https://doi.org/10.35754/0234-5730-2021-66-2-218-230

CC BY 4.0

МИЕЛОИДНЫЕ СУПРЕССОРНЫЕ КЛЕТКИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ НА ЭТАПЕ МОБИЛИЗАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Аристова Т. А.*, Баторов Е. В., Сергеевичева В. В., Сизикова С. А., Ушакова Г. Ю., Гилевич А. В., Шевела Е. Я., Останин А. А., Черных Е. Р.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», 630099, Новосибирск, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Множественная миелома (ММ) представляет собой В-клеточную опухоль с клональной экспансией плазматических клеток в костном мозге. Высокодозная химиотерапия с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток является одним из основных методов консолидирующей терапии больных множественной миеломой. Миелоидные супрессоры (МС) — незрелые клетки миелоидного сопровождения, способные подавлять иммунный ответ. Введение гранулоцитарного колониестимулирующего фактора (Г-КСФ) с целью мобилизации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) вызывает увеличение количества МС в периферической крови (ПК).

Цель — изучить субпопуляции клеток, относящихся к миелоидным супрессорам, в периферической крови больных ММ в стадии ремиссии и изменение их численности на этапе мобилизации гемопоэтических стволовых клеток.

Методы. В исследование включено 35 больных ММ до и после курса мобилизации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК). Количество гранулоцитарных МС (Г-МС, $Lin^-HLA\text{-}DR^-CD33^+CD66b^+$), моноцитарных МС (М–МС, $CD14^+HLA\text{-}DR^{low/-}$) и МС ранних стадий дифференцировки ($Lin^-HLA\text{-}DR^-CD33^+CD66b^-$) оценивали методом проточной цитометрии.

Результаты. Больные ММ в стадии ремиссии отличались от здоровых доноров более высоким процентным содержанием Г-МС ($Lin^-HLA\text{-}DR^-CD33^+CD66b^+$) и повышенным относительным и абсолютным количеством М–МС ($CD14^+HLA\text{-}DR^{low/-}$). Численность М–МС существенно превышала количество Г-МС. Содержание субпопуляций МС было повышено как у больных с полным ответом (ПО) и очень хорошим частичным ответом (ОХЧО), так и у больных с частичным ответом (ЧО). Более высокое относительное содержание Г-МС ассоциировалось с большей предлеченностью (2–3 линии химиотерапии). После мобилизации ГСК с использованием циклофосфамида 2–4 г/м^2 + Г-КСФ (филграстим 5 мкг/кг/сутки) медианные значения относительного содержания Р-МС и М–МС увеличивались, соответственно, в 2,3 и 2,0 раза, а относительное содержание Г-МС увеличивалось в 46 раз, что приводило к изменению баланса субпопуляций МС.

Заключение. Больные ММ в стадии ремиссии характеризовались повышенным процентным содержанием Г-МС и более высоким по сравнению с донорами содержанием М–МС (относительным и абсолютным). Большая предлеченность больных была ассоциирована с более высокими показателями процентного содержания Г-МС. Степень ответа (ПО/ОХЧО против ЧО) не была сопряжена с различиями в количественных показателях МС. Мобилизация ГСК препаратами Г-КСФ приводила к значимому увеличению в ПК всех трех анализируемых субпопуляций МС.

Ключевые слова: множественная миелома, супрессорные клетки миелоидного происхождения, мобилизация гемопоэтических стволовых клеток, Г-КСФ

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-15-00357 А.

Для цитирования: Аристова Т.А., Баторов Е.В., Сергеевичева В.В., Сизикова С.А., Ушакова Г.Ю., Гилевич А.В., Шевела Е.Я., Останин А.А., Черных Е.Р. Миелоидные супрессорные клетки периферической крови у больных множественной миеломой на этапе мобилизации гемопоэтических стволовых клеток. Гематология и трансфузиология. 2021; 66(2): 218–230. https://doi.org/10.35754/0234-5730-2021-66-2-218-230

MYELOID-DERIVED PERIPHERAL BLOOD SUPPRESSOR CELLS AT HAEMATOPOIETIC STEM CELL MOBILISATION IN MULTIPLE MYELOMA PATIENTS

Aristova T. A., Batorov E. V., Sergeevicheva V. V., Sizikova S. A., Ushakova G. Yu., Gilevich A. V., Shevela E. Ya., Ostanin A. A., Chernykh E. R.

Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology, 630099, Novosibirsk, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Multiple myeloma (MM) is a B-cell malignancy with clonal expansion of plasma cells in bone marrow. High-dose chemotherapy with autologous haematopoietic stem cell transplantation is among main consolidation therapies in MM. Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) are immature myeloid-accompanying cells able to suppress the immune response. The administration of granulocyte colony stimulating factor (G-CSF) to mobilise haematopoietic stem cells (HSCs) increases the MDSC count in peripheral blood (PB).

Aim — to study MDSC subsets in PB of remission MM patients and their incidence dynamics at HSC mobilisation.

Methods. The study surveyed 35 MM patients prior to and after HSC mobilisation. The counts of granulocytic (G-MDSCs; $Lin^-HLA\text{-}DR^-CD33^+CD66b^+$), monocytic (M-MDSCs; $CD14^+HLA\text{-}DR^{low/-}$) and early MDSCs (E-MDSCs; $Lin^-HLA\text{-}DR^-CD33^+CD66b^-$) were estimated in flow cytometry.

Results. Remission MM patients differed from healthy donors in higher relative counts of G-MDSCs ($Lin^-HLA\text{-}DR^-CD33^+CD66b^+$) and increased relative and absolute counts of M-MDSCs ($CD14^+HLA\text{-}DR^{low/-}$). M-MDSCs significantly outnumbered G-MDSCs. MDSC subset counts were elevated in complete response (CR) and very good partial response (VGPR), as well as in partial response (PR). Higher relative MDSC counts were associated with greater pretreatment (2–3 lines of chemotherapy). After HSC mobilisation with cyclophosphamide 2–4 g/m^2 + G-CSF (filgrastim 5 μg/kg/day), the median relative E-MDSC and M-MDSC counts increased by 2.3 and 2.0 times, respectively, while the relative G-MDSC count raised 46-fold perturbing the MDSC subset balance.

Conclusion. Remission MM patients had the increased relative G-MDSC and both relative and absolute M-MDSC counts compared to donors. A greater patient pretreatment was associated with higher relative G-MDSC counts. Treatment response (CR/VGPR vs. PR) was not coupled with MDSC count variation. The G-CSF-induced HSC mobilisation entailed a significant expansion of all three MDSC subsets in PB.

Keywords: multiple myeloma, myeloid-derived suppressor cells, haematopoietic stem cell mobilisation, G-CSF

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

Financial disclosure: research was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant 20-15-00357 a).

For citation: Aristova T.A., Batorov E.V., Sergeevicheva V.V., Sizikova S.A., Ushakova G.Y., Gilevich A.V., Shevela E.A., Ostanin A.A., Chernykh E.R. Myeloid-derived peripheral blood suppressor cells at haematopoietic stem cell mobilisation in multiple myeloma patients. Russian Journal of Hematology and Transfusiology (Gematologiya i transfuziologiya). 2021; 66(2): 218–230 (in Russian). https://doi.org/10.35754/0234-5730-2021-66-2-218-230

Введение

Супрессорные клетки миелоидного происхождения или миелоидные супрессоры (МС) представляют собой фенотипически и функционально гетерогенную популяцию незрелых миелоидных клеток, способных *in vitro* и *in vivo* подавлять иммунный ответ [1, 2]. В периферической крови (ПК) человека выделяют две основные субпопуляции: полиморфноядерные или гранулоцитарные МС (Г-МС) и моноцитарные МС (М–МС). Обе субпопуляции несут на своей поверхности маркеры миелоидных клеток CD33 и CD11b и характеризуются отсутствующей/низкой экспрессией HLA-DR. При этом Г-МС экспрессируют маркер гранулоцитов CD15 или CD66b, а М–МС — маркер моноцитов CD14. Соответственно, Г-МС идентифицируют как $CD11b^{+}CD14^{-}CD15^{+}$ или $CD11b^{+}CD14^{-}CD66b^{+}$, а М–МС — как $CD11b^{+}CD14^{+}HLA\text{-}DR^{-/lo}CD15^{-}$. Клетки с фенотипом $HLA\text{-}DR^{-}CD33^{+}$, не несущие линейных маркеров (Lin^{-}), включая CD3, CD14, CD15, CD19, CD56, составляют смешанную группу более незрелых предшественников МС, которые получили название ранних МС (Р-МС) [3, 4].

