

## T-регуляторные клетки и трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток

О.С. Караваева<sup>✉</sup>, М.Ю. Дроков, Е.Г. Хамаганова

ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ,

125167, Россия, Москва, Новый Зыковский пр-д, д. 4

<sup>✉</sup>Автор, ответственный за переписку: Ольга Станиславовна Караваева, аспирант, врач-гематолог НМИЦ гематологии, [olga.starikova.1994@mail.ru](mailto:olga.starikova.1994@mail.ru)

### Аннотация

Статья посвящена обобщению имеющихся данных о T-регуляторных клетках. Подробно описаны этапы их изучения, развитие, классификация, механизмы иммуносупрессии в общем понимании, а также в аспекте трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. Рассмотрено влияние иммуносупрессивных агентов на данную популяцию клеток. Раскрыта роль T-регуляторных клеток в патогенезе как острой, так и хронической реакции «трансплантат против хозяина», а также подробно освещены возможности клинического применения T-регуляторных клеток (в том числе модифицированных) в рамках профилактики и терапии данных осложнений.

**Ключевые слова:** T-регуляторные клетки, Трег, трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток, острая реакция «трансплантат против хозяина», хроническая реакция «трансплантат против хозяина»

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

### Финансирование

Исследование проводилось без спонсорской поддержки

### Благодарности

Коллектив авторов выражает благодарность научному сотруднику сектора научных исследований химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костного мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ Н.Н. Поповой за помощь в подготовке данной статьи

**Для цитирования:** Караваева О.С., Дроков М.Ю., Хамаганова Е.Г. T-регуляторные клетки и трансплантация аллогенных гемопоэтических стволовых клеток. *Трансплантология*. 2022;14(4):462–475. <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2022-14-4-462-475>

## Regulatory T-cells and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

O.S. Karavaeva✉, M.Yu. Drokov, E.G. Khamaganova

National Medical Research Center for Hematology,  
4 Noviy Zыkovskiy Dr., Moscow 125167 Russia✉Corresponding author: Olga S. Karavaeva, Postgraduate, Hematologist,  
National Medical Research Center for Hematology, olga.starikova.1994@mail.ru

## Abstract

The article has summarized the available data about regulatory T cells, describing in-detail the stages of their studying, their development, classification, mechanisms of immunosuppression in general terms and also in the context of allogeneic hematopoietic stem cells transplantation. The effect of immunosuppressive agents on this cell population is considered.

The role of regulatory T cells in the pathogenesis of both acute and chronic graft-versus-host disease has been revealed. The possibilities of clinical use of regulatory T cells (including modified regulatory T cells) in the prevention and treatment of these complications are described in detail.

**Keywords:** regulatory T cells, Treg, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, acute graft-versus-host disease, chronic graft-versus-host disease

**CONFLICT OF INTERESTS** Authors declare no conflict of interest

**FINANCING** The study was performed without external funding

**ACKNOWLEDGMENTS** The team of authors expresses their gratitude to N.N. Popova, the Researcher of the Sector for Scientific Research in Chemoblastosis Chemotherapy, Hematopoietic Depressions, and Bone Marrow Transplantation of the National Medical Research Center for Hematology for her contributing help in preparing this article

**For citation:** Karavaeva OS, Drokov MYu, Khamaganova EG. Regulatory T-cells and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2022;14(4):462–475. (In Russ.). <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2022-14-4-462-475>

аллоТГСК– трансплантация аллогенных гемопоэтических  
стволовых клеток

АПК – антигенпрезентирующие клетки  
АТГ – антитимоцитарный глобулин  
ГКГ – главный комплекс гистосовместимости  
ГКС – глюкокортикостероиды  
ДН – двойные негативные клетки  
ДП – двойные позитивные тимоциты  
ИЛ – интерлейкин  
иТрег – индуцированные Трег  
МФМ – микрофолат мофетил  
ОП – одиночные позитивные тимоциты  
ОРТПХ – острая РТПХ

пТрег – периферические Трег  
РТПО – реакция «трансплантат против опухоли»  
РТПХ – реакция «трансплантат против хозяина»  
ТКР – Т-клеточный рецептор  
Трег – Т-регуляторные клетки  
tТрег – тимические или натуральные Трег  
тФРβ – трансформирующий фактор роста β  
хрРТПХ – хроническая РТПХ  
HLA – человеческий лейкоцитарный антиген  
CAR – химерный антигенный рецептор  
FoxP3- – FoxP3-негативные клетки  
mTOR – ингибитор мишени рапамицина у млекопитающих

### Т-регуляторные клетки: история открытия, функция

Т-регуляторные клетки (Трег) – это субпопуляция Т-лимфоцитов, обеспечивающая периферическую толерантность путем контроля силы и продолжительности иммунного ответа через регуляцию функции Т-эффекторов [1].

Исследования Трег начались более полувека назад. Так, в 1971 году была опубликована статья, где высказывалось предположение о существовании популяции супрессорных лимфоцитов тимического происхождения, способной снижать противомикробный ответ Т-лимфоцитов [2]. В течение последующих 10 лет было опубли-

ковано множество работ, демонстрирующих подавляющие свойства Т-супрессорных клеток. Однако в начале 80-х, по мере развития молекулярной биологии, данные исследований в этой области были поставлены под сомнение, а термин «Т-супрессоры» почти исчез.

«Вторую» жизнь исследование данной популяции получило после публикации сообщений о развитии аутоиммунных осложнений у мышей, подвергшихся тимэктомии [3], а также о положительном влиянии на аутоиммунный процесс инфузии Т-лимфоцитов определенного фенотипа [4]. Таким образом, термин «Т-супрессорные

клетки» трансформировался в Трег благодаря их способности «регулировать» иммунный ответ.

Долгое время велся поиск мембранных маркеров для более точного выделения данной популяции клеток, и в начале 2000-х, примерно одновременно, были обнаружены два факта: а) популяция Трег функционально зависит от интерлейкина-2 (ИЛ-2); б) она характеризуется высокой экспрессией рецепторов к цитокину CD25 [5]; в) данная популяция клеток характеризуется наличием фактора транскрипции FoxP3 [6]. В дальнейшем была продемонстрирована отрицательная корреляция между экспрессией FoxP3 и экспрессией CD127-рецептора к ИЛ-7 [7]. Таким образом на сегодняшний день в большинстве работ популяция Трег выделяется следующим образом: CD3+ CD4+ CD25<sup>hi</sup> CD127<sup>lo/-</sup>.

Важно упомянуть, что существуют другие популяции лимфоцитов, обладающие регуляторным потенциалом. В частности, В-регуляторные клетки [8], которые реализуют иммуносупрессивные свойства путем прямого межклеточного взаимодействия и путем секреции ИЛ-10, а также популяция CD8+ Трег, действующая преимущественно за счет цитолиза (с участием перфорина, гранзима А и В) [9]. Однако в этой статье речь пойдет о CD4+ Трег.

Как уже было упомянуто, доказана роль Трег в предотвращении аутоиммунных реакций [10], а также индукции толерантности к аллотрансплантату [11], снижении противоопухолевого иммунитета – описано увеличение количества Трег в микроокружении опухолей [12].

#### **Т-регуляторные клетки: этапы созревания и классификация**

По происхождению Трег делятся на тимические или натуральные (тТрег), и индуцированные или периферические (иТрег, пТрег) [13]. Важно отметить, что вторая группа клеток называется «индуцированной», когда превращение в Трег произошло *in vitro*, и «периферической» – *in vivo*.

Для понимания формирования тТрег необходимо обратиться к этапам дифференцировки Т-лимфоцитов. Развитие Т-лимфоцитов начинается в костном мозге, где из клетки-предшественницы лимфопоэза формируется ранний Т-клеточный предшественник, который мигрирует в тимус, а именно в его корковое вещество [14]. Эти самые ранние тимоциты лишены экспрессии CD4 и CD8, а потому называются двойными негативными (ДН) клетками. Около 5% этих клеток приобретают  $\gamma\delta$ -Т-клеточный рецептор

(ТКР) и без прохождения «положительного» и «отрицательного» отборов выходят из тимуса в периферическую кровь, где реализуют функцию первичного иммунного ответа.

Большинство же ДН-timoцитов идут по пути формирования  $\alpha\beta$ -ТКР – именно эти клетки в дальнейшем станут Т-хелперами (CD4+) и Т-цитотоксическими лимфоцитами (CD8+). На первом этапе ДН подвергаются перестройке ТКР с образованием CD4+CD8+ двойных позитивных тимоцитов (ДП).

