

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ

УДК 576.54

**ВЛИЯНИЕ КРАТКОСРОЧНОГО ГИПОКСИЧЕСКОГО СТРЕССА
НА ИММУНОСУПРЕССИВНУЮ АКТИВНОСТЬ ПЕРИВАСКУЛЯРНЫХ
МЕЗЕНХИМНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК****К.В. Зорникова^{1,2}, А.Н. Горностаева¹, Е.Р. Андреева^{1,*}**¹Институт медико-биологических проблем РАН, Россия, 123007, г. Москва, Хорошевское ш., д. 76А;²кафедра клеточной биологии и гистологии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

*e-mail: andreeva1564@gmail.com

Мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (МСК) способны дифференцироваться в остео-, адипо- и хондронаправлении, а также влиять на репарацию, регенерацию и иммунный ответ. Эти свойства, в особенности иммуносупрессия, делают МСК перспективным инструментом для клеточной терапии и регенеративной медицины. Краткосрочный гипоксический стресс, возникающий в поврежденных тканях, может негативно отразиться на способности МСК модулировать активность активированных мононуклеарных клеток периферической крови (МНК). В настоящей работе изучено влияние краткосрочного гипоксического воздействия (менее 1% кислорода) на иммуносупрессорный потенциал МСК, постоянно культивируемых при уровне кислорода, близком к тканевому (5%). При тканевом уровне кислорода среди находящихся в суспензии МНК в присутствии МСК было выявлено увеличение доли клеток врожденного иммунитета – естественных киллеров (ЕК) – и снижение процента клеток адаптивного иммунитета – Т-лимфоцитов HLA-DR⁺, а также показано существенное подавление пролиферации Т-клеток. Среди прикрепившихся МНК была выше доля моноцитов и ниже доля ЕК-Т-клеток. Краткосрочный гипоксический стресс не оказал влияния на способность МСК подавлять пролиферацию и активацию лимфоцитов в суспензии. Однако среди лейкоцитов, прикрепившихся к МСК, было отмечено уменьшение доли моноцитов и ослабление супрессии в отношении ЕК-Т-клеток. Таким образом, гипоксический стресс не влиял на иммуномодулирующую активность МСК в отношении находящихся в суспензии МНК. Снижение доли моноцитов, образующих прямые клеточные контакты с МСК, может негативно отразиться на формировании противовоспалительного фенотипа макрофагов. *In vivo* это может вызвать замедление “ответа на повреждение” при воспалении.

Ключевые слова: мезенхимные стромальные клетки, мононуклеарные клетки периферической крови, гипоксия, иммуносупрессия, пролиферативная активность, межклеточные контакты

Мультипотентные мезенхимные стромальные клетки (МСК), выделяемые из различных тканей, таких как жировая ткань, костный мозг, пульпа зуба и др., имеют значительный потенциал для регенеративной медицины и клеточной терапии [1]. Периваскулярные участки сосудистого русла рассматриваются как одно из основных депо МСК *in vivo* [2]. *In vitro* МСК активно пролиферируют и демонстрируют способность к мультилинейной дифференцировке по различным направлениям, включая адипо-, остео- и хондродифференцировку.

Особый интерес вызывает способность МСК продуцировать широкий спектр цитокинов и растворимых факторов, благодаря которым они оказывают влияние на иммунные клетки, модулируя их активность. Еще одним преимуществом этих клеток является низкая экспрессия белков главного комплекса гистосовместимости, что позволяет использовать их для аллогенной трансплантации [3].

