

## ВЛИЯНИЕ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК НА АЛЛЕРГЕН-СПЕЦИФИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ ЛЕЙКОЦИТОВ ПРИ АТОПИЧЕСКОЙ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

© А. А. Айзеницадт,<sup>1, 2, \*</sup> О. В. Супильникова,<sup>1</sup> В. В. Багаева,<sup>1</sup> А. Б. Смолянинов,<sup>1, 2</sup>  
М. П. Самойлович,<sup>3</sup> В. Б. Климович<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ООО «Покровский банк стволовых клеток»,

<sup>2</sup>Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова и

<sup>3</sup>Российский научный центр радиологии и хирургических технологий, Санкт-Петербург;

\* электронный адрес: aizendt@gmail.com

Из образцов венозной крови 16 доноров-добровольцев, в анамнезе которых были зафиксированы клинические проявления атопической гиперчувствительности, выделяли лейкоцитарную фракцию, содержащую лимфоциты, моноциты и гранулоциты. При культивировании в присутствии соответствующих аллергенов содержание В-лимфоцитов, Т-лимфоцитов и естественных киллеров оставалось неизменным. Контакт клеток лейкоцитарных фракций с аллергенами во всех изученных пробах индуцировал продукцию IgE и IL-4. Реакция на контакт с аллергеном в 13 случаях из 16 проявлялась также в увеличении субпопуляции Т-лимфоцитов, несущих маркер поздней активации (антиген HLA-DR). Сокультивирование с мезенхимными стромальными клетками (МСК) из костного мозга, жировой ткани или пупочного канатика блокировало индуцированную аллергеном секрецию IgE и IL-4 лейкоцитами и формирование субпопуляции HLA-DR<sup>+</sup> активированных Т-лимфоцитов. Существенных различий во влиянии МСК, выделенных из трех различных источников, на аллерген-специфические реакции лейкоцитов не обнаружено. Сокультивирование клеток лейкоцитарных фракций с МСК из всех трех источников приводило к возрастанию содержания регуляторных Т-лимфоцитов в среднем на 30 %. Таким образом, иммуномодулирующая активность МСК может проявляться *in vitro* в блокировании эффекторного звена аллергических реакций.

Ключевые слова: мезенхимные стволовые клетки, реакция гиперчувствительности, сокультивирование.

Принятые сокращения: МСК — мезенхимные стромальные клетки, IgE — иммуноглобулин E.

Мезенхимные стволовые клетки (МСК) обладают иммуномодулирующей активностью, которая проявляется в экспериментах *in vitro* и *in vivo*. Наиболее убедительны данные, касающиеся супрессивного влияния МСК на функции Т-лимфоцитов (Glennie et al., 2005) и дендритных клеток (Chen et al., 2007). Установлено, что трансплантация МСК экспериментальным животным благоприятно сказывается на течении ряда воспалительных заболеваний аутоиммунной природы (Chen et al., 2006; Nauta et al., 2007; Nasef et al., 2008). Влияние МСК на аллергические реакции остается малоизученным. В ходе ограниченных клинических испытаний описано ослабление реакций на пищевые и ингаляционные аллергены у пациентов после трансплантации культивированных аутологичных МСК костного мозга (Гранов и др., 2005). При моделировании на мышах бронхиальной астмы установлено, что внутривенное введение сингенных МСК из костного мозга (Nemeth et al., 2010), аллогенных эмбриональных или индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (iPSC) (Ogulur et al., 2014) снижает интенсивность проявлений заболевания. Подобный позитивный

эффект наблюдали также в ксеногенной системе при трансплантации сенсibilизированным мышам МСК, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток человека (Sun et al., 2012).

Цель настоящей работы состояла в исследовании влияния МСК, выделенных из различных тканей человека, на аллерген-специфические реакции культивируемых лейкоцитов доноров, сенсibilизированных определенными аллергенами.

### Материал и методика

В исследовании использовали образцы венозной крови 16 доноров-добровольцев, в анамнезе которых были зафиксированы клинические проявления гиперчувствительности (аллергический ринит, атопический дерматит, острая крапивница, гастроэнтерологические расстройства, атопическая бронхиальная астма, анафилаксия). В 4 случаях реакции развивались после приема пищевых продуктов, в 3 — после применения лекарственных пре-

паратов, в остальных — после контакта с бытовыми и с пыльцевыми аллергенами (4 и 5 случаев соответственно). Все доноры в момент сбора образцов крови находились в состоянии ремиссии и не имели клинических проявлений аллергических реакций.

Полученные образцы гепаринизированной крови наклоняли на градиент фикола, центрифугировали и собирали лейкоцитарную фракцию, которую после отмывания суспендировали в ростовой среде RPMI с 10 % фетальной бычьей сыворотки (HyClone, Новая Зеландия) и доводили концентрацию клеток до  $5 \cdot 10^6$  в 1 мл. Клеточный состав лейкоцитарной фракции определяли с помощью гематологического анализатора Beckman-Coulter ACT Diff2.