Следующий этап называется «положительным отбором (селекцией)». На этом этапе ТКР ДП-timoцитов проверяется на способность связывания с молекулой главного комплекса гистосовместимости I (ГКГ-I) или II (ГКГ-II) класса, при этом один из рецепторов перестает экспрессироваться на мембране и начинается формирование CD4+ или CD8+ одиночных позитивных (ОП) тимоцитов. Клетки, создавшие нефункциональный ТКР, подвергаются апоптозу.

Далее ОП-timoциты мигрируют в мозговое вещество тимуса, где происходит этап «отрицательного отбора», при котором апоптозу подвергаются аутореактивные Т-лимфоциты – то есть тимоциты с высокой степенью аффинности ТКР к ГКГ [15]. Интересно, что часть таких тимоцитов не подвергается отрицательной селекции, а дифференцируется в Трег [16]. Важно отметить, что репертуар ТКР тТрег человека лишь на четверть перекрывается с репертуаром других, «нерегуляторных» CD4+ клеток [17].

Широко обсуждается вопрос: на каком этапе дифференцировки тимоцит приобретает приверженность к линии Трег [18]. Так, популяция, экспрессирующая CD25 и FoxP3 в основном представлена CD4+ ОП-timoцитами, с малой долей CD8+ ОП [16], ДП и ДН-клеток.

Клетки, прошедшие все этапы, приобретают фенотип CD45RA+CCR7+, выходят из тимуса в периферическую кровь, где именуются наивными Т-лимфоцитами (не тимоцитами).

Клетки пТрег формируются на периферии из наивных (нерегуляторных) CD4+ FoxP3-негативных (FoxP3-) клеток под действием трансформирующего фактора роста  $\beta$  (ТФР $\beta$ ) и ИЛ-2 [19]; пТрег призваны регулировать иммунный ответ на «неаутоантигены» – например, антигены пищи, антигены микробиоты кишечника, антигены плода [20]. Подтверждает этот факт изменение репертуара ТКР Трег кишечника после антибиотикотерапии [21]. Однако важно отметить, что в кишечнике регулирующую функ-

цию реализуют не только пТрег, но и тТрег, что продемонстрировано в работе D.F. Zagarra-Ruiz et al. – антигены кишечной микробиоты представляются Т-клеткам в тимусе [22].

Стоит отметить, что, несмотря на принципиально разные источники происхождения, тТрег и пТрег (иТрег) нельзя различить по мембранным маркерам. На сегодняшний день дифференцировать одну популяцию от другой можно с помощью анализа эпигенетических структур, а именно локуса, кодирующего FoxP3 [13]. Также разнится стабильность экспрессии FoxP3: пТрег (иТрег) в воспалительных условиях могут дифференцироваться в эффекторные клетки [23].

Как уже было отмечено ранее, репертуар ТКР различается между популяцией тТрег и «нерегуляторных» CD4+ клеток [17]. Учитывая формирование пТрег из «нерегуляторных» популяций Т-хелперов, по этому признаку также можно разделить подмножества – тТрег и пТрег: репертуар ТКР тТрег склонен к распознаванию аутоантигенов, а ТКР пТрег нацелен в большей степени на распознавание чужеродных антигенов [24].

Также можно классифицировать Трег по степени зрелости (как и другие Т-клетки) на основании экспрессии CD45RA, CD62L и CCR7 (CD197). Таким образом, можно выделить наивные клетки, клетки центральной памяти, эффекторной памяти и эффекторные Трег [25]. Стоит отметить, что соотношение этих субпопуляций Трег меняется с возрастом – в норме у молодых людей около 30% Трег наивны [26], а в дальнейшем, в связи с инволюцией тимуса, уменьшается доля наивных Трег, уступая место Трег памяти [27].

#### Механизмы иммуносупрессии Т-регуляторных клеток

Механизмы, с помощью которых Трег подавляют иммунный ответ, чрезвычайно многообразны. По виду воздействия их можно разделить на четыре группы: цитотоксичность, секреция ингибирующих цитокинов, влияние на дендритные клетки и нарушение метаболизма [1].

Долгое время считалось, что Трег не обладают цитотоксической активностью, однако в исследовании 2006 года было продемонстрировано, что Трег могут убивать В-клетки гранзим В-зависимым и, частично, перфорин-зависимым образом [28]. В другой работе было показано, что путем цитотоксичности Трег в микроокружении опухоли убивают цитотоксические Т-лимфоциты и НК-клетки, тем самым снижая противоопухолевый ответ [29].

В ранее опубликованной нами работе [30] было продемонстрировано, что у пациентов, перенесших трансплантацию аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК), малое количество гранзим В-позитивных Трег определяло высокую вероятность развития острой реакции «трансплантат против хозяина» (ОРТПХ) – минимальное количество этих клеток определялось в день установления диагноза ОРТПХ. Напротив, вероятность ОРТПХ снижалась с ростом количества гранзим В-позитивных Трег.

К ингибирующим цитокинам, продуцируемым Трег, относятся ИЛ-10, ТФРβ, ИЛ-35. Эти цитокины подавляют активацию и пролиферацию эффекторных Т- и В-лимфоцитов, а также могут индуцировать формирование пТрег и В-регуляторных клеток из нерегуляторных популяций [31]. Иммуносупрессивные свойства ИЛ-10 продемонстрированы, например, на мышинных моделях воспалительных заболеваний кишечника [32], при подавлении аллергического воспаления при бронхиальной астме [33]. Роль как ИЛ-10, так и ТФРβ изучена в подавлении противоопухолевого ответа в микроокружении опухолей [34].

Интересно, что ТФРβ реализует супрессивную функцию не только как секретируемый Трег цитокин, но и посредством межклеточного взаимодействия в форме, связанной с мембраной Трег. Это продемонстрировано, например, на модели сахарного диабета I типа, где за счет влияния ТФРβ, связанного с мембраной Трег, сдерживается инфильтрация CD8+ лимфоцитами островков Лангерганса и тем самым замедляется прогрессирование заболевания [35].

Дендритные клетки являются одной из популяций антигенпрезентирующих клеток организма. Они презентуют чужеродный антиген, связанный с молекулой ГКГ I или II типа, Т-клеткам, активируя их. В связи с чем эффективное угнетение функции дендритной клетки позволяет регулировать иммунный ответ. Трег индуцируют формирование толерогенных дендритных клеток (вызывают анергию Т-эффектора, взаимодействующего с комплексом антиген-ГКГ, индуцируют формирование пТрег) или нарушают процесс представления антигена дендритной клеткой [36].

Среди способов нарушения метаболизма можно выделить «обкрадывание» CD8+ лимфоцитов ИЛ-2 (за счет более высокой плотности рецептора к этому интерлейкину на поверхности Трег по сравнению с CD8+ клетками) [37].

Также к механизмам нарушения метаболизма можно отнести индукцию распада аденозинтри-



фосфорной кислоты до аденозина с помощью ферментов на мембране Трег. Повышенная концентрация аденозина снижает пролиферативную активность Т-лимфоцитов, а также влияет на дендритные клетки, подавляя их антигенпрезентирующую способность [38].

Также Трег могут нарушать поступление ионов кальция к эффекторным лимфоцитам, нарушая их активацию (так как не функционируют кальцийзависимые факторы транскрипции) [39].

Важно отметить, что Трег используют перечисленные супрессивные механизмы в комбинациях, а также, что эти механизмы продолжают активно изучаться.

#### **Роль Т-регуляторных клеток в развитии реакции «трансплантат против хозяина»**

Несмотря на совершенствование алгоритмов подбора донора (сопоставление по человеческому лейкоцитарному антигену – HLA), а также профилактической терапии, РТПХ остается ведущей причиной безрецидивной заболеваемости и смертности после аллотГСК [40].

Различают 2 вида РТПХ: оРТПХ и хроническая РТПХ (хрРТПХ); оРТПХ характеризуется отсутствием признаков, характерных для хрРТПХ. Острая форма РТПХ включает классическую оРТПХ (до 100 дня) и постоянную, рецидивирующую или позднюю оРТПХ (после дня 100, часто после отмены иммуносупрессии или трансфузии лимфоцитов донора). Хроническая форма РТПХ включает классическую хрРТПХ (без признаков оРТПХ) и синдром перекреста (присутствуют признаки как острой, так и хрРТПХ) [41].

Патогенетически оРТПХ опосредована зрелыми эффекторными Т-клетками донора, которые активируются после встречи с аллоантигенами реципиента [42].

