

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА АКТИВИРОВАННЫХ Т-ЛИМФОЦИТОВ ЧЕЛОВЕКА ПОД ВЛИЯНИЕМ ИНТЕРЛЕЙКИНА-8

*М.Е. Меняйло**, *В.В. Малащенко**, *В.А. Шмаров**, *Н.Д. Газатова**,
*О.Б. Мелашенко**, *Е.О. Шунькин**, *А.Г. Гончаров**

*Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта (г. Калининград)

В научных работах детально описана роль интерлейкина-8 в регуляции системы врожденного иммунитета, однако влияние данного хемокина на компоненты адаптивного иммунитета все еще требует изучения. Цель данного исследования – оценить влияние интерлейкина-8 на дифференцировку активированных Т-лимфоцитов человека в условиях клеточного культивирования *in vitro*. Из цельной крови условно здоровых доноров выделили мононуклеарные клетки, которые использовали для позитивной селекции CD3⁺ клеток методом магнитной колоночной сепарации и на фоне TCR-активации культивировали *in vitro* с рекомбинантным интерлейкином-8 в разных концентрациях (0,01; 0,10; 1,00; 10,00 нг/мл). Влияние интерлейкина-8 на субпопуляции Т-лимфоцитов человека оценивали методом проточной цитофлуориметрии – по изменению количества молекул, определяющих субпопуляции Т-лимфоцитов (CD4, CD45RA, CD197). Установлено, что интерлейкин-8 способен направлять дифференцировку CD4⁺ наивных (CD45RA⁺CD197⁺) Т-лимфоцитов в сторону эффекторных (CD45RA⁺CD197⁻) Т-клеток. Выявлено увеличение числа активированных CD4⁺ Т-лимфоцитов с фенотипом клеток эффекторной памяти на фоне снижения количества наивных Т-клеток и Т-клеток центральной памяти (CD45RA⁺CD197⁻). Таким образом, совместное культивирование интерлейкина-8 и активированных Т-лимфоцитов приводило к переходу CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD4⁻ субпопуляций в более поздние стадии дифференцировки. Полученные данные указывают на участие интерлейкина-8 в процессах, связанных с созреванием активированных клеток адаптивного иммунитета.

Ключевые слова: интерлейкин-8, активация Т-лимфоцитов человека, дифференцировка Т-лимфоцитов человека.

Ответственный за переписку: Меняйло Максим Евгеньевич, адрес: 236016, г. Калининград, ул. Боткина, д. 3; e-mail: max89me@yandex.ru

Для цитирования: Меняйло М.Е., Малащенко В.В., Шмаров В.А., Газатова Н.Д., Мелашенко О.Б., Шунькин Е.О., Гончаров А.Г. Дифференцировка активированных Т-лимфоцитов человека под влиянием интерлейкина-8 // Журн. мед.-биол. исследований. 2017. Т. 5, № 2. С. 67–73. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2017.5.2.67

Интерлейкин-8 (IL-8, CXCL8) относится к группе СХС-хемокинов и является многофункциональным провоспалительным цитокином, который продуцируется в условиях воспалительного процесса. Основными клетками-продуцентами IL-8 являются моноциты-макрофаги, лимфоциты, эндотелиальные клетки, фибробласты. IL-8 имеет сродство к двум рецепторам – CXCR1 и CXCR2, которые обнаруживаются на нейтрофилах, моноцитах-макрофагах, Т-лимфоцитах. Основные функции IL-8 – привлечение клеток-мишеней в очаг воспаления и участие в ангиогенезе [1–5].

