

## Влияние гуморальных факторов гомеостатической пролиферации на Т-регуляторные клетки *in vitro*

Шевырев Д.В., Блинова Е.А., Козлов В.А.

Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии (НИИ ФКИ)  
Россия, 630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14

### РЕЗЮМЕ

**Цель** – изучение влияния гуморальных факторов гомеостатической пролиферации интерлейкина (IL) 7 и IL-15 на фенотипические и функциональные характеристики Т-регуляторных клеток у здоровых доноров *in vitro*.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 15 условно здоровых доноров. Методом проточной цитометрии проводились фенотипирование, оценка экспрессии FoxP3 и основных функциональных молекул Т-регуляторных клеток (CTLA-4, PD-L1, HLA-D) до и после культивирования с IL-7 и IL-15, а также с анти-CD3-антителами в комбинации с IL-2. Оценивался пролиферативный ответ Т-регуляторных клеток на стимуляцию указанными факторами.

**Результаты.** Обнаружено, что факторы гомеостатической пролиферации способствуют сохранению фенотипа CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> и численному поддержанию Т-регуляторных лимфоцитов в культуре, а также могут положительно влиять на экспрессию таких функциональных молекул, как PD-L1 и HLA-DR. Кроме того показано, что указанные факторы способны вызывать пролиферацию Т-регуляторных клеток в существенно более низкой степени, чем CD4<sup>+</sup>-лимфоцитов.

**Заключение.** Выявлена способность гомеостатических факторов IL-7 и IL-15 поддерживать фенотип Т-регуляторных клеток и экспрессию функциональных маркеров. По-видимому, это играет важную роль в условиях лимфопении при снижении числа эффекторных лимфоцитов – основных продуцентов IL-2, которому отводится первостепенная роль в гомеостазе Т-регуляторных клеток в норме.

**Ключевые слова:** Treg, интерлейкин 7, интерлейкин 15, транскрипционный фактор FoxP3, супрессорные молекулы.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования.** Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ и Новосибирской области (№ 17-44-540167p\_a).

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено этическим комитетом НИИФКИ (протокол № 110 от 11.10.2017).

**Для цитирования:** Шевырев Д.В., Блинова Е.А., Козлов В.А. Влияние гуморальных факторов гомеостатической пролиферации на t-регуляторные клетки *in vitro*. *Бюллетень сибирской медицины*. 2019; 18 (1): 286–293. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-1-286-293>.

УДК 616-092.19-092.4:577.27

<https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-1-286-293>

## The influence of humoral factors of homeostatic proliferation on t-regulatory cells *in vitro*

Shevyrev D.V., Blinova E.A., Kozlov V.A.

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (RIFCI)  
14, Yadrintsevskaya Str., Novosibirsk, 630099, Russian Federation

### ABSTRACT

**Aim.** The aim of this study was the investigation of the influence of humoral factors of homeostatic proliferation IL-7 and IL-15 on T-regulatory cells in healthy donors.

**Materials and methods.** The study included 15 conditionally healthy donors. Phenotyping and evaluation of expression changes of transcription factor FoxP3 and the main functional molecules on T-regulatory cells such as PD-L1, CTLA-4 and HLA-DR during cultivation under IL-7, IL-15 and anti-CD3 stimulation combined with IL-2 were performed by flow cytometry. Also, we estimated proliferation intensity of T-regulatory cells in the course of cultivation.

**Results.** We revealed that humoral factors of homeostatic proliferation can effectively support a pool of T-regulatory cells during cultivation by number and phenotype and can maintain expression of important molecules such as PD-L1 and HLA-DR on regulatory T-cell surface. In addition, our study showed that IL-7 and IL-15 can cause relatively low T-regulatory cells proliferation in comparison to CD4<sup>+</sup>-lymphocytes.

**Conclusion.** The observed ability of homeostatic proliferation factors to maintain T-regulatory cells pool presumably can play an important role in lymphopenic conditions when the number of effector cells is decreased and the insufficiency of interleukin IL-2 is observed, which plays a primary role in the homeostasis of T-regulatory cells in normal conditions.

**Key words:** T-regulatory cells, interleukin-7, interleukin-15, transcriptional factor FoxP3, suppression molecules.

**Conflict of interest.** The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Source of financing.** The study was carried out with the financial support of the Russian Foundation for Basic Research and the Novosibirsk Region (No. 17-44-540167r\_a).

**Conformity with the principles of ethics.** The study approved by the local ethics committee under Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (Protocol No. 110 of 11.10.2017).

**For citation:** Shevyrev D.V., Blinova E.A., Kozlov V.A. the influence of humoral factors of homeostatic proliferation on t-regulatory cells *in vitro*. *Bulletin of Siberian Medicine*. 2019; 18 (1): 286–293. <https://doi.org/10.20538/1682-0363-2019-1-286-293>.