МС подавляют функции клеток как врожденного, так и приобретенного иммунитета, обладая наиболее выраженной супрессорной активностью в отношении Т-клеток. Ингибирующий эффект МС опосредуется вовлечением различных механизмов, включая деплецию L-аргинина (вследствие повышенной экспрессии аргиназы-1 или индуцибельной NO-синтазы), генерацию свободных радикалов кислорода, секрецию трансформирующего фактора роста бета и интерлейкина-10, секвестрацию цистеина и индукцию регуляторных Т-клеток (Трег) [1]. Появление и экспансия МС при патологии обусловлена возрастанием незрелых миелоидных клеток под действием ростовых факторов, таких как гранулоцитарный колониестимулирующий фактор (Г-КСФ), моноцитарный и гранулоцитомоноцитарный колониестимулирующие факторы, и их патологической активацией интерферона-гамма, интерлейкина-4, интерлейкина-6, сопровождающейся стрессом эндоплазматического ретикулума [1, 5, 6].

При солидных опухолях содержание МС увеличивается и коррелирует с размером, стадией опухоли, а также ассоциируется с худшим прогнозом, демонстрируя проопухолевую активность [7, 8]. Причем негативная роль объясняется не только причастностью МС к подавлению противоопухолевого иммунитета и «ускользанию» опухоли от иммунного ответа, но и «неиммунными» механизмами, связанными со способностью МС активировать неоангиогенез, стимулировать рост опухолевых клеток, индуцировать свойства стволовых клеток и способствовать формированию преметастатических ниш [9, 10].

При онкогематологических заболеваниях и особенно у больных, перенесших трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК), популяция МС менее изучена, и роль МС не так однозначна [11]. Увеличение количества МС при ТГСК во многом обусловлено введением препаратов Г-КСФ, которые используют для мобилизации стволовых клеток из костного мозга. При трансплантации аллогенных гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) МС донорского происхождения могут подавлять реакцию «трансплантат против хозяина» (РТПХ) [12–14], играя позитивную роль. Намного меньше ясности в отношении роли МС при трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК). Поскольку мобилизацию гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) в этом случае проводят у больных, наличие патологии может оказывать влияние на количественные и функциональные параметры МС. Кроме того, учитывая, что ранняя реконституция Т-лимфоцитов обеспечивается за счет гомеостатической пролиферации трансплантируемых в составе продукта сепарации Т-лимфоцитов, МС, подавляя функции Т-клеток, могут снижать эффективность иммунной реконституции после ауто-ТГСК.

Множественная миелома (ММ) представляет собой В-клеточную опухоль с клональной экспансией плазматических клеток в костном мозге. ММ занимает около 10 % в структуре опухолевых заболеваний системы крови. Наблюдаемые в течение последних 10–15 лет успехи в терапии ММ связаны с введением в программу лечения новых препаратов и высокодозной химиотерапии (ХТ) с последующей ауто-ТГСК [15, 16]. Тем не менее ММ остается инкурабельной патологией, при которой рецидив и прогрессия заболевания неизбежны [17, 18]. Характерной особенностью ММ является наличие иммунной недостаточности, приводящей к развитию инфекционных осложнений и способствующей прогрессии опухолевого клона. Дефекты в иммунной системе обусловлены несколькими причинами (клональной пролиферацией плазматических клеток, индуцированной цитостатиками лейкопенией, иммуносупрессивным эффектом дексаметазона, применяемого в высоких дозах, и иммуномодулирующей активностью опухолевых клеток) и проявляются нарушением функций эффекторных и антигенпрезентирующих клеток, повышенной продукцией иммуносупрессивных цитокинов (трансформирующего фактора роста бета, фактора роста эндотелия сосудов и фактора роста гепатоцитов) и экспансией супрессорных клеток, включая Трег и МС [18, 19].

При ММ часто наблюдается увеличение количества МС в ПК. При этом у больных ММ с повышенным количеством МС в ПК чаще отмечалась прогрессия ММ, подавление иммунитета и резистентность к терапии [18, 20, 21], однако клиническая и прогностическая значимость отдельных субпопуляций МС остается недостаточно исследованной [11, 22–24]. Мобилизация ГСК как непременный этап ауто-ТГСК может вы-

зывать экспансию МС и увеличивать их содержание в циркуляции и в продукте сепарации. Сравнительные данные, характеризующие количественное содержание всех трех субпопуляций МС до и после мобилизации ГСК у больных ММ, практически отсутствуют.

Цель настоящего исследования — изучение субпопуляций МС в ПК больных ММ в стадии ремиссии и изменение их численности на этапе мобилизации ГСК.

Материалы и методы

В исследование были включены 35 больных ММ, которым в период с августа 2017 г. по январь 2019 г. была проведена высокодозная ХТ с ауто-ТГСК. В качестве группы сравнения были обследованы 16 здоровых доноров, сопоставимых с больными по полу и возрасту. Все исследования проводились после получения письменного информированного добровольного согласия.

Возраст больных варьировал от 39 до 63 лет, соотношение мужчин и женщин составило 1:1,5. По клинической стадии классификации Durie — Salmon [25] у 12 больных была II стадия заболевания, у 23 больных — III стадия. У 25 больных выявлен IgG-вариант, у 3 — IgA-вариант, у 6 — миелома Бенс-Джонса. Полная ремиссия или очень хороший частичный ответ (ОЧХО) были достигнуты у 21 больного, частичный ответ (ЧО) — у 14 больных. Количество линий предшествующей противоопухолевой терапии до достижения ответа варьировало от 1 до 3. Двадцать семь больных получили 1 линию терапии, 5 больных — 2 линии и 3 больных — 3 линии. Первую линию индукции ремиссии проводили бортезомибсодержащими режимами (PAD, VCD). При рецидиве или резистентности к программам 1-й линии, в качестве терапии 2-й и 3-й линий использовали программы с леналидомидом (VRD, RD, RCD, монотерапия леналидомидом) и другие комбинации цитостатических препаратов (DCEP, EDAP). Мобилизацию ГСК проводили с использованием циклофосфамида 2–4 г/м^2 + Г-КСФ (5 мкг/кг/сутки). Процедуру афереза проводили на 4-й, 5-й и 6-й дни введения Г-КСФ на сепараторах клеток крови ASTEC 204 («Fresenius», Германия) и Spectra LRS 07 («COBE», США) до получения ≥ 2,0 × 10^6 CD34$^+$CD45$^+$ клеток/кг (1–3 сеанса). Медиана CD34$^+$CD45$^+$ ГСК составила 7,3 × 10^6/кг (2,3–12,3 × 10^6/кг). Через 2–6 месяцев после мобилизации больным проводили высокодозную ХТ мелфаланом в дозе 140–200 мг/м^2 с последующей ауто-ТГСК.

Исследование субпопуляций МС было проведено у 27 больных до мобилизации ГСК (перед введением циклофосфамида) и у 22 больных перед процедурой афереза в день сепарации ГСК, в том числе у 17 — в парных выборках (т. е. до и после мобилизации).