Т-лимфоциты – ведущие компоненты системы адаптивного иммунитета, регулирующие процессы, связанные с распознаванием и уничтожением чужеродных антигенов [6]. Степень дифференцировки Т-лимфоцитов определяется по наличию на их поверхности молекул CD45RA и CD197 [7]: Т-лимфоциты, прошедшие антиген-независимую дифференцировку, имеют фенотип CD45RA⁺CD197⁺ (наивные, T_{naive}); после встречи с антигеном Т-лимфоциты дифференцируются в Т-клетки центральной памяти с фенотипом CD45RA⁺CD197⁺ (T_{cm}); после повторного контакта со специфическим антигеном Т-лимфоциты изменяют фенотип на CD45RA⁺CD197⁻ (эффекторные, T_{em}); долгоживущие, высокодифференцированные Т-лимфоциты с фенотипом CD45RA⁺CD197⁻ называются терминально-дифференцированными эффекторными (T_{emra}) [8].

В современной литературе детально описана роль IL-8 в естественной иммунной защите. Данные о влиянии IL-8 на компоненты адаптивного иммунитета еще не достаточно сформированы. В частности, неясно, способен ли IL-8 прямо влиять на дифференцировку активированных Т-клеток. Возможно, что IL-8-индуцируемая дифференцировка активированных Т-лимфоцитов может оказывать влияние на активацию системы адаптивного иммунитета, а также регулировать процесс миграции Т-лимфоцитов в очаг воспаления [9]. Цель данного исследования – оценить влияние IL-8 на дифференцировку активированных Т-лимфоцитов человека в условиях клеточного культивирования *in vitro*.

Материалы и методы. Материалом исследования служила гепаринизированная венозная кровь 20 условно здоровых доноров обоего пола в возрасте от 21 до 40 лет. Мононуклеарные клетки выделяли с помощью градиентного центрифугирования на фиколле («Ficoll-Paque™ Premium», стерильный, плотность (1,077±0,001) г/мл, производства «GE Healthcare»). Для получения монокультур Т-лимфоцитов (CD3⁺) использовали метод позитивной магнитной колоночной сепарации («MS Columns» фирмы «Miltenyi Biotec», Германия) с добавлением магнитных частиц, конъюгированных с моноклональными антителами (МКАТ) человека к молекуле CD3 («CD3 MicroBeads», «Miltenyi Biotec», Германия).

Выделенные Т-лимфоциты культивировали в 24-луночной планшете в бессывороточной среде «TexMACS» («Miltenyi Biotec», Германия) в течение 48 ч при 37 °С во влажной атмосфере, содержащей 5 % CO₂. Для активации Т-клеток использовали антибиотиновые частицы с биотинилированными МКАТ человека к молекулам CD3, CD28 и CD2 («T Cell Activation/Expansion Kit», «Miltenyi Biotec», Германия). Рекомбинантную форму хемокина (IL-8) («Miltenyi Biotec», Германия) добавляли в различных концентрациях (0,01; 0,10; 1,00; 10,00 нг/мл) к активированным Т-лимфоцитам. Контрольные пробы содержали активированные (положительный контроль) и неактивированные (покоящиеся) клетки. После культивирования Т-лимфоцитов исследовали экспрессию поверхностных маркеров (CD4, CD45RA, CD197) методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител, меченных флуорохромами анти-CD4-FITC (флуоресцеин изотиоцианат, «eBioscience», США), анти-CD197-PE (фикоэритрин), анти-CD45RA-APC (аллофикоцианин) («BD Pharmingen», США) на проточном цитофлуориметре («BD AccuriC6», «BD Biosciences», США). Результаты цитометрического исследования были проанализированы в программе «Accuri C6 Software» («Becton Dickinson», США). Применяемая стратегия гейтирования описана в работе [10].

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программы «IBM SPSS

Statistics 20» (США). Анализ выборки проводили на основе гипотезы нормальности распределения (критерий Колмогорова–Смирнова). В качестве средневыборочной характеристики использовали медиану (*Me*), первый и третий квартили (Q_1 - Q_3), для оценки статистической значимости исследуемых выборок – непараметрический критерий Вилкоксона для зависимых выборок, не подчиняющихся нормальному закону распределения. Различия между выборками считали значимыми при уровне $p < 0,05$.