### ВВЕДЕНИЕ

В последние годы значительное внимание исследователей направлено на изучение гомеостатических механизмов, регулирующих деятельность иммунной системы. В течение жизни организм может сталкиваться с различными факторами физической, химической или биологической природы, воздействие которых сопряжено с развитием лимфопении. К таким факторам относятся

инфекционные, аутоиммунные и онкологические заболевания, стрессы, ятрогенные вмешательства, травмы и т.д. Во взрослом состоянии основным компенсаторным механизмом, направленным на восполнение и поддержание постоянного уровня лимфоцитов, является гомеостатическая пролиферация (ГП) – нормальный физиологический процесс, который запускается в условиях лимфопении [1]. При этом выраженность лимфо-

пении определяет число вакантных лимфоцитарных ниш и влияет на интенсивность протекания ГП [2]. Основными факторами, обеспечивающими ГП, являются: контакт Т-клеточного рецептора (TCR) с аутоантигеном в составе главного комплекса гистосовместимости (self-pMHC) и взаимодействие с цитокинами – интерлейкином (IL) 7 и IL-15, уровень которых повышается при лимфопении [3, 4]. Показано, что в зависимости от выраженности и продолжительности лимфопении, ГП может сопровождаться рядом негативных эффектов – снижением разнообразия репертуара TCR, отбором потенциально аутореактивных лимфоцитов, а также конверсией фенотипа наивных Т-лимфоцитов в Т-клетки памяти. В итоге это может приводить к нарушению ауто толерантности и увеличивать вероятность развития аутоиммунных заболеваний [5–8].

Основными клетками, обеспечивающими толерантность к аутоантигенам, являются Т-регуляторные лимфоциты (Treg). Как было отмечено, гомеостаз Treg в значительной степени зависит от IL-2, главными продуцентами которого являются Т-клетки, несущие  $\alpha\beta$ -TCR и любой из ко-рецепторов CD4 или CD8. Можно предположить, что лимфопения будет негативно влиять на периферический пул Treg ввиду сокращения компартмента Т-клеток-продуцентов IL-2. Действительно, в нескольких исследованиях *in vivo* показано, что Treg не только теряют функциональную активность, но и могут подвергаться дифференцировке в Th17-лимфоциты в условиях лимфопении, что в обоих случаях сопряжено с депривацией IL-2 [9–11]. Учитывая, что при лимфопении в восстановлении пула Т-лимфоцитов основную роль играют цитокины IL-7 и IL-15, возникает вопрос, каким образом данные гомеостатические факторы влияют на фенотип и экспрессию функциональных маркеров Treg. Имеющиеся в литературе на сегодняшний день данные о воздействии IL-7 и IL-15 на популяцию Treg противоречивы.

Согласно одним данным, IL-7 способен поддерживать стабильную экспрессию FoxP3 в Treg [12, 13], в то время как другие данные указывают на участие данного цитокина в дифференцировке Treg в Th17-клетки, которым отводится важная роль в патогенезе аутоиммунных заболеваний [14]. В исследованиях *in vivo* показано, что IL-15 может способствовать пролиферации Treg и экспрессии в них транскрипционного фактора FoxP3 и тем самым предотвращать развитие аутоиммунного диабета [15]. Однако при вирусной инфекции IL-15 вызывает противоположные эф-

фекты, обеспечивая устойчивость Т-эффекторных клеток к супрессорному действию Treg [16]. Целью настоящего исследования явилось изучение влияния гуморальных факторов ГП IL-7 и IL-15 на фенотипические и функциональные характеристики Treg.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужила периферическая кровь, полученная от 15 условно здоровых доноров в возрасте 27–60 лет, средний возраст ( $47 \pm 11$ ) лет. Для выделения фракции мононуклеарных клеток (МНК) использовался метод центрифугирования в градиенте плотности фиколл-урографина. Treg-клетки окрашивали антителами фирмы Bio Legend (США): для поверхностных молекул CD3-PE/Cy7, CD4-APC/Cy7, CD25-PE, CD127-PerCP/Cy5.5, внутриклеточных – FoxP3-PE, CD3-FITC, CD4-APC/Cy7, CD25-APC. Оценка экспрессии основных функциональных молекул проводилась с помощью моноклональных антител: PD-L1-APC, CTLA-4-PE/Cy7, HLA-DR-PerCP. Анализ фенотипа осуществлялся на цитофлуориметре FACS Canto II (Becton Dickinson, США). Для оценки пролиферативного ответа Treg использовался витальный краситель CFSE, предварительно проводилось выделение чистой популяции Т-регуляторных клеток методом иммуномагнитной сепарации с применением набора MACS Treg Isolation Kit фирмы Miltenyi Biotec (Россия) по фенотипу  $CD4^+CD25^+CD127^{dim}$ . Чистота магнитной сортировки Treg-клеток составила в среднем ( $96 \pm 3,6$ )%. Для сохранения жизнеспособности выделенные Т-регуляторные клетки сокультивировали с МНК в соотношении 1 : 1. Культивацию проводили в течение 7 сут в 48- и 96-луночных круглодонных планшетах в среде RPMI-1640, дополненной антибиотиками и 10% FCS в присутствии IL-7 (25 нг/мл) и IL-15 (25 нг/мл) производства PeproTech (Великобритания), а также анти-CD3-антител (0,25 мкг/мл), производитель «Сорбент», Россия, и IL-2 (25 МЕ/мл), компания «НПК БИОТЕХ», Россия. Оптимальная концентрация цитокинов, в ответ на которые пролиферировало большее количество  $CD3^+CD4^-$  и  $CD3^+CD8^+$ -клеток, были подобраны опытным путем. В качестве контроля проводилась культивирование без стимуляции. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Statistica 6.0 с использованием непараметрических методов: Вилкоксона (для зависимых выборок) и Манна – Уитни (для независимых). Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ . Для описательной статистики так-

