей фракцией МНК LPS (IL-7_lps), $p < 0,05$. Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха (25-75 процентиля)

Таблица 6. Влияние IL-7 и блокирующих антител aIL-7R на экспрессию субъединиц рецептора IL-7 CD127, CD132 и пролиферацию CD4⁺ эффекторных клеток памяти условно-здоровых доноров

	k	IL-7	IL-7R α	LPS+	IL-7R α LPS+
CD127 ⁺ 132 ⁻ , %	72,5 (55,8- 82,8)	4,2 (2,0- 18,1) *	17,6 (1,5- 32,8) *	10,4 (6,1- 22,4) *	10,8 (2,5- 31,0) *
CD127 ⁺ 132 ⁺ , %	1,75 (0,9- 11,7)	0,9 (0,3- 5,4)	1,4 (0,5- 2,4)	2,1 (1,1- 6,0)	1,0 (0,5- 2,3)
CD127 ⁻ 132 ⁺ , %	0,4 (0,1- 0,7)	9,3 (6,5- 29,5) *	3,6 (1,3- 5,7) [#]	11,3 (8,0- 22,9) *	4,3 (2,4- 6,1) ^{*#ξ}

Пролиф. клетки, %	1,2 (0,7- 1,4)	7,8 (1,8- 15,8) *	2,0 (1,6- 2,8) [#]	4,9 (1,5- 15,3) *	2,1 (0,5- 3,7) ^{#ξ}
----------------------	----------------------	-------------------------	-----------------------------------	-------------------------	---------------------------------

Примечание k - клеточные культуры без добавления IL-7, LPS и моноклональных антител к IL-7R; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7Rα – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7Rα, стимулированные IL-7; LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7 ; IL-7Rα LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител к IL-7Rα, стимулированные IL-7; Пролиф. клетки – число клеток, у которых происходило снижение флюоресценции по CFSE. * - достоверные отличия по сравнению с контролем без стимуляции (k), $p < 0,05$; # - достоверные отличия по сравнению с клетками, стимулированными IL-7, $p < 0,05$; ξ – достоверные отличия по сравнению с клетками, стимулированными IL-7, с предобработанной прилипающей фракцией МНК LPS (IL-7_lps), $p < 0,05$. Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха (25-75 процентиля)

Блокада IL-7R α не приводила к изменению соотношения между CD4⁺ центральными и эффекторными клетками памяти у пациентов с вульгарным псориазом. Экспрессия CD127 и CD132 CD4⁺ центральными клетками памяти имела тенденцию к снижению ($p=0.14$ и $p=0.27$, соответственно). Моноклональные антитела к рецептору IL-7 aIL-7R приводили к достоверному снижению пролиферации Tcm с/без провоспалительных факторов.

Также блокада рецептора IL-7 сопровождалась снижением CD127⁺CD132⁺ CD4⁺ эффекторных клеток памяти по сравнению с клетками, культивируемыми в условиях действия IL-7. Количество Tem, экспрессирующих γ -цепь рецептора IL-7, также уменьшалось в результате блокады IL-7R α . Указанные отличия были выявлены как в условиях действия IL-7, так и IL-7 совместно с LPS. Моноклональные антитела к IL-7R α способствовали снижению пролиферации Tem по сравнению с клетками, культивируемыми в условиях действия IL-7 с/без действия провоспалительных факторов.

Влияние IL-7 и блокады моноклональными антителами IL-7R α на продукцию IL-4, IFN- γ и IL-17 CD4⁺ клетками памяти в норме и при вульгарном псориазе *in vitro*

В группе условно-здоровых доноров IL-7 достоверно повышал количество CD4⁺ центральных клеток памяти, продуцирующих IL-4, а также число Tem, продуцирующих IL-4 ($p=0.68$). В группе условно-здоровых доноров блокада антителами IL-7R α не оказывала влияния на продукцию IL-4 Tcm и Tem с/без влияния провоспалительных факторов

У пациентов с вульгарным псориазом содержание IL-4 в CD4⁺ центральных и эффекторных клетках памяти не менялось на фоне действия IL-7. При этом блокада IL-7R α моноклональными антителами приводила к повышению продукции IL-4 CD4⁺ центральными и

эффекторными клетками памяти по сравнению с Tcm, стимулированными IL-7 с/без добавления провоспалительных факторов.

Содержание Tcm и Tem, продуцирующих IFN- γ , повышалось в ответ на действие IL-7 в группе контроля. В группе условно-здоровых доноров блокада антителами IL-7R α не оказывала влияния на продукцию IFN- γ Tcm и Tem с/без влияния провоспалительных факторов

У пациентов с вульгарным псориазом содержание IFN- γ в CD4⁺ центральных и эффекторных клетках памяти не менялось на фоне действия IL-7. При этом блокада IL-7R α моноклональными антителами приводила к снижению количества IFN- γ -продуцирующих Tcm и Tem.

Мы ввели индекс соотношения цитокинов Th1/Th2 как частное от числа IFN γ -позитивных клеток к числу IL-4-позитивных клеток. Обработка культур клеток условно-здоровых доноров моноклональными антителами к CD127 способствовала снижению индекса Th1/Th2 в Tem субпопуляции по отношению к клеткам, стимулированным IL-7. Таким образом, антитела к IL-7R α приводили к смещению цитокинового баланса в сторону Th2 у условно-здоровых доноров.

У пациентов изменений в соотношении Th1 и Th2 при действии IL-7 выявлено не было. Блокада IL-7R моноклональными антителами приводила к снижению индекса Th1/Th2 в популяции CD4⁺ эффекторных клеток памяти по отношению к Tem, подвергшихся действию IL-7 и провоспалительных факторов.

У условно-здоровых доноров содержание IL-17⁺ Tcm имело тенденцию к повышению в норме и в условиях действия провоспалительных факторов. Достоверных изменений в количестве IL-17⁺ CD4⁺ эффекторных клеток памяти на фоне действия IL-7 обнаружено не было в группе контроля. В группе условно-здоровых доноров блокада IL-7R α приводила к уменьшению внутриклеточного содержания IL-17 в CD4⁺

эффекторных клетках памяти по сравнению с культурами, стимулированными IL-7, при этом содержание IL-17-продуцирующих CD4⁺ центральных клеток памяти не менялось.

При вульгарном псориазе количество IL-17⁺ CD4⁺ центральных клеток памяти достоверно повышалось в ответ на действие IL-7. Количество Tem, продуцирующих IL-17, не менялось в культурах клеток, обработанных IL-7. При этом продукция IL-17 CD4⁺ центральными и эффекторными клетками памяти снижалась на фоне действия моноклональных антител к IL-7R α . Данные изменения были выявлены как в норме, так и в условиях действия провоспалительных факторов.

Отличий в продукции цитокинов в ответ на действие IL-7 в отсутствие и присутствии липополисахарида выявлено не было.

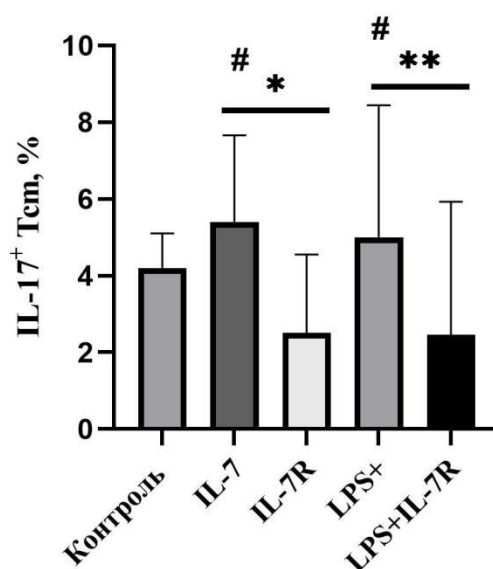


Рисунок 23. Внутриклеточное содержание IL-17 в CD4⁺ центральных клетках памяти у пациентов с вульгарным псориазом в культурах клеток *in vitro*. Примечание: контроль – клеточные культуры без стимуляции IL-7, LPS и моноклональными антителами к IL-7R α ; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7 LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7 ; IL-7R –

культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7; IL-7R LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7. *-p=0,002; **-p=0,01; #- достоверные изменения по сравнению с контролем, p<0,05.

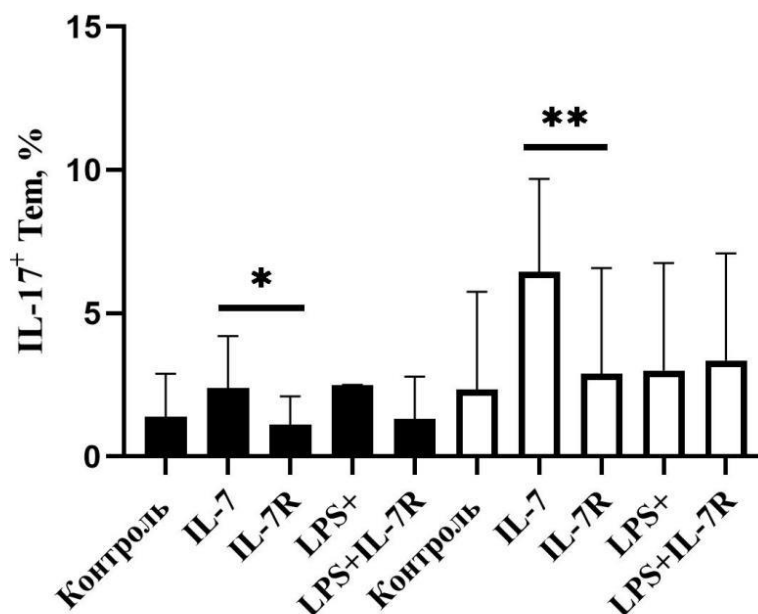


Рисунок 24. Внутриклеточное содержание IL-17 в CD4⁺ эффекторных клетках памяти в культурах клеток *in vitro*. Примечание: черные столбцы – условно-здоровые доноры, белые столбцы – пациенты с вульгарным псориазом. Контроль – культуры клеток без стимуляции IL-7, LPS, моноклональными антителами к IL-7R α ; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7 LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7; IL-7R – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7; IL-7R LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7. *-p=0,03; **-p=0,006.

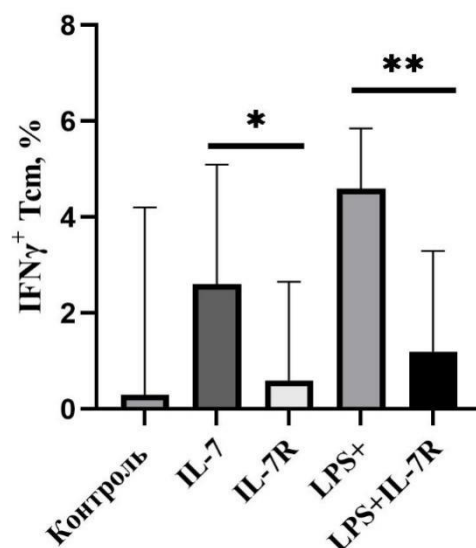


Рисунок 25. Внутриклеточное содержание IFN γ в CD4⁺ центральных клетках памяти в культурах *in vitro* при вульгарном псориазе. Примечание: контроль – культуры клеток без стимуляции IL-7, LPS, моноклональными антителами к IL-7R α ; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7 LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7 ; IL-7R – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7; IL-7R LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7. *-p=0,05; **-p=0,02.

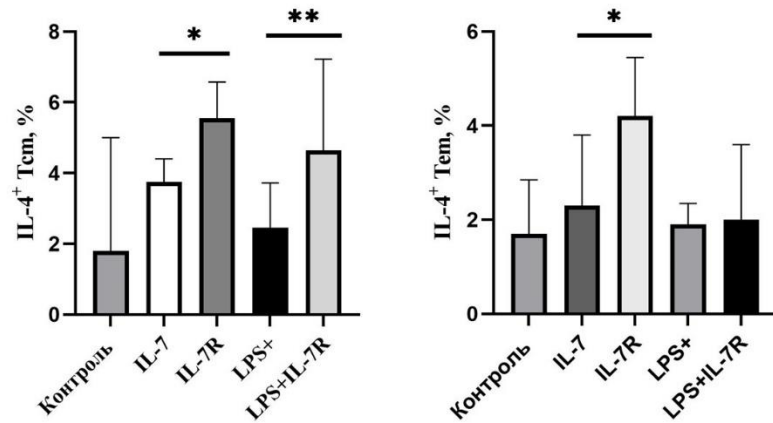


Рисунок 26. Внутриклеточное содержание IL-4 в CD4⁺ центральных эффекторных клетках памяти в культурах *in vitro* при вульгарном псориазе. Примечание: контроль – культуры клеток без стимуляции IL-7, LPS, моноклональными антителами к IL-7R α ; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7 LPS⁺ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7 ; IL-7R – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7; IL-7R LPS⁺ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7. *-p<0,05; **-p=0,002.

Таблица 7. Влияние блокады IL-7R на содержание INF- γ^+ , IL-4 $^+$ и IL-17 $^+$ CD4 $^+$ центральных клеток памяти в культурах клеток условно-здоровых доноров *in vitro*.

	Контроль	IL-7	IL-7R α	LPS+	IL-7R α LPS+
INF- γ^+ клетки, %	17,7 (4,9- 21,8)	21,4 (9,1-28,4) *	17,1 (9,4- 26,8)	18,7 (13,5- 29,9)	10,7 (5,2- 25,2)
IL-4 $^+$ клетки, %	2,5 (1,3- 4,1)	2,8 (1,0-3,9) *	3,0 (1,6- 4,4)	3,3 (2,0- 3,5)	3,1 (2,7- 5,9)
IL-17 $^+$ клетки, %	5,2 (1-7,6)	5,8 (1,5-11,2)	3,1 (1,3- 8,1)	3,3 (1,8- 6,6)	4,2 (1,1- 6,4)
Индекс Th1/Th2	3,1 (2,7- 5,9)	0,1 (2,2-20,3)	7,8 (4,0- 9,6)	6,7 (3,6- 9,3)	4,2 (1,8- 10,2)

Примечание: контроль – культуры клеток без стимуляции IL-7, LPS, моноклональными антителами к IL-7R α ; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7R α – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7; LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7 ; IL-7R α LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных

антител aIL-7R, стимулированные IL-7. * - достоверные отличия по сравнению с контролем без стимуляции (k), $p < 0,05$; ** - достоверные отличия по сравнению с клетками, стимулированными IL-7, с предобработкой прилипающей фракции МНК липополисахаридом, $p < 0,05$; *** - достоверные отличия по сравнению с клетками, стимулированными IL-7, с предобработкой прилипающей фракции МНК липополисахаридом, $p < 0,05$. Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха (25-75 процентиля)

Таблица 8. Влияние блокады IL-7R на содержание $\text{INF-}\gamma^+$, IL-4^+ и IL-17^+ CD4^+ эффекторных клеток памяти в культурах клеток условно-здоровых доноров *in vitro*.