Результаты. Основываясь на уровне мембранной экспрессии молекулы CD4, Т-лимфоциты относили к Т-хелперам (CD4⁺) и Т-цитотоксическим (CD4⁻). Среди них, по наличию или отсутствию молекул CD45RA и CD197, выделяли Т-клетки с наивным фе-

нотипом (CD45RA⁺CD197⁺), Т-лимфоциты центральной памяти (CD45RA⁻CD197⁺), эффекторные Т-клетки (CD45RA⁻CD197⁻) и терминально-дифференцированные Т-лимфоциты (CD45RA⁺CD197⁻).

При инкубации культур клеток CD3⁺ с Т-клеточным активатором происходило увеличение числа Т-клеток CD4⁺ (по сравнению с пробой без активатора) с фенотипом наивных (CD45RA⁺CD197⁺) и терминально-дифференцированных эффекторных (CD45RA⁺CD197⁻) Т-лимфоцитов на фоне снижения числа CD45RA⁻CD197⁺ (T_{cm}) и CD45RA⁻CD197⁻ (T_{em}). В популяции Т-лимфоцитов CD4⁺ добавление Т-клеточного активатора приводило к увеличению терминально-дифференцированных эффекторных Т-лимфоцитов (T_{emra}) за счет снижения числа T_{cm} (см. таблицу).

**КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ (%) СУБПОПУЛЯЦИЙ Т-ЛИМФОЦИТОВ
НА ФОНЕ TCR-AКТИВАЦИИ В УСЛОВИЯХ ИНКУБАЦИИ С IL-8 *in vitro* (Me(Q₁-Q₃))**

Фенотип	Покоящиеся Т-лимфоциты	Активированные Т-лимфоциты	Активированные Т-лимфоциты с добавлением IL-8, нг/мл			
			0,01	0,10	1,00	10,00
<i>Т-хелперы (CD4⁺)</i>						
CD45RA ⁺ CD197 ⁺	17,95 (3,13-32,25)	30,15 (20,08-42,40)*	20,45 (12,50-27,75)**	21,80 (11,65-24,63)**	20,50 (10,95-24,25)**	20,45 (11,13-26,70)**
CD45RA ⁻ CD197 ⁺	47,00 (33,00-53,70)	36,75 (22,88-43,58)*	43,00 (24,20-50,48)	40,50 (25,35-48,60)	42,25 (26,00-49,65)	44,60 (23,75-52,60)
CD45RA ⁻ CD197 ⁻	31,50 (16,38-49,35)	26,35 (14,75-34,15)*	34,65 (23,58-44,90)**	34,25 (24,80-45,18)**	32,15 (26,48-43,33)**	32,50 (24,88-42,50)**
CD45RA ⁺ CD197 ⁻	0,90 (0,4-4,03)	4,25 (1,13-9,13)*	7,10 (2,65-15,08)**	7,25 (2,55-15,10)	6,90 (2,28-14,13)	7,20 (2,28-14,48)
<i>Т-цитотоксические (CD4⁻)</i>						
CD45RA ⁺ CD197 ⁺	52,05 (32,28-61,10)	49,35 (44,13-62,43)	41,95 (25,30-61,10)**	40,45 (24,88-60,93)**	42,30 (25,33-60,55)**	43,75 (25,73-60,78)
CD45RA ⁻ CD197 ⁺	19,65 (15,10-35,48)	14,6 (9,35-23,98)*	8,85 (4,10-15,60)**	7,70 (3,53-15,95)**	8,75 (3,80-18,85)**	9,80 (4,73-17,55)**
CD45RA ⁻ CD197 ⁻	12,20 (7,23-24,65)	12,85 (8,40-24,00)	24,15 (12,95-37,30)**	24,55 (12,38-37,43)**	23,85 (11,90-37,52)**	22,55 (11,93-38,98)**
CD45RA ⁺ CD197 ⁻	6,90 (3,60-13,10)	12,05 (8,83-27,75)*	18,50 (11,10-33,90)	20,75 (10,48-34,08)	19,15 (10,68-33,38)	19,00 (11,00-32,73)

Примечания: Me – медиана, Q₁-Q₃ – первый и третий квартили; * – значимость различий с Т-клетками, культивируемыми без активирующих частиц ($p < 0,05$); ** – значимость различий с Т-клетками, культивируемыми с активирующими частицами без IL-8 ($p < 0,05$).