же использовались непараметрические методы, вычисляли медиану и интерквартильный размах (25-й и 75-й перцентили)  $Me (Q_{25} - Q_{75})$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Содержание  $CD25^+FoxP3^+$ -Treg периферической крови среди  $CD4^+$ -лимфоцитов у здоровых доноров составило  $(6,05 \pm 1,5)\%$ . Согласно результатам, представленным на рис. 1, IL-7 способен поддерживать популяцию Treg по числу и фенотипу (экспрессия FoxP3 и CD25) в культуре *in vitro* на уровне, сопоставимом со стимуляцией IL-2 и анти-CD3-антителами. IL-15 также был способен поддерживать Treg в культуре, но достоверно слабее, чем IL-7 ( $p = 0,009$ ), в то время как в контроле без стимуляции доля  $CD25^+FoxP3^+$ -лимфоцитов оказалась значительно ниже.

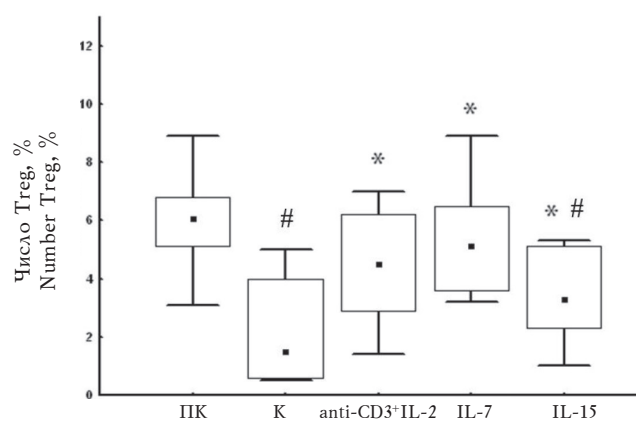


Рис. 1. Т-регуляторные клетки у здоровых доноров до и после культивирования *in vitro*, %,  $n = 11$ ,  $Me (Q_{25} - Q_{75})$ : ПК – периферическая кровь, К – контроль без стимуляции (здесь и в рис. 2–4). \* достоверное отличие ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контролем; # достоверное отличие ( $p < 0,05$ ) в сравнении с IL-7

Fig. 1. Treg-cell before and after cultivation, %,  $n = 11$ ,  $Me (Q_{25} - Q_{75})$ : ПК – peripheral blood, К – control without stimulation (here and in fig. 2–4). \*significant difference ( $p < 0.05$ ) in comparison with control, # significant difference ( $p < 0.05$ ) in comparison with IL-7

На следующем этапе было исследовано влияние гуморальных факторов ГП на экспрессию Treg-клетками основных функциональных молекул, таких как CTLA-4 и PD-L1, играющих важную роль в контакт-зависимых супрессорных механизмах. Изучение внутриклеточной экспрессии CTLA-4 не выявило существенных отличий в образцах из периферической крови до стимуляции и после культивирования со стимуляцией и без нее. Доля  $CD4^+CD25^+FoxP3^+$ -лимфоцитов, экспрессирующих CTLA-4, составила  $(98,5 \pm 0,5)\%$ ,

в то время как поверхностная экспрессия данной молекулы достоверно снижалась во всех образцах после культивации и значимо не отличалась в группах контроля и при стимуляции (рис. 2). Изменение экспрессии PD-L1 при культивировании носило другой характер (рис. 3).

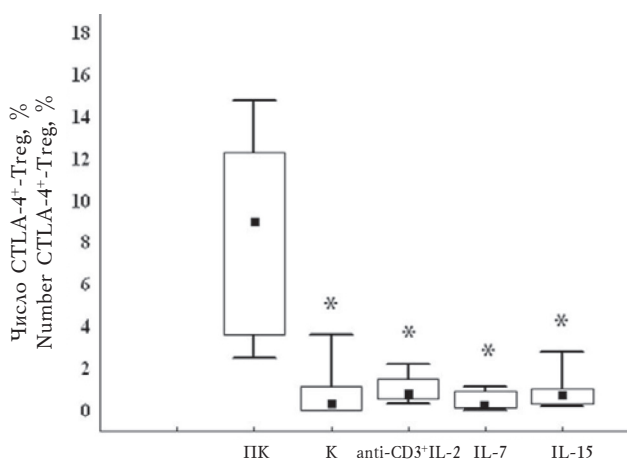


Рис. 2. CTLA-4<sup>+</sup>-T-регуляторные клетки у здоровых доноров до и после культивирования *in vitro*, %,  $n = 8$ ,  $Me (Q_{25} - Q_{75})$ . \* достоверное отличие ( $p < 0,05$ ) в сравнении с периферической кровью