Патогенетические механизмы при хрРТПХ изучены не так хорошо, как при острой, в первую очередь из-за того, что до сих пор ни одна животная модель не воспроизводит все особенности течения хрРТПХ у человека. Однако исследователям удалось выделить основные патогенетические моменты: нарушение механизмов толерантности как центральной (повреждение тимуса кондиционированием и/или при оРТПХ с формированием Т-лимфоцитов, направленных против антигенов хозяина, что в свою очередь приводит к активации аллореактивных В-клеток), так и периферической (недостаточность Трег), а также

образование фиброза в органах-мишенях [43]. Далее мы рассмотрим исследования, в которых изучалась роль Трег в патогенезе РТПХ.

На мышинных моделях было продемонстрировано, что начальная фаза хрРТПХ ассоциирована со значительным снижением Трег в периферической крови, а с течением времени и на фоне иммуносупрессивной терапии их количество увеличивается [44].

В другой работе, выполненной на людях, было показано, что соотношение Трег: Т-хелперы значительно ниже на 2-й неделе после аллотГСК у пациентов с развившимся впоследствии оРТПХ, в сравнении с пациентами, у которых в дальнейшем данного осложнения не наблюдалось [45], в связи с чем сниженное число Трег может рассматриваться как предиктор развития оРТПХ.

Также в исследовании А.С. Alho et al. [46] при анализе реконституции CD3+ клеток у 107 пациентов после аллотГСК было продемонстрировано, что количество CD3+клеток восстанавливалось до нормального в течение 2 лет, однако важно отметить, что внутри Т-клеточного компартмента CD8+ Т-клетки восстанавливались быстрее, и ни Трег, ни Т-хелперы не достигали нормального уровня в течение 2-летнего периода наблюдения. Также авторам удалось продемонстрировать, что у пациентов с хрРТПХ соотношение Трег:Т-хелперы и Трег:CD8+ Т-клеток значительно ниже, чем у пациентов без хрРТПХ.

Учитывая, что аллореактивные лимфоциты реализуют аллоиммунный ответ в тканях, интересно не только изучение регуляторных и эффекторных популяций в крови, но и в органах-мишенях. Так, в работе К. Rieger et al. было изучено 95 биоптатов двенадцатиперстной кишки и толстого кишечника от 49 пациентов после аллотГСК [47]. При острой и хрРТПХ отмечалось увеличенное количество CD8+ клеток по сравнению с образцами, полученными от пациентов без РТПХ, что сопоставимо с работами других авторов [48], но этот показатель также увеличен при дивертикулите и цитомегаловирусном колите, что не позволяет использовать его в качестве дифференциально диагностического маркера. Однако исследователям удалось выяснить, что при РТПХ соотношение FoxP3+/CD8+ соответствует образцам, полученным от пациентов без признаков воспаления в двенадцатиперстной и толстой кишке, в то время как при дивертикулите и цитомегаловирусном колите отмечалось увеличение этого соотношения вслед за экспансией CD8+ клеток. Авторы интерпретируют получен-

ные данные так: РТПХ с поражением кишечника связана с недостаточной активацией Трег.

Другие работы сосредоточены на изучении клеточного состава трансплантата. Два похожих исследования, проведенных примерно в одно время авторами из США [49] и Китая [50], показали, что количество Трег в трансплантате влияет на вероятность развития оРТПХ – содержание Трег  $10,0 \times 10^6/\text{кг}$  и более значительно снижает вероятность развития оРТПХ, а также у этих пациентов наблюдается более быстрое восстановление показателей периферической крови после аллотГСК.

Интересно, что трансплантаты гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), мобилизованные с помощью плериксафора, содержат большее количество Трег, чем при использовании гранулоцитного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) [51].

#### **Роль Т-регуляторных клеток в приживлении трансплантата**

Важно отметить, что регуляторный потенциал Трег настолько мощен, что аллогенные ГСК могут выживать в организме необлученных мышей около 30 дней без дополнительной иммуносупрессии, локализуясь рядом с Трег организма хозяина в костномозговых нишах [52].

Ряд работ показывает, что Трег способствуют приживлению ГСК. Например, в работе Y. Hirata et al. [53] на мышинной модели исследовалась популяция Трег костномозговой ниши. Авторы продемонстрировали, что снижение количества Трег организма хозяина костномозговой ниши приводит к значимому снижению донорского химеризма, причем степень снижения химеризма была выше через 24 недели после аллотГСК, чем через 9 недель; а трансфузия Трег костномозговой ниши увеличивала донорский химеризм в периферической крови. Данные наблюдения подтверждают способность Трег костномозговой ниши обеспечивать долговременную иммунную защиту ГСК.

В другой работе [54] на мышинных моделях было показано, что трансфузия Трег обеспечивает приживление аллогенных ГСК, а также, что временное истощение НК-клеток приводит к приживлению ГСК без использования трансфузии Трег. Данные наблюдения позволили сделать вывод о том, что Трег облегчают приживление ГСК в том числе за счет подавления функции НК-клеток. Интересно, что при восстановлении пула НК-клеток после истощения отторжения аллогенных ГСК не происходило, что объяс-

няется способностью Трег индуцировать толерантность НК-клеток организма хозяина к аллотрансплантату – НК-клетки реципиентов ГСК, получавших трансфузию Трег, и это изменило репертуар рецепторов.

Таким образом, популяция Трег очень важна для обеспечения приживания аллогенных ГСК.

#### **Роль Т-регуляторных клеток в реализации реакции «трансплантат против опухоли»**

Известно, что свойство Трег подавлять иммунный ответ способствует канцерогенезу – так, описано увеличение количества циркулирующих Трег у пациентов, страдающих онкологическими заболеваниями по сравнению со здоровыми людьми [55]. Более того, увеличение инфильтрирующих опухоль Трег ассоциировано с плохим прогнозом и более низкой выживаемостью пациентов [56].

Важно отметить, что описано увеличение количества Трег в костном мозге и периферической крови пациентов острыми лейкозами [57, 58]. Однако на мышинных моделях было продемонстрировано, что трансфузии Трег, подавляя способность аллореактивных донорских Т-клеток индуцировать РТПХ, не снижают эффективность реакции «трансплантат против опухоли» (РТПО) [59]. Также, при применении трансфузии Трег у пациентов после аллотГСК не отмечено снижения активности РТПО [60–62] – подробнее об этих исследованиях в разделе, посвященном клиническому применению Трег для профилактики РТПХ.

#### **Влияние иммуносупрессивных агентов на Т-регуляторные клетки**

Учитывая важную роль Трег в патогенезе ауто- и аллоиммунных осложнений, очень важно понимание влияния на эти клетки различных иммуносупрессивных агентов.

Ингибиторы кальциневрина – это наиболее часто применяемые иммуносупрессанты в трансплантации гемопоэтических стволовых клеток и солидных органов. В исследованиях показано, что ингибиторы кальциневрина снижают количество и функциональную активность циркулирующих Трег [63], а на фоне отмены этих препаратов отмечается повышение Трег в крови [64]. Также это подтверждается тем, что смена иммуносупрессивной терапии с ингибиторов кальциневрина на антипролиферативное средство – микофенолата мофетил (МФМ) – ассоциирована с увеличением пула Трег [65], вероятно, за счет индукции

превращения Т-хелперов в Трег [66]. Однако есть работы, демонстрирующие, что МФМ дозозависимо угнетает пролиферативную активность и жизнеспособность Трег [67].

Исследование группы немецких ученых [68] на мышинных моделях РТПХ демонстрирует, что трансфузия Трег совместно с применением циклоспорина А увеличивает накопление Трег в местах воспаления, таких как легкие и печень – это может быть полезным при терапии РТПХ с поражением этих органов.

Позитивным влиянием на Трег отличаются препараты из группы ингибиторов мишени рапамицина у млекопитающих (mTOR). Они способствуют экспансии и поддерживают функцию Трег, как в исследованиях *ex vivo*, так и *in vivo* [69], что делает схемы профилактики РТПХ на основе ингибиторов mTOR, а не ингибиторов кальциневрина, перспективными.

Циклофосфамид занимает все более сильные позиции в качестве профилактики развития РТПХ. Механизм действия циклофосфамада основан на селективном разрушении быстро пролиферирующих Т-клеток, в то время как Трег «ускользают» от этого влияния за счет повышенной экспрессии фермента альдегиддегидрогеназы [70]. Интересно, что в модели ксенотрансплантации удаление Трег из трансплантата отменяло защитные качества циклофосфамада [70].

Кроличий антиtimoцитарный глобулин (АТГ) приводит к деплеции циркулирующих Т-лимфоцитов, в том числе и Трег, однако последние восстанавливаются гораздо быстрее других популяций, что полезно для профилактики развития РТПХ [71]. Однако в исследованиях *in vitro* при инкубации мононуклеаров периферической крови с малой дозой кроличьего АТГ было отмечено увеличение количества Трег (путем преобразования CD4+CD25-Т-клеток в CD4+CD25+-Т-клетки), в то время как при инкубации с лошадиным АТГ количество Трег уменьшалось [72].