Для исследования выделяли мононуклеарные клетки (МНК) ПК стандартным методом центрифугирования цельной гепаринизированной венозной крови в градиенте плотности фиколл-верографина (ρ = 1,078). При необходимости проводили лизис эритроцитов раствором VersaLyse («Beckman Coulter», Франция) в соответствии с инструкцией. Методом проточной цитометрии оценивали относительное содержание Г-МС (Lin$^-$HLA-DR$^-$CD33$^+$CD66b$^+$), М–МС (CD14$^+$HLA-DR$^{low/-}$) и Р-МС (Lin$^-$HLA-DR$^-$CD33$^+$CD66b$^-$), используя анти-Lineage Cocktail 1 (CD3, CD14, CD16, CD19, CD20, CD56; FITC, «BD Biosciences», США), анти-CD14 (FITC, «BD Biosciences»), анти-CD33 (PE-Cy 5, «BD Biosciences», США), анти-CD66b (APC, «BioLegend», США), анти-HLA-DR (FITC, «Сорбент», Россия; PE, PerCP/Cy 5.5 «BD Biosciences») моноклональные антитела.

Исследование проводили в соответствии с рекомендациями V. Bronte и соавт. [4] с использованием параметров прямого и бокового светорассеяния, при этом в область гейтирования включали регион МНК (лимфоциты и моноциты), и флюоресценции по каналам FL-1 (FITC), FL-2 (PE), FL-3 (PerCP, PerCP/Cy 5.5, PE-Cy 5), FL-4 (APC) («BD FACSCalibur», «CellQuest Software», США). Стратегия гейтирования представлена на рисунке 1. Анализ проводили после накопления не менее 100 000 событий в регионе Lin$^-$ клеток, или — при оценке субпопуляции моноцитарных МС — не менее 50 000 событий в регионе CD14$^+$ клеток. Относительное содержание субпопуляций МС представлено в виде процента от МНК.

Статистический анализ. Обработку данных проводили с помощью пакета программ Statistica 6.0 (StatSoft). Для оценки значимости различий между группами использовали *U*-критерий Манна — Уитни. Для оценки значимости различий зависимых выборок использовали критерий знаков для парных выборок. Данные в тексте и таблицах представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона. Различия считали статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты

Исследование Р-МС (Lin$^-$HLA-DR$^-$CD33CD66b$^-$), Г-МС (Lin$^-$HLA-DR$^-$CD33$^+$CD66b$^+$) и М–МС (CD14$^+$HLA-DR$^{low/-}$) было проведено в группе больных ММ — кандидатов для выполнения ауто-ТГСК — до и после выполнения процедуры мобилизации ГСК. Поскольку в группу отбирались больные, ответившие на ХТ, то анализ МС на этом этапе позволял оценить количественные параметры МС у больных, достигнувших ЧО, ОХЧО и полного ответа (ПО).

Относительное количество Г-МС (Lin$^-$HLA-DR$^-$CD33$^+$CD66b$^+$) и М–МС (CD14$^+$HLA-DR$^{low/-}$) превышало таковое у доноров, соответственно, в 1,7 и 3 раза (табл. 1). Процентное содержание Р-МС Lin$^-$HLA-DR$^-$CD33$^+$CD66b$^-$ в ПК больных ММ было также больше, чем у доноров, однако различия не достигали статистической значимости. Процесс гей-

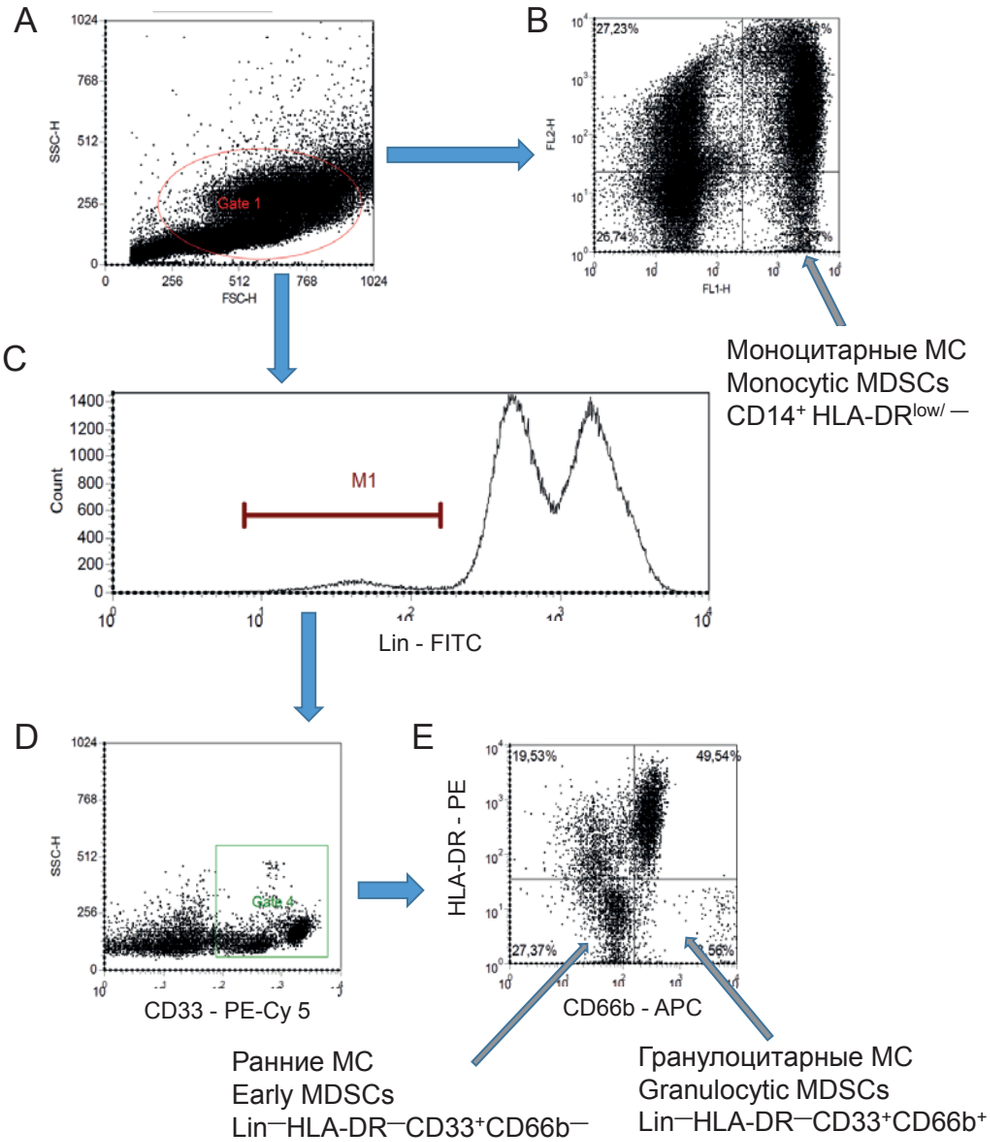

Рисунок 1. Стратегия гейтирования и цитометрическая характеристика субпопуляций миелоидных супрессорных клеток ПК. Для изучения миелоидных супрессорных клеток ранних стадий дифференцировки (Р-МС) и гранулоцитарных миелоидных супрессорных клеток (Г-МС) выделяли регион мононуклеарных клеток по прямому (FSC) и боковому светорассеянию (SSC) (**A**), в котором исследовали популяцию клеток, не несущих линейные маркеры (**C**). Из этой области (Lin⁻) клеток выделяли CD33⁺ популяцию по характеристикам бокового светорассеяния (SSC) и экспрессии CD33 (**D**), из гейта которой в области HLA-DR-негативных клеток оценивали относительное содержание Р-МС и Г-МС по отсутствию или наличию экспрессии CD66b (**E**, нижние левый и правый квадранты, соответственно). Для изучения моноцитарных миелоидных супрессорных клеток в регионе МНК изучали популяцию CD14⁺HLA-DR$^{low/-}$ клеток (**B**). Представлены данные репрезентативного больного ММ