Fig. 2. CTLA-4<sup>+</sup>-Treg-cell before and after cultivation, %,  $n = 8$ ,  $Me (Q_{25} - Q_{75})$ . \*significant difference ( $p < 0.05$ ) in comparison with peripheral blood

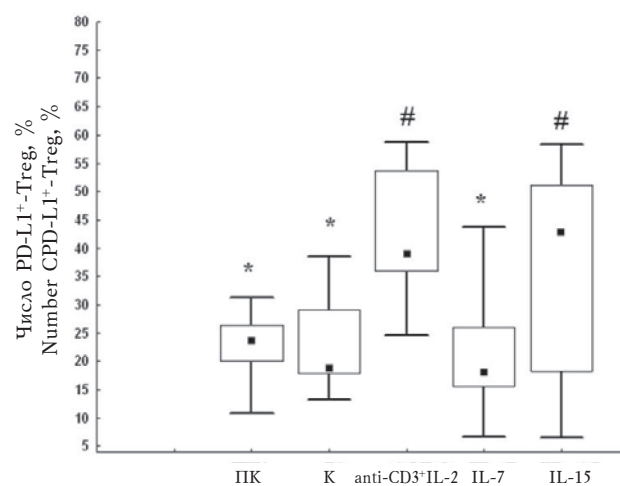


Рис. 3. PD-L1<sup>+</sup>-регуляторные клетки до и после культивирования, %,  $n = 8$ ,  $Me (Q_{25} - Q_{75})$ . \* достоверное отличие ( $p < 0,05$ ) в сравнении с anti-CD3+IL-2 стимуляцией; # достоверное отличие ( $p < 0,05$ ) в сравнении с IL-7

Fig. 3. PD-L1<sup>+</sup>-T-regulatory cell before and after cultivation, %,  $n = 8$ ,  $Me (Q_{25} - Q_{75})$ . \* significant difference ( $p < 0.05$ ) in comparison with anti-CD3+IL-2 stimulation, # significant difference ( $p < 0.05$ ) in comparison with IL-7

Выявлено достоверное увеличение доли Treg, экспрессирующих PD-L1 под влиянием IL-2 и анти-CD3-антител; стимуляция IL-15 в виде тенденции увеличивала процентное соотношение PD-L1<sup>+</sup>-Treg в сравнении с клетками периферической крови ( $p = 0,06$ ). Однако в контроле и IL-7-стимулированных клетках данный параметр не изменялся.

Экспрессия HLA-DR на CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup>-Treg в периферической крови составил ( $21 \pm 2,5$ )%. При культивировании без стимуляции доля HLA-DR<sup>+</sup>-Treg-лимфоцитов значительно снижалась, при этом IL-7 лучше остальных факторов обеспечивал сохранение экспрессии HLA-DR *in vitro* (рис. 4).

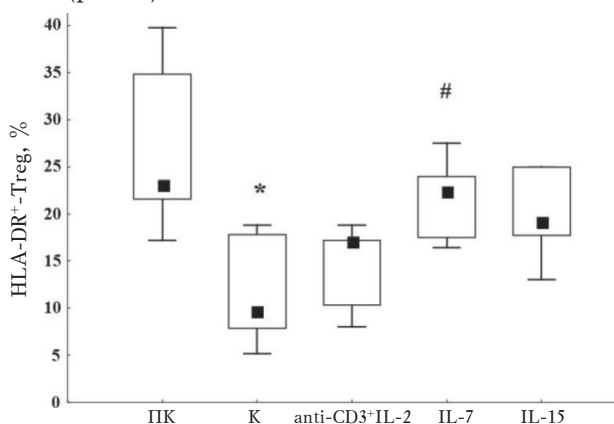


Рис. 4. HLA-DR<sup>+</sup>-T-регуляторные клетки до и после культивирования, %,  $n = 5$ ,  $Me (Q_{25}-Q_{75})$ . \* достоверное отличие ( $p < 0,05$ ) в сравнении с периферической кровью, # достоверное отличие ( $p < 0,05$ ) в сравнении с контролем или стимуляцией anti-CD3<sup>+</sup>IL-2

Fig. 4. HLA-DR<sup>+</sup>-T-regulatory cell before and after cultivation, %,  $n = 5$ ,  $Me (Q_{25}-Q_{75})$ . \* significant difference ( $p < 0.05$ ) in comparison with peripheral blood; # significant difference ( $p < 0.05$ ) in comparison with control or stimulation with anti-CD3<sup>+</sup>IL-2

Обнаружено, что HLA-DR<sup>+</sup>-Treg обладают достоверно более высокой экспрессией FoxP3 в сравнении с HLA-DR-негативными регуляторными клетками. Данное явление наблюдалось также и после культивирования (рис. 5).