	Контроль	IL-7	IL-7R α	LPS+	IL-7R α LPS+
$\text{INF-}\gamma^+$ клетки, %	17,9 (15,4-28,2)	8,6 (4,6-29,6)	25,5 (21,1-31,2)	31,0 (21,0-39,4)	27,0 (19,3-36,3)
IL-4^+ клетки, %	1,6 (0,3-4,5)	1,6 (0,6-6,0)	2,2 (0,8-6,1)	1,7 (0,7-5,4)	2,2 (1,1-6,3)
IL-17^+ клетки, %	1,4 (1,4-2,9)	2,1 (1,1-2,4)	1,4 (0,2-1,9)***	2,5 (0,9-3,1)	1,3 (1,3-2,8)
Индекс Th1/Th2	13,8 (3,4-59,7)	17,9 (4,8-28,1)	12,8 (4,5-39)	21,9 (5,7-32,2)	13,3 (4,2-19,3)**

Примечание: контроль – культуры клеток без стимуляции IL-7, LPS, моноклональными антителами к IL-7R α ; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7R α – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7; LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7 ; IL-7R α LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител aIL-7R, стимулированные IL-7. * - достоверные отличия по сравнению с контролем без стимуляции (k), $p < 0,05$; ** - достоверные отличия по сравнению с клетками, стимулированными IL-7, с предобработкой прилипающей фракции МНК липополисахаридом, $p < 0,05$; *** - достоверные отличия по сравнению с клетками, стимулированными IL-7, с предобработкой прилипающей фракции МНК липополисахаридом, $p < 0,05$. Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха (25-75 процентиля)

Таблица 9. Влияние блокады IL-7R на содержание INF- γ^+ , IL-4 $^+$ и IL-17 $^+$ CD4 $^+$ центральных клеток памяти в культурах клеток пациентов с вульгарным псориазом *in vitro*.

	Контроль	IL-7	IL-7R α	LPS+	IL-7R α LPS+
INF- γ^+ клетки, %	0,8 (0,2- 8,2)	4,6 (1,2- 9,1)	2,7 (0,6- 6,6)*	5,8 (1,4- 9,4)	3,9 (1,0- 6,7)**

IL-4 ⁺ клетки, %	2,3 (1,2- 5,3)	3,8 (2,4- 4,2)	4,5 (3,2- 5,2)*	2,4 (1,8- 3,2)	4,4 (2,4- 5,1)**
IL-17 ⁺ клетки, %	4,4 (2,6- 10,9)	4,6 (1,1- 7,0)*	3,3 (0,5- 4,8)*	4,9 (0,9- 7,7)	4,1 (0,6- 6,9)**
Индекс Th1/Th2	0,3 (1,0- 1,1)	1,4 (0,7- 4,3)	0,7 (0,3- 3,9))	1,7 (0,7- 3,1)	2,2 (0,5- 4,3)

Примечание: контроль – культуры клеток без стимуляции IL-7, LPS, моноклональными антителами к IL-7R α ; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7R α – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7; LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7; IL-7R α LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител aIL-7R, стимулированные IL-7. * - достоверные отличия по сравнению с клетками, стимулированными IL-7, с предобработкой прилипающей фракции МНК липополисахаридом, $p < 0,05$; ** - достоверные отличия по сравнению с клетками, стимулированными IL-7, с предобработкой прилипающей фракции МНК липополисахаридом, $p < 0,05$. Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха (25-75 процентиля).

Таблица 10. Влияние блокады IL-7R на содержание INF- γ^+ , IL-4⁺ и IL-17⁺ CD4⁺ эффекторных клеток памяти в культурах клеток пациентов с вульгарным псориазом *in vitro*.

	Контроль	IL-7	IL-7R α	LPS+	IL-7R α LPS+
INF- γ^+ клетки, %	3,2 (1,6-11,7)	14,5 (2,5- 25,4)	11,7 (1,3- 21,0)	15,5 (4,2- 29,0)	14,4 (2,8- 29,0)
IL-4 ⁺ клетки, %	1,7 (0,7-2,3)	2,3 (0,7- 3,5)	2,9 (1,2- 4,1)*	1,9 (0,7- 2,3)	2,0 (0,9- 3,4)
IL-17 ⁺ клетки, %	2,3 (0,0-3,4)	3,4 (1,9- 6,4)	2,9 (2,2- 5,7)*	3,0 (2,0- 6,1)	3,4 (1,9- 6,3)
Индекс Th1/Th2	0,3 (0,1-3,5)	3,5 (0,3- 6,9)	2,4 (0,4- 4,9)*	5,0 (0,9- 9,9)	1,8 (0,2- 7,3)

Примечание: контроль – культуры клеток без стимуляции IL-7, LPS, моноклональными антителами к IL-7R α ; IL-7 – культуры клеток, стимулированные IL-7; IL-7R α – культуры клеток с добавлением моноклональных антител к IL-7R α , стимулированные IL-7; LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS, стимулированные IL-7 ; IL-7R α LPS+ - культуры клеток с предварительной обработкой прилипающей фракции LPS и с добавлением моноклональных антител aIL-7R, стимулированные IL-7. * - достоверные отличия по сравнению с клетками, стимулированными IL-7, с предобработкой прилипающей фракции МНК липополисахаридом, $p < 0,05$; ** -

достоверные отличия по сравнению с клетками, стимулированными IL-7, с предобработкой прилипавшей фракции МНК липополисахаридом, $p < 0,05$. Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха (25-75 процентиля).

Таким образом, блокада альфа-цепи рецептора IL-7 способствует сдвигу соотношения Th1/Th2 в сторону продукции Th2 цитокинов и снижению продукции IL-17.

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что вульгарный псориаз - системное заболевание, при котором в патологический процесс вовлечена не только кожа, но и суставы. Данная нозология также развитием определенных коморбидных состояний, таких как атеросклероз, депрессия, артериальная гипертензия, неалкогольная жировая болезнь печени, сахарный диабет II типа и заболевания почек [15]. Это указывает на то, что воспаление при вульгарном псориазе локализовано не только в коже, а имеет мультисистемный характер.

В наших исследованиях в группе пациентов с вульгарным псориазом обнаружена повышенная продукция $\text{TNF}\alpha$ и $\text{IL-1}\beta$ прилипающей фракцией МНК периферической крови, что подтверждает ранее полученные данные о повышенной продукции провоспалительных цитокинов МНК периферической крови при данном заболевании кожи [30] по сравнению со здоровыми донорами. Zhang и соавт. выявили aberrantную модификацию гистонов МНК при псориазе и взаимосвязь указанных эпигенетических изменений с тяжестью течения заболевания [215], что также указывает на роль данной клеточной популяции в развитии вульгарного псориаза. МНК усиливают активность Th1 и Th17 лимфоцитов через повышение продукции провоспалительных цитокинов, в том числе $\text{IL-1}\beta$, который повышает количество IL-17^+ Т-лимфоцитов, а также способствует их росту и дифференцировке Th1 в Th17 лимфоциты [216]. $\text{TNF}\alpha$ приводит к усилению адгезии МНК к эндотелию сосудов при псориазе, что увеличивает интенсивность миграции клеток в очаги воспаления [217].

Проведение иммуноферментного анализа супернатантов культур клеток позволило нам выявить повышение содержания провоспалительных цитокинов в культурах клеток условно-здоровых доноров и пациентов с вульгарным псориазом, МНК которых были предварительно

обработаны LPS. Это указывает на то, что клетки отвечают на стимуляцию провоспалительным фактором, и продукция цитокинов сохраняется как на 2-й, так и на 6-й день после начала культивирования. Известно, что контакт CD4⁺ клеток памяти с АПК нужен для выживаемости первых, что объясняет необходимость их со-культивирования с МНК периферической крови и отказ от использования монокультур CD4⁺ клеток памяти [218].

Мы установили, что стимуляция смешанных культур клеток (CD4⁺ эффекторные/центральные клетки памяти и моноциты прилипающей фракции МНК периферической крови) пациентов с вульгарным псориазом IL-7 способствует повышению продукции провоспалительных цитокинов. Известно, что IL-7 повышает активность дендритных клеток, которые, в свою очередь активируют CD4⁺ Т-клетки памяти и способствуют повышению продукции цитокинов [160]. При этом, предшественники дендритных клеток при культивировании в условиях действия GM-CSF и IL-7 подвергались дифференцировке в зрелые дендритные клетки в большей степени по сравнению с культурами, стимулированными только GM-CSF [120], что говорит о зависимости данной клеточной популяции от IL-7. Известно, что IL-1 β , продукция которого повышается МНК периферической крови пациентов с псориазом в результате действия IL-7, способствует приобретению CD4⁺ клетками памяти Th17 и Th1 фенотипов [119], и, следовательно, ухудшению состояния кожи при данном заболевании. Следовательно, можно предположить, что действие IL-7 на МНК периферической крови может способствовать усилению выраженности воспаления при псориазе.

У пациентов с псориазом достоверно больше CD4⁺ центральных клеток памяти в периферической крови по сравнению с группой контроля, что соответствует данным литературы [147, 174, 178, 183]. Обнаружено, что при аутоиммунных заболеваниях Th1 типа (рассеянный

склероз и вульгарный псориаз) количество CD4⁺ центральных клеток памяти больше, чем у здоровых доноров, что указывает на вовлеченность данной клеточной популяции в патогенез данных заболеваний [147]. При рассеянном склерозе и системной красной волчанке общее количество CD4⁺ клеток памяти повышено за счет T_{em}, при этом количество T_{cm} у пациентов с данными заболеваниями снижено [183]. Аналогичные данные были получены при неспецифическом язвенном колите, сахарном диабете I типа [174,178,183]. Однако в нашем исследовании показано, что повышение количества CD4⁺ клеток памяти обусловлено в большей степени популяцией CD4⁺ центральных клеток памяти, при этом количество CD4⁺ эффекторных клеток памяти при вульгарном псориазе, напротив, снижено. Известно, что T_{em} в большей степени циркулируют между кровяным руслом и периферическими тканями. Они способны быстрее осуществлять эффекторные функции по сравнению с наивными Т-лимфоцитами и T_{cm} [119]. Можно предположить, что при псориазе значимое количество T_{em} находится непосредственно в очагах воспаления, поэтому их относительное количество в периферической крови снижено, а количество T_{cm} – повышено. Интересно, что в культурах клеток, напротив, снижено количество CD4⁺ центральных клеток памяти при псориазе по сравнению с условно-здоровыми донорами. Вероятно, T_{cm} и T_{em} при псориазе в большей степени зависимы от иных механизмов поддержания, таких как IL-15, IL-2, которые были не доступны в культурах клеток. С другой стороны, это можно объяснить большей экспрессией IL-7R CD4⁺ центральными клетками памяти, а также их пластичностью и способностью приобретать фенотип CD4⁺ эффекторных клеток памяти.

В нашем эксперименте обе исследуемые популяции CD4⁺ клеток памяти продемонстрировали достоверно меньшую экспрессию γ-цепи (CD132) рецептора IL-7 у пациентов с вульгарным псориазом по сравнению с группой контроля. При этом количество CD127⁺ клеток памяти

(экспрессирующих α -цепь рецептора IL-7) не отличалось среди доноров и пациентов, что указывает на сходство действия моноклональных антител против IL-7R α в указанных группах. При обзоре литературы мы не обнаружили источников, освещающих данную проблему, что указывает на то, что в нашем исследовании впервые описана особенность экспрессии IL-7R у пациентов с вульгарным псориазом.

В культурах клеток на 6-й день совместного культивирования МНК периферической крови и CD4⁺ клеток памяти мы также выявили большее количество CD127⁺CD132⁺ T_{em} и T_{cm}. Данные литературы по влиянию двойной экспрессии α - и γ -цепей рецептора IL-7 на вероятность развития и течения аутоиммунной патологии противоречивы [40,41]. Установлено, что снижение экспрессии IL-7R способствует формированию устойчивости к развитию аутоиммунных заболеваний [40], однако при рассеянном склерозе понижение экспрессии IL-7R в тканях ЦНС, напротив, ассоциировано с развитием заболевания. В нашем исследовании мы также обнаружили, что количество CD4⁺ центральных клеток памяти, экспрессирующих обе цепи IL-7R, связано с тяжестью течения заболевания, что указывает на участие данной клеточной популяции в развитии вульгарного псориаза. Соответственно, эти результаты исключают то, что более низкая экспрессия рецептора IL-7 способствует развитию псориаза. Снижение относительного количества CD127⁺CD132⁺ Т-клеток памяти можно объяснить их миграцией в псориатические очаги и участием в репопуляции резидентных клеток памяти кожи. В пользу этого говорят данные об общности происхождения T_{cm} и T_{gm} кожи [12-16].

Обе исследуемые популяции клеток памяти в культурах при псориазе характеризовались меньшим содержанием IFN γ внутри клетки, несмотря на то, что при данном заболевании в периферической крови повышен уровень Th1 цитокинов, в том числе IFN γ [36]. Однако данные по

взаимосвязи содержания IFN γ в сыворотке крови и тяжестью заболевания противоречивы. Kurtovich и соавт. не обнаружили связи между PASI и концентрацией IFN γ в периферической крови, а также отличий в содержании IFN γ при разных формах заболевания. Abdallah и соавт., напротив, назвали концентрацию IFN γ в сыворотке крови прогностическим фактором течения вульгарного псориаза в виду того, что в рамках их исследования была, во-первых, выявлена прямая корреляционная связь между содержанием IFN γ в периферической крови и значением индекса PASI, а также повышенное содержание IFN γ в сыворотке крови пациентов с тяжелыми формами заболевания, например, при псориатической эритродермии, по сравнению с локализованными формами заболевания [17]. Продукция IFN γ обеспечивается несколькими популяциями клеток: $\alpha\beta$ Т-лимфоцитами [7-9], $\gamma\delta$ Т-лимфоцитами [10], NKT клетками [11], NK-клетками [7, 12], миелоидными клетками [78]. Низкая по сравнению с контролем продукция IFN γ CD4⁺ клетками памяти при псориазе объясняется тем, что, возможно, источником продукции данного цитокина в большей степени являются клетки других популяций.