Состояние сенсибилизации доноров в отношении указанных в анамнезе аллергенов было подтверждено путем инкубации клеток лейкоцитарной фракции с растворами соответствующих аллергенов и последующего определения в среде культивирования концентрации иммуноглобулина Е (IgE) методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием набора реагентов IgE-общий (Вектор-Бест, Россия) согласно инструкции фирмы-изготовителя.

Наряду с этим реакцию лейкоцитов на контакт с аллергеном *in vitro* оценивали по содержанию в культуральной среде IL-4, которое определяли методом ИФА с использованием набора ИФА-IL-4 (Вектор-Бест, Россия). В качестве контроля использовали культуры лейкоцитов без добавления аллергенов. В предварительных экспериментах было установлено, что оптимальный срок инкубации с аллергенами составляет 72 ч.

Образцы костного мозга, жировой ткани и пупочного канатика получали при наличии информированного согласия доноров. Методы выделения МСК, их культивирования и фенотипическая характеристика описаны ранее (Айзенштадт и др., 2014).

В экспериментах по сокультивированию с лейкоцитами, стимулированными аллергенами, использовали культуры МСК 3—4 пассажей, находившиеся в фазе логарифмического роста (30—60 % конfluence). Для этого МСК рассевали в ячейки 6-луночного планшета по 30 тыс. кл./см<sup>2</sup>, через 24 ч в те же ячейки вносили равное количество клеток лейкоцитарных фракций. В смешанные культуры добавляли растворы аллергенов и культивировали в среде RPMI с 10 % фетальной бычьей сыворотки (HyClone, Новая Зеландия).

После инкубации с аллергенами в течение 72 ч клетки лейкоцитарной фракции и среду культивирования собирали отдельно. В среде определяли содержание IgE и IL-4. Фракцию клеток анализировали методом проточной цитофлуориметрии. Выявляли популяции В-лимфоцитов (CD19<sup>+</sup>), естественных киллеров (CD3<sup>-</sup>, CD16<sup>+</sup> и CD56<sup>+</sup>), Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup>), активированных Т-лимфоцитов (CD3<sup>+</sup> и HLA-DR<sup>+</sup>), а также регуляторных Т-клеток (CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> и CD127<sup>low</sup>).

После сокультивирования с МСК из ячеек планшета удаляли среду и определяли в ней концентрации IgE и IL-4. Лейкоциты снимали с поверхности монослоя, повторно смывали 0.02%-ным раствором версена. Смывы объединяли, готовили суспензии клеток в 500 мкл ФСП и определяли в них содержание указанных выше клеточных популяций.

Для цитофлуориметрического анализа клетки окрашивали мечеными флуорохромами антителами в течение 20 мин в темноте при комнатной температуре. Ис-

пользовали реагенты фирмы Beckman Coulter (США). Анализ выполняли на проточном цитофлуориметре FC500 с длиной волны лазерного излучения 488 нм и программным обеспечением СХР в соответствии с инструкцией фирмы-производителя (Beckman Coulter, США).

Все эксперименты повторяли четырехкратно. Полученные данные обрабатывали статистически с помощью программы Microsoft Excel. Для каждой выборки определяли ошибку среднего по формуле  $M \pm \sigma / \sqrt{n}$ . Межгрупповые различия оценивали с помощью U-критерия Манна—Уитни.

Использованные реактивы: культуральная среда RPMI, сыворотка эмбрионов коров, культуральная среда AdvanceSTEM mesenchymal stem cell media, заместитель сыворотки Mesenchymal Stem Cell Growth Supplement, раствор антибиотиков пенициллин—стрептомицин и фосфатно-солевой буфер (HyClone, Новая Зеландия); раствор фикола и раствор Версена (Биолот, Россия); набор реагентов IgE-общий, набор реагентов ИФА-IL-4 и растворы аллергенов (Вектор-Бест, Россия); моноклональные антитела CD3-FITC /CD19-PE, CD3-FITC /HLA-DR-PE, CD3-FITC /CD56+16-PE, CD45-PC5, CD45-PC7, CD25-PC5, CD127-PE, CD4-FITC (Beckman Coulter, США).

## Результаты

Анализ клеточного состава лейкоцитарных фракций, выделенных из крови доноров, сенсибилизированных в отношении ряда аллергенов (см. таблицу), показал, что при выделении на ступенчатом градиенте фикола происходило обогащение получаемой популяции клеток лимфоцитами и моноцитами. Доля клеток гранулоцитарного ряда при этом снижалась в 3—5 раз, но оставалась в пределах от 6 до 26 %.

При культивировании клеток лейкоцитарных фракций с аллергенами процентное содержание В-лимфоцитов, Т-лимфоцитов и естественных киллеров в популяции оставалось неизменным (рис. 1).

Присутствие аллергенов в среде культивирования всех 16 образцов лейкоцитарных фракций индуцировало достоверное увеличение концентраций IgE (рис. 2) и IL-4 (рис. 3).