На следующем этапе изучалась пролиферация Treg и CD4<sup>+</sup>-эффektorных лимфоцитов под влиянием гуморальных факторов ГП и комбинации анти-CD3-антител с IL-2. Как видно из табл. 1, Treg отвечали на стимуляцию пролиферацией, однако, ее интенсивность была существенно ниже, чем у CD4<sup>+</sup>-эффektorных клеток. Тем не менее как CD4<sup>+</sup>-эффektorные лимфоциты, так и Treg осуществляли в среднем 5–6 детектируемых делений в течение 7 сут.

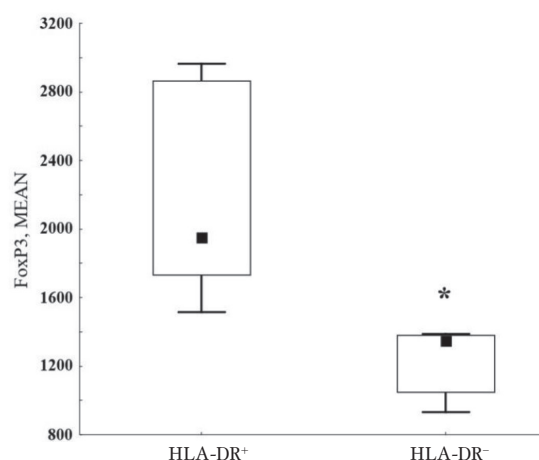


Рис. 5. Средняя интенсивность флуоресценции (MFI) FoxP3 у HLA-DR<sup>+</sup> и HLA-DR<sup>-</sup>-T-регуляторных клеток периферической крови,  $n = 8$ ,  $Me (Q_{25}-Q_{75})$ . \* достоверное отличие ( $p = 0,007$ ) HLA-DR<sup>-</sup>-Treg-клеток от HLA-DR<sup>+</sup>

Fig. 5. Mean fluorescence intensity of FoxP3 in HLA-DR<sup>+</sup> and HLA-DR<sup>-</sup>-T-regulatory cells,  $n = 8$ ,  $Me (Q_{25}-Q_{75})$ . \* significant difference ( $p = 0,007$ ) HLA-DR<sup>-</sup>-T-regulatory cells from HLA-DR<sup>+</sup>

Т а б л и ц а 1  
Table 1

Оценка пролиферации лимфоцитов, доля клеток, вступивших в пролиферацию, %, $Me (Q_{25}-Q_{75})$ Measuring of cell proliferation, percent of proliferating cells, %, $Me (Q_{25}-Q_{75})$				
Субпопуляция Subpopulation	Контроль Control	Anti-CD3 <sup>+</sup> IL-2	IL-7	IL-15
Treg	1,05 (1–1,4)	26,4 (16,7–35,4)	7,9 (4,7–11,1)	7,7 (5,9–9,1)
CD4 <sup>+</sup>	2,6 (1,9–3,1)	82,3 (69,7–95,1)	45,8 (35,3–57,4)	68 (56,4–80,5)

### ОБСУЖДЕНИЕ

В норме поддержание пула Treg в организме происходит в основном за счет IL-2, что подтверждается развитием тяжелых аутоиммунных расстройств как у мышей, так и у людей с ге-

нетическим дефицитом IL-2 или с различными дефектами его рецептора IL-2R [17–21]. Установлено, что IL-2 необходим для развития, функционального созревания и выживания Treg [22]. Учитывая, что основными клетками, вырабатыва-

ющими данный цитокин, являются Т-эффектор-ные клетки [23] и размер периферического пула Treg зависит от числа продуцентов IL-2 [24], то выявленная нами *in vitro* способность IL-15 и, в большей степени, IL-7 поддерживать число Treg и экспрессию FoxP3 может быть альтернативным механизмом гомеостаза Treg при лимфопении. В целом это согласуется с большинством литературных данных, которые указывают на свойство цитокинов с общей  $\gamma$ -цепью положительно влиять на гомеостаз Treg, в частности за счет активации сигнального пути STAT5 [25].

Обнаруженное нами снижение числа Treg, экспрессирующих на поверхности CTLA-4, может отражать отсутствие в наших условиях культивации достаточных стимулов для осуществления супрессии через CTLA-4-опосредованный механизм. В то время как отсутствие изменений во внутриклеточной экспрессии данной молекулы указывает на сохранение потенциальной возможности его реализации. Данный механизм хорошо известен и заключается в конкурентном связывании молекул комплекса B7 (CD80/86) на дендритных клетках, что предотвращает активацию эффекторных Т-клеток [26].

Нами впервые было исследовано влияние IL-7, IL-15, а также комбинации анти-CD3-антител с IL-2 на экспрессию PD-L1 Т-регуляторными лимфоцитами. Данная молекула участвует в механизмах контактной супрессии, и, связываясь с PD-1 на Т-эффекторах, может вызывать их анергию или апоптоз [27]. Наблюдаемое увеличение числа PD-L1<sup>+</sup>-Treg при стимуляции анти-CD3 и IL-2, а также IL-15 свидетельствует в пользу увеличения супрессорной активности Treg в данных условиях. Кроме того, показано, что экспрессия PD-L1 на Treg связана с более стабильной экспрессией основного транскрипционного фактора – FoxP3 [28]. Стоит отметить, что обнаруженная закономерность соответствует литературным данным по влиянию цитокинов с общей  $\gamma$ -цепью на экспрессию PD-L1 CD4<sup>+</sup>Т-эффекторными лимфоцитами [29].