Глюкокортикостероиды (ГКС) на сегодняшний день остаются препаратами первой линии в терапии как острой, так и хронической РТПХ, а соответственно важно их влияние на Трег. Изучение этого влияния проводилось у пациентов, получавших ГКС по поводу аутоиммунных заболеваний. Было продемонстрировано, что при терапии ГКС в дозе 5 мг/сут и более отмечалось увеличение уровня Трег периферической крови в сравнении с уровнем до начала терапии, а также в сравнении с группой пациентов, не получавших ГКС [73].

Напротив, при изучении Трег на фоне терапии метилпреднизолоном в дозе 250 мг/сут в течение 3 дней (в качестве терапии острого отторжения почечного трансплантата) не было зафиксировано количественного изменения популяции Трег, однако описаны качественные изменения – увеличение доли эффекторных Трег и уменьшение доли Трег центральной памяти [74].

Однако в уже упомянутом выше исследовании немецкой группы [68] на мышинных моделях РТПХ сочетание метилпреднизолона и трансфузии Трег приводило к уменьшению рекрутирования Трег в очаги воспаления и быстрому ухудшению состояния некоторых животных.

Интересно влияние на Трег гипометилирующих препаратов, которые могут применяться в составе посттрансплантационного противорецидивного воздействия. Азацидин и децитабин индуцируют экспрессию FoxP3 в CD4+CD25-Т-клетках как *in vitro*, так и *in vivo* [75]. В то время как на мышинных моделях было продемонстрировано, что Трег устойчивы к антипролиферативному действию гипометилирующих агентов [76].

#### Клиническое применение Т-регуляторных клеток в качестве профилактики реакции «трансплантат против хозяина»

Учитывая несомненную роль Трег в патогенезе РТПХ, в течение последних лет очень активно изучается вопрос применения Трег в качестве профилактики и терапии этого осложнения.

Исследования, проведенные на мышинных моделях, демонстрировали способность инфузии Трег сдерживать развитие РТПХ, индуцированной инфузией Т-лимфоцитов, или облегчать ее симптомы в зависимости от времени введения и дозы клеток [77].

Примером применения Трег с целью профилактики РТПХ может служить исследование под названием Orca-T [60]: в нулевой день пациентам выполнялась трансфузия селектированных CD34+ клеток в сочетании с Трег – целевая доза последних  $3 \times 10^6$ /кг, а через 2 дня – трансфузия CD3+ клеток в дозе  $3 \times 10^6$ /кг. В исследование были включены 34 пациента, которым была выполнена аллотГСК от полностью совместимых доноров (25 – от родственного полностью совместимого донора, 6 – от неродственного). Посттрансплантационная иммуносупрессия включала такролимус у 8 пациентов и сиролимус – у 6. Группа сравнения (аллотГСК в сочетании с метотрексатом и такролимусом) включала 138 пациентов после аллотГСК от родственно-

го (79 пациентов) и неродственного (59 пациентов) полностью совместимого донора. Было продемонстрировано более быстрое приживление трансплантата в группе Orca-T, а также более низкая частота развития как оРТПХ 2–4-й степени (0% против 33%), так и хрРТПХ (4% против 44%).

Интересным представляется тот факт, что применение Трег эффективно для профилактики РТПХ и при выполнении аллоТГСК от гаплоидентичных доноров (гаплоТГСК), даже без сопроводительной иммуносупрессивной терапии.

Так, в исследовании M. Di Ianni et al. [61] 28 пациентам с гемобластомами была выполнена аллоТГСК от гаплоидентичных доноров по следующей схеме: селектированные Трег в -4 день, а затем в нулевой день селектированные CD34+ клетки в сочетании с инфузией Т-лимфоцитов. Профилактика РТПХ не проводилась. Приживление трансплантата было отмечено у 26 из 28 пациентов, среди этих 26 пациентов только у 2 развилась оРТПХ и ни у одного не развилась хрРТПХ.

В работе итальянских исследователей [62] 50 пациентам была осуществлена гаплоТГСК по поводу опухоли миелоидного ростка крови по следующей схеме: в -4 день – Трег в дозе  $2 \times 10^6$ /кг, в -1 день – CD3+клетки в дозе  $1 \times 10^6$ /кг и в нулевой день – селектированные CD34+ клетки (медиана составила  $10,7 \pm 3,4 \times 10^6$ /кг) без последующей иммуносупрессивной терапии. У 15 пациентов развилась оРТПХ 2-й степени и выше, хрРТПХ среднетяжелой/тяжелой степени развилась лишь у 1 пациента из 50, а двухлетняя выживаемость без хрРТПХ и без прогрессии основного заболевания составила 75%.

Важно отметить, что во всех приведенных в этой части статьи исследованиях [60–62] не было отмечено отрицательного влияния инфузии Трег на РТПО, а также на вероятность развития инфекционных осложнений.

#### Клиническое применение

##### Т-регуляторных клеток для лечения РТПХ

Применение Трег в качестве терапии оРТПХ ярко продемонстрировано на мышиных моделях. Например, в работе C. Riegel et al. [78] показано, что Трег, мигрируя в лимфоидные органы, а также в органы-мишени оРТПХ (преимущественно желудочно-кишечного тракта), подавляют пролиферацию Т-клеток и тем самым уменьшают клинические и гистологические признаки оРТПХ, значимо улучшая выживаемость.

Крупных исследований применения Трег в терапии оРТПХ человека пока нет, но есть сообщения об эффективности такой терапии. Например, польские авторы сообщают, что инфузия Трег пациенту, страдающему оРТПХ 4-й степени, позволила лишь временно улучшить состояние, однако на самый длительный срок среди всех применяемых иммунодепрессантов [79].

Также трансфузии Трег эффективны в качестве терапии хрРТПХ. Например, в исследовании [80] при применении трансфузии Трег у пациентов, страдающих хрРТПХ, было отмечено улучшение и стабилизация процесса. В другой работе [81] пациентам с хрРТПХ переливались Трег, подвергнутые ex vivo экспансии, и также отмечалась стабилизация процесса или клиническое улучшение.

На сегодняшний день на сайте clinicaltrials.gov опубликовано более 40 исследований, посвященных роли Трег в профилактике и терапии как острой, так и хрРТПХ.

Интересно, что источником Трег в ряде этих исследований выступает «третий» донор – использование «сторонних» Трег безопасно (не увеличивает риски РТПХ) и эффективно в контроле над развитием РТПХ [82].

#### Модификация Т-регуляторных клеток

Ограничивающим фактором применения Трег является небольшое количество их в периферической крови – пул Трег в периферической крови здоровых людей составляет всего 5–10% от CD4+ Т-клеток, в связи с чем актуальным представляется применение как in vivo, так и in vitro экспансии Трег.

Для экспансии Трег in vivo можно применять ИЛ-2 – данный цитокин крайне важен для развития, пролиферации и активности Трег. Этот подход демонстрирует эффективность в терапии хрРТПХ. Так, например, ученые из Кореи, применяя низкие дозы ИЛ-2 в качестве терапии хрРТПХ, выявили увеличение количества Трег в периферической крови пациента, повышение соотношения Трег:Т-хелпер 17-го типа, а также умеренное клиническое улучшение [84]. Исследователи из США продемонстрировали, что 8-недельная терапия низкими дозами ИЛ-2 вызывала усиление пролиферации Трег, а также повышение их устойчивости к апоптозу, при этом низкие дозы ИЛ-2 оказывали минимальное влияние на Т-конвенциональные клетки [85].

Интересное исследование A.A. Kennedy-Nasser et al. [86] было посвящено использованию ультра-



низких доз ИЛ-2 (100 000–200 000 МЕ/м<sup>2</sup> 3 раза в неделю), начиная с 30-го дня и до 6–12 недель после аллотГСК с целью профилактики оРТПХ. В исследование были включены 16 детей, перенесших аллотГСК от родственных (12 человек) и неродственных (4 человека) доноров. Количество Трег в периферической крови на фоне терапии увеличилось в среднем с 4,8 до 11,1%, ни у одного пациента, получавшего терапию, не развилась оРТПХ 2–4-й степени по сравнению с имевшей место 4-й из 33 (12%) в группе сравнения.

С целью размножения Трег *in vitro* применяется ИЛ-2, рапамицин (ингибитор mTOR), а также шарики, покрытые антителами к CD3 и CD28 (имитация антигенпрезентирующих клеток – АПК) [87]. Размноженные таким способом Трег демонстрируют клиническую безопасность и эффективность.