In vitro при стандартных условиях культивирования (5% CO₂, 20% O₂) показано, что в присутствии МСК нестимулированные Т-лимфоциты лучше выживают и имеют больший пролиферативный потенциал, в то время как пролиферативная активность стимулированных Т-клеток подавляется [4]. МСК снижают способность Т-клеток секретировать провоспалительные цитокины, такие как интерферон-γ (interferon-γ, IFN-γ), фактор некроза опухоли-α (tumor necrosis factor-α, TNF-α) [5]. При этом МСК стимулируют секрецию интерлейкинов (interleukin, IL) IL-6 и IL-8 [6], а также противовоспалительного IL-10 [7, 8]. В случае В-клеток отмечено замедление деления и секреции иммуноглобулинов разных типов (IgA, IgM, IgG), а также снижение экспрессии рецепторов хемокинов (CXCR4, CXCR5, CCR7), приводящее к угнетению хемотаксиса клеток [9]. Взаимодействие МСК и естественных киллеров (ЕК) вызывает подавление пролифератив-

ной активности при совместном культивировании клеток в условиях атмосферного содержания кислорода (20%), однако этот эффект не наблюдается при 5% кислорода [10]. Взаимодействие МСК с моноцитами приводит к их дифференцировке в макрофаги со специфическим фенотипом, сходным с так называемым противовоспалительным фенотипом M2 макрофагов [11]. Они обладают высокой фагоцитарной активностью, высоким уровнем секреции противовоспалительного IL-10 и провоспалительного IL-6 и пониженным уровнем секреции провоспалительных IL-12 и TNF- α [12].

Для различных тканей организма, в том числе и для периваскулярных областей, характерна существенно более низкая, чем атмосферная, концентрация кислорода, которую сейчас принято обозначать как “физиологическая” гипоксия [13]. Низкое парциальное давление кислорода может существенным образом модифицировать свойства стромальных клеток. Постоянное культивирование МСК при концентрации кислорода, близкой к значениям в тканях (1–10%), сопровождается увеличением экспрессии основных генов стволовых клеток: Oct3/4, Sox2, Nanog. Повышение экспрессии данных маркеров указывает на то, что при тканевых значениях кислорода МСК обладают фенотипом некоммутированных клеток-предшественников. Это коррелирует с менее выраженной остео- и адипоиндукцией в гипоксических условиях [14, 15]. Таким образом, функциональная активность МСК в “естественной среде обитания”, в частности, реакция на острый гипоксический стресс, возникающий в участках повреждения тканей, может существенным образом отличаться от того, что можно ожидать на основании результатов, получаемых при изучении свойств МСК в стандартных лабораторных условиях (20% кислорода). Ранее в нашей лаборатории было показано, что МСК эффективно подавляют функциональную активность МНК при 5% кислорода: усиливается эффект подавления пролиферации активированных МНК при прямом контакте, ослабляется активация МНК по ранним маркерам активации CD69 и CD25 [8].

В настоящей работе мы исследовали влияние короткого гипоксического стресса (1% кислорода), сходного с возникающим в областях повреждения ткани, на иммуносупрессорные свойства МСК, постоянно культивируемых в условиях физиологической гипоксии (5% кислорода).

Материалы и методы

МНК получали из периферической крови здоровых доноров методом центрифугирования в градиенте плотности гистобака (Sigma–Aldrich, США; 1,077 г/л). Для культивирования МНК и совместного культивирования МСК и МНК использовали среду RPMI 1640 (Gibco, Великобритания), содержащую раствор антибиотика (пенициллин и стреп-

томицин, конечная концентрация которых в среде культивирования составляла 100 ед./мл и 100 мг/мл, соответственно) и эмбриональную телячью сыворотку (HyClone, США) в концентрации 10%. Для активации МНК использовали фитогемагглютинин (ФГА; Sigma, США).

МСК выделяли из стромально-васкулярной фракции жировой ткани человека, которая была предоставлена многопрофильной клиникой “Союз” в рамках договора о научном сотрудничестве. Для получения первичной культуры МСК использовали ранее описанный метод [16] в модификации Буравковой и соавт. [14]. После выделения МСК сразу помещали в гипоксические условия (мультигазовый инкубатор Sanyo, Япония): 5% O₂, 5% CO₂, 37°C, влажность 100%. Полученные клетки проверяли на соответствие критериям МСК: способность к остео- и адиподифференцировке, экспрессию маркеров стромальных клеток CD73, CD90, CD105 и отсутствие экспрессии маркера гемопоэтических клеток CD45 (данные не представлены). Для экспериментов использовали МСК 4–5 пассажа, достигшие 70–80% монослоя. Часть клеток подвергали короткому гипоксическому воздействию – менее 1% кислорода, 24 ч в гипоксической камере (Stem Cell Technologies, Канада), оснащенной кислородным датчиком. К подвергшимся гипоксическому стрессу и к контрольным МСК добавляли активированные ФГА (10 мкг/мл) МНК. Совместное культивирование проводилось в течение 72 ч при 5% кислорода. В качестве контроля использовали ФГА-активированные МНК в монокультуре, также культивируемые при 5% кислорода. Схема эксперимента представлена на рисунке.