При изучении экспрессии HLA-DR на Treg нами показано, что IL-7 лучше других факторов поддерживает экспрессию данной молекулы, кроме того, обнаружено, что HLA-DR<sup>+</sup>Treg обладают более высокой экспрессией FoxP3. Из этого можно предположить, что эти клетки не только имеют активированный статус, но и обладают более высоким супрессорным потенциалом, который может быть связан с контакт-зависимыми механизмами [30].

Наибольший пролиферативный ответ Treg наблюдался при стимуляции анти-CD3-антителами

в комбинации с IL-2, в то время как IL-7 и IL-15 вызывали более низкую и схожую по интенсивности пролиферацию. При этом пролиферативный ответ CD4<sup>+</sup>-эффекторных лимфоцитов был значительно выше. Необходимо отметить, что пролиферация Treg может происходить как через антигензависимые, так и через антигеннезависимые механизмы [31]. Так, стимуляция Treg-клеток антигеном соответствующей специфичности многократно усиливает пролиферацию только специфичного Treg-клона данному антигену [32–34]. В то время как антигеннезависимая пролиферация, опосредованная гуморальными факторами, является поликлональной и необходима для поддержания периферического пула Treg. Таким образом, нами была продемонстрирована медленная антигеннезависимая пролиферация Treg-клеток под действием гомеостатических цитокинов IL-7 и IL-15, схожая с процессом гомеостатической пролиферации Т-лимфоцитов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В проведенном исследовании показано, что гуморальные факторы IL-7 и IL-15 способны сохранять численность и фенотип Treg, а также обеспечивать их пролиферацию. Это представляется важным в контексте состояния лимфопении, когда возникает определенный дефицит продукции IL-2, который в норме необходим для гомеостаза Treg. Однако пролиферация Treg под воздействием факторов гомеостатической пролиферации происходит на более низком уровне, чем пролиферация CD4<sup>+</sup>Т-эффекторов в тех же условиях, что, вероятно, может приводить к запаздыванию восстановления пула Treg-клеток во время гомеостатической пролиферации, и, по-видимому, представляет еще один механизм связи лимфопении с развитием аутоиммунных заболеваний.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Moxham V.F., Karegli J., Phillips R.E., Brown K.L., Tapmeier T.T., Hangartner R., Sacks S.H., Wong W. Homeostatic proliferation of lymphocytes results in augmented memory-like function and accelerated allograft rejection. *J. Immunol.* 2008; Mar. 15; 180 (6): 3910–3918. DOI: 10.4049/jimmunol.180.6.3910.
2. Bolton H.A., Zhu E., Terry A.M., Guy T.V., Koh W.P., Tan S.Y., Power C.A., Bertolino P., Lahl K., Sparwasser T., Shklovskaya E., Fazekas de St Groth B. Selective Treg reconstitution during lymphopenia normalizes DC costimulation and prevents graft-versus-host disease. *J. Clin. Invest.* 2015; 125 (9): 3627–3641. DOI: 10.1172/JCI176031.
3. Miller C.N., Hartigan-O'Connor D.J., Lee M.S., Laidlaw G., Cornelissen I. P., Matloubian M., Coughlin S.R.,