Также в лабораторных условиях можно индуцировать превращение нерегуляторных Т-клеток в иТрег, однако данный подход ограничивается нестабильностью (потеря FoxP3) и пластичностью (приобретение T<sub>H</sub>1/2/17-подобного фенотипа и свойств) полученных иТрег [13], в связи с чем ведутся исследования, направленные на стабилизацию FoxP3 [88].

Желание получить максимальный регулирующий эффект от Трег привело к созданию и использованию антиген-специфических Трег, эффективность которых выше, чем поликлональных Трег, что продемонстрировано на моделях сахарного диабета I типа [89], аутоиммунного заболевания центральной нервной системы [90], а также на моделях аллогенной трансплантации [91, 92].

Например, в исследовании [91] на мышинной модели экспансия Трег донора проводилась в присутствии реципиента АПК, тем самым способствуя формированию Трег, специфичных к антигенам реципиента, способных к контролю над РТПХ. Напротив, в другой работе [92] аллоантигенспецифические Трег способствовали подавлению отторжения кожного трансплантата.

Однако размножение антиген-специфических Трег ограничено из-за небольшого количества

предшественников. Авторами найдено три пути решения данной проблемы [93]: два из них основаны на перенаправлении поликлональных Трег путем формирования искусственного рецептора – химерного антигенного рецептора (CAR) или сконструированного ТКР, а третий путь основан на превращении антиген-специфических Т-лимфоцитов в Трег путем индукции FoxP3.

Пока в области аллотГСК нашли применение CAR-Трег. В работе K.G. MacDonald et al. [94] на модели ксеногенной трансплантации продемонстрировано, что Трег, сконструированные с помощью CAR, нацеленного на HLA-A2 (обычно не совпадающий при аллотГСК) индуцируют аллоантиген-специфическую супрессию, предотвращая РТПХ. Однако не вызывает сомнений, что два других метода формирования антиген-специфических Трег тоже займут достойное место в профилактике и терапии осложнений аллотГСК.

## Выводы

1. Т-регуляторные клетки – уникальная популяция лимфоцитов, обеспечивающая периферическую толерантность. Вероятно, предстоит еще много открытий в области механизмов, с помощью которых Т-регуляторные клетки реализуют свои функции. Однако на сегодняшний день терапия с использованием Т-регуляторных клеток или направленная на них уже занимает весомые позиции в практике врачей по всему миру.

2. Т-регуляторные клетки являются перспективным методом профилактики и лечения реакции «трансплантат против хозяина», который позволяет контролировать это тяжелое аллоиммунное осложнение без потери реакции «трансплантат против опухоли». Данный метод ограничивается финансовой составляющей, а также малым содержанием популяции Т-регуляторных клеток в периферической крови, что требует применения экспансии клеток или их модификации. Дальнейшие исследования в этой области смогут улучшить исходы трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток.

## Список литературы/References

- Vignali DAA, Collison LW, Workman CJ. How regulatory T cells work. *Nat Rev Immunol.* 2008;8(7):523. PMID: 18566595 <https://doi.org/10.1038/NRI2343>
- Gershon RK, Kondo K. Infectious immunological tolerance. *Immunology.* 1971;21(6):903–914. PMID: 4943147
- Nishizuka Y. A novel experimental system of organ-localized autoimmune diseases in the mouse. *Acta Pathol Jpn.* 1982;32 Suppl 1:211–222. PMID: 6764999
- Powrie F, Leach MW, Mauze S, Caddie LB, Coffman RL. Phenotypically distinct subsets of CD4+ T cells induce or protect from chronic intestinal inflammation in C. B-17 scid mice. *Int Immunol.* 1993;5(11):1461–1471. PMID: 7903159 <https://doi.org/10.1093/intimm/5.11.1461>
- Almeida ARM, Legrand N, Papiernik M, Freitas AA. Homeostasis of peripheral CD4+ T cells: IL-2R alpha and IL-2 shape a population of regulatory cells that controls CD4+ T cell numbers. *J Immunol.* 2002;169(9):4850–4860. PMID: 12391195 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.169.9.4850>
- Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science.* 2003;299(5609):1057–1061. PMID: 12522256 <https://doi.org/10.1126/science.1079490>
- Liu W, Putnam AL, Xu-yu Z, Szot GL, Lee MR, Zhu S, et al. CD127 expression inversely correlates with FoxP3 and suppressive function of human CD4+ T reg cells. *J Exp Med.* 2006;203(7):1701–1711. PMID: 16818678 <https://doi.org/10.1084/jem.20060772>
- Kalampokis I, Yoshizaki A, Tedder TF. IL-10-producing regulatory B cells (B10 cells) in autoimmune disease. *Arthritis Res Ther.* 2013;15Suppl1(Suppl 1):S1. PMID: 23566714 <https://doi.org/10.1186/ar3907>
- Mishra S, Srinivasan S, Ma C, Zhang N. CD8+ regulatory T cell – a mystery to be revealed. *Front Immunol.* 2021;12:708874. PMID: 34484208 <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.708874>
- Takahashi T, Sakaguchi S. Naturally arising CD25+CD4+ regulatory T cells in maintaining immunologic self-tolerance and preventing autoimmune disease. *Curr Mol Med.* 2003;3(8):693–706. PMID: 14682491 <https://doi.org/10.2174/1566524033479429>
- Sakaguchi S, Sakaguchi N, Shimizu J, Yamazaki S, Sakihama T, Itoh M, et al. Immunologic tolerance maintained by CD25+ CD4+ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. *Immunol Rev.* 2001;182:18–32. PMID: 11722621 <https://doi.org/10.1034/J.1600-065X.2001.1820102.X>
- Saleh R, Elkord E. FoxP3+ T regulatory cells in cancer: prognostic biomarkers and therapeutic targets. *Cancer Lett.* 2020;490:174–85. PMID: 32721551 <https://doi.org/10.1016/J.canlet.2020.07.022>
- Dominguez-Villar M, Hafler DA. Regulatory T cells in autoimmune disease. *Nat Immunol.* 2018;19(7):665–673. PMID: 29925983 <https://doi.org/10.1038/S41590-018-0120-4>
- Schwarz BA, Bhandoola A. Trafficking from the bone marrow to the thymus: a prerequisite for thymopoiesis. *Immunol Rev.* 2006;209(1):47–57. PMID: 16448533 <https://doi.org/10.1111/J.0105-2896.2006.00350.X>
- Baldwin TA, Hogquist KA, Jameson SC. The fourth way? Harnessing aggressive tendencies in the thymus. *J Immunol.* 2004;173(11):6515–6520. PMID: 15557139 <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.173.11.6515>
- Lio CWJ, Hsieh CS. A two-step process for thymic regulatory T cell development. *Immunity.* 2008;28(1):100–111. PMID: 18199417 <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2007.11.021>
- Fazilleau N, Bachelez H, Gougeon ML, Viguier M. Cutting edge: size and diversity of CD4+CD25high Foxp3+ regulatory T cell repertoire in humans: evidence for similarities and partial overlapping with CD4+CD25- T cells. *J Immunol.* 2007;179(6):3412–3416. PMID: 17785774 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.6.3412>
- Caramalho Í, Nunes-Cabaço H, Foxall RB, Sousa AE. Regulatory T-cell development in the human thymus. *Front Immunol.* 2015;6:395. PMID: 26284077 <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00395>
- Chen WJ, Jin W, Hardegen N, Lei KJ, Li L, Marinos N, et al. Conversion of peripheral CD4+CD25- naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med.* 2003;198(12):1875–1886. PMID: 14676299 <https://doi.org/10.1084/jem.20030152>
- Samstein RM, Josefowicz SZ, Arvey A, Treuting PM, Rudensky AY. Extrathymic generation of regulatory T cells in placental mammals mitigates maternal-fetal conflict. *Cell.* 2012;150(1):29–38. PMID: 22770213 <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2012.05.031>
- Cebula A, Seweryn M, Rempala GA, Pabla SS, McIndoe RA, Denning TL, et al. Thymus-derived regulatory T cells contribute to tolerance to commensal microbiota. *Nature.* 2013;497(7448):258–262. PMID: 23624374 <https://doi.org/10.1038/NATURE12079>
- Zegarar-Ruiz DF, Kim DV, Norwood K., Kim M, Wu WJH, Saldana-Morales FB, et al. Thymic development of gut-microbiota-specific T cells. *Nature.* 2021;594(7863):413–417. PMID: 33981034 <https://doi.org/10.1038/S41586-021-03531-1>
- Komatsu N, Okamoto K, Sawa S, Nakashima T, Oh-hora M, Kodama T, et al. Pathogenic conversion of Foxp3+ T cells into TH17 cells in autoimmune arthritis. *Nat Med.* 2014;20(1):62–68. PMID: 24362934 <https://doi.org/10.1038/NM.3432>
- Wyss L, Stadinski BD, King CG, Schallenberg S, McCarthy NI, Lee JY, et al. Affinity for self antigen selects Treg cells with distinct functional properties. *Nat Immunol.* 2016;17(9):1093–1101. PMID: 27478940 <https://doi.org/10.1038/NI.3522>
- Thome JJC, Yudanin N, Ohmura Y, Kubota M, Grinshpun B, Sathaliyawala T, et al. Spatial map of human T cell compartmentalization and maintenance over decades of life. *Cell.* 2014;159(4):814–828. PMID: 25417158 <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.10.026>
- Miyara M, Yoshioka Y, Kitoh A, Shima T, Wing K, Niwa A, et al. Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4+ T cells expressing the FoxP3 transcription factor. *Immunity.* 2009;30(6):899–911. PMID: 19464196 <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2009.03.019>
- Seddiki N, Santner-Nanan B, Tangye SG, Alexander SI, Solomon M, Lee S, et al. Persistence of naive CD45RA+ regulatory T cells in adult life. *Blood.* 2006;107(7):2830–2838. PMID: 16332974 <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2005-06-2403>