Figure 1. *Gating strategy and cytometry of PB myeloid-derived suppressor cell subsets. To study early (E-MDSCs) and granulocytic myeloid-derived suppressor cells (G-MDSCs), the area of mononuclear cells (MNCs) was defined by forward (FSC) vs. side scatter (SSC) (A) to gate linear marker-negative cell subsets (C). The CD33⁺ subset was isolated from region (Lin⁻) by the properties of side scattering (SSC) and CD33 expression (D). Relative HLA-DR-negative E-MDSC and G-MDSC counts were assessed from the CD33⁺ gate by an absent vs. present CD66b expression (E, lower left and right quadrants, respectively). The CD14⁺HLA-DR$^{low/-}$ subset (B) was studied to examine M–MDSCs in the MNC area. Data derived from a representative MM patient.*

тирования при оценке МС (рис. 1) позволял оценить содержание субпопуляций МС не только в процентном выражении от МНК ПК, но и относительно общих популяций миелоидных клеток и моноцитов. Анализ этих данных показал, что возрастание Г-МС и М–МС не было обусловлено увеличением доли миелоидных клеток (CD33⁺Lin⁻) или моноцитов (CD14⁺). Увеличение доли М–МС сопровождалось также двукратным увеличением абсолютного количества этих клеток, тогда как абсолютные количества Р-МС и Г-МС значимо не отличались от таковых у доноров. При этом как у больных, так и у доноров относительное и абсолютное количество М–МС было существенно больше, чем количество Г-МС.

Больные ММ на момент начала режима мобилизации ГСК различались по типу ответа на ХТ. В 19 из 27 случаев регистрировался ПО или ОХЧО, в 8 — ЧО. Анализ субпопуляций МС в этих группах показал, что больные с ПО/ОЧХО не различались по количеству исследуемых субпопуляций МС от больных с ЧО. Увеличение относительного и абсолютного количества М–МС отмечалось в обеих группах (табл. 2).

Таблица 1. Относительное и абсолютное содержание МС в ПК здоровых доноров и больных ММ перед началом мобилизации гемопоэтических стволовых клеток
Table 1. *Relative and absolute MDSC counts in PB of healthy donors and MM patients prior to haematopoietic stem cell mobilisation*

Субпопуляции МС *MDSC subsets*	Здоровые доноры *Healthy donors* (*n* = 16)	Больные ММ *MM patients* (*n* = 27)	p_U*
Lin⁻HLA-DR⁻CD33⁺CD66b⁻, %	0,59 (0,31–1,8)	0,91 (0,66–1,31)	0,31
Lin⁻HLA-DR⁻CD33⁺CD66b⁺, %	0,021 (0,0067–0,04)	0,036 (0,024–0,1)	0,04
Lin⁻CD33⁺, %	22,4 (10,2–28,4)	17,1 (10,3–33,9)	0,75
CD14⁺, %	15,3 (9,3–19,1)	17,6 (10,3–21,9	0,4
CD14⁺HLA-DR$^{low/-}$, %	1,7 (1,32–2,29)	5,05 (2,01–8,65)	0,0008
МНК, ×10⁹/л *MNC, ×10⁹/L*	2,04 (1,7–2,3)	1,94 (1,42–2,72)	0,49
Lin⁻HLA-DR⁻CD33⁺CD66b⁻, клеток/мкл *cells/μL*	13,6 (6,9–24,9)	18,6 (10–25)	0,51
Lin⁻HLA-DR⁻CD33⁺CD66b⁺, клеток/мкл *cells/μL*	0,75 (0,23–1,2)	0,86 (0,5–2,5)	0,29
CD14⁺HLA-DR$^{low/-}$, клеток/мкл *cells/μL*	31,5 (27–47)	82,3 (33,9–154,4)	0,0003

Примечание. * — значимость различий по U-критерию Манна — Уитни; МНК — мононуклеарные клетки, МС — миелоидные супрессорные клетки.
Notes. * — P-values are assessed with Mann — Whitney U-test; MDSC — myeloid-derived suppressor cells, MM — multiple myeloma, MNC — mononuclear cells.*

Таблица 2. Относительное и абсолютное содержание субпопуляций МС в ПК больных ММ в зависимости от статуса заболевания
Table 2. *Relative and absolute MDSC subset counts in PB of MM patients by treatment response*

Субпопуляции МС *MDSC subset*	Группы / *Cohort*			p_U*
	1-я группа: Здоровые доноры *Healthy donors* (*n* = 16)	2-я группа: Больные ММ с ЧО *MM patients with partial response* (*n* = 8)	3-я группа: Больные ММ с ПО/ОХЧО *MM patients with complete response / very good partial response* (*n* = 19)	
Р-МС, % *E-MDSCs, %*	0,59 (0,31–1,8)	1,13 (0,51–1,43)	0,91 (0,77–1,15)	p_{2-3} = 0,69 p_{1-2} = 0,27 p_{1-3} = 0,44
Г-МС, % *G-MDSCs, %*	0,021 (0,0067–0,04)	0,033 (0,021–0,065)	0,036 (0,027–0,160)	p_{2-3} = 0,77 p_{1-2} = 0,14 p_{1-3} = 0,06
М-МС, % *M-MDSCs, %*	1,7 (1,32–2,29)	3,7 (2,81–7,03)	5,5 (1,62–8,65)	p_{2-3} = 0,81 p_{1-2} = 0,004 p_{1-3} = 0,007
МНК, ×10⁹/л *MNC, ×10⁹/L*	2,00 (1,7–2,3)	1,9 (1,4–2,2)	2, 0 (1,4–2,7)	p_{2-3} = 0,45 p_{1-2} = 0,43 p_{1-3} = 0,51
Р-МС, клеток/мкл *E-MDSCs, cells/μL*	13,6 (6,9–24,9)	18,7 (10,6–24,8)	17,7 (10,15–25,69)	p_{2-3} = 0,97 p_{1-2} = 0,54 p_{1-3} = 0,58
Г-МС, клеток/мкл *G-MDSCs, cells/μL*	0,75 (0,23–1,2)	0,61 (0,40–1,08)	1,1 (0,53–4,49)	p_{2-3} = 0,46 p_{1-2} = 0,75 p_{1-3} = 0,21
М-МС, клеток/мкл *M-MDSCs, cells/μL*	31,5 (27–47)	94,8 (46,5–116,6)	82,3 (33,9–193,76)	p_{2-3} = 0,85 p_{1-2} = 0,016 p_{1-3} = 0,014

Примечание. * — значимость различий по U-критерию Манна — Уитни; Г-МС — гранулоцитарные МС, М-МС — моноцитарные МС, МНК — мононуклеарные клетки, Р-МС — МС ранних стадий дифференцировки.
Notes. * — P-values are assessed with Mann — Whitney U-test; E-MDSCs — early MDSCs, G-MDSCs — granulocytic MDSCs, M-MDSCs — monocytic MDSCs, MDSC — myeloid-derived suppressor cell, MM — multiple myeloma, MNC — mononuclear cells.*

Поскольку количество курсов ХТ, необходимое для достижения ответа, у разных больных варьировало, сравнили количественные параметры МС в зависимости от предлеченности больных (табл. 3). Для этого были сформированы две группы. В первую группу вошли 20 больных с ответом после 1-й линии терапии, во вторую — 7 больных, у которых ответ был достигнут после 2-й (n = 5) и 3-й (n = 3) линий терапии.

Больные сформированных групп не различались по содержанию отдельных субпопуляций МС, хотя у больных после 2–3 линий ХТ была отмечена тенденция к более высокому относительному содержанию Г-МС. Различия были выявлены при сравнении больных анализируемых групп с донорами. Значимое увеличение доли Г-МС отмечено в группе больных после 2–3 линий ХТ, тогда как в группе больных, получивших одну линию ХТ, увеличение данной субпопуляции МС было менее выраженным и проявлялось в виде тренда. Повышенное относительное количество М–МС было зарегистрировано в обеих группах. В то же время увеличение абсолютного количества М–МС было характерно для больных после первой линии ХТ и не выявлялось в группе после 2–3 линий ХТ, что могло быть связано с меньшим количеством МНК в результате более продолжительной ХТ.