- McDonald D.M., McCune J.M. IL-7 production in murine lymphatic endothelial cells and induction in the setting of peripheral lymphopenia. *Int. Imm.* 2013; 25 (8): 471–483. DOI: 10.1093/intimm/dxt012.
4. Schluns K.S., Rivas S., Stonier S.W., Colpitts S.L., Anthony S.M. Expression of IL-15 is differentially regulated during lymphopenia depending on the method of induction. *The Journal of Immunology*. 2016; May 1, 196 (1 Supplement): 196.15.
  5. Theofilopoulos A.N., Dummer W., Kono D.H. T cell homeostasis and systemic autoimmunity. *The Journal of Clinical Investigation*. 2001; 108 (3): 335–340. DOI: 10.1172/JCI12173.
  6. Ge Q., Rao V.P., Cho B.K., Eisen H.N., Chen J. Dependence of lymphopenia-induced T cell proliferation on the abundance of peptide/MHC epitopes and strength of their interaction with T cell receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2001; 98 (4): 1728–1733. DOI: 10.1073/pnas.98.4.1728.
  7. Kieper W.C., Burghardt J.T., Surh C.D. A role for TCR affinity in regulating naive T cell homeostasis. *J. Immunol.* 2004; 172 (1): 40–44. DOI: 10.4049/jimmunol.172.1.40.
  8. Jones J.L., Thompson S.A.J., Loh P., Davies J.L., Tuohy O.C., Curry A.J., Azzopardi L., Hill-Cawthorne G., Fahey M.T., Compston A., Coles A.J. Human autoimmunity after lymphocyte depletion is caused by homeostatic T-cell proliferation. *PNAS*. 2013, 110 (50): 20200–20205. DOI: 10.1073/pnas.1313654110.
  9. Komatsu N., Okamoto K., Sawa S., Nakashima T., Oh-hora M., Kodama T., Tanaka S., Bluestone J.A., Takayanagi H. Pathogenic conversion of Foxp3+ T-cells into TH17 cells in autoimmune arthritis. *Nat. Med.* 2014; 20 (1): 62–70. DOI: 10.1038/nm.3432.
  10. Duarte J.H., Zelenay S., Bergman M.L., Martins A.C., Demengeot J. Natural Treg cells spontaneously differentiate into pathogenic helper cells in lymphopenic conditions. *Eur. J. Immunol.* 2009; 39: 948–955. DOI: 10.1002/eji.200839196.
  11. Chevalier N., Thorburn A.N., Macia L., Tan J., Juglair L., Yagita H., Yu D., Hansbro P.M., Mackay C.R. Inflammation and lymphopenia trigger autoimmunity by suppression of IL-2-controlled regulatory T cell and increase of IL-21-mediated effector T cell expansion. *J. Immunol.* 2014; 193 (10): 4845–4858. DOI: 10.4049/jimmunol.1302966.
  12. Bayer A.L., Lee J.Y., de la Barrera A., Surh C.D., Malek T.R. A function for IL-7R for CD4+CD25+Foxp3+ T regulatory cells. *J. Immunol.* 2008; 181 (1): 225–234.
  13. Simonetta F., Gestermann N., Martinet K.Z., Boniotto M., Tissieres P., Seddon B., Bourgeois C. Interleukin-7 influences FOXP3+CD4+ regulatory T cells peripheral homeostasis. *PLoS One*. 2012; 7 (5): e36596. DOI: 10.1371/journal.pone.0036596.
  14. Younas M., Hue S., Lacabaratz C., Guguin A., Wiedemann A., Surenaud M., Beq S., Croughs T., Lelièvre J.D., Lévy Y. IL-7 modulates *in vitro* and *in vivo* human memory T regulatory cell functions through the CD39/ATP axis. *J. Immunol.* 2013; Sep. 15; 191 (6): 3161–3168. DOI: 10.4049/jimmunol.1203547.
  15. Xia J., Liu W., Hu B., Tian Z., Yang Y. IL-15 promotes regulatory T cell function and protects against diabetes development in NK-depleted NOD mice. *Clin. Immunol.* 2010; 134 (2): 130–139. DOI: 10.1016/j.clim.2009.09.011.
  16. Ben A.M., Belhadj H.N., Moes N., Buysse S., Abdeladhim M., Louzir H., Cerf-Bensussan N. IL-15 renders conventional lymphocytes resistant to suppressive functions of regulatory T cells through activation of the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *J. Immunol.* 2009, 182 (11): 6763–6770. DOI: 10.4049/jimmunol.0801792.
  17. Suzuki H., Kündig T.M., Furlonger C., Wakeham A., Timms E., Matsuyama T., Schmits R., Simard J.J., Ohashi P.S., Griesser H. Deregulated T cell activation and autoimmunity in mice lacking interleukin-2 receptor beta. *Science*. 1995, 268 (5216): 1472–1476.
  18. Malek T.R., Castro I. Interleukin-2 receptor signaling: at the interface between tolerance and immunity. *Immunity*. 2010. 33 (2): 153–165. DOI: 10.1016/j.immuni.2010.08.004.
  19. Chinen T., Kannan A.K., Levine A.G., Fan X., Klein U., Zheng Y., Gasteiger G., Feng Y., Fontenot J.D., Rudensky A.Y. An essential role for the IL-2 receptor in Treg cell function. *Nat. Immunol.* 2016; Nov. 17 (11): 1322–1333. DOI: 10.1038/ni.3540.
  20. Sharfe N., Dadi H.K., Shahar M., Roifman C.M. Human immune disorder arising from mutation of the alpha chain of the interleukin-2 receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997; 94 (7): 3168–3171.
  21. Goudy K., Aydin D., Barzaghi F., Gambineri E., Vignoli M., Ciullini M.S., Doglioni C., Ponzoni M., Cicalese M.P., Assanelli A., Tommasini A., Brigida I., Dellepiane R.M., Martino S., Olek S., Aiuti A., Ciceri F., Roncarolo M.G., Bacchetta R. Human IL2RA null mutation mediates immunodeficiency with lymphoproliferation and autoimmunity. *Clin. Immunol.* 2013; Mar. 146 (3): 248–261. DOI: 10.1016/j.clim.2013.01.004.
  22. Jeon P.H., Oh K.I. IL2 is required for functional maturation of regulatory T cells. *Animal Cells and Systems*. 2017, 21 (1): 1–9. DOI: 10.1080/19768354.2016.1272489.
  23. Owen D.L., Mahmud S.A., Vang K.B., Kelly R.M., Blazar B.R., Smith K.A., Farrar M.A. Identification of cellular sources of IL-2 needed for regulatory T cell development and homeostasis. *J. Immunol.* 2018; Jun. 15; 200 (12): 3926–3933. DOI: 10.4049/jimmunol.1800097.
  24. Almeida A.R., Zaragoza B., Freitas A.A. Indexation as a novel mechanism of lymphocyte homeostasis: the number of CD4+CD25+ regulatory T cells is indexed to the number of IL-2-producing cells. *J. Immunol.* 2006; 177 (1): 192–200.
  25. Vang K.B., Yang J., Mahmud S.A., Burchill M.A., Vegoe A.L., Farrar M.A. Interleukin-2, -7 and -15, but not TSLP, redundantly govern CD4+Foxp3+ regulatory T cell development. *J. Immunol.* 2008; Sep. 1, 181 (5): 3285–3290.