В 13 случаях из 16 инкубация с аллергенами приводила к росту содержания активированных (HLA-DR-позитивных) Т-лимфоцитов в 1.5—3 раза (рис. 4).

Сокультивирование лейкоцитарных фракций с МСК блокировало индуцированные аллергенами проявления гиперчувствительности: роста концентраций IgE и IL-4 и содержания активированных Т-лимфоцитов в присутствии МСК не происходило (рис. 2—4). При этом МСК из костного мозга, жировой ткани или пупочного канатика блокировали как генерацию активированных Т-лимфоцитов, так и продукцию IgE и IL-4 с одинаковой эффективностью.

Инкубация с аллергенами не приводила к значимому увеличению доли регуляторных Т-лимфоцитов ни в одном из исследованных образцов (рис. 5).

Сокультивирование лейкоцитарных фракций с МСК из костного мозга и жировой ткани или пупочного канатика приводило к статистически значимому увеличению относительного содержания регуляторных Т-клеток (CD4+CD25+CD127<sup>low</sup>). В среднем при сокультивировании с МСК пупочного канатика относительное содержа-

Клеточный состав лейкоцитарных фракций, выделенных из крови доноров, сенсibilизированных в отношении специфических аллергенов

Номер донора	Аллерген	Лимфоциты, %	Моноциты, %	Гранулоциты, %
1	Пыльца березы	69.8 ± 2.0	4.0 ± 2.0	25.7 ± 2.0
2	Шерсть и эпителий кошки	75.0 ± 4.0	8.9 ± 2.0	16.0 ± 3.0
3	Рыба	71.4 ± 1.0	9.0 ± 0.5	19.6 ± 1.0
4	Креветки	79.0 ± 4.0	10.0 ± 3.0	11.0 ± 3.0
5	Рыба	85.7 ± 5.0	6.0 ± 0.5	8.3 ± 4.0
6	Креветки	87.2 ± 8.0	5.7 ± 2.0	7.1 ± 5.5
7	Амброзия полыннолистная	85.6 ± 4.0	8.1 ± 5.0	6.3 ± 1.0
8	Шерсть кошки	78.0 ± 4.5	9.0 ± 2.0	13.0 ± 3.0
9	Цитрусовые	77.9 ± 3.0	9.6 ± 2.0	12.5 ± 3.0
10	Пенициллин	75.8 ± 7.0	9.3 ± 4.0	14.9 ± 3.0
11	Лидокаин	73.0 ± 2.0	8.0 ± 2.0	19.0 ± 3.0
12	Пыльца березы	80.0 ± 4.0	8.9 ± 2.0	11.0 ± 3.0
13	Перхоть кошки	69.5 ± 5.0	7.7 ± 1.0	23.0 ± 6.0
14	Тополь	81.0 ± 0.7	10.0 ± 0.5	9.0 ± 0.5
15	Горчица	77.2 ± 1.0	6.8 ± 2.0	16.0 ± 3.0
16	Пенициллин	67.3 ± 6.0	11.7 ± 2.0	21.0 ± 3.0

Рис. 1. Содержание В-лимфоцитов (Влц), Т-лимфоцитов (Тлц) и естественных киллеров (ЕК) относительно общего количества лимфоцитов в лейкоцитарных фракциях после их культивирования в ростовой среде (контр) или в среде с аллергенами (+алл).

Вертикальные отрезки — ошибки среднего.