28. Zhao DM, Thornton AM, DiPaolo RJ, Shevach EM. Activated CD4+CD25+ T cells selectively kill B lymphocytes. *Blood*. 2006;107(10):3925–3932. PMID: 16418326 <https://doi.org/10.1182/blood-2005-11-4502>
29. Cao X, Cai SF, Fehniger TA, Song J, Collins LI, Piwnica-Worms DR, et al. Granzyme B and perforin are important for regulatory T cell-mediated suppression of tumor clearance. *Immunity*. 2007;27(4):635–646. PMID: 17919943 <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2007.08.014>
30. Дроков М.Ю., Паровичникова Е.Н., Кузьмина Л.А., Гальцева И.В., Васильева В.А., Михальцова Е.Д. и др. Роль гранзима В в популяции Т-регуляторных клеток у пациентов после трансплантации аллогенного костного мозга. *Гематология и трансфузиология*. 2016;61(1):32–37. Drokov MY, Parovichnikova EN, Kuzmina LA, Galtseva IV, Vasilieva VA, Mikhaltsova ED, et al. Role of granzyme B in T regulatory cells in patients after allogeneic stem cell transplantation. *Gematologiya i Transfusiologiya*. 2016;61(1):32–37. (In Russ.). <https://doi.org/10.18821/0234-5730-2016-61-1-32-37>
31. Zhu Z, Zhang Y, Ye J, Wang X, Fu X, Yin Y, et al. IL-35 promoted STAT3 phosphorylation and IL-10 production in B cells, but its production was reduced in patients with coronary artery diseases. *Hum Immunol*. 2018;79(12):869–875. PMID: 30316971 <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2018.10.009>
32. Asseman C, Mauze S, Leach MW, Coffman RL, Powrie F. An essential role for interleukin 10 in the function of regulatory T cells that inhibit intestinal inflammation. *J Exp Med*. 1999;190(7):995–1003. PMID: 10510089 <https://doi.org/10.1084/JEM.190.7.995>
33. Hawrylowicz CM, O'Garra A. Potential role of interleukin-10-secreting regulatory T cells in allergy and asthma. *Nat Rev Immunol*. 2005;5(4):271–283. PMID: 15775993 <https://doi.org/10.1038/NRI1589>
34. Loser K, Apelt J, Voskort M, Mohaupt M, Balkow S, Schwarz T, et al. IL-10 controls ultraviolet-induced carcinogenesis in mice. *J Immunol*. 2007;179(1):365–371. PMID: 17579057 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.179.1.365>
35. Green EA, Gorelik L, McGregor CM, Tran EH, Flavell RA. CD4+CD25+ T regulatory cells control anti-islet CD8+ T cells through TGF-beta-TGF-beta receptor interactions in type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(19):10878–10883. PMID: 12949259 <https://doi.org/10.1073/PNAS.1834400100>
36. Akkaya B, Oya Y, Akkaya M, Al Souz J, Holstein AH, Kamenyeva O, et al. Regulatory T cells mediate specific suppression by depleting peptide-MHC class II from dendritic cells. *Nat Immunol*. 2019;20(2):218–231. PMID: 30643268 <https://doi.org/10.1038/S41590-018-0280-2>
37. Chinen T, Kannan AK, Levine AG, Fan X, Klein U, Zheng Y, et al. An essential role for the IL-2 receptor in T reg cell function. *Nat Immunol*. 2016;17(11):1322–1333. PMID: 27595233 <https://doi.org/10.1038/NI.3540>
38. Ernst PB, Garrison JC, Thompson LF. Much ado about adenosine: adenosine synthesis and function in regulatory T cell biology. *J Immunol*. 2010;185(4):1993–1998. PMID: 20686167 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1000108>
39. Schwarz A, Schumacher M, Pfaff D, Schumacher K, Jarius S, Balint B, et al. Fine-tuning of regulatory T cell function: the role of calcium signals and naive regulatory T cells for regulatory T cell deficiency in multiple sclerosis. *J Immunol*. 2013;190(10):4965–4970. PMID: 23576680 <https://doi.org/10.4049/JIMMUNOL.1203224>
40. Ferrara JL, Levine JE, Reddy P, Holler E. Graft-versus-host disease. *Lancet*. 2009;373(9674):1550–1561. PMID: 19282026 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60237-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60237-3)
41. Jagasia MH, Greinix HT, Arora M, Williams KM, Wolff D, Cowen EW, et al. National institutes of health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease: I. The 2014 diagnosis and staging working group report. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21(3):389–401.e1. PMID: 25529383 <https://doi.org/10.1016/J.BBMT.2014.12.001>
42. Zeiser R, Blazar BR. Acute graft-versus-host disease – biologic process, prevention, and therapy. *N Engl J Med*. 2017;377(22):2167–2179. PMID: 29171820 <https://doi.org/10.1056/NEJMRA1609337>
43. Cooke KR, Luznik L, Sarantopoulos S, Hakim FT, Jagasia M, Fowler DH, et al. The Biology of chronic graft-versus-host disease: a task force report from the National institutes of health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2017;23(2):211–234. PMID: 27713092 <https://doi.org/10.1016/J.BBMT.2016.09.023>
44. Schneider M, Munder M, Karakhanova S, Ho AD, Goerner M. The initial phase of graft-versus-host disease is associated with a decrease of CD4+CD25+ regulatory T cells in the peripheral blood of patients after allogeneic stem cell transplantation. *Clin Lab Haematol*. 2006;28(6):382–390. PMID: 17105491 <https://doi.org/10.1111/J.1365-2257.2006.00825.X>
45. Fujioka T, Tamaki H, Ikegame K, Yoshihara S, Taniguchi K, Kaida K, et al. Frequency of CD4(+)FOXP3(+) regulatory T-cells at early stages after HLA-mismatched allogeneic hematopoietic SCT predicts the incidence of acute GVHD. *Bone Marrow Transplant*. 2013;48(6):859–864. PMID: 23165499 <https://doi.org/10.1038/BMT.2012.232>
46. Alho AC, Kim HT, Chammas MJ, Reynolds CG, Matos TR, Forcade E, et al. Unbalanced recovery of regulatory and effector T cells after allogeneic stem cell transplantation contributes to chronic GVHD. *Blood*. 2016;127(5):646–657. PMID: 26670634 <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2015-10-672345>
47. Rieger K, Loddenkemper C, Maul J, Fietz T, Wolff D, Terpe H, et al. Mucosal FOXP3+ regulatory T cells are numerically deficient in acute and chronic GVHD. *Blood*. 2006;107(4):1717–1723. PMID: 16278306 <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2005-06-2529>
48. Forbes GM, Erber WN, Herrmann RP, Davies JM, Collins BJ. Immunohistochemical changes in sigmoid colon after allogeneic and autologous bone marrow transplantation. *J Clin Pathol*. 1995;48(4):308–313. PMID: 7615847 <https://doi.org/10.1136/JCP.48.4.308>
49. Rezvani K, Mielke S, Ahmadzadeh M, Kilical Y, Savani BN, Zeilah J. High donor FOXP3-positive regulatory T-cell (Treg) content is associated with a low risk of GVHD following HLA-matched allogeneic SCT. *Blood*. 2006;108(4):1291–1297. PMID: 16627754 <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2006-02-003996>
50. Yang K, Fan Z-P, Liu Q-F, Zhang Y. Effect of donor CD4+CD25+ regulatory T cells on hematopoietic and immune reconstitution, GVHD and disease-free survival after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Nan Fang Yi*