Инкубация TCR-активированных Т-клеток CD3⁺ со всеми концентрациями IL-8 приводила к дифференцировке и созреванию Т-лимфоцитов CD4⁺ в эффекторные Т-клетки, что фенотипически выражалось повышением количества клеток с фенотипом CD45RA⁺CD197⁻ (T_{em}) относительно клеток, подвергшихся только активационному воздействию. Также выявлено увеличение количества T_{emra} при инкубации активированных клеток с CXCL8 только при концентрации 0,01 нг/мл. Данный рост T_{em} и T_{emra} происходил на фоне снижения содержания Т-лимфоцитов с фенотипом наивных (CD4⁺CD45RA⁺CD197⁺).

Добавление всего спектра принятых концентраций IL-8 при культивировании TCR-активированных клеток CD3⁺ сопровождалось повышением числа Т-клеток с фенотипом цитотоксических (CD4⁺) эффекторных (CD45RA⁺CD197⁻). Одновременно с этим регистрировалось снижение Т-клеток с фенотипом наивных и Т-клеток центральной памяти.

Обсуждение. Предыдущими исследованиями показано, что после антигензависимой стимуляции Т-лимфоцитов происходит активация наивных Т-клеток: они начинают активно пролиферировать и дифференцироваться в эффекторные Т-лимфоциты [11, 12]. В нашем эксперименте добавление Т-клеточного активатора в культуру Т-лимфоцитов сопровождалось ростом числа Т-клеток с фенотипом CD45RA⁺CD197⁻ (T_{emra}) как у Т-хелперов, так и у Т-цитотоксических. Это увеличение, возможно, происходило за счет снижения количества

Т-клеток с фенотипом Т-лимфоцитов центральной памяти и, вероятно, связано с достаточно длительным взаимодействием Т-клеток с активатором, в результате чего происходит сдвиг дифференцировки Т-лимфоцитов в сторону более зрелых клеток.

Известно, что повышение продукции цитокинов и хемокинов (IL-2, IL-8, IL-10), чаще всего в результате воспаления, способствует дифференцировке Т-лимфоцитов в эффекторные клетки, и данный процесс не нуждается в костимуляции [13, 14]. Кроме того, показано, что IL-8 обладает способностью стимулировать продукцию Т-лимфоцитами ряда цитокинов, в т. ч. IL-2, IL-15, которые могут способствовать дифференцировке и созреванию Т-клеток в эффекторные [15, 16]. Полученные нами данные позволяют предположить, что IL-8 оказывает как прямое, так и опосредованное влияние на дифференцировку Т-лимфоцитов.

Таким образом, на фоне TCR-активации IL-8 во всех концентрациях способен индуцировать образование эффекторных Т-клеток CD4⁺, при этом снижая количество Т-лимфоцитов с фенотипом наивных. Действие IL-8 (во всех концентрациях) на дифференцировку активированных Т-клеток CD4⁺ ассоциировано с увеличением числа эффекторных Т-лимфоцитов на фоне снижения Т-клеток центральной памяти и наивных Т-лимфоцитов. Результаты данной работы могут быть положены в основу разработки технологии контроля и коррекции дисбаланса иммунитета.

Список литературы

1. Zhang W., Chen H. The Study on the Interleukin-8 (IL-8) // J. Biomed. Eng. 2002. Vol. 19, № 4. P. 697–702.
2. Dong R., Zheng S. Interleukin-8: A Critical Chemokine in Biliary Atresia // J. Gastroenterol. Hepatol. 2015. Vol. 30, № 6. P. 970–976.
3. Brugman S., Witte M., Scholman R.C., Klein M.R., Boes M., Nieuwenhuis E.E.S. T Lymphocyte-Dependent and -Independent Regulation of *Cxcl8* Expression in Zebrafish Intestines // J. Immunol. 2013. Vol. 192. P. 484–491.