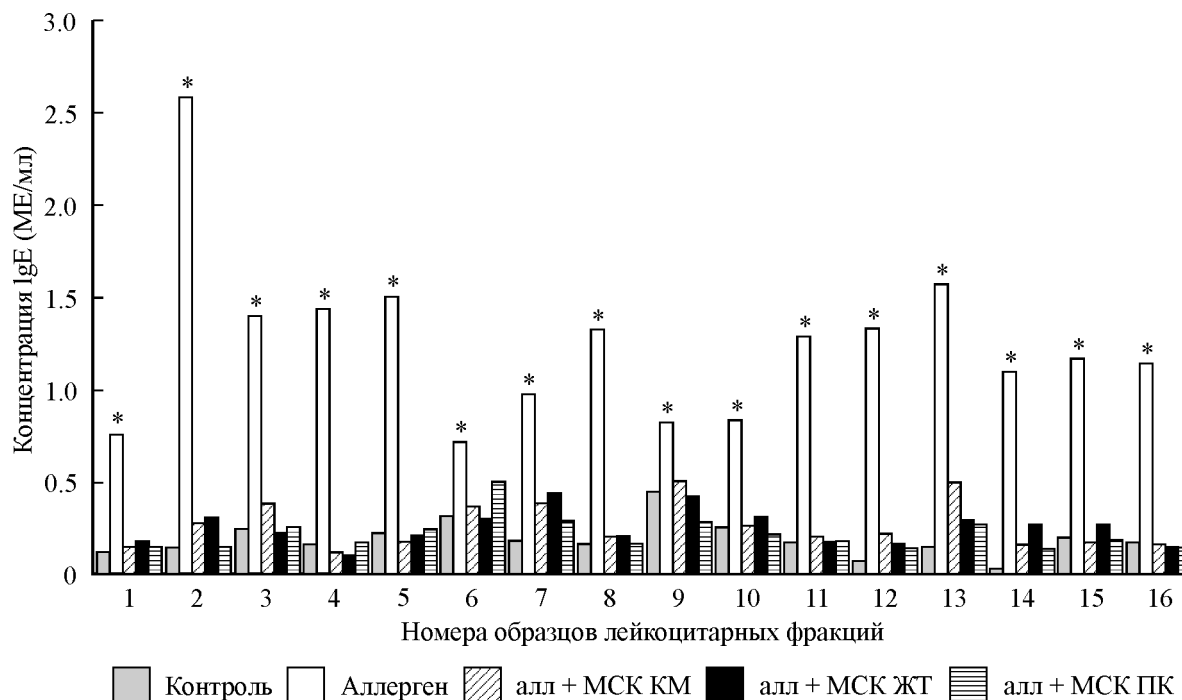
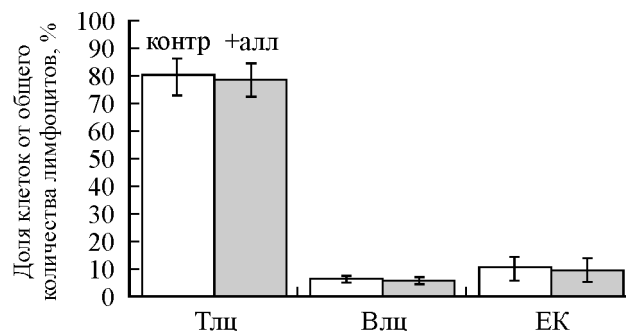


Рис. 2. Концентрация IgE в среде после культивирования клеток лейкоцитарных фракций в ростовой среде (контроль), или в среде с аллергенами (аллерген), или при сокультивировании с МСК из разных источников в присутствии аллергенов.

Клетки лейкоцитарной фракции культивировали в присутствии аллергена совместно с МСК костного мозга (алл+МСК КМ), МСК жировой ткани (алл+МСК ЖТ) или МСК пупочного канатика (алл+МСК ПК). Звездочкой обозначены данные, достоверно отличные от контроля ( $P < 0.05$ ).

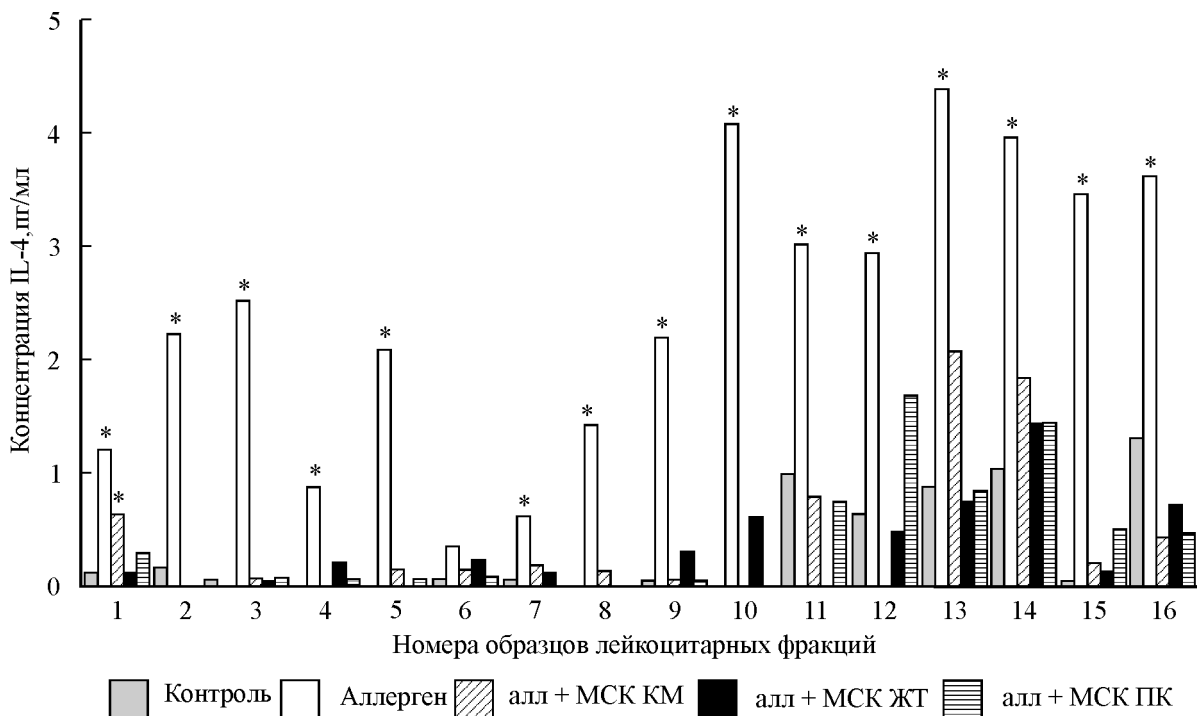


Рис. 3. Концентрация IL-4 в среде после культивирования клеток лейкоцитарных фракций в ростовой среде (контроль), или в среде с аллергенами (аллерген), или при сокультивировании с МСК из разных источников в присутствии аллергенов. Обозначения те же, что и на рис. 2.

