

**Анализ жизнеспособности клеток рака молочной железы и меланомы человека после ко-культивирования с опухоль-специфичными иммунными клетками *in vitro***

*Городилова А.В.<sup>1</sup>, Харисова Ч.Б.<sup>2</sup>, Маясин Ю.П.<sup>3</sup>, Филлин И.Ю.<sup>4</sup>*

1 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра генетики, Казань, Россия, *E-mail: annagorodilova23@gmail.com*;

2 - Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра генетики, Казань, Россия, *E-mail: harisovachulpan@gmail.com*; 3

- Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра генетики, Казань, Россия, *E-mail: mayasin\_yuriy@mail.ru*; 4 - Казанский

(Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра генетики, Казань, Россия, *E-mail: filin.ivy@gmail.com*

Дендритные клетки (ДК) представляют собой профессиональные антигенпрезентирующие клетки. Благодаря наличию молекул МНС-II и костимулирующих доменов на поверхности мембраны, ДК способны активировать наивные Т-клетки, что свидетельствует о возможности использования терапевтических вакцин на основе ДК для лечения онкологических заболеваний. Таким образом, целью работы является оценка способности цитотоксических Т-лимфоцитов (ЦТЛ), активированных загруженными опухолевыми мембранными везикулами моноцитарными дендритными клетками (моДК), индуцировать апоптоз клеток рака молочной железы, меланомы человека и мезенхимальных стволовых клеток (МСК).

Мононуклеарные клетки периферической крови (МКПК) человека выделили путем центрифугирования в градиенте плотности фиколла (1,077 г/см<sup>3</sup>). Из полученной фракции клеток выделили CD14<sup>+</sup> моноциты путем адгезии к поверхности культурального планшета. Дифференцировка моДК проводилась в течение 7 дней путем добавления цитокинового коктейля. Индуцированные мембранные везикулы (иМВ) выделяли из клеток меланомы человека М14 и клеток рака молочной железы MDA-MB 231 при помощи цитохалазина В и добавляли к моДК для инкубации в течение 48 часов, после чего свежeweделенные МКПК добавляли к зрелым моДК для антигенпрезентации (АП).

Совместное культивирование моДК и МКПК происходило в течение 7 дней с добавлением ИЛ-2, после чего активированные Т-клетки добавляли к культурам клеток М14, MDA-MB 231 и МСК для ко-культивирования в течение суток. Цитотоксическую активность Т-киллеров оценивали при помощи теста на апоптоз (Аннексин V) методом проточной цитофлуориметрии.

Согласно полученным данным процент жизнеспособной популяции в клеточной линии М14 при культивировании с МКПК, не прошедшими АП, не отличается от контрольной группы опухолевых клеток. Тогда как клетки, культивируемые с МКПК, активированные моДК+иМВ-М14 показали отличие на 18% от контроля. У культуры клеток MDA-MB 231, культивируемой с неактивированными МКПК, доля жизнеспособной популяции снизилась на 11%, тогда как у клеток, культивируемых с МКПК, активированными моДК+иМВ-MDA-MB 231, этот показатель увеличился до 33%. Также была оценена жизнеспособность МСК, культивируемых как с неактивированными МКПК, так и активированными МКПК при помощи моДК+иМВ-MDA-MB 231 и моДК+иМВ-М14. В ходе анализа было показано, что отличий от контрольной группы клеток во всех образцах не выявлено.

Таким образом, активированные Т-лимфоциты посредством моДК, полученных в результате направленной дифференцировки и загруженных опухолевыми иМВ, способны

индуцировать апоптоз опухолевых клеток, не влияя на жизнеспособность МСК. Полученные выводы свидетельствуют о потенциальном использовании вакцин на основе ДК в качестве безопасной адъювантной терапии при лечении онкологических заболеваний, однако необходимы дальнейшие исследования в данной сфере для поиска возможных путей модуляции иммунного противоопухолевого ответа.