Согласно нашим результатам, количество IL-17⁺ CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти связано с тяжестью течения заболевания. По данным литературы содержание IL-17 в сыворотке крови у пациентов с псориазом не имеет статистически значимых отличий между пациентами с легкой формой заболевания (PASI<10) и группой контроля. Отличия были выявлены только у пациентов с тяжелым течением вульгарного псориаза (PASI>10) [219]. Известно, что IL-17 повышает активность транскрипционного фактора STAT3 кератиноцитов, что приводит к увеличению скорости пролиферации клеток эпидермиса и нарушению их дифференцировки [101]. Также действие IL-17 приводит к повышению содержания аутоантигенов в псориатической коже, что усугубляет воспаление [169]. Всем вышеуказанным можно объяснить наличие прямой корреляционной связи между содержанием IL-17⁺CD4⁺

центральных и эффекторных клеток памяти и значением индекса PASI. В отличие от данных литературы [219] мы выявили отличие в содержании $IL-17^+CD4^+$ центральных и эффекторных клеток памяти у пациентов с разной степенью тяжести заболевания: при PASI выше 10 наблюдается достоверно больше таких клеток.

Мы не выявили различий во внутриклеточном содержании IL-4 в $CD4^+$ центральных и эффекторных клетках памяти периферической крови между культурами клеток условно-здоровых доноров и пациентов с вульгарным псориазом. Jacob и соавт. также не выявили различий в концентрации IL-4 в сыворотке крови пациентов с вульгарным псориазом и группой контроля [220].

При сравнении пациентов с разной степенью тяжести псориаза мы обнаружили, что у пациентов с PASI более 10 достоверно выше число $CD4^+$ центральных и эффекторных клеток в периферической крови по сравнению с пациентами с легкой формой заболевания, что указывает на более выраженный процесс формирования $CD4^+$ клеток памяти при тяжелых формах заболевания и подчеркивает необходимость исследования роли данной клеточной популяции в развитии заболевания. При этом на 6-й день культивирования мы обнаружили при вульгарном псориазе снижение относительного количества $CD4^+$ центральных клеток памяти по сравнению с клетками условно-здоровых доноров, что можно объяснить приобретением части Tcm фенотипа эффекторных клеток памяти [50,54] или гибелью клеток. Данных о связи количества $CD4^+$ центральных и/или эффекторных клеток памяти с тяжестью течения вульгарного псориаза в литературе нами выявлено не было.

Мы не обнаружили значимых отличий в количестве совершенных делений клетками между группой контроля и группой вульгарного псориаза. Однако интрадермальные $CD4^+$ Т-лимфоциты, в том числе $CD4^+CD45RO^+$ Tem, также характеризуются повышенной по

сравнению с нормой скоростью пролиферации в прогрессирующую фазу вульгарного псориаза [221]. При этом при других аутоиммунных заболеваниях CD4⁺ клетки памяти, в особенности популяция центральных клеток памяти, показывают меньшую скорость пролиферации и большую предрасположенность к апоптозу [183]. При изучении литературы исследований по изучению скорости пролиферации циркулирующих CD4⁺ клеток памяти при вульгарном псориазе обнаружено не было.

IL-7 – плюрипотентный цитокин, регулирующий выживаемость, пролиферацию, дифференцировку и активирующий Т-клетки памяти [77]. На мышинных имихимод-индуцированных моделях псориаза очаги характеризовались повышенной экспрессией IL-7R α на кератиноцитах и CD4⁺ клетках памяти по сравнению с клинически здоровой кожей [222], что указывает на роль клеток, экспрессирующих IL-7R α в развитии заболевания. В нашем исследовании IL-7 повышал пролиферацию CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти клеточных культур в обеих исследуемых группах, что указывает на то, что действие данного цитокина способно увеличивать пул клеток данной популяции и способствовать ухудшению состояния кожи у пациентов. При этом блокада рецептора IL-7 способствовала снижению скорости пролиферации T_{sm} и T_{em} пациентов и T_{em} условно-здоровых доноров, что говорит об эффективности действия моноклональных антител к IL-7R α , которое основано на препятствии связывания IL-7 с рецептором. МНК периферической крови при вульгарном псориазе характеризуются большей скоростью пролиферации во время воздействия триггерного фактора [201]. Чем выше скорость пролиферации, тем быстрее генерируются аутоантиген-специфические CD4⁺ Т-лимфоциты [93,115], что ухудшает течение аутоиммунных заболеваний. IL-7 является основным фактором, поддерживающим гомеостатическую пролиферацию и выживаемость CD4⁺ клеток памяти (в отличие от CD8⁺ клеток памяти, для выживаемости которых необходимо сочетанное действие IL-7 и IL-15), что подчеркивает

необходимость изучения влияния блокады рецептора IL-7 на пролиферацию CD4⁺ клеток памяти при аутоиммунных заболеваниях [12, 107-110].

В нашем исследовании действие IL-7 способствовало снижению доли CD4⁺ центральных клеток памяти при отсутствии влияния на относительное количество CD4⁺ эффекторных клеток памяти в культурах клеток пациентов с вульгарными псориазом. Известно, что T_{cm} обладают высокой степенью пластичности и способны приобретать фенотип T_{em} и T_{hm}, в особенности в условиях действия вирусных инфекционных агентов [51]. Также известно, что гомеостатическая пролиферация T_{cm} приводит к увеличению пула как CD4⁺ центральных, так и эффекторных клеток памяти, что говорит о том, что соотношение T_{cm}/T_{em} не является постоянной константой [50, 54], в особенности при аутоиммунных заболеваниях. У доноров изменения соотношения CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти не наблюдалось, что также говорит о различиях в пластичности T_{cm} в норме и при вульгарном псориазе. Блокада IL-7R α не приводила к изменению относительного количества CD4⁺ T_{cm} и T_{em} у пациентов, но в группе условно-здоровых доноров результатом действия моноклональных антител к альфа-цепи рецептора IL-7 было снижение доли T_{cm}, что можно объяснить гибелью клеток в виду отсутствия факторов, обеспечивающих высокую продолжительность жизни клеток данной популяции, а именно, IL-7 [223]. У пациентов с вульгарными псориазом этого не было обнаружено, несмотря на снижение пролиферации клеток, вероятно, в виду большей устойчивости к дефициту IL-7 при данном заболевании.

Фенотип CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти у условно-здоровых доноров и пациентов с вульгарным псориазом одинаково менялся в ответ на действие IL-7 и моноклональных антител к альфа-цепи рецептора IL-7. Экспрессия α -цепи снижалась в ответ на

действие IL-7, а γ -цепи – повышалась в обеих популяциях клеток всех исследуемых групп. IL-7 представлен в ограниченном количестве в организме человека, и конкуренция за него поддерживает гомеостаз Т-лимфоцитов через регуляцию количества выживших Т-клеток [10]. Поэтому экспрессия α -цепь рецептора IL-7 находится под жесткой транскрипционной регуляцией. Связывание IL-7 с собственным рецептором по механизму обратной связи снижает экспрессию CD127 [11], а при дефиците IL-7, напротив, по механизму положительной обратной связи, экспрессия CD127 повышается. Известно, что экспрессия CD132 повышается при активации Т-лимфоцитов [15,16]. У пациентов с сахарным диабетом I типа экспрессия CD132 на CD4⁺ клетках памяти выше по сравнению с контролем [сама статья], в животной модели введение моноклональных антител к γ -цепи препятствовало развитию заболевания [22]. При неспецифическом язвенном колите и ревматоидном артрите экспрессия растворимого CD132 повышена в периферической крови по сравнению с контролем [23-25]. Действие IL-7 приводит к активации CD4⁺ клеток памяти, на что указывает повышение экспрессии CD132, что может неблагоприятно сказываться на течении вульгарного псориаза. При этом количество CD127⁺CD132⁺ эффекторных клеток памяти увеличивалось в группе пациентов с PASI<10, при этом их количество в группе с PASI>10 имело тенденцию к снижению. Вероятно, у пациентов с легким течением заболевания большее количество T_{em} было активировано после связывания IL-7 с рецептором.

Блокада α -цепи рецептора IL-7 в группе условно-здоровых доноров приводила к снижению экспрессии как α -, так и γ -цепи рецептора на CD4⁺ центральных и эффекторных клетках памяти, а также снижала количество CD127⁺CD132⁺ T_{cm} и T_{em}. Указанные изменения говорят о том, что связывание моноклональных антител с IL-7R α было эффективным и не способствовало активации клеток. У пациентов также снижалось количество CD132⁺ эффекторных клеток памяти, а экспрессия α - и

γ-цепи имела тенденцию к снижению, что также говорит о том, что антитела препятствовали связыванию IL-7 с рецептором и, при этом, не активировали клетки. Vranova и соавт. проводили блокаду IL-7Rα на мышинных моделях, при этом блокирующие антитела вводили внутривенно, что приводило к уменьшению выраженности отека и лимфоцитарной инфильтрации в псориатических очагах [222], однако, оценка экспрессии IL-7R после блокады не проводилась.

В нашем исследовании CD4⁺ центральные клетки памяти в группе условно-здоровых доноров отвечали на IL-7 повышением продукции IFNγ, IL-4 и IL-17, а эффекторные – повышением продукции IFNγ и IL-4, что говорит о том, что в норме IL-7 не способствует активации продукции только Th1, Th2 или Th17 цитокинов, а оказывает модулирующее действие на CD4⁺ клетки памяти в целом. Известно, что IL-7/IL-7R сигнальный путь участвует в регуляции Th17 и Th1 Т-лимфоцитов [19]. Последние исследования показывают, что IL-7 способен повышать продукцию IFNγ как в норме, так и при вирусных инфекциях, при онкологических заболеваниях, при которых это несет положительный эффект на состояние пациентов [96-99]. Можно предположить, что при Th1-опосредованных аутоиммунных заболеваниях такой эффект IL-7, напротив, окажет неблагоприятное действие на состояние пациента.

CD4⁺ центральные клетки памяти пациентов с псориазом повышали продукцию IL-17 в ответ на IL-7, при этом продукция IFNγ и IL-4 не менялась как в популяции центральных, так и эффекторных клеток памяти. Следовательно, при вульгарном псориазе IL-7 способствует сдвигу продукции цитокинов в Th17, что, можно предположить, приведет к усилению воспаления в псориатических очагах и ухудшению состояния кожи пациентов. По данным литературы IL-7 также способствовал повышению активности Th17 Т-лимфоцитов и повышению продукции ими IL-17 при других аутоиммунных заболеваниях, таких как

синдром Шегрена [6] и экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит [224].

Блокада α -цепи рецептора IL-7 снижала индекс Th1/Th2, а также количество IL-17+CD4+ эффекторных клеток памяти у условно-здоровых доноров. На CD4+ центральные клетки памяти действие анти-CD127 моноклональных антител не сопровождалось изменением в продукции Th1, Th2 и Th17 цитокинов. Известно, что в норме для T_{cm} в большей степени характерна продукция IL-2, а не типичных для CD4+ эффекторных Т-лимфоцитов и клеток памяти цитокинов [167], чем можно объяснить отсутствие влияния блокады рецептора IL-7 на продукцию цитокинов клетками данной популяции у условно-здоровых доноров. Анти-CD127 моноклональные антитела в нашем исследовании оказывали более выраженный эффект на CD4+ клетки памяти у пациентов с вульгарным псориазом: снижалось количество IFN γ + и IL-17+ T_{cm} и T_{em}, и повышалось – IL-4+ T_{em} и T_{cm}. Также в популяции CD4+ эффекторных клеток памяти наблюдалось снижение индекса Th1/Th2 в результате действия блокады. При псориазе отмечается снижение содержания Th2 цитокинов [220], а клинически значимый ответ на терапию при псориазе сопровождается сдвигом Th1/Th2 цитокинов в сторону Th2, а также понижением активности Th17 Т-лимфоцитов. Однако исследований по изучению влияния IL-7, а также блокады IL-7R α на продукцию цитокинов CD4+ клетками памяти при вульгарном псориазе не проводилось. Наши данные говорят о перспективе применения блокады рецептора IL-7 в терапии псориаза: если данный эффект сохранится *in vivo*, то такой подход может оказать благоприятное влияние на течение вульгарного псориаза.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современная терапия вульгарного псориаза в большинстве случаев позволяет достигнуть пациенту полной клинической ремиссии. Однако за отменой препарата во всех случаях следует рецидив заболевания. Из данных литературы известно, что причиной этого является наличие в коже пациентов аутореактивных клеток памяти, способствующих формированию псориатических очагов на одних и тех же локализациях.

В нашем исследовании мы выявили связь в количестве CD4+ центральных и эффекторных клеток памяти, продуцирующих IL-17, и тяжестью течения заболевания: у пациентов с большим значением индекса PASI было выявлено достоверно больше таких клеток в периферической крови. Также мы обнаружили, что у пациентов с тяжелой и средне-тяжелой формами заболевания в периферической крови больше CD4+ центральных клеток памяти, экспрессирующих обе цепи рецептора IL-7. Это указывает на участие данной клеточной популяции в развитии вульгарного псориаза и их вклад в развитие тяжелых форм заболевания, что подчеркивает необходимость воздействия на CD4+ клетки памяти при разработке методов терапии.

Было показано, что IL-7 способен усиливать пролиферацию CD4+ клеток памяти при вульгарном псориазе, способствует их активации и повышает количество CD4+ центральных клеток памяти, продуцирующих IL-17, что, можно предположить, *in vivo* способствует ухудшению течения заболевания и развитию его рецидивов.

В настоящее время не существует методов лечения, направленных на данную клеточную популяцию. В нашем исследовании мы показали эффективность блокады aIL-7R в подавлении пролиферации CD4+ центральных и эффекторных клеток памяти, что будет препятствовать увеличению количества таких клеток. Также мы продемонстрировали изменение профиля продуцируемых цитокинов: блокада приводила к

повышению количества CD4⁺ клеток памяти, продуцирующих IL-4, и снижала количество клеток, продуцирующих IFN γ и IL-17, что *in vivo* обычно наблюдается у пациентов, достигших ремиссии заболевания. Таким образом, использование моноклональных антител к α -цепи рецептора IL-7, одного из основных факторов, поддерживающих популяцию CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти, является перспективным методом терапии, который, можно предположить, позволит увеличить продолжительность ремиссии при вульгарном псориазе.

ВЫВОДЫ

1. Пациенты с вульгарным псориазом характеризовались повышенным содержанием CD4⁺ центральных клеток памяти, при этом было снижено количество CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти, экспрессирующих γ -цепь рецептора IL-7 и α - и γ -цепь одновременно, по сравнению с условно-здоровыми донорами, что отражает особенности патогенеза вульгарного псориаза.
2. В культуре IL-7 повышал пролиферацию CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти, приводя к снижению экспрессию α -цепи и повышению γ -цепи на CD4⁺ клетках памяти в обеих исследуемых группах. Достоверных отличий в пролиферации CD4⁺ клеток памяти в ответ на IL-7 между пациентами с псориазом и условно-здоровыми донорами не было выявлено. Что говорит о схожем действии IL-7 на CD4⁺ клетки памяти в норме и при псориазе.
3. IL-7 *in vitro* способствовал повышению количества IL-4⁺ и IFN γ ⁺ CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти у условно-здоровых доноров, тогда как у пациентов с вульгарным псориазом – повышению количества IL-17⁺ CD4⁺ центральных клеток памяти, что указывает на вовлеченность IL-7 в индукцию указанных процессов при данном заболевании.