Таким образом, больные ММ после химиотерапии перед проведением мобилизации и высокодозной ХТ с ауто-ТГСК отличались от здоровых доноров большим процентным содержанием Г-МС ($Lin^-HLA\text{-}DR^-CD33^+CD66b^+$) и увеличенным относительным и абсолютным количеством М–МС ($CD14^+HLA\text{-}DR^{low/-}$). Тип ответа (ПО/ОХЧО против ЧО) не был сопряжен с какими-либо различиями в количественных показателях МС. Сравнительная оценка МС до и после проведения режима мобилизации ГСК показала (табл. 4), что введение Г-КСФ в комбинации с циклофосфамидом приводило к значимому увеличению в ПК всех трех анализируемых субпопуляций МС (рис. 2). Если медианные значения относительного содержания Р-МС и М–МС увеличивались соответственно в 2,3 и 2,0 раза, то относительное содержание Г-МС увеличивалось в 46 раз.

Таблица 3. Относительное и абсолютное содержание субпопуляций МС в ПК больных ММ в зависимости от количества линий предшествующей терапии

Table 3. *Relative and absolute MDSC subset counts in PB of MM patients by number of pretreatment courses*

	Группы *Groups*			
Субпопуляции МС *MDSC subset*	**1-я группа: Здоровые доноры** *Healthy donors (n=16)*	**2-я группа: Больные ММ, получившие 1-ю линию терапии** *MM patients received the 1st line therapy (n=20)*	**3-я группа: Больные ММ, получившие 2–3-е линии терапии** *MM patients received the 2nd or 3rd lines of therapy (n=7)*	P_U*
Р-МС, % *E-MDSCs, %*	0,59 (0, 31–1,8)	0,91 (0,62–1,24)	0,97 (0,88–1,41)	P_{2-3}=0,58 P_{1-2}=0,39 P_{1-3}=0,34
Г-МС, % *G-MDSCs, %)*	0,021 (0,0067–0,04)	0,027 (0,021–0,10)	0,039 (0,03–0,56)	P_{2-3}=0,12 P_{1-2}=0,11 P_{1-3}=0,038
М–МС, % *M–MDSCs, %*	1,7 (1,32–2,29)	5,0 (2,28–6,65)	8,8 (1,24–17,09)	P_{2-3}=0,43 P_{1-2}=0,0009 P_{1-3}=0,09
МНК, ×10⁹/л *MNC, ×10⁹/L*	2,00 (1,7–2,3)	2,0 (1,6–2,5)	1, 4 1,1–2,0)	P_{2-3}=0,15 P_{1-2}=0,85 P_{1-3}=0,08
Р-МС, клеток/мкл *E-MDSCs, cell/μL*	13,6 (6,9–24,9	17,6 (9,47–25,65)	23,5 (12,7–24,14)	P_{2-3}=0,73 P_{1-2}=0,61 P_{1-3}=0,45
Г-МС, клеток/мкл *G-MDSCs, cell/μL*	0,75 (0,23–1,2)	0,84 (0,40–2,09)	0,91 (0,55–11,43)	P_{2-3}=0,5 P_{1-2}=0,4 P_{1-3}=0,26
М–МС, клеток/мкл *M–MDSCs, cell/μL*	31,5 (27–47)	86,6 (43,2–132,8)	34,8 (20,4–179,6)	P_{2-3}=0,61 P_{1-2}=0,001 P_{1-3}=0,46

Примечание. * — значимость различий по U-критерию Манна — Уитни; Г-МС — гранулоцитарные МС, М–МС — моноцитарные МС, МНК — мононуклеарные клетки, Р-МС — МС ранних стадий дифференцировки.

*Notes. * — P-values are assessed with Mann — Whitney U-test; E-MDSCs — early MDSCs, G-MDSCs — granulocytic MDSCs, M-MDSCs — monocytic MDSCs, MDSC — myeloid-derived suppressor cell, MM — multiple myeloma, MNC — mononuclear cells.*

Таблица 4. Относительное и абсолютное содержание субпопуляций МС в ПК больных ММ до и после проведения мобилизации ГСК
Table 4. *Relative and absolute MDSC subset counts in PB of MM patients prior to and after HSC mobilisation*

Субпопуляции МС *MDSC subset*	Больные ММ до Г-КСФ *MM patients before G-CSF* *(n = 17)*	Больные ММ после Г-КСФ *MM patients after G-CSF* *(n = 17)*	*p**
Р-МС, % *E-MDSCs, %*	0,83 (0,43–1,15)	1,28 (0,79–2,17)	0,000000
Г-МС, % *G-MDSCs, %*	0,027 (0,021–0,064)	4,6 (0,378–7,93)	0,00059
М-МС, % *M-MDSCs, %*	5,1 (3,07–8,11)	10,1 (4,56–15,86)	0,0016
МНК, ×10⁹/л *MNC, ×10⁹/L*	2,0 (1,7–2,7)	3, 8 (2,5–5,0)	0,0026
Р-МС, клеток/мкл *E-MDSCs, cells/μL*	17,6 (9,3–26,6)	47,9 (22,0–115,7)	0,00135
Г-МС, клеток/мкл *G-MDSCs, cells/μL*	0,67 (0,52–1,46)	94 (10,8–575,2)	0,0016
М-МС, клеток/мкл *M-MDSCs, cells/μL*	98,7 (61,1–157,4)	427,4 (173,1–508,4)	0,00113

Примечание. * — значимость различий по критерию знаков для парных выборок; Г-КСФ — гранулоцитарный колониестимулирующий фактор, Г-МС — гранулоцитарные МС, М–МС — моноцитарные МС, МНК — мононуклеарные клетки, Р-МС — МС ранних стадий дифференцировки.
*Notes. * — P-values are assessed with sign test for paired samples; E-MDSCs — early MDSCs, G-CSF — granulocyte colony-stimulating factor, G-MDSCs — granulocytic MDSCs, M-MDSCs — monocytic MDSCs, MDSC — myeloid-derived suppressor cell, MM — multiple myeloma, MNC — mononuclear cells.*