Анализ проводили в популяциях МНК, находящихся в суспензии, и МНК, прикрепившихся к МСК. МНК, прикрепившиеся к поверхности культуральных флаконов или к МСК, трипсинизировали для получения суспензии с помощью смеси растворов трипсина (0,5 г/л) и ЭДТА (0,2 г/л) (Sigma, США). Популяционный состав агранулярных лейкоцитов, субпопуляционный состав Т-клеток, их активацию и пролиферацию анализировали методом проточной цитофлуориметрии (цитофлуориметр BD Accuri C6; Beckman Dickenson, США).

Фенотипический анализ стромальных клеток проводили с применением флуорохромных конъюгатов моноклональных антител к следующим поверхностным маркерам: CD45, CD90, CD105, CD73 (BD Biosciences, США).

Для характеристики популяционного состава лейкоцитов и субпопуляций Т-клеток использовали панель моноклональных антител, оценивая долю CD3⁺(Т-клетки), CD3⁻/CD19⁺ (В-клетки), CD3⁻/CD16⁺/CD56⁺ (ЕК-клетки), CD3⁺/CD4⁺ (Т-хелперы), CD3⁺/CD8⁺ (Т-супрессоры), CD3⁺/CD16⁺/CD56⁺ (ЕК-Т-клетки), CD3⁺/HLA-DR⁺, CD3⁺/CD25⁺ (использовали антитела, меченные флуорохромами FITC или PE производства BD Biosciences, США).



Рисунок. Схема эксперимента. Часть постоянно культивируемых при 5% кислорода мезенхимных мультипотентных стромальных клеток (МСК) подвергали краткосрочному гипоксическому стрессу (24 ч, 1% кислорода). Активированные фитогемагглютинином мононуклеарные клетки (МНК) из периферической крови добавляли к МСК и совместно культивировали 72 ч при 5% кислорода. Находящиеся в суспензии МНК анализировали на пролиферативную активность, маркеры активации и популяционный состав. Прикрепившиеся МНК анализировали на популяционный состав

Пролиферацию лимфоцитов оценивали по интенсивности флуоресценции сукцинимидилового эфира карбоксифлуоресцеина (carboxyfluorescein succinimidyl ester, CFSE; Invitrogen, США), которая уменьшается в два раза при каждом делении клетки [17].

В качестве характеристики полученных выборок использовали среднее значение и стандартное отклонение. Статистическую достоверность различий между двумя группами данных оценивали с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни (для малых и средних выборок, $n \leq 30$) при выбранном уровне значимости $p < 0,05$. Для каждого эксперимента было сделано три повторности.

Результаты и обсуждение

После совместного культивирования с МСК МНК были представлены двумя популяциями. Одна из них состояла из находящихся в суспензии клеток, а другая – из МНК, прикрепившихся к МСК.

Влияние краткосрочного гипоксического стресса на способность МСК подавлять пролиферацию и активацию находящихся в суспензии ФГА-активированных лимфоцитов. Взаимодействие с МСК оказало

значительное супрессивное действие на пролиферацию активированных МНК: доля поделившихся клеток за 3 сут в монокультуре составила $59 \pm 10\%$ против $4,8 \pm 2,1\%$ после совместного культивирования. Краткосрочный гипоксический стресс не повлиял на способность МСК подавлять пролиферацию МНК: доля поделившихся клеток составила $4,3 \pm 1,8\%$ от общего числа Т-клеток.