4. В культуре *in vitro* блокада IL-7R α моноклональными антителами у условно-здоровых доноров и у пациентов с вульгарным псориазом приводила к снижению пролиферации CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти в ответ на IL-7 и экспрессии α - и γ -цепей рецептора IL-7 на CD4⁺ клетках памяти, что отражает эффективность действия моноклональных антител.
5. При вульгарном псориазе блокада IL-7R α моноклональными антителами *in vitro* сопровождалась увеличением количества IL-4-продуцирующих и снижением количества IFN γ - и IL-17-продуцирующих CD4⁺ центральных и эффекторных клеток памяти, в том числе, сдвигом баланса Th1/Th2 клеток в сторону Th2 популяции среди CD4⁺ эффекторных клеток памяти, что может говорить о перспективности данного подхода в терапии псориаза.
6. Была обнаружена прямая корреляционная взаимосвязь содержания CD4⁺ IL-17⁺ центральных и эффекторных клеток памяти с тяжестью течения вульгарного псориаза, а также содержания CD4⁺ центральных клеток памяти, экспрессирующих α - и γ -цепь рецептора IL-7, и тяжестью течения вульгарного псориаза (индекс PASI). Это свидетельствует о том, что содержание клеток данной клеточной популяции является маркером тяжелого течения заболевания.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

CCR4 маркер хоминга кожи

CLA кожный лимфоцитарный антиген

EGFR рецептор эпидермального фактора роста

Ex-Trm рециркулирующие резидентные клетки памяти

G-GCSF гранулоцитарный колониестимулирующий фактор

IFN интерферон

IL-7R α альфа-цепь рецептора IL-7

JAC янус-киназа

LL37 антимикробный пептид кателицидин

NF- κ B ядерный фактор каппа-би

NGF фактор роста нервов

PASI psoriasis area and severity index

PLA2 липиды, генерированные фосфолипазой A2

STAT signal transducer and activator of transcription

Tem CD4+ эффекторные клетки памяти

Tcm CD4+ центральные клетки памяти

TCR T-клеточный рецептор

TLR толл-подобный рецептор

Trm резидентные клетки памяти

ГМ-КСФ гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор

ДНК дезоксирибонуклеиновая кислота

ИМТ индекс массы тела

МНК мононуклеары периферической крови

РНК рибонуклеиновая кислота

цАМФ циклический аденозинмонофосфат

ФНО α фактор некроза опухоли α

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Restifo NP, Gattinoni L. Lineage relationship of effector and memory T cells // *Current opinion in immunology*. 2013. 25. №5. С. 556-563.
2. Caserta, S., Zamoyska, R. Memories are made of this: synergy of T cell receptor and cytokine signals in CD4(+) central memory cell survival // *Trends in immunology*. 2007. 28. №6. С. 245–248.
3. Mazzucchelli, R., Durum, S. K. Interleukin-7 receptor expression: intelligent design // *Nature reviews. Immunology*. 2007. 7. №2. С. 144–154.
4. Paukku, K., Silvennoinen, O. STATs as critical mediators of signal transduction and transcription: lessons learned from STAT5 // *Cytokine & growth factor reviews*. 2004. 15. №6. С. 435–455.
5. Leung, S., Liu, X., Fang, L., Chen, X., Guo, T., Zhang, J. The cytokine milieu in the interplay of pathogenic Th1/Th17 cells and regulatory T cells in autoimmune disease // *Cellular & molecular immunology*. 2010. 7. №3. С. 182–189.
6. Bikker, A., Moret, F. M., Kruize, A. A., Bijlsma, J. W., Lafeber, F. P., van Roon, J. A. IL-7 drives Th1 and Th17 cytokine production in patients with primary SS despite an increase in CD4 T cells lacking the IL-7R α // *Rheumatology (Oxford, England)*. 2012. 51. №6. С. 996–1005.
7. Boyman, O., Hefti, H. P., Conrad, C., Nickoloff, B. J., Suter, M., Nestle, F. O. Spontaneous development of psoriasis in a new animal model shows an essential role for resident T cells and tumor necrosis factor-alpha // *The Journal of experimental medicine*. 2004. 199. 5. С. 731–736.
8. Suárez-Fariñas, M., Fuentes-Duculan, J., Lowes, M. A., Krueger, J. G. Resolved psoriasis lesions retain expression of a subset of disease-related genes // *The Journal of investigative dermatology*. 2011. 131. №2. С. 391–400.
9. Diani, M., Altomare, G., Reali, E. T Helper Cell Subsets in Clinical Manifestations of Psoriasis. *Journal of immunology research*. 2016. 2016. С. 7692024.

10. Gaide, O., Emerson, R. O., Jiang, X., Gulati, N., Nizza, S., Desmarais, C., Robins, H., Krueger, J. G., Clark, R. A., Kupper, T. S. Common clonal origin of central and resident memory T cells following skin immunization // *Nature medicine*. 2015. 21. 6. C. 647–653.
11. Wang, X. S., Li, B. Z., Hu, L. F., Wen, P. F., Zhang, M., Pan, H. F., Ye, D. Q. Perspectives of the relationship between IL-7 and autoimmune diseases // *Clinical rheumatology*. 2013. 32. 12. C. 1703–1709.
12. Pickens, S. R., Chamberlain, N. D., Volin, M. V., Pope, R. M., Talarico, N. E., Mandelin, A. M., Shahrara, S. Characterization of interleukin-7 and interleukin-7 receptor in the pathogenesis of rheumatoid arthritis // *Arthritis and rheumatism*. 2011. 63. 10. C. 2884–2893.
13. Maldonado, A., Mueller, Y. M., Thomas, P., Bojczuk, P., O'Connors, C., Katsikis, P. D. Decreased effector memory CD45RA⁺ CD62L⁻ CD8⁺ T cells and increased central memory CD45RA⁻ CD62L⁺ CD8⁺ T cells in peripheral blood of rheumatoid arthritis patients // *Arthritis research & therapy*. 2003. 5. 2. C. R91–R96.
14. Bose, T. O., Pham, Q. M., Jellison, E. R., Mouries, J., Ballantyne, C. M., Lefrançois, L. CD11a regulates effector CD8 T cell differentiation and central memory development in response to infection with *Listeria monocytogenes* // *Infection and immunity*. 2013. 81. 4. C. 1140–1151.
15. Федеральные клинические рекомендации. Дерматовенерология 2015: Болезни кожи. Инфекции, передаваемые половым путем. — 5-е изд., перераб. и доп. — М.: Деловой экспресс, 2016. — 768 с.
16. Gudjonsson, J. E., Karason, A., Runarsdottir, E. H., Antonsdottir, A. A., Hauksson, V. B., Jónsson, H. H., Gulcher, J., Stefansson, K., Valdimarsson, H. Distinct clinical differences between HLA-Cw*0602 positive and negative psoriasis patients - an analysis of 1019 HLA-C- and HLA-B-typed patients // *The Journal of investigative dermatology*. 2006. 126. 4. C. 740–745.
17. Ogdie, A., Weiss, P. The Epidemiology of Psoriatic Arthritis // *Rheumatic diseases clinics of North America*. 2015. 41. 4. C. 545–568.

18. Bowes, J., Budu-Aggrey, A., Huffmeier, U., Uebe, S., Steel, K., Hebert, H. L., Wallace, C., Massey, J., Bruce, I. N., Bluett, J., Feletar, M., Morgan, A. W., Marzo-Ortega, H., Donohoe, G., Morris, D. W., Helliwell, P., Ryan, A. W., Kane, D., Warren, R. B., Korendowych, E., Barton, A. Dense genotyping of immune-related susceptibility loci reveals new insights into the genetics of psoriatic arthritis // *Nature communications*. 2015. 6. C. 6046.
19. Ellinghaus, E., Stuart, P. E., Ellinghaus, D., Nair, R. P., Debrus, S., Raelson, J. V., Belouchi, M., Tejasvi, T., Li, Y., Tsoi, L. C., Onken, A. T., Esko, T., Metspalu, A., Rahman, P., Gladman, D. D., Bowcock, A. M., Helms, C., Krueger, G. G., Koks, S., Kingo, K., Franke, A. Genome-wide meta-analysis of psoriatic arthritis identifies susceptibility locus at REL // *The Journal of investigative dermatology*. 2012. 132. 4. C. 1133–1140.
20. Aterido, A., Cañete, J. D., Tornero, J., Ferrándiz, C., Pinto, J. A., Gratacós, J., Queiró, R., Montilla, C., Torre-Alonso, J. C., Pérez-Venegas, J. J., Fernández Nebro, A., Muñoz-Fernández, S., González, C. M., Roig, D., Zarco, P., Erra, A., Rodríguez, J., Castañeda, S., Rubio, E., Salvador, G., Julià, A. Genetic variation at the glycosaminoglycan metabolism pathway contributes to the risk of psoriatic arthritis but not psoriasis // *Annals of the rheumatic diseases*. 2019. 78. 3. C. e214158.
21. Bowes, J., Ashcroft, J., Dand, N., Jalali-Najafabadi, F., Bellou, E., Ho, P., Marzo-Ortega, H., Helliwell, P. S., Feletar, M., Ryan, A. W., Kane, D. J., Korendowych, E., Simpson, M. A., Packham, J., McManus, R., Brown, M. A., Smith, C. H., Barker, J. N., McHugh, N., FitzGerald, O., Barton, A. Cross-phenotype association mapping of the MHC identifies genetic variants that differentiate psoriatic arthritis from psoriasis // *Annals of the rheumatic diseases*. 2015. 76. 10. C. 1774–1779.
22. Eder, L., Chandran, V., Pellett, F., Shanmugarajah, S., Rosen, C. F., Bull, S. B., Gladman, D. D. Differential human leucocyte allele association between psoriasis and psoriatic arthritis: a family-based association study // *Annals of the rheumatic diseases*. 2012. 71. 8. C. 1361–1365.

23. Jonca, N., Leclerc, E. A., Caubet, C., Simon, M., Guerrin, M., Serre, G. Corneodesmosomes and corneodesmosin: from the stratum corneum cohesion to the pathophysiology of genodermatoses // *European journal of dermatology*. 2011. 21. №2. C. 35–42.
24. Yin, X., Low, H. Q., Wang, L., Li, Y., Ellinghaus, E., Han, J., Estivill, X., Sun, L., Zuo, X., Shen, C., Zhu, C., Zhang, A., Sanchez, F., Padyukov, L., Catanese, J. J., Krueger, G. G., Duffin, K. C., Mucha, S., Weichenthal, M., Weidinger, S., Liu, J. Genome-wide meta-analysis identifies multiple novel associations and ethnic heterogeneity of psoriasis susceptibility // *Nature communications*. 2015. 6. C. 6916.
25. Dou, J., Guo, H., Cheng, F., Huang, H., Fu, L., Li, L., Yang, C., Ye, L., Wen, L., Cheng, Y., Tang, L., Zhu, C., Zhu, Z., Wang, W., Sheng, Y., Wang, Z., Liu, S., Fan, X., Zuo, X., Zhou, F., Zhang, X. Genotype combination contributes to psoriasis: An exhaustive algorithm perspective // *PloS one*. 2017. 12. №10. C. e0186067.
26. Pollock, R. A., Abji, F., & Gladman, D. D. Epigenetics of psoriatic disease: A systematic review and critical appraisal // *Journal of autoimmunity*. 2017. 78. C. 29–38.
27. Swindell, W. R., Remmer, H. A., Sarkar, M. K., Xing, X., Barnes, D. H., Wolterink, L., Voorhees, J. J., Nair, R. P., Johnston, A., Elder, J. T., Gudjonsson, J. E. Proteogenomic analysis of psoriasis reveals discordant and concordant changes in mRNA and protein abundance // *Genome medicine*. 2015. 7. №1. C. 86.
28. Schonthaler, H. B., Guinea-Viniegra, J., Wculek, S. K., Ruppen, I., Ximénez-Embún, P., Guío-Carrión, A., Navarro, R., Hogg, N., Ashman, K., Wagner, E. F. S100A8-S100A9 protein complex mediates psoriasis by regulating the expression of complement factor C3 // *Immunity*. 2013. 39. №6. C. 1171–1181.
29. Reindl, J., Pesek, J., Krüger, T., Wendler, S., Nemitz, S., Muckova, P., Büchler, R., Opitz, S., Krieg, N., Norgauer, J., Rhode, H. Proteomic biomarkers

for psoriasis and psoriasis arthritis // *Journal of proteomics*. 2016. 140. C. 55–61.

30. El-Rachkidy, R. G., Hales, J. M., Freestone, P. P., Young, H. S., Griffiths, C. E., & Camp, R. D. Increased blood levels of IgG reactive with secreted *Streptococcus pyogenes* proteins in chronic plaque psoriasis // *The Journal of investigative dermatology*. 2007. 127. №6. C. 1337–1342.

31. Ruiz-Romeu, E., Ferran, M., Sagristà, M., Gómez, J., Giménez-Arnau, A., Herszenyi, K., Hólo, P., Celada, A., Pujol, R., Santamaria-Babí, L. F. *Streptococcus pyogenes*-induced cutaneous lymphocyte antigen-positive T cell-dependent epidermal cell activation triggers TH17 responses in patients with guttate psoriasis // *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2016. 138. №2. C. 491–499.e6.

32. Ruiz-Romeu, E., Ferran, M., de Jesús-Gil, C., García, P., Sagristà, M., Casanova, J. M., Fernández, J. M., Chiriac, A., Hólo, P., Celada, A., Pujol, R. M., Santamaria-Babí, L. F. Microbe-Dependent Induction of IL-9 by CLA⁺ T Cells in Psoriasis and Relationship with IL-17A // *The Journal of investigative dermatology*. 2018. 138. №3. C. 580–587.

33. Eakahashi, H., Nakamura, K., Kaneko, F., Nakagawa, H., Iizuka, H. Analysis of psoriasis patients registered with the Japanese Society for Psoriasis Research from 2002-2008 // *The Journal of dermatology*. 2011. 38. №12. C. 1125–1129.