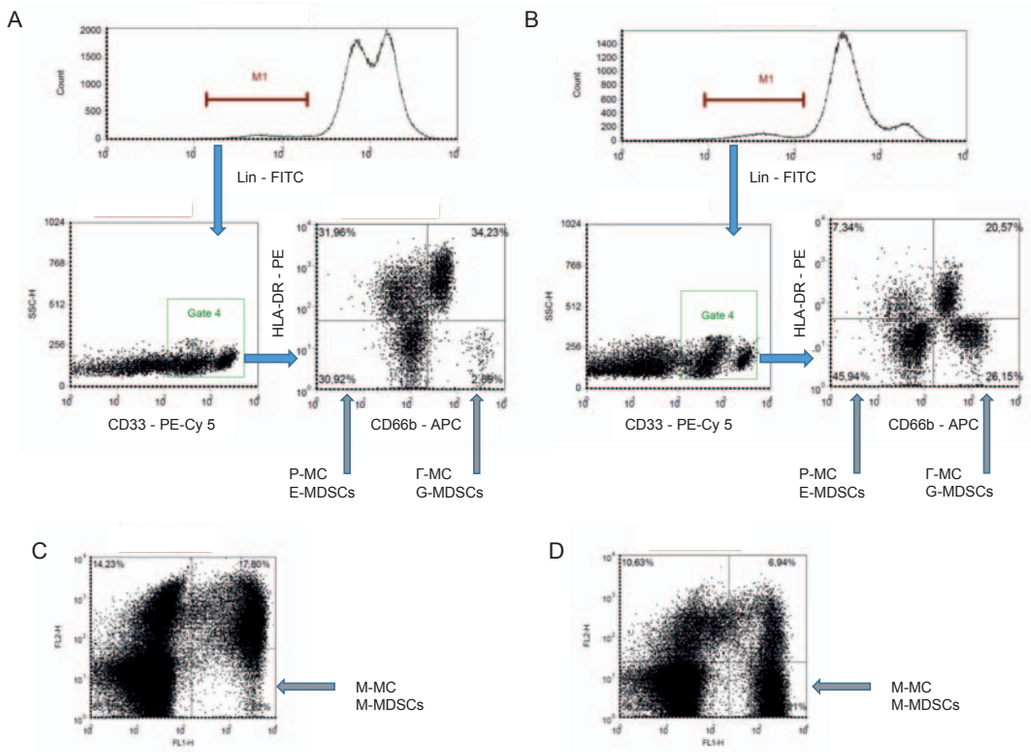

Рисунок 2. Цитометрическая характеристика субпопуляций миелоидных супрессорных клеток периферической крови до и после курса мобилизации ГСК у больных множественной миеломой. Показано значительное увеличение относительного количества МС ранних стадий дифференцировки (Р-МС), гранулоцитарных миелоидных супрессорных клеток (Г-МС) (**B**) и моноцитарных миелоидных супрессорных клеток (М–МС) (**D**) после курса мобилизации ГСК (перед процедурой афереза) по сравнению со значениями до мобилизации ГСК (перед введением циклофосфамида) (**A, C**) у больных ММ. Представлены данные репрезентативных больных ММ.

Figure 2. *Cytometry of peripheral blood myeloid-derived suppressor cell subsets prior to and after HSC mobilisation in multiple myeloma patients. A significant increase is shown in relative counts of early (E-MDSCs), granulocytic (G-MDSCs) (B) and monocytic (M-MDSCs) myeloid-derived suppressor cells (D) after HSC mobilisation (pre-apheresis) vs. prior-to-mobilisation values (pre-infusion of cyclophosphamide) (A, C) in MM patients. Data derived from representative MM patients.*

Анализ данных выявил выраженную индивидуальную гетерогенность в изменениях МС — от отсутствия увеличения их количества у минорной части больных до 100-кратного их возрастания. Причем между интенсивностью увеличения отдельных субпопуляций МС не было обнаружено какой-либо корреляции. Учитывая значимое увеличение количества МНК после ведения Г-КСФ, абсолютное количество МС также существенно увеличивалось. Наиболее выраженные изменения наблюдались в отношении Г-МС, что приводило к изменению соотношения М–МС/Г-МС. Если до мобилизации количество М–МС было доминирующим и соотношение медиан М–МС/Г-МС составляло 123 (55–216), то после введения Г-КСФ соотношение этих субпопуляций уменьшилось до 2,6 (1,0–16).

Обсуждение

Полученные результаты позволили охарактеризовать количественное содержание трех субпопуляций МС у больных ММ в стадии ремиссии и показать, что у больных, у которых достигнут ответ при проведении стандартной ХТ, выявляется увеличение относительного содержания Г-МС, относительного и абсолютного содержания М–МС и тенденция к большему относительному содержанию Р-МС. Увеличение количества МС при ММ описано несколькими группами исследователей, которые показали повышенное содержание М–МС и Г-МС в ПК на момент установки диагноза ММ и еще более высокие показатели при прогрессии заболевания, рецидиве или при формировании резистентности к терапии [21, 24]. Если по данным одних авторов экспансии были подвержены $CD14^{+}HLA\text{-}DR^{-/low}$ М–МС [26, 27], то по данным других авторов, прогрессия ММ была связана преимущественно с увеличением $CD33^{+}/CD11b^{+}HLA\text{-}DR^{low}CD14^{-}CD15^{+}$ Г-МС [28–30].

В настоящей работе впервые продемонстрировано, что у больных ММ, достигнувших ответа и отобранных для инициации процедуры мобилизации ГСК, сохраняется увеличенное содержание всех трех субпопуляций МС. Наиболее типичным изменением, не связанным со статусом заболевания и предлеченностью, являлось увеличение относительного и абсолютного содержания М–МС. Значимое увеличение доли Г-МС, выявляемое в целом по группе, в наибольшей степени было ассоциировано с большей предлеченностью. J. Favaloro и соавт. [29] описали увеличение относительного (но не абсолютного) содержания Г-МС в ПК больных ММ в стадии ремиссии, что согласуется с полученными в настоящей работе данными. Однако увеличение относительного и абсолютного количества М–МС у больных, у которых получен ответ на ХТ, описано нами впервые.

Согласно данным литературы [1, 6], МС при патологии генерируются под действием ростовых факторов и цитокинов, продуцируемых в опухолевом микроокружении. При ММ экспансию МС во многом связывают со способностью опухолевых клеток усиливать генерацию и выживаемость МС [21, 30]. Важная роль МС в патогенезе ММ обусловлена не только иммуносупрессивной активностью этих клеток [27, 31], но и способностью МС стимулировать ангиогенез [32], обеспечивать выживаемость и экспансию клеток ММ (в том числе с признаками стволовых) [20, 33], индуцировать резистентность к химиотерапии [21], а также участвовать в формировании остеолитических повреждений [34]. Учитывая негативную роль МС при ММ, эти клетки рассматриваются в качестве новой мишени в лечении ММ [24]. Действительно, элиминация клеток ММ на фоне ХТ и использования таргетных препаратов сопряжена с уменьшением количества и активности МС [11]. С другой стороны, современные программы терапии, основанные на высокодозной ХТ с ауто-ТГСК, включают этап мобилизации ГСК из костного мозга в ПК с помощью Г-КСФ, и данная процедура может вызывать выраженное увеличение МС в ПК и продукте сепарации.

E. Luyckx и соавт. [12] в исследовании, проведенном в группе доноров аллогенного костного мозга, показали, что введение Г-КСФ вызывает увеличение общей популяции МС ($Lin^{-}HLA\text{-}DR^{-}CD11b^{+}$) в ПК доноров аллогенного костного мозга как за счет М–МС ($CD14^{hi}$ $CD15^{-}$), так и за счет Г-МС ($CD14^{lo}CD15^{hi}$), в сравнении с их содержанием в ПК здоровых доноров из контрольной группы. Причем обе субпопуляции обладают супрессорной активностью в отношении аллореактивных Т-клеток. Позже A. Vendramin и соавт. [14] в группе из 60 больных, которым была выполнена алло-ТГСК от неродственных доноров, показали, что увеличение количества МС обусловлено преимущественно моноцитарными МС $Lin^{-}HLA\text{-}DR^{-}CD11b^{+}CD33^{+}CD14^{+}$, и большее содержание этих клеток в продукте сепарации при алло-ТГСК было ассоциировано с меньшей частотой развития РТПХ. K. Wang и соавт. [13] выявили у здоровых доноров после введения Г-КСФ большое содержание в ПК ранних МС ($HLA\text{-}DR^{-/low}CD33^{+}CD16^{-}$) с морфологией незрелых моноцитарных клеток. Эти клетки, способные подавлять пролиферацию аутологичных Т-клеток и стимулировать генерацию Трег и дифференцировку Th2, предотвращали развитие острой РТПХ в экспериментальной модели РТПХ, воспроизведенной на гуманизированных мышах. Более того, в проспективно проанализированной когорте из 100 реципиентов аллогенного костного мозга количество $HLA\text{-}DR^{-/low}CD33^{+}CD16^{-}$ в продукте афереза ГСК у доноров обратно коррелировало с частотой развития острой РТПХ у реципиентов. Мобилизация ГСК в этом исследовании сопровождалась также увеличением в крови относительного содержания Г-МС ($Lin^{-}HLA\text{-}$

DR$^{-/low}$CD33^{+}CD11b^{+}CD14^{-}CD15^{+}), тогда как доля М–МС (Lin^{-}HLA-DR$^{-/low}$CD33^{+}CD11b^{+}CD14^{+}CD15^{-}) в циркуляции не менялась.