*Ke Da Xue Xue Bao.* 2008;28(4):537–541. PMID: 18495584

51. Le Texier L, Lineburg KE, Cao B, McDonald-Hyman C, Mouttief LLEL, Nicholls J, et al. Autophagy-dependent regulatory T cells are critical for the control of graft-versus-host disease. *JCI Insight.* 2016;1(15). PMID: 27699243 <https://doi.org/10.1172/JCI.INSIGHT.86850>

52. Fujisaki J, Wu J, Carlson AL, Silberstein L, Putheti P, Larocca R, et al. In vivo imaging of Treg cells providing immune privilege to the haematopoietic stem-cell niche. *Nature.* 2011;474(7350):216–219. PMID: 21654805 <https://doi.org/10.1038/NATURE10160>

53. Hirata Y, Furuhashi K, Ishii H, Li HW, Pinho S, Ding L, et al. CD150high bone marrow Tregs maintain haematopoietic stem cell quiescence and immune privilege via adenosine. *Cell Stem Cell.* 2018;22(3):445–453.e5. PMID: 29456159 <https://doi.org/10.1016/J.STEM.2018.01.017>

54. Mahr B, Pilat N, Maschke S, Granofszky N, Schwarz C, Unger L, et al. Regulatory T cells promote natural killer cell education in mixed Chimeras. *Am J Transplant.* 2017;17(12):3049–3059. PMID: 28489338 <https://doi.org/10.1111/AJT.14342>

55. Kotsakis A, Koinis F, Katsarou A, Gioulbasani M, Aggouraki D, Kentepozidis N, et al. Prognostic value of circulating regulatory T cell subsets in untreated non-small cell lung cancer patients. *Sci Rep.* 2016;6:39247. PMID: 27976733 <https://doi.org/10.1038/SREP39247>

56. Nair VS, Elkord E. Immune checkpoint inhibitors in cancer therapy: a focus on T-regulatory cells. *Immunol Cell Biol.* 2018;96(1):21–33. PMID: 29359507 <https://doi.org/10.1111/IMCB.1003>

57. Idris SZ, Hassan N, Lee LJ, Md Noor S, Osman R, Abdul-Jalil M, et al. Increased regulatory T cells in acute lymphoblastic leukaemia patients. *Hematology.* 2016;21(4):206–212. PMID: 26907959 <https://doi.org/10.1080/10245332.2015.1101965>

58. Wan Y, Zhang C, Xu Y, Wang M, Rao Q, Xing H, et al. Hyperfunction of CD4 CD25 regulatory T cells in de novo acute myeloid leukemia. *BMC Cancer.* 2020;20(1):472. PMID: 32456622 <https://doi.org/10.1186/S12885-020-06961-8>

59. Edinger M, Hoffmann P, Ermann J, Drago K, Garrison Fathman C, Strober S, et al. CD4+CD25+ regulatory T cells preserve graft-versus-tumor activity while inhibiting graft-versus-host disease after

bone marrow transplantation. *Nat Med.* 2003;9(9):1144–1450. PMID: 12925844 <https://doi.org/10.1038/NM915>

60. Meyer EH, Hoeg R, Moroz A, Xie BJ, Wu HH, Pawar R, et al. 88 – Orca-T, a precision Treg-engineered donor product, in myeloablative HLA-matched transplantation prevents acute GVHD with less immunosuppression in an early multicenter experience. *Transplant Cell Ther.* 2021;27(3Suppl):S84–S85. [https://doi.org/10.1016/S2666-6367\(21\)00114-7](https://doi.org/10.1016/S2666-6367(21)00114-7)

61. Di Ianni M, Falzetti F, Carotti A, Terenzi A, Castellino F, Bonifacio E, et al. Tregs prevent GVHD and promote immune reconstitution in HLA-haploidentical transplantation. *Blood.* 2011;117(14):3921–3928. PMID: 21292771 <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2010-10-311894>

62. Pierini A, Ruggeri L, Carotti A, Falzetti F, Saldi S, Terenzi A, et al. Haploidentical age-adapted myeloablative transplant and regulatory and effector T cells for acute myeloid leukemia. *Blood Adv.* 2021;5(5):1199–2208. PMID: 33646302 <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2020003739>

63. Segundo DS, Ruiz JC, Izquierdo M, Fernández-Fresnedo G, Gómez-Alamillo C, Merino R, et al. Calcineurin inhibitors, but not rapamycin, reduce percentages of CD4+CD25+FOXP3+ regulatory T cells in renal transplant recipients. *Transplantation.* 2006;82(4):550–557. PMID: 16926600 <https://doi.org/10.1097/01.TP.0000229473.95202.50>

64. Pascual J, Bloom D, Torrealba J, Brahmabhatt R, Chang Z, Sollinger HW, et al. Calcineurin inhibitor withdrawal after renal transplantation with alemtuzumab: clinical outcomes and effect on T-regulatory cells. *Am J Transplant.* 2008;8(7):1529–1536. PMID: 18510645 <https://doi.org/10.1111/J.1600-6143.2008.02260.X>

65. Demirkan A, Sewgobind VDKD, Van Der Weijde J, Kok A, Baan CC, Kwekkeboom J, et al. Conversion from calcineurin inhibitor to mycophenolate mofetil-based immunosuppression changes the frequency and phenotype of CD4+FOXP3+ regulatory T cells. *Transplantation.* 2009;87(7):1062–1068. PMID: 19352129 <https://doi.org/10.1097/TP.0B013E31819D2032>

66. He X, Smeets RL, Koenen HJPM, Vink PM, Wagenaars J, Boots AMH, et al. Mycophenolic acid-mediated suppression of human CD4+ T cells: more than mere guanine nucleotide deprivation. *Am*

*J Transplant.* 2011;11(3):439–449. PMID: 21342445 <https://doi.org/10.1111/J.1600-6143.2010.03413.X>

67. Scottà C, Fanelli G, Hoong SJ, Romano M, Lamperti EN, Sukthankar M, et al. Impact of immunosuppressive drugs on the therapeutic efficacy of ex vivo expanded human regulatory T cells. *Hematologica.* 2016;101(1):91–100. PMID: 26471483 <https://doi.org/10.3324/haematol.2015.128934>

68. Landwehr-Kenzel S, Zobel A, Schmitt-Knosalla I, Forke A, Hoffmann H, Schmuck-Henneresse M, et al. Cyclosporine A but not corticosteroids support efficacy of ex vivo expanded, adoptively transferred human Tregs in GVHD. *Front Immunol.* 2021;12:716629. PMID: 34707604 <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2021.716629>

69. Zhang P, Tey SK, Koyama M, Kuns RD, Olver SD, Lineburg KE, et al. Induced regulatory T cells promote tolerance when stabilized by rapamycin and IL-2 in vivo. *J Immunol.* 2013;191(10):5291–5303. PMID: 24123683 <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301181>

70. Kanakry CG, Ganguly S, Zahurak M, Bolaños-Meade J, Thoburn C, Perkins B, et al. Aldehyde dehydrogenase expression drives human regulatory T cell resistance to posttransplantation cyclophosphamide. *Sci Transl Med.* 2013;5(211):211ra157. PMID: 24225944 <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3006960>

71. Gurkan S, Luan Y, Dhillon N, Allam SR, Montague T, Bromberg JS, et al. Immune reconstitution following rabbit antithymocyte globulin. *Am J Transplant.* 2010;10(9):2132–2141. PMID: 20883548 <https://doi.org/10.1111/J.1600-6143.2010.03210.X>

72. Feng X, Kajigaya S, Solomou EE, Keyvanfar K, Xu X, Raghavachari N, et al. Rabbit ATG but not horse ATG promotes expansion of functional CD4+CD25highFOXP3+ regulatory T cells in vitro. *Blood.* 2008;111(7):3675–3683. PMID: 18250226 <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2008-01-130146>

73. Suárez A, López P, Gómez J, Gutiérrez C. Enrichment of CD4+ CD25high T cell population in patients with systemic lupus erythematosus treated with glucocorticoids. *Ann Rheum Dis.* 2006;65(11):1512–1517. PMID: 16606650 <https://doi.org/10.1136/ARD.2005.049924>