34. Charalambous, H., & Bloomfield, D. Psoriasis and radiotherapy: exacerbation of psoriasis following radiotherapy for carcinoma of the breast (the Koebner phenomenon) // *Clinical oncology (Royal College of Radiologists (Great Britain))*. 2000. 12. №3. C. 192–193.

35. Raychaudhuri, S. P., Jiang, W. Y., & Raychaudhuri, S. K. Revisiting the Koebner phenomenon: role of NGF and its receptor system in the pathogenesis of psoriasis // *The American journal of pathology*. 2008. 172. №4. C. 961–971.

36. Zhang L. J. Type1 Interferons Potential Initiating Factors Linking Skin Wounds With Psoriasis Pathogenesis // *Frontiers in immunology*. 2019. 10. C. 1440.
37. Fuentes-Duculan, J., Bonifacio, K. M., Hawkes, J. E., Kunjraiva, N., Cueto, I., Li, X., Gonzalez, J., Garcet, S., Krueger, J. G. Autoantigens ADAMTSL5 and LL37 are significantly upregulated in active Psoriasis and localized with keratinocytes, dendritic cells and other leukocytes // *Experimental dermatology*. 2017. 26. №11. C. 1075–1082.
38. Furue, K., Ito, T., Tanaka, Y., Yumine, A., Hashimoto-Hachiya, A., Takemura, M., Murata, M., Yamamura, K., Tsuji, G., Furue, M. Cyto/chemokine profile of in vitro scratched keratinocyte model: Implications of significant upregulation of CCL20, CXCL8 and IL36G in Koebner phenomenon // *Journal of dermatological science*. 2019. 94. №1. C. 244–251.
39. Balak, D. M., Hajdarbegovic, E. Drug-induced psoriasis: clinical perspectives // *Psoriasis (Auckland, N.Z.)*. 2017. 7. C. 87–94.
40. Kim, G. K., Del Rosso, J. Q. Drug-provoked psoriasis: is it drug induced or drug aggravated?: understanding pathophysiology and clinical relevance // *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*. 2010. 3. №1. C. 32–38.
41. Fry, L., Baker, B. S. Triggering psoriasis: the role of infections and medications // *Clinics in dermatology*. 2007. 25. №6. C. 606–615.
42. van der Fits, L., Mourits, S., Voerman, J. S., Kant, M., Boon, L., Laman, J. D., Cornelissen, F., Mus, A. M., Florencia, E., Prens, E. P., Lubberts, E. Imiquimod-induced psoriasis-like skin inflammation in mice is mediated via the IL-23/IL-17 axis // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2009. 182. №9. C. 5836–5845.
43. Bonigen, J., Raynaud-Donzel, C., Hureauux, J., Kramkimel, N., Blom, A., Jeudy, G., Breton, A. L., Hubiche, T., Bedane, C., Legoupil, D., Pham-Le-dard, A., Charles, J., Pérol, M., Gérard, E., Combemale, P., Bonnet, D., Sigal, M. L., Mahé, E. Anti-PD1-induced psoriasis: a study of 21 patients // *Journal*

of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV. 2017. 31. №5. C. e254–e257.

44. Kim, D. W., Park, S. K., Woo, S. H., Yun, S. K., Kim, H. U., & Park, J. New-onset psoriasis induced by rituximab therapy for non-Hodgkin lymphoma in a child // *European journal of dermatology : EJD*. 2016. 26. №2. C. 190–191.

45. Guidelli, G. M., Fioravanti, A., Rubegni, P., & Feci, L. Induced psoriasis after rituximab therapy for rheumatoid arthritis: a case report and review of the literature // *Rheumatology international*. 2013. 33. №11. C. 2927–2930.

46. Skoven, I., & Thormann, J. Lithium compound treatment and psoriasis // *Archives of dermatology*. 1979. 115. №10. C. 1185–1187.

47. Armstrong, A. W., Harskamp, C. T., Dhillon, J. S., Armstrong, E. J. Psoriasis and smoking: a systematic review and meta-analysis // *The British journal of dermatology*. 2014. 170. №2. C. 304–314.

48. Naldi, L., Chatenoud, L., Linder, D., Belloni Fortina, A., Peserico, A., Virgili, A. R., Bruni, P. L., Ingordo, V., Lo Scocco, G., Solaroli, C., Schena, D., Barba, A., Di Landro, A., Pezzarossa, E., Arcangeli, F., Gianni, C., Betti, R., Carli, P., Farris, A., Barabino, G. F., La Vecchia, C. Cigarette smoking, body mass index, and stressful life events as risk factors for psoriasis: results from an Italian case-control study // *The Journal of investigative dermatology*. 2005. 125. №1. C. 61–67.

49. Dai, Y. X., Wang, S. C., Chou, Y. J., Chang, Y. T., Chen, T. J., Li, C. P., Wu, C. Y. Smoking, but not alcohol, is associated with risk of psoriasis in a Taiwanese population-based cohort study // *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2019. 80. №3. C. 727–734.

50. Armstrong, A. W., Armstrong, E. J., Fuller, E. N., Sockolov, M. E., Voyles, S. V. Smoking and pathogenesis of psoriasis: a review of oxidative, inflammatory and genetic mechanisms // *The British journal of dermatology*. 2011. 165. №6. C. 1162–1168.

51. Qureshi, A. A., Dominguez, P. L., Choi, H. K., Han, J., & Curhan, G. Alcohol intake and risk of incident psoriasis in US women: a prospective study // *Archives of dermatology*. 2010. 146. №12. C. 1364–1369.
52. Harvima, I. T., Nilsson, G., Suttle, M. M., & Naukkarinen, A. Is there a role for mast cells in psoriasis? // *Archives of dermatological research*. 2008. 300. №9. C. 461–478.
53. Morhenn, V. B., Nelson, T. E., & Gruol, D. L. The rate of wound healing is increased in psoriasis // *Journal of dermatological science*. 2013. 72. №2. C. 87–92.
54. Nigam, R., El-Nour, H., Amatya, B., & Nordlind, K. GABA and GABA(A) receptor expression on immune cells in psoriasis: a pathophysiological role // *Archives of dermatological research*. 2010. 302. №7. C. 507–515.
55. Payne, R. A., Rowland Payne, C. M., & Marks, R. Stress does not worsen psoriasis?--a controlled study of 32 patients // *Clinical and experimental dermatology*. 1985. 10. №3. C. 239–245.
56. Chrousos G. P. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation // *The New England journal of medicine*. 1995. 332. №20. C. 1351–1362.
57. Saint-Mezard, P., Chavagnac, C., Bosset, S., Ionescu, M., Peyron, E., Kaiserlian, D., Nicolas, J. F., Bérard, F. Psychological stress exerts an adjuvant effect on skin dendritic cell functions in vivo // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2003. 171. №8. C. 4073–4080.
58. Nakamizo, S., Honda, T., Adachi, A., Nagatake, T., Kunisawa, J., Kitoh, A., Otsuka, A., Dainichi, T., Nomura, T., Ginhoux, F., Ikuta, K., Egawa, G., & Kabashima, K. High fat diet exacerbates murine psoriatic dermatitis by increasing the number of IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells // *Scientific reports*. 2017. 7. №1. C. 14076.
59. Kanemaru, K., Matsuyuki, A., Nakamura, Y., & Fukami, K. Obesity exacerbates imiquimod-induced psoriasis-like epidermal hyperplasia and

interleukin-17 and interleukin-22 production in mice // *Experimental dermatology*. 2015. 24. №6. C. 436–442.

60. Zhu, K. J., Shi, G., Zhang, C., Li, M., Zhu, C. Y., & Fan, Y. M. Adiponectin levels in patients with psoriasis: a meta-analysis // *The Journal of dermatology*. 2013. 40. №6. C. 438–442.

61. Berg, A. H., Combs, T. P., & Scherer, P. E. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism // *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*. 2002. 13. №2. C. 84–89.

62. Bavoso, N. C., Pinto, J. M., Soares, M., Diniz, M., & Teixeira Júnior, A. L. Psoriasis in obesity: comparison of serum levels of leptin and adiponectin in obese subjects - cases and controls // *Anais brasileiros de dermatologia*. 2019. 94. №2. C. 192–197.

63. Zhu, K. J., Zhang, C., Li, M., Zhu, C. Y., Shi, G., & Fan, Y. M. Leptin levels in patients with psoriasis: a meta-analysis // *Clinical and experimental dermatology*. 2013. 38. №5. C. 478–483.

64. Pina, T., Genre, F., Lopez-Mejias, R., Armesto, S., Ubilla, B., Mijares, V., Dierssen-Sotos, T., Gonzalez-Lopez, M. A., Gonzalez-Vela, M. C., Blanco, R., Hernández, J. L., Llorca, J., & Gonzalez-Gay, M. A. Relationship of leptin with adiposity and inflammation and resistin with disease severity in psoriatic patients undergoing anti-TNF-alpha therapy // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV*. 2015. 29. №10. C. 1995–2001.

65. Chyl-Surdacka, K. M., Gerkowicz, A., Bartosińska, J., Kowal, M., Przepiórka-Kosińska, J., Surdacki, G., Krasowska, D., Chodorowska, G. Analysis of serum chemerin concentrations in psoriatic patients in relation to metabolic abnormalities // *Postepy dermatologii i alergologii*. 2019. 36. №5. C. 531–537.

66. Gisondi, P., Lora, V., Bonauguri, C., Russo, A., Lippi, G., & Girolomoni, G. Serum chemerin is increased in patients with chronic plaque psoriasis and normalizes following treatment with infliximab // *The British journal of dermatology*. 2013. 168. №4. C. 749–755.

67. Nakajima, H., Nakajima, K., Nagano, Y., Yamamoto, M., Tarutani, M., Takahashi, M., Takahashi, Y., Sano, S. Circulating level of chemerin is upregulated in psoriasis // *Journal of dermatological science*. 2010. 60. №1. C. 45–47.
68. Yang, D., Chertov, O., Bykovskaia, S. N., Chen, Q., Buffo, M. J., Shogan, J., Anderson, M., Schröder, J. M., Wang, J. M., Howard, O. M., & Oppenheim, J. J. Beta-defensins: linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6 // *Science (New York, N.Y.)*. 1999. 286. №5439. C. 525–528.
69. Ghannam, S., Dejou, C., Pedretti, N., Giot, J. P., Dorgham, K., Boukhaddaoui, H., Deleuze, V., Bernard, F. X., Jorgensen, C., Yssel, H., Pène, J. CCL20 and β -defensin-2 induce arrest of human Th17 cells on inflamed endothelium in vitro under flow conditions // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2011. 186. №3. C. 1411–1420.
70. Chabaud, M., Page, G., Miossec, P. Enhancing effect of IL-1, IL-17, and TNF-alpha on macrophage inflammatory protein-3alpha production in rheumatoid arthritis: regulation by soluble receptors and Th2 cytokines // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2001. 167. №10. C. 6015–6020.
71. Matsui, T., Akahoshi, T., Namai, R., Hashimoto, A., Kurihara, Y., Rana, M., Nishimura, A., Endo, H., Kitasato, H., Kawai, S., Takagishi, K., Kondo, H. Selective recruitment of CCR6-expressing cells by increased production of MIP-3 alpha in rheumatoid arthritis // *Clinical and experimental immunology*. 2001. 125. №1. C. 155–161.
72. Pène, J., Chevalier, S., Preisser, L., Vénéreau, E., Guilleux, M. H., Ghannam, S., Molès, J. P., Danger, Y., Ravon, E., Lesaux, S., Yssel, H., Gascan, H. Chronically inflamed human tissues are infiltrated by highly differentiated Th17 lymphocytes // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2008. 180. №11. C. 7423–7430.
73. Chiricozzi, A., Suárez-Fariñas, M., Fuentes-Duculan, J., Cueto, I., Li, K., Tian, S., Brodmerkel, C., Krueger, J. G. Increased expression of interleukin-

- 17 pathway genes in nonlesional skin of moderate-to-severe psoriasis vulgaris // *The British journal of dermatology*. 2016. 174. №1. C. 136–145.
74. Sano, S., Chan, K. S., Carbajal, S., Clifford, J., Peavey, M., Kiguchi, K., Itami, S., Nickoloff, B. J., DiGiovanni, J. Stat3 links activated keratinocytes and immunocytes required for development of psoriasis in a novel transgenic mouse model // *Nature medicine*. 2005. 11. №1. C. 43–49.
75. D'Amico, F., Skarmoutsou, E., Granata, M., Trovato, C., Rossi, G. A., Mazzarino, M. C. S100A7: A rAMPing up AMP molecule in psoriasis // *Cytokine & growth factor reviews*. 2016. 32. C. 97–104.
76. Campbell, J. J., Ebsworth, K., Ertl, L. S., McMahon, J. P., Wang, Y., Yau, S., Mali, V. R., Chhina, V., Kumamoto, A., Liu, S., Dang, T., Newland, D., Charo, I. F., Zhang, P., Schall, T. J., & Singh, R. Efficacy of Chemokine Receptor Inhibition in Treating IL-36 α -Induced Psoriasiform Inflammation // *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950). 2019. 202. №6. C. 1687–1692.
77. Mose, M., Kang, Z., Raaby, L., Iversen, L., & Johansen, C. TNF α - and IL-17A-mediated S100A8 expression is regulated by p38 MAPK // *Experimental dermatology*. 2013. 22. №7. C. 476–481.
78. Hu, S. C., Yu, H. S., Yen, F. L., Lin, C. L., Chen, G. S., & Lan, C. C. Neutrophil extracellular trap formation is increased in psoriasis and induces human β -defensin-2 production in epidermal keratinocytes // *Scientific reports*. 2016. 6. C. 31119.
79. Kolbinger, F., Loesche, C., Valentin, M. A., Jiang, X., Cheng, Y., Jarvis, P., Peters, T., Calonder, C., Bruin, G., Polus, F., Aigner, B., Lee, D. M., Bodenlenz, M., Sinner, F., Pieber, T. R., & Patel, D. D. β -Defensin 2 is a responsive biomarker of IL-17A-driven skin pathology in patients with psoriasis // *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2017. 139. №3. C. 923–932.
80. Mabuchi, T., Singh, T. P., Takekoshi, T., Jia, G. F., Wu, X., Kao, M. C., Weiss, I., Farber, J. M., Hwang, S. T. (2013). CCR6 is required for epidermal trafficking of $\gamma\delta$ -T cells in an IL-23-induced model of psoriasiform dermatitis // *The Journal of investigative dermatology*. 2013. 133. №1. C. 164–171.