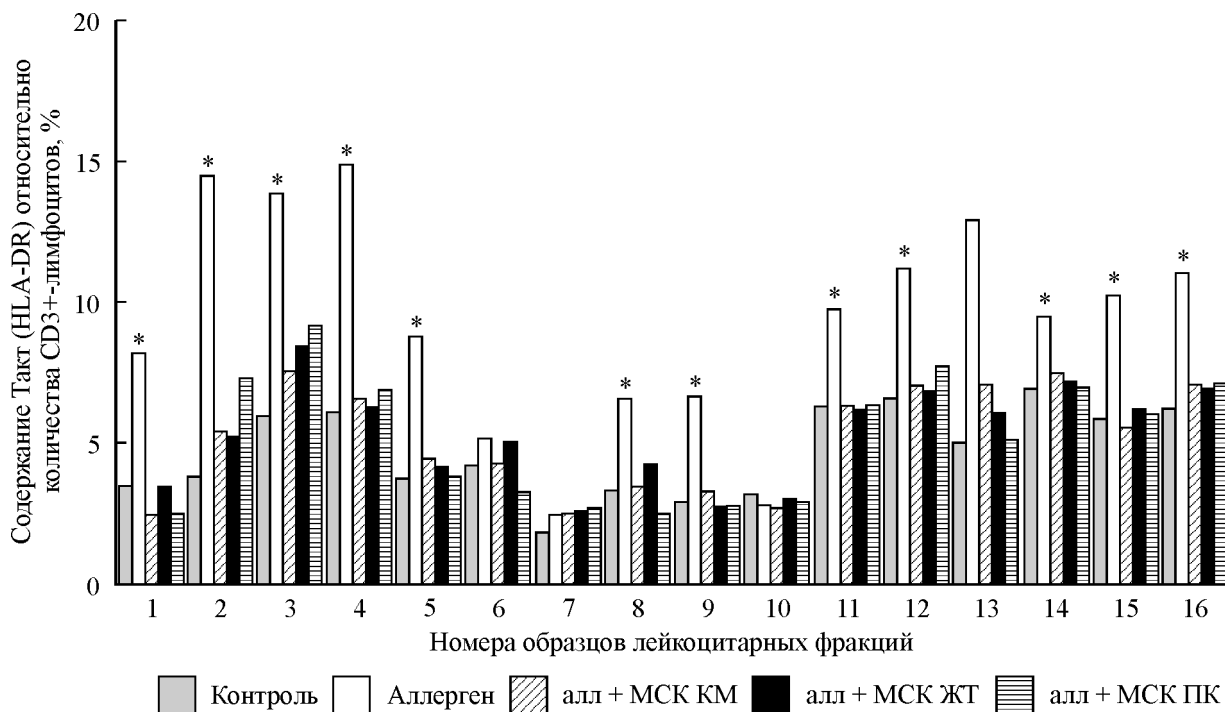


Рис. 4. Содержание активированных (CD3+ и HLA-DR+) Т-лимфоцитов (Такт) относительно количества CD3+-лимфоцитов после культивирования клеток лейкоцитарных фракций в ростовой среде (контроль), или в среде с аллергенами (аллерген), или при сокультивировании с МСК из различных источников в присутствии аллергенов. Обозначения те же, что и на рис. 2.