74. Seissler N, Schmitt E, Hug F,



- Sommerer C, Zeier M, Schaier M, et al. Methylprednisolone treatment increases the proportion of the highly suppressive HLA-DR(+)-Treg-cells in transplanted patients. *Transpl Immunol.* 2012;27(4):157–161. PMID: 23022208 <https://doi.org/10.1016/J.TRIM.2012.09.003>
75. Choi J, Ritchey J, Prior JL, Holt M, Shannon WD, Deych E, et al. In vivo administration of hypomethylating agents mitigate graft-versus-host disease without sacrificing graft-versus-leukemia. *Blood.* 2010;116(1):129–139. PMID: 20424188 <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2009-12-257253>
76. Cooper ML, Choi J, Karpova D, Vij K, Ritchey J, Schroeder MA, et al. Azacitidine mitigates graft-versus-host disease via differential effects on the proliferation of T effectors and natural regulatory T cells in vivo. *J Immunol.* 2017;198(9):3746–3754. PMID: 28330901 <https://doi.org/10.4049/JIMMU-NOL.1502399>
77. Nguyen VH, Zeiser R, DaSilva DL, Chang DS, Beilhack A, Contag CH, et al. In vivo dynamics of regulatory T-cell trafficking and survival predict effective strategies to control graft-versus-host disease following allogeneic transplantation. *Blood.* 2007;109(6):2649–2656. PMID: 17095616 <https://doi.org/10.1182/BLOOD-2006-08-044529>
78. Riegel C, Boeld TJ, Doser K, Huber E, Hoffmann P, Edinger M. Efficient treatment of murine acute GVHD by in vitro expanded donor regulatory T cells. *Leukemia.* 2020;34(3):895–908. PMID: 31719679 <https://doi.org/10.1038/S41375-019-0625-3>
79. Trzonkowski P, Bieniaszewska M, Juścińska J, Dobyszyk A, Krzysztyniak A, Marek N, et al. First-in-man clinical results of the treatment of patients with graft versus host disease with human ex vivo expanded CD4+CD25+CD127- T regulatory cells. *Clin Immunol.* 2009;133(1):22–26. PMID: 19559653 <https://doi.org/10.1016/J.CLIM.2009.06.001>
80. Marinelli Busilacchi E, Costantini A, Viola N, Costantini B, Olivieri J, Butini L, et al. Immunomodulatory effects of tyrosine kinase inhibitor in vitro and in vivo study. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2018;24(2):267–275. PMID: 29128554 <https://doi.org/10.1016/J.BBMT.2017.10.039>
81. Theil A, Tuve S, Oelschlägel U, Maiwald A, Döhler D, Oßmann D, et al. Adoptive transfer of allogeneic regulatory T cells into patients with chronic graft-versus-host disease. *Cytotherapy.* 2015;17(4):473–486. PMID: 25573333 <https://doi.org/10.1016/J.JCYT.2014.11.005>
82. Lim JY, Im KIL, Song Y, Kim N, Nam YS, Jeon YW, et al. Third-party regulatory T cells prevent murine acute graft-versus-host disease. *Korean J Intern Med.* 2018;33(5):980–989. PMID: 29050459 <https://doi.org/10.3904/KJIM.2016.319>
83. Ng WF, Duggan PJ, Ponchel F, Matarese G, Lombardi G, David EA, et al. Human CD4+CD25+ cells: a naturally occurring population of regulatory T cells. *Blood.* 2001;98(9):2736–2744. PMID: 11675346 <https://doi.org/10.1182/BLOOD.V98.9.2736>
84. Nelson BH. IL-2, regulatory T cells, and tolerance. *J Immunol.* 2004;172(7):3983–3988. PMID: 15034008 <https://doi.org/10.4049/JIMMU-NOL.172.7.3983>
85. Matsuoka KI, Koreth J, Kim HT, Bascug G, McDonough S, Kawano Y, et al. Low-dose interleukin-2 therapy restores regulatory T cell homeostasis in patients with chronic graft-versus-host disease. *Sci Transl Med.* 2013;5(179):179ra43. PMID: 23552371 <https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.3005265>
86. Kennedy-Nasser AA, Ku S, Castillo-Caro P, Hazrat Y, Wu MF, Liu H, et al. Ultra low-dose IL-2 for GVHD prophylaxis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation mediates expansion of regulatory T cells without diminishing antiviral and antileukemic activity. *Clin Cancer Res.* 2014;20(8):2215–2225. PMID: 24573552 <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-3205>
87. Morales JM M, Münch N, Peter K, Freund D, Oelschlägel U, Hölig K, et al. Automated clinical grade expansion of regulatory T cells in a fully closed system. *Front Immunol.* 2019;10:38. PMID: 30778344 <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.00038>
88. Someya K, Nakatsukasa H, Ito M, Kondo T, Tateda K, Akanuma T, et al. Improvement of Foxp3 stability through CNS2 demethylation by TET enzyme induction and activation. *Int Immunol.* 2017;29(8):365–375. PMID: 29048538 <https://doi.org/10.1093/INTIMM/DXX049>
89. Tang Q, Henriksen KJ, Bi M, Fingert EB, Szot G, Ye J, et al. In vitro-expanded antigen-specific regulatory T cells suppress autoimmune diabetes. *J Exp Med.* 2004;199(11):1455–1465. PMID: 15184499 <https://doi.org/10.1084/JEM.20040139>
90. Stephens LA, Malpass KH, Anderson SM. Curing CNS autoimmune disease with myelin-reactive Foxp3+ Treg. *Eur J Immunol.* 2009;39(4):1108–1117. PMID: 19350586 <https://doi.org/10.1002/EJI.200839073>
91. Trenado A, Charlotte F, Fisson S, Yagello M, Klatzmann D, Salomon BL, et al. Recipient-type specific CD4+CD25+ regulatory T cells favor immune reconstitution and control graft-versus-host disease while maintaining graft-versus-leukemia. *J Clin Invest.* 2003;112(11):1688–1696. PMID: 14660744 <https://doi.org/10.1172/JCI17702>
92. Sagoo P, Ali N, Garg G, Nestle FO, Lechler RI, Lombardi G. Human regulatory T cells with alloantigen specificity are more potent inhibitors of alloimmune skin graft damage than polyclonal regulatory T cells. *Sci Transl Med.* 2011;3(83):83ra42. PMID: 21593402 <https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.3002076>
93. Raffin C, Vo LT, Bluestone JA. Treg cell-based therapies: challenges and perspectives. *Nat Rev Immunol.* 2020;20(3):158–172. PMID: 31811270 <https://doi.org/10.1038/S41577-019-0232-6>
94. MacDonald KG, Hoeppli RE, Huang Q, Gillies J, Luciani DS, Orban PC, et al. Alloantigen-specific regulatory T cells generated with a chimeric antigen receptor. *J Clin Invest.* 2016;126(4):1413–1424. PMID: 26999600 <https://doi.org/10.1172/JCI82771>

## Информация об авторах

**Ольга Станиславовна  
Караваева**

аспирант, врач-гематолог ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ,  
<https://orcid.org/0000-0001-8158-8210>, [olga.starikova.1994@mail.ru](mailto:olga.starikova.1994@mail.ru)  
 40% – написание текста рукописи, обзор публикаций по теме статьи

**Михаил Юрьевич  
Дроков**

канд. мед. наук, врач-гематолог, руководитель сектора научных исследований  
 химиотерапии гемобластозов, депрессий кроветворения и трансплантации костно-  
 го мозга ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ,  
<https://orcid.org/0000-0001-9431-8316>  
 30% – разработка концепции и дизайна обзора, редактирование рукописи

**Екатерина Георгиевна  
Хамаганова**

д-р биол. наук, иммуногенетик, заведующая лабораторией тканевого типирования  
 ФГБУ «НМИЦ гематологии» МЗ РФ, <https://orcid.org/0000-0002-0110-3314>  
 30% – разработка концепции и дизайна обзора, редактирование рукописи

## Information about the authors

**Olga S. Karavaeva**

Postgraduate, Hematologist, National Medical Research Center for Hematology,  
<https://orcid.org/0000-0001-8158-8210>, [olga.starikova.1994@mail.ru](mailto:olga.starikova.1994@mail.ru)  
 40%, writing the text of the manuscript, review of publications on the topic of the  
 article

**Mikhail Yu. Drokov**

Cand. Sci. (Med.), Hematologist, Head of the Sector for Scientific Research in  
 Chemoblastosis Chemotherapy, Hematopoietic Depressions, and Bone Marrow  
 Transplantation, National Medical Research Center for Hematology,  
<https://orcid.org/0000-0001-9431-8316>  
 30%, development of the review concept and design, editing the manuscript

**Ekaterina G. Khamaganova**

Dr. Sci. (Biol.), Immunogeneticist, Head of the Tissue Typing Laboratory, National  
 Medical Research Center for Hematology, <https://orcid.org/0000-0002-0110-3314>  
 30%, development of the review concept and design, editing the manuscript

Статья поступила в редакцию 02.07.2022;  
 одобрена после рецензирования 27.07.2022;  
 принята к публикации 28.09.2022

The article was received on July 2, 2022;  
 approved after reviewing July 27, 2022;  
 accepted for publication September 28, 2022