4. Bishayi B., Samanta A.K. Identification and Characterization of Specific Receptor for Interleukin-8 from the Surface of Human Monocytes // *Scand. J. Immunol.* 1996. Vol. 43, № 5. P. 531–536.
5. Jundi K., Greene C.M. Transcription of Interleukin-8: How Altered Regulation Can Affect Cystic Fibrosis Lung Disease // *Biomolecules.* 2015. Vol. 5, № 3. P. 1386–1398.
6. Zhu J., Yamane H., Paul W.E. Differentiation of Effector CD4 T Cell Populations // *Annu. Rev. Immunol.* 2010. Vol. 28. P. 445–489.
7. Кудрявцев И.В. Т-клетки памяти: основные популяции и стадии дифференцировки // *Рос. иммунол. журн.* 2014. Т. 8(17), № 4. С. 947–964.
8. Maldonado A., Mueller Y.M., Thomas P., Wojczuk P., O'Connors C., Katsikis P.D. Decreased Effector Memory CD45RA⁺CD62L⁻ CD8⁺ T Cells and Increased Central Memory CD45RA⁻CD62L⁺ CD8⁺ T Cells in Peripheral Blood of Rheumatoid Arthritis Patients // *Arthritis Res. Ther.* 2003. Vol. 5, № 2. P. R91–R96.
9. Wang J.M., Xu L., Murphy W.J., Taub D.D., Chertov O. IL-8 – Induced T-Lymphocyte Migration: Direct as Well as Indirect Mechanisms // *Methods.* 1996. Vol. 10, № 1. P. 135–144.
10. Шмаров В.А., Малащенко В.В., Меняйло М.Е., Газатова Н.Д., Тодосенко Н.М., Мелащенко О.Б., Гончаров А.Г., Селедцов В.И. Прямое влияние интерлейкина-7 на ростовую и функциональную активность Т-лимфоцитов в условиях отсутствия антигенного стимула // *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 2016. Т. 102, № 9. С. 1120–1126.
11. Sallusto F., Mackay C.R., Lanzavecchia A. The Role of Chemokine Receptors in Primary, Effector, and Memory Immune Responses // *Annual Review of Immunology.* 2000. Vol. 18. P. 593–620.
12. Rufer N., Zippelius A., Batard P., Pittet M.J., Kurth I., Corthesy P., Cerottini J.C., Leyvraz S., Roosnek E., Nabholz M., Romero P. *Ex vivo* Characterization of Human CD8⁺ T Subsets with Distinct Replicative History and Partial Effector Functions // *Blood.* 2003. Vol. 102, № 5. P. 1779–1787.
13. Филиппова О.Е., Добродеева Л.К., Щёголева Л.С., Шапкова Е.Ю. Соотношение фенотипов лимфоцитов периферической крови у людей в процессе физиологической регуляции иммунного ответа // *Вестн. Сев. (Арктич.) федер. ун-та. Сер.: Мед.-биол. науки.* 2014. № 4. С. 73–80.
14. Caron G., Duluc D., Frémaux I., Jeannin P., David C., Gascan H., Delneste Y. Direct Stimulation of Human T Cells via TLR5 and TLR7/8: Flagellin and R-848 Up-Regulate Proliferation and IFN- γ Production by Memory CD4⁺ T Cells // *J. Immunol.* 2005. Vol. 175. P. 1551–1557.
15. Létourneau S., Krieg C., Pantaleo G., Boyman O. IL-2- and CD25-Dependent Immunoregulatory Mechanisms in the Homeostasis of T-Cell Subsets // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009. Vol. 123, № 4. P. 758–762.
16. Alves N.L., Hooibrink B., Arosa F.A., van Lier R.A. IL-15 Induces Antigen-Independent Expansion and Differentiation of Human Naive CD8⁺ T Cells *in vitro* // *Blood.* 2003. Vol. 102. P. 2541–2546.