Подавление пролиферации в присутствии МСК связано с остановкой лимфоцитов в G_0 -фазе клеточного цикла вследствие подавления секреции циклина D2 [18]. При этом следует отметить, что важную роль в подавлении пролиферации играет непосредственный контакт Т-клеток и МСК [19].

Анализ популяционного состава ФГА-активированных МНК после взаимодействия с МСК выявил двукратное увеличение доли ЕК по сравнению с их долей в монокультуре ФГА-активированных МНК. Доля Т-клеток, несущих маркер поздней активации HLA-DR, уменьшилась более чем в 2 раза, а несущих маркер ранней активации (CD25⁺) – не изменилась (табл. 1).

Краткосрочный гипоксический стресс не повлиял на способность МСК к подавлению пролиферации Т-клеток, несущих маркер поздней активации HLA-DR (табл. 1).

Влияние краткосрочного гипоксического стресса на способность МСК обеспечивать адгезию активированных МНК. Несмотря на то, что МСК могут влиять на клетки иммунной системы путем секреции цитокинов и растворимых факторов, во многих исследованиях показано усиление эффектов при непосредственном контакте клеток. А в некоторых случаях прямые контакты необходимы для осуществления иммуносупрессивных функций, например, для ЕК [20].

Для анализа популяционного и субпопуляционного состава МНК, прикрепившихся к МСК, было проведено иммуноцитохимическое окрашивание клеток, которое позволило выявить лейкоциты, среди которых были идентифицированы моноциты, ЕК, ЕК-Т-клетки, Т- и В-клетки.

Доля моноцитов была выше среди ФГА-активированных МНК, прикрепившихся к МСК, по сравнению с долей моноцитов в монокультуре ФГА-активированных МНК. Аналогичный эффект наблюдался и в отношении доли ЕК (табл. 2).

Культивирование МСК в условиях гипоксического стресса привело к ослаблению их способности подавлять пролиферацию ЕК-Т-клеток. Доля моноцитов, прикрепившихся к подвергнутым гипоксическому стрессу МСК, была ниже (табл. 2).

Влияние МСК на прикрепившиеся МНК может объясняться особенностями набора молекул, экспрессирующихся на поверхности МСК. Для МСК показана экспрессия молекул клеточной адгезии ICAM-1 и VCAM-1, формирующих специфические межклеточные контакты и играющих

Таблица 1

Популяционный состав мононуклеарных клеток крови в суспензии после взаимодействия с МСК

Клеточная популяция	Процент клеток популяции среди МНК, культивировавшихся при 5% O ₂	Процент клеток популяции среди МНК, совместно культивировавшихся с МСК при 5% O ₂	Процент клеток популяции среди МНК, совместно культивировавшихся с МСК, после гипоксического стресса
В-клетки (CD3 ⁻ /CD19 ⁺)	7,05±2,25	8,75±1,8	9,2±0,8
Т-клетки (CD3 ⁺ /CD19 ⁻)	80,2±2,3	79,4±0,7	82,0±0,9
Естественные киллеры (CD3 ⁻ /56 ⁺ 16 ⁺)	3,3±0,8	7,1±1,5*	6,2±0,8*
Естественные киллеры -Т-клетки (CD3 ⁺ /56 ⁺ 16 ⁺)	4,7±2	6,1±0,5	7,7±1,6
Ранняя активация Т-клеток (CD3 ⁺ /CD25 ⁺)	86,7±3,7	76,06±9,3	82,7±5,5
Поздняя активация Т-клеток (HLA-DR ⁺)	18,8±2,1	8,5±0,1*	11,6±2*

Примечание: * – достоверное различие между МНК и МНК в совместной культуре с МСК (p<0,05).