Данные о влиянии мобилизации ГСК на численность МС у больных ММ представлены в единственном исследовании, в котором авторы показали 4-кратное возрастание относительного количества Г-МС в ПК после введения Г-КСФ [29]. Г-МС обладали способностью ингибировать пролиферацию Т-лимфоцитов и отличались от таковых у доноров более высокой способностью индуцировать генерацию Трег. Поскольку продукт афереза ГСК также содержал повышенное количество МС, авторы предположили, что экспансия МС на этапе мобилизации ГСК может негативно сказываться на иммунной реконституции после введения этих клеток в составе трансплантата. По данным литературы [29], Г-МС (CD11b^{+}CD14^{-}HLA-DR$^{-/low}$CD33^{+}CD15^{+}) у больных ММ обладают более выраженной супрессорной активностью, чем М–МС (CD11b^{+}CD14^{+}HLA-DR$^{-/low}$).

Полученные в настоящей работе результаты показали увеличение относительного и абсолютного количества всех трех субпопуляций МС после мобилизации ГСК у больных ММ. Различия с данными J. Favaloro и соавт. [29] могут быть связаны с режимом мобилизации (в настоящей работе — комбинация Г-КСФ с циклофосфамидом в отличие от изолированного Г-КСФ в исследовании J. Favaloro и соавт. [29]), а также особенностями гейтирования при оценке субпопуляций МС, которое в настоящем исследовании было проведено в соответствии с международными рекомендациями по оценке МС [4]. Наибольшие изменения в численности МС выявлялись в отношении Г-МС. Более выраженное увеличение этой субпопуляции приводило к смещению баланса М–МС/Г-МС в сторону увеличения последних. Ранее было показано, что более высокое относительное содержание Трег у больных ММ на этапе ранней реконституции после ауто-ТГСК сопряжено с развитием ранних рецидивов [35]. Учитывая способность Г-МС подавлять пролиферацию Т-клеток и индуцировать Трег [29], МС, содержащиеся в клеточной взвеси, полученной при аферезе ГСК, могут негативно влиять на эффективность иммунной реконституции после ауто-ТГСК. С другой стороны, высокодозная ХТ на этапе кондиционирования может снижать супрессорную активность МС [22], и не исключено, что в этом случае МС, обладающие способностью участвовать в формировании ниш для стволовых клеток [9], могут оказывать позитивный эффект, улучшая графтинг аутологичных ГСК. Дальнейшие исследования МС в посттрансплантационном периоде с учетом показателей иммунитета позволят оценить клиническую и прогностическую значимость данной популяции регуляторных клеток у больных ММ, получающих высокодозную ХТ с ауто-ТГСК.

Литература

1. Gabrilovich D.I. Myeloid-derived suppressor cells. Cancer Immunol Res. 2017; 5(1): 3–8. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-16-0297.

2. Talmadge J.E., Gabrilovich D.I. History of myeloid-derived suppressor cells. Nat Rev Cancer. 2013; 13: 739–752. DOI: 10.1038/nrc3581.

3. Mandruzzato S., Brandau S., Britten C.M., et al. Toward harmonized phenotyping of human myeloid-derived suppressor cells by flow cytometry: results from an interim study. Cancer Immunol Immunother. 2016; 65: 161–169. DOI: 10.1007/s00262-015-1782-5.

4. Bronte V., Brandau S., Chen S.H., et al. Recommendations for myeloid-derived suppressor cell nomenclature and characterization standards. Nat Commun. 2016; 7: 12150. DOI: 10.1038/ncomms12150.

5. Cubillos-Ruiz J.R., Mohamed E., Rodriguez P.C. Unfolding anti-tumor immunity: ER stress responses sculpt tolerogenic myeloid cells in cancer. J Immunother Cancer. 2017; 5: 5. DOI: 10.1186/s40425-016-0203-4.

6. Consonni F.M., Porta C., Marino A., et al. Myeloid-derived suppressor cells: Ductile targets in disease. Front Immunol. 2019; 10: 949. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00949.

7. Gabitass R.F., Annels N.E., Stocken D.D., et al. Elevated myeloid-derived suppressor cells in pancreatic esophageal and gastric cancer are an independent prognostic factor and are associated with significant elevation of the Th2 cytokine interleukin-13. Cancer Immunol Immunother. 2011; 60: 1419–1430. DOI: 10/1007/s00262-011-1028-0.

8. Safarzadeh E., Orangi M., Mohammadi H., et al. Myeloid-derived suppressor cells: Important contributors to tumor progression and metastasis. J Cell Physiol. 2018; 233(4): 3024–3036. DOI: 10.1002/jcp.26075.

References

1. Gabrilovich D.I. Myeloid-derived suppressor cells. Cancer Immunol Res. 2017; 5(1): 3–8. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-16-0297.

2. Talmadge J.E., Gabrilovich D.I. History of myeloid-derived suppressor cells. Nat Rev Cancer. 2013; 13: 739–752. DOI: 10.1038/nrc3581.

3. Mandruzzato S., Brandau S., Britten C.M., et al. Toward harmonized phenotyping of human myeloid-derived suppressor cells by flow cytometry: results from an interim study. Cancer Immunol Immunother. 2016; 65: 161–169. DOI: 10.1007/s00262-015-1782-5.

4. Bronte V., Brandau S., Chen S.H., et al. Recommendations for myeloid-derived suppressor cell nomenclature and characterization standards. Nat Commun. 2016; 7: 12150. DOI: 10.1038/ncomms12150.

5. Cubillos-Ruiz J.R., Mohamed E., Rodriguez P.C. Unfolding anti-tumor immunity: ER stress responses sculpt tolerogenic myeloid cells in cancer. J Immunother Cancer. 2017; 5: 5. DOI: 10.1186/s40425-016-0203-4.

6. Consonni F.M., Porta C., Marino A., et al. Myeloid-derived suppressor cells: Ductile targets in disease. Front Immunol. 2019; 10: 949. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00949.

7. Gabitass R.F., Annels N.E., Stocken D.D., et al. Elevated myeloid-derived suppressor cells in pancreatic esophageal and gastric cancer are an independent prognostic factor and are associated with significant elevation of the Th2 cytokine interleukin-13. Cancer Immunol Immunother. 2011; 60: 1419–1430. DOI: 10/1007/s00262-011-1028-0.

8. Safarzadeh E., Orangi M., Mohammadi H., et al. Myeloid-derived suppressor cells: Important contributors to tumor progression and metastasis. J Cell Physiol. 2018; 233(4): 3024–3036. DOI: 10.1002/jcp.26075.

9. Marvel D., Gabrilovich D.I. Myeloid-derived suppressor cells in the tumor microenvironment: Expect the unexpected. J Clin Invest. 2015; 125(9): 3356–3364. DOI: 10.1172/JCI80005.

10. Bruno A., Mortara L., Baci D., et al. Myeloid derived suppressor cells interactions with natural killer cells and pro-angiogenic activities: Roles in tumor progression. Front Immunol. 2019; 10: 771. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00771.

11. Lv M., Wang K., Huang X.J. Myeloid-derived suppressor cells in hematological malignancies: Friends or foes. J Hematol Oncol. 2019; 12: 105. DOI: 10.1186/s13045-019-0797-3.

12. Luyckx A., Schouppe E., Rutgeerts O., et al. G-CSF stem cell mobilization in human donors induces polymorphonuclear and mononuclear myeloid-derived suppressor cells. Clin Immunol. 2012; 143: 83–87.