References

1. Zhang W., Chen H. The Study on the Interleukin-8 (IL-8). *J. Biomed. Eng.*, 2002, vol. 19, no. 4, pp. 697–702.
2. Dong R., Zheng S. Interleukin-8: A Critical Chemokine in Biliary Atresia. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2015, vol. 30, no. 6, pp. 970–976.
3. Brugman S., Witte M., Scholman R.C., Klein M.R., Boes M., Nieuwenhuis E.E.S. T Lymphocyte-Dependent and -Independent Regulation of *Cxcl8* Expression in Zebrafish Intestines. *J. Immunol.*, 2013, vol. 192, pp. 484–491.
4. Bishayi B., Samanta A.K. Identification and Characterization of Specific Receptor for Interleukin-8 from the Surface of Human Monocytes. *Scand. J. Immunol.*, 1996, vol. 43, no. 5, pp. 531–536.
5. Jundi K., Greene C.M. Transcription of Interleukin-8: How Altered Regulation Can Affect Cystic Fibrosis Lung Disease. *Biomolecules*, 2015, vol. 5, no. 3, pp. 1386–1398.
6. Zhu J., Yamane H., Paul W.E. Differentiation of Effector CD4 T Cell Populations. *Annu. Rev. Immunol.*, 2010, vol. 28, pp. 445–489.
7. Kudryavtsev I.V. T-kletki pamyati: osnovnye populyatsii i stadii differentsirovki [Memory T Cells: Major Populations and Stages of Differentiation]. *Rossiyskiy immunologicheskiy zhurnal*, 2014, vol. 8, no. 4, pp. 947–964.

8. Maldonado A., Mueller Y.M., Thomas P., Bojczuk P., O'Connors C., Katsikis P.D. Decreased Effector Memory CD45RA⁺CD62L⁻ CD8⁺ T Cells and Increased Central Memory CD45RA⁻CD62L⁺ CD8⁺ T Cells in Peripheral Blood of Rheumatoid Arthritis Patients. *Arthritis Res. Ther.*, 2003, vol. 5, no. 2, pp. R91–R96.

9. Wang J.M., Xu L., Murphy W.J., Taub D.D., Chertov O. IL-8 – Induced T-Lymphocyte Migration: Direct as Well as Indirect Mechanisms. *Methods*, 1996, vol. 10, no. 1, pp. 135–144.

10. Shmarov V.A., Malashchenko V.V., Menyaylo M.E., Gazatova N.D., Todosenko N.M., Melashchenko O.B., Goncharov A.G., Seledtsov V.I. Pryamoe vliyanie interleykina-7 na rostovuyu i funktsional'nyuyu aktivnost' T-limfotsitov v usloviyakh otsutstviya antigennogo stimula [Direct Effect of IL-7 on the Growth and Functional Activity of T-Lymphocytes in the Absence of Antigenic Stimulus]. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*, 2016, vol. 102, no. 9, pp. 1120–1126.

11. Sallusto F., Mackay C.R., Lanzavecchia A. The Role of Chemokine Receptors in Primary, Effector, and Memory Immune Responses. *Annu. Rev. Immunol.*, 2000, vol. 18, pp. 593–620.

12. Rufer N., Zippelius A., Batard P., Pittet M.J., Kurth I., Corthesy P., Cerottini J.C., Leyvraz S., Roosnek E., Nabholz M., Romero P. *Ex vivo* Characterization of Human CD8⁺ T Subsets with Distinct Replicative History and Partial Effector Functions. *Blood*, 2003, vol. 102, no. 5, pp. 1779–1787.

13. Filippova O.E., Dobrodeeva L.K., Shchegoleva L.S., Shashkova E.Yu. Sootnoshenie fenotipov limfotsitov perifericheskoy krovi u lyudey v protsesse fiziologicheskoy regulyatsii immunnogo otveta [The Ratio of Peripheral Blood Lymphocyte Phenotypes in Humans at Physiological Regulation of Immune Response]. *Vestnik Severnogo (Arkticheskogo) federal'nogo universiteta. Ser.: Mediko-biologicheskie nauki*, 2014, no. 4, pp. 73–80.