81. Nakajima, K., & Sano, S. Mouse models of psoriasis and their relevance // *The Journal of dermatology*. 2018. 45. №3. C. 252–263.
82. Shi, X., Jin, L., Dang, E., Chang, T., Feng, Z., Liu, Y., Wang, G. IL-17A upregulates keratin 17 expression in keratinocytes through STAT1- and STAT3-dependent mechanisms // *The Journal of investigative dermatology*. 2011. 131. №12. C. 2401–2408.
83. Takahashi, T., Kulkarni, N. N., Lee, E. Y., Zhang, L. J., Wong, G., Gallo, R. L. Cathelicidin promotes inflammation by enabling binding of self-RNA to cell surface scavenger receptors // *Scientific reports*. 2018. 8. №1. C. 4032.
84. Ong, P. Y., Ohtake, T., Brandt, C., Strickland, I., Boguniewicz, M., Ganz, T., Gallo, R. L., & Leung, D. Y. Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis // *The New England journal of medicine*. 2002. 347. №15. C. 1151–1160.
85. de Jongh, G. J., Zeeuwen, P. L., Kucharekova, M., Pfundt, R., van der Valk, P. G., Blokk, W., Dogan, A., Hiemstra, P. S., van de Kerkhof, P. C., & Schalkwijk, J. (2005). High expression levels of keratinocyte antimicrobial proteins in psoriasis compared with atopic dermatitis // *The Journal of investigative dermatology*. 2005. 125. №6. C. 1163–1173.
86. Boehncke WH, Schön MP. Psoriasis. *Lancet*. 2015. 386. C. 983-994.
87. Furue, K., Yamamura, K., Tsuji, G., Mitoma, C., Uchi, H., Nakahara, T., Kido-Nakahara, M., Kadono, T., Furue, M. Highlighting Interleukin-36 Signalling in Plaque Psoriasis and Pustular Psoriasis // *Acta dermato-venereologica*. 2018. 98. №1. C. 5–13.
88. Singh, S. P., Zhang, H. H., Foley, J. F., Hedrick, M. N., & Farber, J. M. Human T cells that are able to produce IL-17 express the chemokine receptor CCR6 // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2008. 180. №1. C. 214–221.
89. Harper, E. G., Guo, C., Rizzo, H., Lillis, J. V., Kurtz, S. E., Skorcheva, I., Purdy, D., Fitch, E., Iordanov, M., & Blauvelt, A. Th17 cytokines stimulate CCL20 expression in keratinocytes in vitro and in vivo: implications for

psoriasis pathogenesis // *The Journal of investigative dermatology*. 2009. 129. №9. C. 2175–2183.

90. Brunner, P. M., Suárez-Fariñas, M., He, H., Malik, K., Wen, H. C., Gonzalez, J., Chan, T. C., Estrada, Y., Zheng, X., Khattri, S., Dattola, A., Krueger, J. G., & Guttman-Yassky, E. The atopic dermatitis blood signature is characterized by increases in inflammatory and cardiovascular risk proteins // *Scientific reports*. 2017. 7. №1. C. 8707.

91. Liang, S. C., Tan, X. Y., Luxenberg, D. P., Karim, R., Dunussi-Joannopoulos, K., Collins, M., & Fouser, L. A. Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides // *The Journal of experimental medicine*. 2006. 203. №10. C. 2271–2279.

92. Chan, J. R., Blumenschein, W., Murphy, E., Diveu, C., Wiekowski, M., Abbondanzo, S., Lucian, L., Geissler, R., Brodie, S., Kimball, A. B., Gorman, D. M., Smith, K., de Waal Malefyt, R., Kastelein, R. A., McClanahan, T. K., & Bowman, E. P. IL-23 stimulates epidermal hyperplasia via TNF and IL-20R2-dependent mechanisms with implications for psoriasis pathogenesis // *The Journal of experimental medicine*. 2006. 203. №12. C. 2577–2587.

93. Karbach, S., Croxford, A. L., Oelze, M., Schüler, R., Minwegen, D., Wegner, J., Koukes, L., Yogeve, N., Nikolaev, A., Reißig, S., Ullmann, A., Knorr, M., Waldner, M., Neurath, M. F., Li, H., Wu, Z., Brochhausen, C., Scheller, J., Rose-John, S., Piotrowski, C., Münzel, T. Interleukin 17 drives vascular inflammation, endothelial dysfunction, and arterial hypertension in psoriasis-like skin disease // *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2014. 34. №12. C. 2658–2668.

94. Calautti, E., Avallè, L., & Poli, V. Psoriasis: A STAT3-Centric View // *International journal of molecular sciences*. 2018. 19. №1. C. 171.

95. Langrish, C. L., Chen, Y., Blumenschein, W. M., Mattson, J., Basham, B., Sedgwick, J. D., McClanahan, T., Kastelein, R. A., & Cua, D. J. IL-23 drives

a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation // *The Journal of experimental medicine*. 2005. 201. №2. C. 233–240.

96. Miyoshi, K., Takaishi, M., Nakajima, K., Ikeda, M., Kanda, T., Tarutani, M., Iiyama, T., Asao, N., DiGiovanni, J., Sano, S. Stat3 as a therapeutic target for the treatment of psoriasis: a clinical feasibility study with STA-21, a Stat3 inhibitor // *The Journal of investigative dermatology*. 2011. 131. №1. C. 108–117.

97. Avitabile, S., Odorisio, T., Madonna, S., Eyerich, S., Guerra, L., Eyerich, K., Zambruno, G., Cavani, A., Cianfarani, F. (2015). Interleukin-22 Promotes Wound Repair in Diabetes by Improving Keratinocyte Pro-Healing Functions // *The Journal of investigative dermatology*. 2015. 135(11), 2862–2870.

98. Guttman-Yassky, E., Krueger, J. G., Lebwohl, M. G. Systemic immune mechanisms in atopic dermatitis and psoriasis with implications for treatment // *Experimental dermatology*. 2018. 27. №4. C. 409–417.

99. Muhr, P., Zeitvogel, J., Heitland, I., Werfel, T., Wittmann, M. Expression of interleukin (IL)-1 family members upon stimulation with IL-17 differs in keratinocytes derived from patients with psoriasis and healthy donors // *The British journal of dermatology*. 2011. 165. №1. C. 189–193.

100. Wang, C., Akalu, Y. T., Suarez-Farinas, M., Gonzalez, J., Mitsui, H., Lowes, M. A., Orlow, S. J., Manga, P., Krueger, J. G. IL-17 and TNF synergistically modulate cytokine expression while suppressing melanogenesis: potential relevance to psoriasis // *The Journal of investigative dermatology*. 2013. 133. №12. C. 2741–2752.

101. Yazdanpanah, M. J., Banihashemi, M., Pezeshkpoor, F., Moradifar, M., Feli, S., Esmaceli, H. (2015). Evaluation between Association of Psoriasis and Vitiligo // *Journal of cutaneous medicine and surgery*. 2015. 19. №2. C. 140–143.

102. Schön, M. P., Broekaert, S. M., Erpenbeck, L. Sexy again: the renaissance of neutrophils in psoriasis // *Experimental dermatology*. 2017. 26. №4. 305–311.
103. Ghoreschi, K., Weigert, C., Röcken, M. Immunopathogenesis and role of T cells in psoriasis // *Clinics in dermatology*. 25. №6. C. 574–580.
104. Di Meglio, P., Villanova, F., Navarini, A. A., Mylonas, A., Tosi, I., Nestle, F. O., Conrad, C. Targeting CD8(+) T cells prevents psoriasis development // *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2016. 138. №1. C. 274–276.
105. Gardembas-Pain, M., Ifrah, N., Foussard, C., Boasson, M., Saint Andre, J. P., Verret, J. L. Psoriasis after allogeneic bone marrow transplantation // *Archives of dermatology*. 1999. 126. №11. C. 1523.
106. Lynde, C. W., Poulin, Y., Vender, R., Bourcier, M., & Khalil, S. Interleukin 17A: toward a new understanding of psoriasis pathogenesis // *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2014. 71. №1. C. 141–150.
107. Chang, S. H., Reynolds, J. M., Pappu, B. P., Chen, G., Martinez, G. J., Dong, C. Interleukin-17C promotes Th17 cell responses and autoimmune disease via interleukin-17 receptor E // *Immunity*. 2011. 35. №4. C. 611–621.
108. Martin, D. A., Towne, J. E., Kricorian, G., Klekotka, P., Gudjonsson, J. E., Krueger, J. G., Russell, C. B. (2013). The emerging role of IL-17 in the pathogenesis of psoriasis: preclinical and clinical findings // *The Journal of investigative dermatology*. 2013. 133. №1. C. 17–26.
109. Zenobia, C., Hajishengallis, G. Basic biology and role of interleukin-17 in immunity and inflammation // *Periodontology*. 2015. 2000. № 69. C. 142–159.
110. Crish, J. F., Gopalakrishnan, R., Bone, F., Gilliam, A. C., Eckert, R. L. The distal and proximal regulatory regions of the involucrin gene promoter have distinct functions and are required for in vivo involucrin expression // *The Journal of investigative dermatology*. 2006. 126. №2. C. 305–314.
111. Witte, E., Kokolakis, G., Witte, K., Philipp, S., Doecke, W. D., Babel, N., Wittig, B. M., Warszawska, K., Kurek, A., Erdmann-Keding, M., Kunz, S.,

- Asadullah, K., Kadin, M. E., Volk, H. D., Sterry, W., Wolk, K., Sabat, R. IL-19 is a component of the pathogenetic IL-23/IL-17 cascade in psoriasis // *The Journal of investigative dermatology*. 2014. 134. №11. C. 2757–2767.
112. Chen, X., Cai, G., Liu, C., Zhao, J., Gu, C., Wu, L., Hamilton, T. A., Zhang, C. J., Ko, J., Zhu, L., Qin, J., Vidimos, A., Koyfman, S., Gastman, B. R., Jensen, K. B., Li, X. IL-17R-EGFR axis links wound healing to tumorigenesis in Lrig1⁺ stem cells // *The Journal of experimental medicine*. 2019. 216. №1. C. 195–214.
113. Acciani, T. H., Suzuki, T., Trapnell, B. C., Le Cras, T. D. Epidermal growth factor receptor signalling regulates granulocyte-macrophage colony-stimulating factor production by airway epithelial cells and established allergic airway disease // *Clinical and experimental allergy : journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 2016. 46. №2. C. 317–328.
114. Honma, M., Minami-Hori, M., Takahashi, H., Iizuka, H. Podoplanin expression in wound and hyperproliferative psoriatic epidermis: regulation by TGF- β and STAT-3 activating cytokines, IFN- γ , IL-6, and IL-22 // *Journal of dermatological science*. 2012. 65. №2. C. 134–140.
115. de Oliveira, P. S., Cardoso, P. R., Lima, E. V., Pereira, M. C., Duarte, A. L., Pitta, I., Rêgo, M. J., Pitta, M. G. IL-17A, IL-22, IL-6, and IL-21 Serum Levels in Plaque-Type Psoriasis in Brazilian Patients // *Mediators of inflammation*. 2015. 2015. C. 819149.
116. Sa, S. M., Valdez, P. A., Wu, J., Jung, K., Zhong, F., Hall, L., Kasman, I., Winer, J., Modrusan, Z., Danilenko, D. M., Ouyang, W. The effects of IL-20 subfamily cytokines on reconstituted human epidermis suggest potential roles in cutaneous innate defense and pathogenic adaptive immunity in psoriasis // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2007. 178. №4. C. 2229–2240.
117. Ettehadi, P., Greaves, M. W., Wallach, D., Aderka, D., Camp, R. D. (1994). Elevated tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) biological activity

in psoriatic skin lesions // *Clinical and experimental immunology*. 1994. 96. №1. C. 146–151.

118. Martin, J. C., Wolk, K., Bériou, G., Abidi, A., Witte-Händel, E., Louvet, C., Kokolakis, G., Drujont, L., Dumoutier, L., Renauld, J. C., Sabat, R., Josien, R. Limited Presence of IL-22 Binding Protein, a Natural IL-22 Inhibitor, Strengthens Psoriatic Skin Inflammation // *Journal of immunology* (Baltimore, Md. : 1950). 2017. 198. №9. C. 3671–3678.

119. Ekman, A. K., Bivik Eding, C., Rundquist, I., Enerbäck, C. IL-17 and IL-22 Promote Keratinocyte Stemness in the Germinative Compartment in Psoriasis // *The Journal of investigative dermatology*. 2019. 139. №7. C. 1564–1573.

120. Cordoro, K. M., Hitraya-Low, M., Taravati, K., Sandoval, P. M., Kim, E., Sugarman, J., Pauli, M. L., Liao, W., Rosenblum, M. D. Skin-infiltrating, interleukin-22-producing T cells differentiate pediatric psoriasis from adult psoriasis // *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2017. 77. №3. C. 417–424.

121. Chen, L., Deshpande, M., Grisotto, M., Smaldini, P., Garcia, R., He, Z., Gulko, P. S., Lira, S. A., Furtado, G. C. Skin expression of IL-23 drives the development of psoriasis and psoriatic arthritis in mice // *Scientific reports*. 2020. 10. №1. C. 8259.

122. Reich, K., Langley, R. G., Papp, K. A., Ortonne, J. P., Unnebrink, K., Kaul, M., Valdes, J. M. A 52-week trial comparing briakinumab with methotrexate in patients with psoriasis // *The New England journal of medicine*. 2011. 365. №17. C. 1586–1596.

123. Shi, Y., Chen, Z., Zhao, Z., Yu, Y., Fan, H., Xu, X., Bu, X., Gu, J. IL-21 Induces an Imbalance of Th17/Treg Cells in Moderate-to-Severe Plaque Psoriasis Patients // *Frontiers in immunology*. 2019. 10. C. 1865.

124. Coimbra, S., Figueiredo, A., Castro, E., Rocha-Pereira, P., Santos-Silva, A. The roles of cells and cytokines in the pathogenesis of psoriasis // *International journal of dermatology*. 2012. 51. №4. C. 389–398.