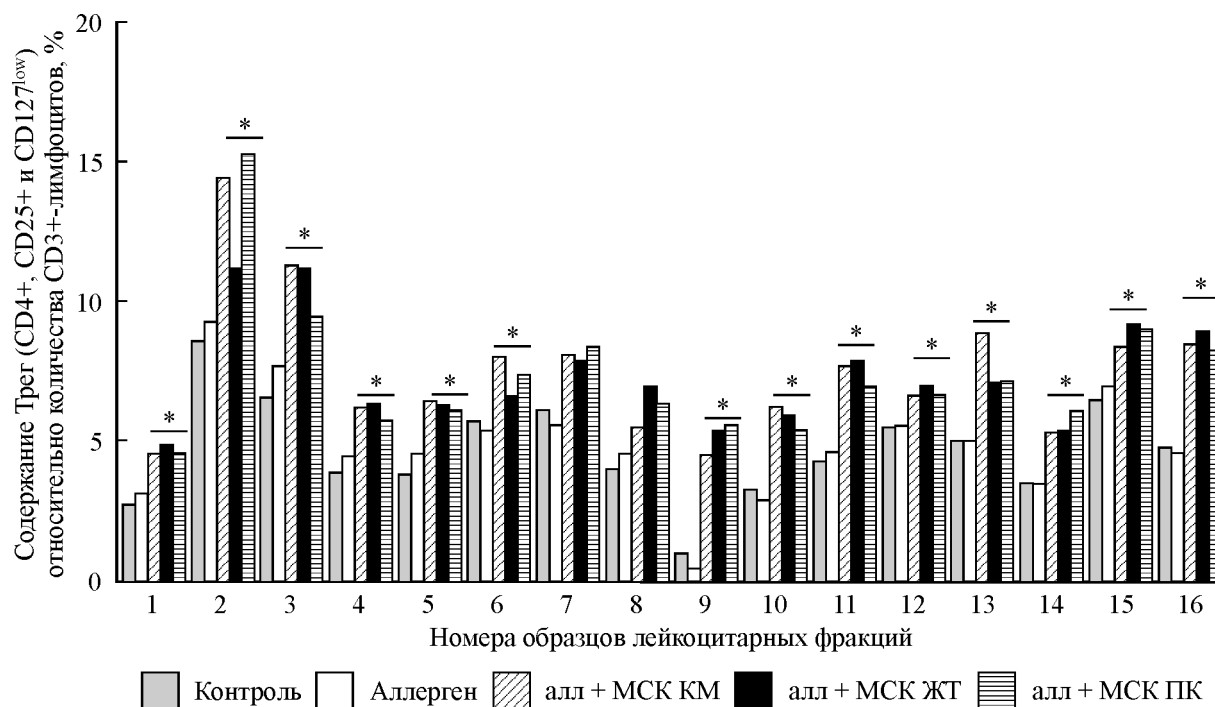


Рис. 5. Содержание регуляторных Т-лимфоцитов (Treg) (CD4+, CD25+ и CD127<sup>low</sup>) относительно количества CD3+-лимфоцитов после культивирования клеток лейкоцитарных фракций в ростовой среде (контроль), или в среде с аллергенами (аллерген), или при сокультивировании с МСК из различных источников в присутствии аллергенов.

Звездочками с горизонтальными отрезками обозначены данные, достоверно отличные от контроля ( $P < 0.05$ ).

ние регуляторных Т-клеток увеличивалось на 34 % (минимальное значение — 13, максимальное — 59 %). В опытах с МСК из костного мозга прирост этого показателя составлял 31 % (минимальное значение — 13, максимальное — 53 %), а при использовании МСК жировой ткани — 30 % (минимальное значение — 14, максимальное — 48 %). Достоверных различий в степени влияния МСК из разных источников на увеличение содержания регуляторных Т-клеток обнаружено не было.

## Обсуждение

В настоящей работе моделировали одно из звеньев эффекторной фазы аллергических реакций, а именно изменение состояния культивируемых клеток сенсибилизированного организма при повторном контакте с аллергеном.

Рецепция аллергена обеспечивается в этом случае специфическими антителами класса IgE, которые либо встроены в мембраны В-лимфоцитов в виде В-клеточного IgE-рецептора (Wu et al., 2014), либо фиксированы на поверхности эозинофилов, базофилов или тучных клеток посредством высокоаффинного Fc-рецептора (Stone et al., 2010). В-лимфоциты отвечают на связывание аллергена продукцией IgE, а клетки гранулоцитарного ряда — синтезом IL-4, который в свою очередь стимулирует формирование субпопуляции активированных Т-лимфоцитов.

Согласно общепринятому представлению, при разделении клеток периферической крови на фиколле лимфоциты и моноциты задерживаются в верхнем слое градиента, а гранулоциты вместе с эритроцитами оказываются в нижней фракции (Noble et al., 1968). Анализ

клеточного состава лейкоцитарных фракций, полученных в настоящей работе, показал, что в выделенных популяциях наряду с лимфоцитами присутствовали моноциты и гранулоциты, т. е. все клеточные типы, которые ответственны за появление сдвигов, наблюдаемых при культивировании в присутствии аллергенов.

В трех образцах (№ 6, 7 и 10) реакции лейкоцитов на внесение в культуру аллергена проявлялись в появлении в культуральной среде IgE и IL-4, но роста численности активированных Т-лимфоцитов в этих пробах не было. Возможно, что в указанных случаях темп дифференцировки был замедлен, и накопления клеток к моменту прекращения культивирования не произошло.

Следует отметить, что группа обследованных доноров была достаточно гетерогенной по типу сенсибилизирующего аллергена, формам и тяжести клинических проявлений атопической гиперчувствительности. Тем не менее, в целом реакции клеток лейкоцитарной фракции на контакт с аллергенами были достаточно однородными: во всех случаях при контакте с аллергенами наблюдали продукцию IgE и IL-4, в большинстве опытов происходил рост численности популяции активированных Т-клеток.