14. Caron G., Duluc D., Frémaux I., Jeannin P., David C., Gascan H., Delneste Y. Direct Stimulation of Human T Cells via TLR5 and TLR7/8: Flagellin and R-848 Up-Regulate Proliferation and IFN- γ Production by Memory CD4⁺ T Cells. *J. Immunol.*, 2005, vol. 175, pp. 1551–1557.

15. Létourneau S., Krieg C., Pantaleo G., Boyman O. IL-2- and CD25-Dependent Immunoregulatory Mechanisms in the Homeostasis of T-Cell Subsets. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2009, vol. 123, no. 4, pp. 758–762.

16. Alves N.L., Hooibrink B., Arosa F.A., van Lier R.A. IL-15 Induces Antigen-Independent Expansion and Differentiation of Human Naive CD8⁺ T Cells *in vitro*. *Blood*, 2003, vol. 102, pp. 2541–2546.

DOI: 10.17238/ issn2542-1298.2017.5.2.67

*Maksim E. Menyaylo**, *Vladimir V. Malashchenko**,
*Vyacheslav A. Shmarov**, *Natal'ya D. Gazatova**, *Ol'ga B. Melashchenko**,
*Egor O. Shun'kin**, *Andrey G. Goncharov**

*Immanuel Kant Baltic Federal University (Kaliningrad, Russian Federation)

DIFFERENTIATION OF ACTIVATED HUMAN T-LYMPHOCYTES UNDER THE INFLUENCE OF INTERLEUKIN-8

Scientific papers describe in detail the role of interleukin-8 (IL-8) in the regulation of the innate immune system. However, the effect of this chemokine on the components of the adaptive immune system requires further investigation. This study aimed to evaluate the effect of IL-8 on the differentiation of activated human T-lymphocytes under the conditions of *in vitro* cell culture. From the whole blood of practically healthy donors we isolated mononuclear cells which were used for positive magnetic-activated sorting of CD3⁺ cells that were then cultured *in vitro* with recombinant IL-8 in different concentrations (0.01; 0.10; 1.00; 10.00 ng/ml) accompanied by TCR activation. The effect of IL-8 on the subpopulation of human T-lymphocytes was assessed using flow cytometry by the changes in the number of molecules that determine the subpopulations of T-lymphocytes (CD4, CD45RA, and CD197).

We found that IL-8 is able to cause differentiation of CD4⁺ T-lymphocytes from naïve (CD45RA⁺CD197⁺) to effector memory (CD4⁺CD45RA⁻CD197⁻) T-cells. Further, we identified an increase in the number of activated CD4⁺ T-lymphocytes with the phenotype of effector memory cells against the background of decreasing number of naïve and central memory T-cells (CD45RA⁺CD197⁺). Thus, co-culturing of IL-8 and activated T-lymphocytes resulted in the transition of CD3⁺CD4⁺ and CD3⁺CD4⁻ subpopulations to the later stages of differentiation. The findings indicate the involvement of IL-8 in the processes associated with maturation of activated adaptive immune system cells.

Keywords: *interleukin-8, human T-lymphocyte activation, human T-lymphocyte differentiation.*

Поступила 04.10.2016
Received 4 October 2016

Corresponding author: Maksim Menyaylo, *address:* ul. Botkina 3, Kaliningrad, 236016, Russian Federation; *e-mail:* max89me@yandex.ru

For citation: Menyaylo M.E., Malashchenko V.V., Shmarov V.A., Gazatova N.D., Melashchenko O.B., Shun'kin E.O., Goncharov A.G. Differentiation of Activated Human T-Lymphocytes Under the Influence of Interleukin-8. *Journal of Medical and Biological Research*, 2017, vol. 5, no. 2, pp. 67–73. DOI: 10.17238/issn2542-1298.2017.5.2.67