125. Naldi, L., Gambini, D. The clinical spectrum of psoriasis // Clinics in dermatology. 2007. 25. №6. C. 510–518.
126. Harden, J. L., Johnson-Huang, L. M., Chamian, M. F., Lee, E., Pearce, T., Leonardi, C. L., Haider, A., Lowes, M. A., Krueger, J. G. Humanized anti-IFN- γ (HuZAF) in the treatment of psoriasis // The Journal of allergy and clinical immunology. 2015. 135. №2. C. 553–556.
127. Ghoreschi, K., Thomas, P., Breit, S., Dugas, M., Mailhammer, R., van Eden, W., van der Zee, R., Biedermann, T., Prinz, J., Mack, M., Mrowietz, U., Christophers, E., Schlöndorff, D., Plewig, G., Sander, C. A., Röcken, M. Interleukin-4 therapy of psoriasis induces Th2 responses and improves human autoimmune disease // Nature medicine. 2003. 9. №1. C. 40–46.
128. Onderdijk, A. J., Baerveldt, E. M., Kurek, D., Kant, M., Florencia, E. F., Debets, R., Prens, E. P. (2015). IL-4 Downregulates IL-1 β and IL-6 and Induces GATA3 in Psoriatic Epidermal Cells: Route of Action of a Th2 Cytokine // Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950). 2015. 195. №4. C. 1744–1752.
129. Rácz, E., Kurek, D., Kant, M., Baerveldt, E. M., Florencia, E., Mourits, S., de Ridder, D., Laman, J. D., van der Fits, L., Prens, E. P. GATA3 expression is decreased in psoriasis and during epidermal regeneration; induction by narrow-band UVB and IL-4 // PloS one. 2011. 6. №5. C. 19806.
130. Matos, T. R., O'Malley, J. T., Lowry, E. L., Hamm, D., Kirsch, I. R., Robins, H. S., Kupper, T. S., Krueger, J. G., Clark, R. A. Clinically resolved psoriatic lesions contain psoriasis-specific IL-17-producing $\alpha\beta$ T cell clones // The Journal of clinical investigation. 2017. 127. №11. C. 4031–4041.
131. Kanamori, H., Tanaka, M., Kawaguchi, H., Yamaji, S., Fujimaki, K., Tomita, N., Fujisawa, S., Ishigatsubo, Y. Resolution of psoriasis following allogeneic bone marrow transplantation for chronic myelogenous leukemia: case report and review of the literature // American journal of hematology. 2002. 71. №1. C. 41–44.

132. Ramírez-Valle, F., Gray, E. E., Cyster, J. G. Inflammation induces dermal V γ 4+ $\gamma\delta$ T17 memory-like cells that travel to distant skin and accelerate secondary IL-17-driven responses // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2015. 112. №26. C. 8046–8051.
133. Singh, T. P., Zhang, H. H., Hwang, S. T., & Farber, J. M. (2019). IL-23- and Imiquimod-Induced Models of Experimental Psoriasis in Mice // *Current protocols in immunology*. 2019. 125. №1. C. 71.
134. Armengol, M. P., Cardoso-Schmidt, C. B., Fernández, M., Ferrer, X., Pujol-Borrell, R., Juan, M. Chemokines determine local lymphoneogenesis and a reduction of circulating CXCR4+ T and CCR7 B and T lymphocytes in thyroid autoimmune diseases // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2003. 170. №12. C. 6320–6328.
135. Rangel-Moreno, J., Hartson, L., Navarro, C., Gaxiola, M., Selman, M., Randall, T. D. Inducible bronchus-associated lymphoid tissue (iBALT) in patients with pulmonary complications of rheumatoid arthritis // *The Journal of clinical investigation*. 2006. 116. №12. C. 3183–3194.
136. Nasr, I. W., Reel, M., Oberbarnscheidt, M. H., Mounzer, R. H., Badoura, F. K., Ruddle, N. H., Lakkis, F. G. Tertiary lymphoid tissues generate effector and memory T cells that lead to allograft rejection // *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2007. 7. №5. C. 1071–1079.
137. Owczarczyk Saczonek, A., Krajewska-Włodarczyk, M., Kasprowicz-Furmańczyk, M., Placek, W. Immunological Memory of Psoriatic Lesions // *International journal of molecular sciences*. 2020. 21. №2. C. 625.
138. Cheuk, S., Wikén, M., Blomqvist, L., Nylén, S., Talme, T., Stähle, M., Eidsmo, L. Epidermal Th22 and Tc17 cells form a localized disease memory in clinically healed psoriasis // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2014. 192. №7. C. 3111–3120.
139. Fenix, K., Wijesundara, D. K., Cowin, A. J., Grubor-Bauk, B., Kopecki, Z. (2020). Immunological Memory in Imiquimod-Induced Murine Model of

Psoriasiform Dermatitis // International journal of molecular sciences. 2020. 21. №19. C. 7228.

140. Amsen, D., van Gisbergen, K., Hombrink, P., & van Lier, R. (2018). Tissue-resident memory T cells at the center of immunity to solid tumors // Nature immunology. 19. №6. C. 538–546.

141. Fujiyama, T., Umayahara, T., Kurihara, K., Shimauchi, T., Ito, T., Aoshima, M., Otobe, E., Hashizume, H., Yagi, H., Tokura, Y. Skin Infiltration of Pathogenic Migratory and Resident T Cells Is Decreased by Secukinumab Treatment in Psoriasis // The Journal of investigative dermatology. 2020. 140. №10. C. 2073–2076.e6.

142. Dyring-Andersen, B., Bonefeld, C. M., Bzorek, M., Løvendorf, M. B., Lauritsen, J. P., Skov, L., Geisler, C. The Vitamin D Analogue Calcipotriol Reduces the Frequency of CD8⁺ IL-17⁺ T Cells in Psoriasis Lesions // Scandinavian journal of immunology. 82. №1. C. 84–91.

143. Fujiyama, T., Ito, T., Umayahara, T., Ikeya, S., Tatsuno, K., Funakoshi, A., Hashizume, H., Tokura, Y. Topical application of a vitamin D3 analogue and corticosteroid to psoriasis plaques decreases skin infiltration of TH17 cells and their ex vivo expansion // The Journal of allergy and clinical immunology. 2016. 138. №2. C. 517–528.

144. Leijten, E. F., van Kempen, T. S., Olde Nordkamp, M. A., Pouw, J. N., Kleinrensink, N. J., Vincken, N. L., Mertens, J., Balak, D., Verhagen, F. H., Hartgring, S. A., Lubberts, E., Tekstra, J., Pandit, A., Radstake, T. R., Boes, M. Tissue-Resident Memory CD8⁺ T Cells From Skin Differentiate Psoriatic Arthritis From Psoriasis // Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.). 2021. 73. №7. C. 1220–1232.

145. Cheuk, S., Schlums, H., Gallais Sérézal, I., Martini, E., Chiang, S. C., Marquardt, N., Gibbs, A., Detlofsson, E., Introini, A., Forkel, M., Höög, C., Tjernlund, A., Michaëlsson, J., Folkersen, L., Mjösberg, J., Blomqvist, L., Ehrström, M., Stähle, M., Bryceson, Y. T., Eidsmo, L. CD49a Expression Defines

Tissue-Resident CD8⁺ T Cells Poised for Cytotoxic Function in Human Skin // *Immunity*. 2017. 46. №2. C. 287–300.

146. Gallais Sérézal, I., Classon, C., Cheuk, S., Barrientos-Somarribas, M., Wadman, E., Martini, E., Chang, D., Xu Landén, N., Ehrström, M., Nylén, S., Eidsmo, L. Resident T Cells in Resolved Psoriasis Steer Tissue Responses that Stratify Clinical Outcome // *The Journal of investigative dermatology*. 2018. 138. №8. C. 1754–1763.

147. Lowes, M. A., Russell, C. B., Martin, D. A., Towne, J. E., Krueger, J. G. The IL-23/T17 pathogenic axis in psoriasis is amplified by keratinocyte responses // *Trends in immunology*. 2013. 34. №4. C. 174–181.

148. Vu, T. T., Koguchi-Yoshioka, H., Watanabe, R. (2021). Skin-Resident Memory T Cells: Pathogenesis and Implication for the Treatment of Psoriasis // *Journal of clinical medicine*. 2021. 10. №17. C. 3822.

149. Homey, B., Alenius, H., Müller, A., Soto, H., Bowman, E. P., Yuan, W., McEvoy, L., Lauerma, A. I., Assmann, T., Bünemann, E., Lehto, M., Wolff, H., Yen, D., Marxhausen, H., To, W., Sedgwick, J., Ruzicka, T., Lehmann, P., Zlotnik, A. CCL27-CCR10 interactions regulate T cell-mediated skin inflammation // *Nature medicine*. 2002. 8. №2. C. 157–165.

150. Ho, A. W., Kupper, T. S. T cells and the skin: from protective immunity to inflammatory skin disorders // *Nature reviews. Immunology*. 2019. 19. №8. C. 490–502.

151. Hartwig, T., Pantelyushin, S., Croxford, A. L., Kulig, P., Becher, B. Dermal IL-17-producing $\gamma\delta$ T cells establish long-lived memory in the skin // *European journal of immunology*. 2015. 45. №11. C. 3022–3033.

152. Gebhardt, T., Mueller, S. N., Heath, W. R., Carbone, F. R. Peripheral tissue surveillance and residency by memory T cells // *Trends in immunology*. 2013. 34. №1. C. 27–32.

153. Gaide, O., Emerson, R. O., Jiang, X., Gulati, N., Nizza, S., Desmarais, C., Robins, H., Krueger, J. G., Clark, R. A., Kupper, T. S. Common clonal origin

of central and resident memory T cells following skin immunization // *Nature medicine*. 2015. 21. №6. C. 647–653.

154. Thome, J. J., Farber, D. L. Emerging concepts in tissue-resident T cells: lessons from humans // *Trends in immunology*. 2015. 36. №7. C. 428–435.

155. Gehad, A., Teague, J. E., Matos, T. R., Huang, V., Yang, C., Watanabe, R., O'Malley, J. T., Trimble, C. L., Kupper, T. S., Clark, R. A. (2018). A primary role for human central memory cells in tissue immunosurveillance // *Blood advances*. 2018. 2. №3. C. 292–298.

156. Park, C. O., Fu, X., Jiang, X., Pan, Y., Teague, J. E., Collins, N., Tian, T., O'Malley, J. T., Emerson, R. O., Kim, J. H., Jung, Y., Watanabe, R., Fuhlbrigge, R. C., Carbone, F. R., Gebhardt, T., Clark, R. A., Lin, C. P., Kupper, T. S. Staged development of long-lived T-cell receptor $\alpha\beta$ T_H17 resident memory T-cell population to *Candida albicans* after skin infection // *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2018. 142. №2. C. 647–662.

157. Casciano, F., Diani, M., Altomare, A., Granucci, F., Secchiero, P., Banfi, G., Reali, E. CCR4⁺ Skin-Tropic Phenotype as a Feature of Central Memory CD8⁺ T Cells in Healthy Subjects and Psoriasis Patients // *Frontiers in immunology*. 2020. 11. C. 529.

158. Sgambelluri, F., Diani, M., Altomare, A., Frigerio, E., Drago, L., Granucci, F., Banfi, G., Altomare, G., Reali, E. A role for CCR5(+)CD4 T cells in cutaneous psoriasis and for CD103(+) CCR4(+) CD8 Teff cells in the associated systemic inflammation // *Journal of autoimmunity*. 2016. 70. C. 80–90.

159. Carrascosa, J. M., Rocamora, V., Fernandez-Torres, R. M., Jimenez-Puya, R., Moreno, J. C., Coll-Puigserver, N., Fonseca, E. Obesity and psoriasis: inflammatory nature of obesity, relationship between psoriasis and obesity, and therapeutic implications // *Actas dermo-sifiliograficas*. 2014. 105. №1. C. 31–44.

160. Bosè, F., Petti, L., Diani, M., Moscheni, C., Molteni, S., Altomare, A., Rossi, R. L., Talarico, D., Fontana, R., Russo, V., Altomare, G., Reali, E. Inhibition of CCR7/CCL19 axis in lesional skin is a critical event for clinical

remission induced by TNF blockade in patients with psoriasis // The American journal of pathology. 2013. 183 №2. C. 413–421.

161. Baaten, B.J.; Cooper, A.M.; Swain, S.L.; Bradley, L.M. Location, location, location: The impact of migratory heterogeneity on T cell function. *Frontiers of Immunology*. 2013. 4. C. 311.

162. Ahmadzadeh, M.; Hussain, S.F.; Farber, D.L. Effector CD4 T cells are biochemically distinct from the memory subset: Evidence for long-term persistence of effectors in vivo // *The Journal of Immunology*. 1999. 163. C. 3053–3063.

163. Harrington, L.E.; Janowski, K.M.; Oliver, J.R.; Zajac, A.J.; Weaver, C.T. Memory CD4 T cells emerge from effector T-cell progenitors // *Nature*. 2008. 452. C. 356–360.

164. Moulton, V. R., Bushar, N. D., Leiser, D. B., Patke, D. S., Farber, D. L. Divergent generation of heterogeneous memory CD4 T cells // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2006. 177. №2. C. 869–876.

165. Williams, M.A.; Ravkov, E.V.; Bevan, M.J. Rapid culling of the CD4+ T cell repertoire in the transition from effector to memory // *Immunity*. 2008. 28. C. 533–545.

166. Woodland, D.L., Kohlmeier, J.E. Migration, maintenance and recall of memory T cells in peripheral tissues // *Nature Reviews Immunology*. 2009. 9. C. 153–161.

167. Gebhardt, T., Wakim, L. M., Eidsmo, L., Reading, P. C., Heath, W. R., Carbone, F. R. Memory T cells in nonlymphoid tissue that provide enhanced local immunity during infection with herpes simplex virus // *Nature immunology*. 2009. 10. №5. C. 524–530.

168. Turner, D. L., Gordon, C. L., Farber, D. L. Tissue-resident T cells, in situ immunity and transplantation // *Immunological reviews*. 2014. 258. №1. C. 150–166.

169. Whitmire, J.K., Eam, B.; Benning, N.; Whitton, J.L. Direct interferon-gamma signaling dramatically enhances CD4⁺ and CD8⁺ T cell memory // *Journal of Immunology*. 2007. 179. C. 1190–1197.
170. Afkarian, M. Sedy, J.R.; Yang, J.; Jacobson, N.G.; Cereb, N.; Yang, S.Y.; Murphy, T.L.; Murphy, K.M. T-bet is a STAT1-induced regulator of IL-12R expression in naive CD4⁺ T cells // *Nature Immunology*. 2002. 3. C. 549–557.
171. Duttagupta, P.A., Boesteanu, A.C.; Katsikis, P.D. Costimulation signals for memory CD8⁺ T cells during viral infections. *Critical Reviews in Immunology*. 2009. 29. C. 469–486.
172. Mishima, T., Toda, S., Ando, Y., Matsunaga, T., Inobe, M. Rapid proliferation of activated lymph node CD4(+) T cells is achieved by greatly curtailing the duration of gap phases in cell cycle progression // *Cellular & molecular biology letters*. 2014. 19. №4. C. 638–648.
173. Cho, B. K., Wang, C., Sugawa, S., Eisen, H. N., Chen, J. (1999). Functional differences between memory and naive CD8 T cells // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999. 96. №6. C. 2976–2981.
174. Li, J.; Huston, G.; Swain, S.L. IL-7 promotes the transition of CD4 effectors to persistent memory cells // *Journal of experimental medicine*. 2003. 198. C. 1807–1815.
175. Croft, M. Activation of naive, memory and effector T cells // *Current Opinion in Immunology*. 1994. 6. C. 431–437.
176. Baumgartner, C. K., Yagita, H., & Malherbe, L. P. (2012). A TCR affinity threshold regulates memory CD4 T cell differentiation following vaccination // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2012. 189. №5. C. 2309–2317.
177. Xiong, S.Q.; Lin, B.L.; Gao, X.; Tang, H.; Wu, C.Y. IL-12 promotes HBV-specific central memory CD8⁺ T cell responses by PBMCs from chronic

hepatitis B virus carriers // *International Immunopharmacology*. 2007. 7. C. 578–587.