26. Jain N., Nguyen H., Chambers C., Kang J. Dual function of CTLA-4 in regulatory T cells and conventional T cells to prevent multiorgan autoimmunity. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2010; Jan. 26; 107 (4): 1524–1528. DOI: 10.1073/pnas.0910341107.
27. Dai S., Jia R., Zhang X., Fang Q., Huang L. The PD-1/PD-Ls pathway and autoimmune diseases. *Cell Immunol*. 2014; Jul. 290 (1): 72–79. DOI: 10.1016/j.cellimm.2014.05.006.
28. Francisco L.M., Salinas V.H., Brown K.E., Vanguri V.K., Freeman G.J., Kuchroo V.K., Sharpe A.H. PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells. *J. Exp. Med.* 2009; Dec. 2; 206 (13): 3015–3029. DOI: 10.1084/jem.20090847.
29. Kinter A.L., Godbout E.J., McNally J.P., Sereti I., Roby G.A., O’Shea M.A., Fauci A.S. The common gamma-chain cytokines IL-2, IL-7, IL-15, and IL-21 induce the expression of programmed death-1 and its ligands. *J. Immunol.* 2008; Nov. 15, 181 (10): 6738–6746.
30. Baecher-Allan C., Wolf E., Hafler D.A. MHC class II expression identifies functionally distinct human regulatory T cells. *J. Immunol.* 2006; Apr. 15; 176 (8): 4622–4631.
31. Zou T., Caton A.J. Dendritic cells induce regulatory T cell proliferation through antigen-dependent and independent interactions. *The Journal of Immunology*. 2010; 185 (5): 2790–2799. DOI: 10.4049/jimmunol.0903740.
32. Zou T., Satake A., Corbo E., Schmidt A.M., Farrar M.A., Maltzman J.S., Kambayashi T. Cutting edge: IL-2 signals determine the degree of TCR signaling necessary to support regulatory T cell proliferation *in vivo*. *J. Immunol.* 2012; 189 (1): 28–32. DOI: 10.4049/jimmunol.1200507.
33. Nishio J., Feuerer M., Wong J., Mathis D., Benoist C. Anti-CD3 therapy permits regulatory T cells to surmount T cell receptor-specified peripheral niche constraints. *J. Exp. Med.* 2010; 207 (9): 1879–1889. DOI: 10.1084/jem.20100205.
34. Walker L.S., Chodos A., Eggena M., Dooms H., Abbas A.K. Antigen-dependent proliferation of CD4+ CD25+ regulatory T cells *in vivo*. *J. Exp. Med.* 2003; Jul. 21; 198 (2): 249–258.

## Сведения об авторах

**Шевырев Даниил Вадимович**, аспирант, лаборатория клинической иммунопатологии, НИИФКИ, г. Новосибирск.

**Блинова Елена Андреевна**, канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник, лаборатория клинической иммунопатологии, НИИФКИ, г. Новосибирск. ORCID iD 0000-0003-3327-3630.

**Козлов Владимир Александрович**, д-р мед. наук, профессор, академик РАН, зав. лабораторией клинической иммунопатологии, НИИФКИ, г. Новосибирск. ORCID iD 0000-0002-1756-1782.

(✉) **Шевырев Даниил Вадимович**, e-mail: dr.daniil25@mail.ru.

## Authors information

**Shevyrev Daniil V.**, PhD Student, Laboratory of Clinical Immunopathology, RIFCI, Novosibirsk, Russian Federation.

**Blinova Elena A.**, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Clinical Immunopathology, RIFCI, Novosibirsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0003-3327-3630.

**Kozlov Vladimir A.**, DM, Professor, Academician of RAS, Scientific Supervisor of RIFCI, Head of the Laboratory of Clinical Immunopathology, RIFCI, Novosibirsk, Russian Federation. ORCID iD 0000-0002-1756-1782.

(✉) **Shevyrev Daniil V.**, e-mail: dr.daniil25@mail.ru.

Received 13.11.2018

Accepted 17.12.2018

Поступила в редакцию 13.11.2018

Подписана в печать 17.12.2018