Проявления иммуномодулирующей активности МСК в отношении лейкоцитов доноров-аллергиков также оказались однозначными. В ходе экспериментов было установлено, что аллогенные МСК блокировали инициированную инкубацией с аллергенами продукцию IgE и IL-4 и предотвращали увеличение относительного содержания Т-лимфоцитов, несущих маркер поздней активации HLA-DR. Полученные результаты согласуются со сложившимся в литературе представлением о том, что блокада активации Т-лимфоцитов является одним из основных проявлений иммуномодулирующей активности МСК

(Le Blanc et al., 2004; Cappellesso-Fleury et al., 2010; Kronsteiner et al., 2011). Увеличение экспрессии маркеров активации лимфоцитов (CD25, CD71 и HLA-DR) рассматривают как один из показателей обострения atopических заболеваний, причем уровень экспрессии HLA-DR связывают с тяжестью заболевания (Gemou-Engesaeth et al., 2002; Antúnez et al., 2006).

Сокультивирование клеток лейкоцитарных фракций с МСК из разных источников приводило к росту количества регуляторных Т-лимфоцитов с фенотипом CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD127<sup>low</sup>, в то время как само присутствие аллергена в лейкоцитарных культурах влияло на их численность не оказывало. Формирование популяции Т-регуляторных клеток под влиянием МСК описано в ряде работ. Согласно современным представлениям, снижение количества и (или) функциональной активности регуляторных Т-клеток может влиять на развитие аллергической патологии. Как известно, регуляторные Т-клетки участвуют в поддержании баланса между Th1- и Th2-типами иммунного ответа. При этом снижение функциональной активности регуляторных Т-клеток может быть компенсировано увеличением их численности (Zhang et al., 2014).

В ряде исследований ранее было показано, что МСК из разных источников могут различаться по свойствам, в том числе по силе и направленности иммуномодулирующей активности (Wagner et al., 2005; Айзенштадт и др., 2014). Данные, полученные в настоящей работе, свидетельствуют об отсутствии различий между МСК, полученными из костного мозга, жировой ткани или пупочного канатика, в способности ингибировать проявления аллерген-специфических эффекторных реакций в условиях *in vitro*.