178. Dhume, K., McKinstry, K.K. Early programming and late-acting checkpoints governing the development of CD4 T-cell memory // *Immunology*. 2018. 155. C. 53–62.

179. Crotty, S.; Johnston, R.J.; Schoenberger, S.P. Effectors and memories: Bcl-6 and Blimp-1 in T and B lymphocyte differentiation // *Nature Immunology*. 2010. 11. C. 114–120.

180. Mitchell, D. M., Ravkov, E. V., & Williams, M. A. Distinct roles for IL-2 and IL-15 in the differentiation and survival of CD8⁺ effector and memory T cells // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2010. 184. №12. C. 6719–6730.

181. Pepper, M., Pagan, A.J.; Igyarto, B.Z.; Taylor, J.J.; Jenkins, M.K. Opposing signals from the Bcl6 transcription factor and the interleukin-2 receptor generate T helper 1 central and effector memory cells // *Immunity*. 2011. 35. C. 583–595.

182. Belz, G.T.; Masson, F. Interleukin-2 tickles T cell memory // *Immunity*. 2010. 32. C. 7–9.

183. Yamaki, S., Ine, S., Kawabe, T., Okuyama, Y., Suzuki, N., Soroosh, P., Mousavi, S. F., Nagashima, H., Sun, S. L., So, T., Sasaki, T., Harigae, H., Sugamura, K., Kudo, H., Wada, M., Nio, M., Ishii, N. OX40 and IL-7 play synergistic roles in the homeostatic proliferation of effector memory CD4⁺ T cells // *European journal of immunology*. 2014. 44. №10. C. 3015–3025.

184. Seki, Y., Inoue, H., Nagata, N., Hayashi, K., Fukuyama, S., Matsumoto, K., Komine, O., Hamano, S., Himeno, K., Inagaki-Ohara, K., Cacalano, N., O'Garra, A., Oshida, T., Saito, H., Johnston, J. A., Yoshimura, A., Kubo, M. SOCS-3 regulates onset and maintenance of T(H)2-mediated allergic responses // *Nature medicine*. 2003. 9. №8. C. 1047–1054.

185. Sallusto, F., Lenig, D.; Forster, R.; Lipp, M.; Lanzavecchia, A. Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions // *Nature*. 1999. 401. C. 708–712.
186. Unsoeld, H., Pircher, H. Complex memory T-cell phenotypes revealed by coexpression of CD62L and CCR7 // *Journal of virology*. 2005. 79. C. 4510–4513.
187. Blair, D. A., Lefrançois, L. (2007). Increased competition for antigen during priming negatively impacts the generation of memory CD4 T cells // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007. 104. №38. C. 15045–15050.
188. Klicznik, M. M., Morawski, P. A., Höllbacher, B., Varkhande, S. R., Motley, S. J., Kuri-Cervantes, L., Goodwin, E., Rosenblum, M. D., Long, S. A., Brachtl, G., Duhon, T., Betts, M. R., Campbell, D. J., Gratz, I. K. Human CD4⁺CD103⁺ cutaneous resident memory T cells are found in the circulation of healthy individuals // *Science immunology*. 2019. 4. №37. eaav8995.
189. Azadniv, M.; Bowers, W.J.; Topham, D.J.; Crispe, I.N. CD4⁺ T cell effects on CD8⁺ T cell location defined using bioluminescence // *PLoS ONE*. 2011. 6. e16222.
190. Sathaliyawala, T., Kubota, M., Yudanin, N., Turner, D., Camp, P., Thome, J. J., Bickham, K. L., Lerner, H., Goldstein, M., Sykes, M., Kato, T., & Farber, D. L. (2013). Distribution and compartmentalization of human circulating and tissue-resident memory T cell subsets. *Immunity*, 38(1), 187–197.
191. Schenkel, J.M., Masopust, D. Tissue-resident memory T cells // *Immunity*. 2014. 41. C. 886–897.
192. Casey, K. A., Fraser, K. A., Schenkel, J. M., Moran, A., Abt, M. C., Beura, L. K., Lucas, P. J., Artis, D., Wherry, E. J., Hogquist, K., Vezys, V., Masopust, D. Antigen-independent differentiation and maintenance of effector-like resident memory T cells in tissues // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2012. 188. №10. C. 4866–4875.

193. Carbone, F.R.; Gebhardt, T. Should I stay or should I go-Reconciling clashing perspectives on CD4(+) tissue-resident memory T cells // *Science Immunology*. 2019. 4.
194. Smith, A. L., Wikstrom, M. E., Fazekas de St Groth, B. (2000). Visualizing T cell competition for peptide/MHC complexes: a specific mechanism to minimize the effect of precursor frequency // *Immunity*. 13. №6. C. 783–794.
195. Leonard, W. J., Shores, E. W., Love, P. Role of the common cytokine receptor gamma chain in cytokine signaling and lymphoid development // *Immunological reviews*. 148. C. 97–114.
196. Habib, T., Senadheera, S., Weinberg, K., & Kaushansky, K. The common gamma chain (gamma c) is a required signaling component of the IL-21 receptor and supports IL-21-induced cell proliferation via JAK3 // *Biochemistry*. 41. №27. C. 8725–8731.
197. Asao, H., Okuyama, C., Kumaki, S., Ishii, N., Tsuchiya, S., Foster, D., Sugamura, K. Cutting edge: the common gamma-chain is an indispensable subunit of the IL-21 receptor complex // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2001. 167. №1. C. 1–5.
198. Barata, J. T., Silva, A., Brandao, J. G., Nadler, L. M., Cardoso, A. A., Boussiotis, V. A. Activation of PI3K is indispensable for interleukin 7-mediated viability, proliferation, glucose use, and growth of T cell acute lymphoblastic leukemia cells // *The Journal of experimental medicine*. 2004. 200. №5. C. 659–669.
199. Fry, T. J., Mackall, C. L. (2002). Interleukin-7: from bench to clinic // *Blood*. 2002. 99. №11. C. 3892–3904.
200. Kim, G. Y., Hong, C., Park, J. H. Seeing is believing: illuminating the source of in vivo interleukin-7 // *Immune network*. 2011. 11. №1. C. 1–10.
201. Onder, L., Narang, P., Scandella, E., Chai, Q., Iolyeva, M., Hoorweg, K., Halin, C., Richie, E., Kaye, P., Westermann, J., Cupedo, T., Coles, M., Ludwig, B. IL-7-producing stromal cells are critical for lymph node remodeling // *Blood*. 2012. 120. №24. C. 4675–4683.

202. Iolyeva, M., Aebischer, D., Proulx, S. T., Willrodt, A. H., Ecoiffier, T., Häner, S., Bouchaud, G., Krieg, C., Onder, L., Ludewig, B., Santambrogio, L., Boyman, O., Chen, L., Finke, D., Halin, C. Interleukin-7 is produced by afferent lymphatic vessels and supports lymphatic drainage // *Blood*. 2013. 122. №13. C. 2271–2281.
203. Moors, M., Vudattu, N. K., Abel, J., Krämer, U., Rane, L., Ulfig, N., Ceccatelli, S., Seyfert-Margolies, V., Fritsche, E., Maeurer, M. J. Interleukin-7 (IL-7) and IL-7 splice variants affect differentiation of human neural progenitor cells // *Genes and immunity*. 11. №1. C. 11–20.
204. Sinclair, C., Saini, M., Schim van der Loeff, I., Sakaguchi, S., Seddon, B. The long-term survival potential of mature T lymphocytes is programmed during development in the thymus // *Science signaling*. 4. №199. ra77.
205. Guimond, M., Veenstra, R. G., Grindler, D. J., Zhang, H., Cui, Y., Murphy, R. D., Kim, S. Y., Na, R., Hennighausen, L., Kurtulus, S., Erman, B., Matzinger, P., Merchant, M. S., Mackall, C. L. Interleukin 7 signaling in dendritic cells regulates the homeostatic proliferation and niche size of CD4⁺ T cells // *Nature immunology*. 2009. 10. №2. C. 149–157.
206. Gonzalez-Quintial, R., Lawson, B. R., Scatizzi, J. C., Craft, J., Kono, D. H., Baccala, Theofilopoulos, A. N. Systemic autoimmunity and lymphoproliferation are associated with excess IL-7 and inhibited by IL-7R α blockade // *PloS one*. 6. №11. C. e27528.
207. Jin, J. O., Shinohara, Y., Yu, Q. Innate immune signaling induces interleukin-7 production from salivary gland cells and accelerates the development of primary Sjögren's syndrome in a mouse model // *PloS one*. 2013. 8. №10. C. e77605.
208. Wang, Y., Dai, H., Liu, Z., Cheng, X., Tellides, G., Dai, Z. Neutralizing IL-7 promotes long-term allograft survival induced by CD40/CD40L costimulatory blockade // *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2006. 6. №12. C. 2851–2860.

209. Mai, H. L., Boeffard, F., Longis, J., Danger, R., Martinet, B., Haspot, F., Vanhove, B., Brouard, S., Soullillou, J. P. (2014). IL-7 receptor blockade following T cell depletion promotes long-term allograft survival // *The Journal of clinical investigation*. 2014. 124. №4. C. 1723–1733.
210. Bao, C., Wang, B., Yang, F., Chen, L. (2018). Blockade of Interleukin-7 Receptor Shapes Macrophage Alternative Activation and Promotes Functional Recovery After Spinal Cord Injury. // *Neuroscience*. 2018. 371. C. 518–527.
211. Kim, J. H., Sim, J. H., Lee, S., Seol, M. A., Ye, S. K., Shin, H. M., Lee, E. B., Lee, Y. J., Choi, Y. J., Yoo, W. H., Kim, J. H., Kim, W. U., Lee, D. S., Kim, J. H., Kang, I., Kang, S. W., Kim, H. R. (2017). Interleukin-7 Induces Osteoclast Formation via STAT5, Independent of Receptor Activator of NF-kappaB Ligand // *Frontiers in immunology*. 2017. 8. C. 1376.
212. Racapé, M., Vanhove, B., Soullillou, J. P., & Brouard, S. Interleukin 7 receptor alpha as a potential therapeutic target in transplantation // *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*. 2009. 57. №4. C. 253–261.
213. Chung, B., Dudl, E., Toyama, A., Barsky, L., & Weinberg, K. I. Importance of interleukin-7 in the development of experimental graft-versus-host disease // *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2008. 14. №1. C. 16–27.
214. Colpitts, S. L., Dalton, N. M., Scott, P. IL-7 receptor expression provides the potential for long-term survival of both CD62Lhigh central memory T cells and Th1 effector cells during *Leishmania major* infection // *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*. 2009. 182. №9. C. 5702–5711.
215. Zhang, P., Su, Y., Zhao, M., Huang, W., Lu, Q. Abnormal histone modifications in PBMCs from patients with psoriasis vulgaris // *European journal of dermatology : EJD*. 2011. 21. №4. C. 552–557.
216. Cosmi, L., Cimaz, R., Maggi, L., Santarlaschi, V., Capone, M., Borriello, F., Frosali, F., Querci, V., Simonini, G., Barra, G., Piccinni, M. P., Liotta, F., De Palma, R., Maggi, E., Romagnani, S., Annunziato, F. (2011). Evidence of the

transient nature of the Th17 phenotype of CD4⁺CD161⁺ T cells in the synovial fluid of patients with juvenile idiopathic arthritis // *Arthritis and rheumatism*. 63. №8. C. 2504–2515.

217. Watabe, D., Kanno, H., Yoshida, A., Kurose, A., Akasaka, T., Sawai, T. Adhesion of peripheral blood mononuclear cells and CD4⁺ T cells from patients with psoriasis to cultured endothelial cells via the interaction between lymphocyte function-associated antigen type 1 and intercellular adhesion molecule 1 // *The British journal of dermatology*. 2007. 157. №2. C. 259–265.

218. Carstensen, L. S., Lie-Andersen, O., Obers, A., Crowther, M. D., Svane, I. M., Hansen, M. (2019). Long-Term Exposure to Inflammation Induces Differential Cytokine Patterns and Apoptosis in Dendritic Cells // *Frontiers in immunology*. 2019. 10. C. 2702.

219. Yilmaz, S. B., Cicek, N., Coskun, M., Yegin, O., Alpsoy, E. Serum and tissue levels of IL-17 in different clinical subtypes of psoriasis // *Archives of dermatological research*. 2012. 304. №6. C. 465–469.

220. Jacob, S. E., Nassiri, M., Kerdel, F. A., & Vincek, V. Simultaneous measurement of multiple Th1 and Th2 serum cytokines in psoriasis and correlation with disease severity // *Mediators of inflammation*. 2003. 12. №5. C. 309–313.

221. Khairutdinov, V. R., Mikhailichenko, A. F., Belousova, I. E., Kuligina, E. S., Samtsov, A. V., Imyanitov, E. N. The role of intradermal proliferation of T-cells in the pathogenesis of psoriasis // *Anais brasileiros de dermatologia*. 92. №1. C. 41–44.

222. Vranova, M., Friess, M. C., Haghayegh Jahromi, N., Collado-Diaz, V., Vallone, A., Hagedorn, O., Jadhav, M., Willrodt, A. H., Polomska, A., Leroux, J. C., Proulx, S. T., Halin. Opposing roles of endothelial and leukocyte-expressed IL-7R α in the regulation of psoriasis-like skin inflammation // *Scientific reports*. 2019. 9. №1. C. 11714.

223. Kondrack, R. M., Harbertson, J., Tan, J. T., McBreen, M. E., Surh, C. D., Bradley, L. M. Interleukin 7 regulates the survival and generation of

memory CD4 cells // The Journal of experimental medicine. 2003. 198. №12. C. 1797–1806.

224. Arbelaez, C. A., Glatigny, S., Duhon, R., Eberl, G., Oukka, M., Bettelli, E. IL-7/IL-7 Receptor Signaling Differentially Affects Effector CD4⁺ T Cell Subsets Involved in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis // Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950). 2015. 195. №5. C. 1974–1983.