Таблица 2

Популяционный состав мононуклеарных клеток крови, прикрепившихся к МСК

Клеточная популяция	Процент клеток популяции среди МНК, культивировавшихся при 5% O ₂	Процент клеток популяции среди МНК, совместно культивировавшихся с МСК при 5% O ₂	Процент клеток популяции среди МНК, совместно культивировавшихся с МСК после гипоксического стресса
В-клетки (CD3 ⁻ /CD19 ⁺)	6,9±1,1	6,2±0,4	6,2±0,5
Т-клетки (CD3 ⁺ /CD19 ⁻)	76,9±5,1	72,5±5	70,3±3,5
Естественные киллеры (CD3 ⁻ /56 ⁺ 16 ⁺)	3,9±0,8	7,0±0,5*	6,7±0,6*
Естественные киллеры -Т-клетки (CD3 ⁺ /56 ⁺ 16 ⁺)	4,7±0,8	2,5±0,4*	4,1±0,8
Моноциты (CD14 ⁺)	3,1±0,9	16,4±3,6*	10,2±1,3*

Примечание: * – достоверное различие между МНК и МНК в совместной культуре с МСК (p<0,05).

ключевую роль в иммуносупрессии Т-клеток [21]. Характерная для МСК экспрессия белков семейства В7 также определяет разнонаправленность воздействий, оказываемых на МНК. Так, например, белок В7-Н3 может оказывать как ингибирующее, так и стимулирующее действие на Т-клетки [22]. Можно предположить, что краткосрочный гипоксический стресс подавляет экспрессию ICAM-1 на МСК, что обуславливает меньшую адгезию моноцитов. Недавно было показано, что именно прямые контакты между провоспалительными макрофагами М1 и МСК играют существенную роль в активации иммуносупрессорной активности МСК [23].

Таким образом, гипоксический стресс практически не оказывает влияние на выраженность и направление иммуномодулирующих свойств МСК в отношении находящихся в суспензии МНК. Ранее в нашей лаборатории было показано, что острый гипоксический стресс не влияет также и на другие морфологические и функциональные свойства МСК:

сохраняются жизнеспособность, морфология и мезенхимальный фенотип. После 24 ч гипоксического воздействия наблюдалось увеличение уровня экспрессии HIF-3α, ERK7, MEK1 и c-fos и снижение экспрессии MKK6, p53, CCNA2, CCNB1 и CCNB2. Значительно повышалась секреция фактора роста сосудов (vascular endothelial growth factor, VEGF) и IL-6 [24]. Эти данные позволяют предположить, что острая гипоксия не повлияет на функциональную активность МСК при их аллогенной трансплантации в области повреждения и воспаления. Однако ослабление способности моноцитов прикрепляться к МСК в условиях гипоксического стресса, а также увеличение доли ЕК среди находящихся в суспензии лимфоцитов может негативно влиять на последовательное развитие воспалительной реакции, снижая вклад МСК в процесс регенерации.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект №17-04-00942).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Murphy M.B., Moncivais K., Caplan A.I.* Mesenchymal stem cells: environmentally responsive therapeutics for regenerative medicine // *Exp. Mol. Med.* 2013. Vol. 45. e54.
2. *Murray I.R., West C.C., Hardy W.R., James A.W., Park T.S., Nguyen A., Tawonsawatruk T., Lazzari L., Soo C., Pault B.* Natural history of mesenchymal stem cells, from vessel walls to culture vessels // *Cell. Mol. Life Sci.* 2014. Vol. 71. N 8. P. 1353–1374.
3. *Jones B.J., McTaggart S.J.* Immunosuppression by mesenchymal stromal cells: from culture to clinic // *Exp. Hematol.* 2008. Vol. 36. N 6. P. 733–741.
4. *Benvenuto F., Ferrari S., Gerdoni E., Gualandi F., Frassoni F., Pistoia V., Mancardi G., Uccelli A.* Human mesenchymal stem cells promote survival of T cells in a quiescent state // *Stem Cells.* 2007. Vol. 25. N 7. P. 1753–1760.
5. *Di Nicola M., Carlo-Stella C., Magni M., Milanese M., Longoni P.D., Matteucci P., Grisanti S., Gianni A.M.* Human bone marrow stromal cells suppress T-lymphocyte proliferation induced by cellular or nonspecific mitogenic stimuli // *Blood.* 2002. Vol. 99. N 10. P. 3838–3843.
6. *Kronsteiner B., Wolbank S., Peterbauer A., Hackl C., Redl H., van Griensven M., Gabriel C.* Human mesenchymal stem cells from adipose tissue and amnion influence T-cells depending on stimulation method and presence of other immune cells // *Stem Cells Dev.* 2011. Vol. 20. N 12. P. 2115–2126.
7. *Engela A.U., Baan C.C., Dor F.J., Weimar W., Hoogduijn M.J.* On the interactions between mesenchymal stem cells and regulatory T cells for immunomodulation in transplantation // *Front. Immunol.* 2012. Vol. 3. 126.
8. *Gornostaeva A.N., Andreeva E.R., Buravkova L.B.* Human MMSC immunosuppressive activity at low oxygen tension: direct cell-to-cell contacts and paracrine regulation // *Human Physiology.* 2013. Vol. 39. N 2. P. 136–146.
9. *Corcione A., Benvenuto F., Ferretti E., Giunti D., Cappiello V., Cazzanti F., Rizzo M., Gualandi F., Mancardi G.L., Pistoia V., Uccelli A.* Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions // *Blood.* 2006. Vol. 107. N 1. P. 367–372.
10. *Krampera M., Cosmi L., Angeli R., Pasini A., Liotta F., Andreini A., Santarasci V., Mazzinghi B., Pizzolo G., Vinante F., Romagnani P., Maggi E., Romagnani S., Annunziato F.* Role for interferon-gamma in the immunomodulatory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells // *Stem Cells.* 2006. Vol. 24. N 2. P. 386–398.
11. *Kim J., Hematti P.* Mesenchymal stem cell-educated macrophages: a novel type of alternatively activated macrophages // *Exp. Hematol.* 2009. Vol. 37. N 12. P. 1445–1453.
12. *Melief S.M., Geutskens S.B., Fibbe W.E., Roelofs H.* Multipotent stromal cells skew monocytes towards an anti-inflammatory interleukin-10-producing phenotype by production of interleukin-6 // *Haematologica.* 2013. Vol. 98. N 6. P. 888–895.
13. *Ivanovic Z.* Hypoxia or in situ normoxia: The stem cell paradigm // *J. Cell Physiol.* 2009. Vol. 219. N 2. P. 271–275.
14. *Buravkova L.B., Grinakovskaya O.S., Andreeva E.R., Zhambalova A.P., Kozionova M.P.* Characteristics of human lipoaspirate-isolated mesenchymal stromal cells cultivated under lower oxygen tension // *Cell Tiss. Biol.* 2009. Vol. 3. N 1. P. 23–28.
15. *Fotia C., Massa A., Boriani F., Baldini N., Granchi D.* Hypoxia enhances proliferation and stemness of human adipose-derived mesenchymal stem cells // *Cytotechnology.* 2015. Vol. 67. N 6. P. 1073–1084.
16. *Zuk P.A., Zhu M., Ashjian P., De Ugarte D.A., Huang J.I., Mizuno H., Alfonso Z.C., Fraser J.K., Benhaim P., Hedrick M.H.* Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells // *Mol. Biol. Cell.* 2002. Vol. 13. N 12. P. 4279–4295.
17. *Parish C.R.* Fluorescent dyes for lymphocyte migration and proliferation studies // *Immunol. Cell Biol.* 1999. Vol. 77. N 6. P. 499–508.
18. *Glennie S., Soeiro I., Dyson P.J., Lam E.W., Dazzi F.* Bone marrow mesenchymal stem cells induce division arrest anergy of activated T cells // *Blood.* 2005. Vol. 105. N 7. P. 2821–2827.
19. *Gornostaeva A., Andreeva E., Buravkova L.* Factors governing the immunosuppressive effects of multipotent mesenchymal stromal cells *in vitro* // *Cytotechnology.* 2016. Vol. 68. N 4. P. 565–577.
20. *Ren G., Zhao X., Zhang L., Zhang J., L'Huillier A., Ling W., Roberts A.I., Le A.D., Shi S., Shao C., Shi Y.* Inflammatory cytokine-induced intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in mesenchymal stem cells are critical for immunosuppression // *J. Immunol.* 2010. Vol. 184. N 5. P. 2321–2328.
21. *Hofmeyer K.A., Ray A., Zang X.* The contrasting role of B7-H3 // *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* 2008. Vol. 105. N 30. P. 10277–10278.
22. *Espagnolle N., Balguerie A., Arnaud E., Sensebé L., Varin A.* CD54-mediated interaction with pro-inflammatory macrophages increases the immunosuppressive function of human mesenchymal stromal cells // *Stem Cell Reports.* 2017. Vol. 8. N 4. P. 961–976.
23. *Andreeva E.R., Lobanova M.V., Udartseva O.O., Buravkova L.B.* Response of adipose tissue-derived stromal cells in tissue-related O₂ microenvironment to short-term hypoxic stress // *Cells Tissues Organs.* 2015. Vol. 200. N 5. P. 307–315.