### Список литературы

- Айзенштадт А. А., Иванова Н. А., Багаева В. В., Смолянинов А. Б., Пиневиц А. А., Самойлович М. П., Климович В. Б. 2014. Внутриклеточные иммуноглобулины в линиях Namalva и U266 при сокультивировании с мезенхимными стромальными клетками. Цитология. 56 (2) : 117—122. (Ayzenshtadt A. A., Ivanova N. A., Bagaeva V. V., Smolyaninov A. B., Pinevich A. A., Samoylovich M. P., Klimovich V. B. 2014. Intracellular immunoglobulins in Namalva and U266 cells co-cultivated with mesenchymal stromal cells. Cell Tissue Biol. 8 (3) : 193—197.)
- Гранов А. М., Жаринов Г. М., Зверев О. Г., Некласова Н. Ю., Агафонова М. В., Климович В. Б. 2005. Способ лечения аллергических заболеваний. Патент РФ № 2250773. (Granov A. M., Zharinov G. M., Zverev O. G., Neklasova N. Y., Agafonova M. V., Klimovich V. B. 2005. A method for treating allergic diseases. RF patent N 2250773.)
- Antúnez C., Torres M. J., Mayorga C., Corzo J. L., Jurado A., Santamaria-Babi L. F., Vera A., Blanca M. 2006. Cytokine production, activation marker, and skin homing receptor in children with atopical dermatitis and bronchial asthma. *Pediatr. Allergy Immunol.* 17 : 166—174.
- Cappellesso-Fleury S., Puissant-Lubrano B., Apoil P. A., Titeux M., Winterton P., Casteilla L., Bourin P., Blancher A. 2010. Human fibroblasts share immunosuppressive properties with bone marrow mesenchymal stem cells. *J. Clin. Immunol.* 30 : 607—619.
- Chen L., Zhang W., Yue H., Han Q., Chen B., Shi M., Li J., Li B., You S., Shi Y., Zhao R. C. 2007. Effects of human mesenchymal stem cells on the differentiation of dendritic cells from CD34<sup>+</sup> cells. *Stem Cells Develop.* 16 : 719—731.
- Chen X., Armstrong M. A., Li G. 2006. Mesenchymal stem cells in immunoregulation. *Immunol. Cell Biol.* 84 : 413—421.
- Gemou-Engesaeth V., Masao Toda M. K., Hamid Q., Halvorsen S., Groegaard J. B., Corrigan C. J. 2002. Expression of activation markers and cytokine mRNA by peripheral blood CD4<sup>+</sup> and CD8 T cells in atopical and nonatopical childhood asthma: effect of inhaled glucocorticoid. *Therapy Pediatrics.* 109 : 1—9.
- Glennie S., Soeiro I., Dyson P. J., Lam E. W., Dazzi F. 2005. Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest anergy of activated T cells. *Blood.* 105 : 2821—2827.
- Kronsteiner B., Wolbank S., Peterbauer A., Hackl C., Redl H., van Griensven M., Gabriel C. 2011. Human mesenchymal stem cells from adipose tissue and amnion influence T-cells depending on stimulation method and presence of other immune cells. *Stem Cells Develop.* 20 : 2115—2126.
- Le Blanc K., Rasmusson I., Sundberg B., Gotherstrom C., Hassan M., Uzunel M., Ringden O. 2004. Treatment of severe acute graft-versus-host disease with third party haploidentical mesenchymal stem cells. *Lancet.* 363 : 1439—1441.
- Nasef A., Ashammakhi N., Fouillard L. 2008. Immunomodulatory effect of mesenchymal stromal cells: possible mechanisms. *Regen. Med.* 3 : 531—546.
- Nauta A. J., Fibbe W. E. 2007. Immunomodulatory properties of mesenchymal stromal cells. *Blood.* 110 : 3499—3506.
- Nemeth K., Keane-Myers A., Brown J. M., Metcalfe D. D., Gorham J. D., Bundoc V. G., Hodges M. G., Jelinek I., Madala S., Karpati S., Mezey E. 2010. Bone marrow stromal cells use TGF-beta to suppress allergic responses in a mouse model of ragweed-induced asthma. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 107 : 5652—5657.
- Noble P. B., Cutts J. H., Carroll K. K. 1968. Ficoll flotation for the separation of blood leukocyte types. *Blood.* 31 : 66—73.
- Ogurlu I., Gurhan G., Kombak F. E., Filinte D., Barlan I., Akkoc T. 2014. Allogeneic pluripotent stem cells suppress airway inflammation in murine model of acute asthma. *Int. Immunopharmacol.* 22 : 31—40.
- Stone K. D., Prussin C., Metcalfe D. D. 2010. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *J. Allergy Clin. Immunol.* 125 : 73—80.
- Sun Y. Q., Deng M. X., He J., Zeng Q. X., Wen W., Wong D. S., Tse H. F., Xu G., Lian Q., Shi J., Fu Q. L. 2012. Human pluripotent stem cell-derived mesenchymal stem cells prevent allergic airway inflammation in mice. *Stem Cells.* 30 : 2692—2699.
- Wagner W., Weina F., Seckinger A., Frankhauser M., Winkler U., Krause U., Blakec J., Schwager C., Eckstein V., Ansgore W., Ho A. D. 2005. Comparative characteristics of mesenchymal stem cells from human bone marrow, adipose tissue, and umbilical cord blood. *Exp. Hematol.* 33 : 1402—1416.
- Wu L. C., Zarrin A. A. 2014. The production and regulation of IgE by the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 4 : 247—259.
- Zhang H., Kong H., Zeng X., Guo L., Sun X., He S. 2014. Subsets of regulatory T cells and their roles in allergy. *J. Translational Med.* 12 : 125—128.

## MESENCHYMAL STEM CELLS INFLUENCE ON LEUCOCYTES ALLERGEN-SPECIFIC REACTIONS IN CASE OF ATOPIC HYPERSENSITIVITY

A. A. Aisenstadt,<sup>1,2</sup> O. V. Supilnikova,<sup>1,2</sup> V. V. Bagaeva,<sup>1</sup> A. B. Smoljaninov,<sup>1,2</sup>  
M. P. Samoylovich,<sup>3</sup> V. B. Klimovich<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Stem Cell Bank Pokrovsky, Ltd.,

<sup>2</sup> Northwestern I. I. Mechnikov State Medical University and

<sup>3</sup> Russian Research Centre for Radiology and Surgical Technologies, St. Petersburg;

\* e-mail: aizendt@gmail.com

Buffy coat samples containing lymphocytes, monocytes and granulocytes, were obtained from the peripheral blood of 16 donors who had clinical manifestations of atopic hypersensitivity in their medical background. After *ex vivo* incubation with donor-specific allergens, the percentage of B- and T-lymphocytes and natural killers (NK) remained unchanged. Buffy coat incubation with allergens induced production of IgE and IL-4 in all studied samples. In 13 out of 16 cases the reaction to contact with an allergen was also evident in the increasing of T-activated lymphocytes (CD3<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>) subpopulation. Co-cultivation with MSC from bone marrow, adipose tissue and umbilical cord resulted in blocking of allergen-induced IgE and IL4 secretion and HLA-DR<sup>+</sup> T-lymphocytes subpopulation increase. There were no significant differences in the effect of MSCs, isolated from three different sources, on allergen-specific responses of leukocytes. Co-culturing of leukocytes with MSCs from all three sources led to an increase in the content of regulatory T-lymphocytes by an average of 30 %. Thus, the immunomodulatory activity of MSCs *in vitro* results in blocking of the effector part of allergic reactions.

**Key words:** mesenchymal stem cells, hypersensitivity reaction, co-cultivation.

---