Поступила в редакцию
14.11.2017

Принята в печать
15.12.2017

CELL BIOLOGY

THE EFFECT OF SHORT-TERM HYPOXIC STRESS ON IMMUNOSUPPRESSIVE ACTIVITY OF PERIVASCULAR MULTIPOTENT STROMAL CELLS

K.V. Zornikova^{1,2}, A.N. Gornostaeva¹, E.R. Andreeva^{1,}*

*¹Institute of Biomedical Problems, Russian Academy of Sciences,
Horoshevskoye sh. 76A, Moscow, 123007, Russia;*

*²Department of Cell Biology and Histology, Faculty of Biology,
Lomonosov Moscow State University, Leninskiye gory 1–12, Moscow, 119234, Russia
e-mail: andreeva1564@gmail.com

Multipotent mesenchymal stromal cells (MSCs) are stromal precursors with capacity to differentiate in osteo-, adipo-, and chondrodirections, participate in repair, regeneration and immune response. Those abilities, especially immunosuppression, make MSCs a perspective tool for cell therapy and regenerative medicine. Short-term hypoxic stress can occur in damaged tissues and negatively affect MSC capacities to modulate functions of activated peripheral blood mononuclear cells (PBMCs). In present paper, the impact of short-term hypoxic stress (<1% of oxygen) on immunosuppressive potential of tissue oxygen (5%) adapted MSCs was evaluated. At tissue oxygen level, we detected an increase of the ratio of innate immune cells (natural killers, NK) and a decrease of the ratio of adaptive immune cells (HLA-DR⁺ T-cells) within floating PBMCs in the presence of MSCs. Additionally, inhibition of T-cell proliferation was observed. Within adhered PBMCs the ratio of monocytes was higher and the ratio of NK-T-cells was lower. Short-term hypoxic stress did not affect MSC immunosuppression toward lymphocytes in suspension. Nevertheless, a decrease of percent of monocytes and NK-T-cells within adhered PBMCs was detected. Thus, hypoxic stress did not influence immunosuppressive activity of MSCs toward floating PBMCs. Attenuation of monocyte adhesion to MSCs upon cell-to-cell interaction may negatively impact on development of MSC-educated macrophages phenotype with anti-inflammatory activity. *In vivo* it may provoke slowdown of “response to injury” during inflammation.

Keywords: *mesenchymal stem cells, peripheral blood mononuclear cells, hypoxia, immunosuppression, proliferative activity, intercellular interactions*

Сведения об авторах

Зорникова Ксения Викторовна – студентка кафедры клеточной биологии и гистологии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-499-195-15-73; e-mail: kse2574@yandex.ru

Горностаева Александра Николаевна – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории клеточной физиологии ИМБП РАН. Тел.: 8-499-195-15-73; e-mail: hindiii@yandex.ru

Андреева Елена Ромуальдовна – докт. биол. наук, ведущий науч. сотр. лаборатории клеточной физиологии ИМБП РАН. Тел.: 8-499-195-15-73; e-mail: andreeva1564@gmail.com