13. Wang K., Lv M., Chang Y.J., et al. Early myeloid-derived suppressor cells (HLA-DR$^{-/low}$CD33^{+}CD16^{-}) expanded by granulocyte colony-stimulating factor prevent acute graft-versus-host disease (GVHD) in humanized mouse and might contribute to lower GVHD in patients post allo-HSCT. J Hematol Oncol. 2019; 12(1): 31. DOI: 10.1186/s13045-019-0710-0.

14. Vendramin A., Gimondi S., Bermema A., et al. Graft monocytic myeloid-derived suppressor cell content predicts the risk of acute graft-versus-host disease after allogeneic transplantation of granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood stem cells. Biol Blood Marrow Transplant. 2014; 20(12): 2049–2055. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.09.011.

15. Rajkumar S.V. Multiple myeloma: 2018 update on diagnosis, risk-stratification and management. Am J Hematol. 2018; 93(8): 981–1114. DOI: 10.1002/ajh.25117.

16. Kumar S.K., Rajkumar S.V., Dispenzieri A., et al. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. Blood. 2008; 111(5): 2516–2020. DOI: 10.1182/blood-2007-10-116129.

17. Robak P., Drozdz I., Szemraj J., Robak T. Drug resistance in multiple myeloma. Cancer Treat Rev. 2018; 70: 199–208. DOI: 10.1016/j.ctrv.2018.09.001.

18. Malek E., de Lima M., Letterio J.J., et al. Myeloid-derived suppressor cells: The green light for myeloma immune escape. Blood Rev. 2016; 30(5): 341–348. DOI: 10.1016/j.blre.2016.04.002.

19. Romano A., Conticello C., Cavalli M., et al. Immunological dysregulation in multiple myeloma microenvironment. Biomed Res Int. 2014; 2014: 198539. DOI: 10.1155/2014/198539.

20. De Veirman K., Menu E., Maes K., et al. Myeloid-derived suppressor cells induce multiple myeloma cell survival by activating the AMPK pathway. Cancer Lett. 2019; 442: 233–241. DOI: 10.1016/j.canlet.2018.11.002.

21. Ramachandran I.R., Condamine T., Lin C., et al. Bone marrow PMN-MDSCs and neutrophils are functionally similar in protection of multiple myeloma from chemotherapy. Cancer Lett. 2016; 371(1): 117–124. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.10.040.

22. Lee S.E., Lim J.Y., Kim T.W., et al. Different role of circulating myeloid-derived suppressor cells in patients with multiple myeloma undergoing autologous stem cell transplantation. J Immunother Cancer. 2019; 7(1): 35. DOI: 10.1186/s40425-018-0491-y.

23. Palumbo G.A., Parrinello N.L., Giallongo C., et al. Monocytic myeloid derived suppressor cells in hematological malignancies. Int J Mol Sci. 2019; 20(21): 54–59. DOI: 10.3390/ijms20215459.

24. De Veirman K., Van Valckenborgh E., Lahmar Q., et al. Myeloid-derived suppressor cells as therapeutic target in hematological malignancies. Front Oncol. 2014; 4: 349. DOI: 10.3389/fonc.2014.00349.

25. Менделеева Л.П., Вотякова О.М., Покровская О.С. и др. Национальные клинические рекомендации по диагностике и лечению множественной миеломы. Гематология и трансфузиология. 2016; 61(1, Прил. 2): 1–24. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-1.

9. Marvel D., Gabrilovich D.I. Myeloid-derived suppressor cells in the tumor microenvironment: Expect the unexpected. J Clin Invest. 2015; 125(9): 3356–3364. DOI: 10.1172/JCI80005.

10. Bruno A., Mortara L., Baci D., et al. Myeloid derived suppressor cells interactions with natural killer cells and pro-angiogenic activities: Roles in tumor progression. Front Immunol. 2019; 10: 771. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00771.

11. Lv M., Wang K., Huang X.J. Myeloid-derived suppressor cells in hematological malignancies: Friends or foes. J Hematol Oncol. 2019; 12: 105. DOI: 10.1186/s13045-019-0797-3.

12. Luyckx A., Schouppe E., Rutgeerts O., et al. G-CSF stem cell mobilization in human donors induces polymorphonuclear and mononuclear myeloid-derived suppressor cells. Clin Immunol. 2012; 143: 83–87.

13. Wang K., Lv M., Chang Y.J., et al. Early myeloid-derived suppressor cells (HLA-DR$^{-/low}$CD33^{+}CD16^{-}) expanded by granulocyte colony-stimulating factor prevent acute graft-versus-host disease (GVHD) in humanized mouse and might contribute to lower GVHD in patients post allo-HSCT. J Hematol Oncol. 2019; 12(1): 31. DOI: 10.1186/s13045-019-0710-0.

14. Vendramin A., Gimondi S., Bermema A., et al. Graft monocytic myeloid-derived suppressor cell content predicts the risk of acute graft-versus-host disease after allogeneic transplantation of granulocyte colony-stimulating factor-mobilized peripheral blood stem cells. Biol Blood Marrow Transplant. 2014; 20(12): 2049–2055. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.09.011.

15. Rajkumar S.V. Multiple myeloma: 2018 update on diagnosis, risk-stratification and management. Am J Hematol. 2018; 93(8): 981–1114. DOI: 10.1002/ajh.25117.

16. Kumar S.K., Rajkumar S.V., Dispenzieri A., et al. Improved survival in multiple myeloma and the impact of novel therapies. Blood. 2008; 111(5): 2516–2020. DOI: 10.1182/blood-2007-10-116129.

17. Robak P., Drozdz I., Szemraj J., Robak T. Drug resistance in multiple myeloma. Cancer Treat Rev. 2018; 70: 199–208. DOI: 10.1016/j.ctrv.2018.09.001.

18. Malek E., de Lima M., Letterio J.J., et al. Myeloid-derived suppressor cells: The green light for myeloma immune escape. Blood Rev. 2016; 30(5): 341–348. DOI: 10.1016/j.blre.2016.04.002.

19. Romano A., Conticello C., Cavalli M., et al. Immunological dysregulation in multiple myeloma microenvironment. Biomed Res Int. 2014; 2014: 198539. DOI: 10.1155/2014/198539.

20. De Veirman K., Menu E., Maes K., et al. Myeloid-derived suppressor cells induce multiple myeloma cell survival by activating the AMPK pathway. Cancer Lett. 2019; 442: 233–241. DOI: 10.1016/j.canlet.2018.11.002.

21. Ramachandran I.R., Condamine T., Lin C., et al. Bone marrow PMN-MDSCs and neutrophils are functionally similar in protection of multiple myeloma from chemotherapy. Cancer Lett. 2016; 371(1): 117–124. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.10.040.

22. Lee S.E., Lim J.Y., Kim T.W., et al. Different role of circulating myeloid-derived suppressor cells in patients with multiple myeloma undergoing autologous stem cell transplantation. J Immunother Cancer. 2019; 7(1): 35. DOI: 10.1186/s40425-018-0491-y.

23. Palumbo G.A., Parrinello N.L., Giallongo C., et al. Monocytic myeloid derived suppressor cells in hematological malignancies. Int J Mol Sci. 2019; 20(21): 54–59. DOI: 10.3390/ijms20215459.

24. De Veirman K., Van Valckenborgh E., Lahmar Q., et al. Myeloid-derived suppressor cells as therapeutic target in hematological malignancies. Front Oncol. 2014; 4: 349. DOI: 10.3389/fonc.2014.00349.

25. Mendeleeva L.P., Votyakova O.M., Pokrovskaya O.S., et al. National clinical guidelines for the diagnosis and treatment of multiple myeloma. Gematologiya i Transfusiologiya. 2016; 61(Supp. 2): 1–24. DOI: 10.18821/0234-5730-2016-61-1. (In Russian).

26. Li L., Wang L. Multiple myeloma: What do we do about immunodeficiency. J Cancer. 2019; 10(7): 1675–1684. DOI: 10.7150/jca.29993.
27. Brimnes M.K., Vangsted A.J., Knudsen L.M., et al. Increased level of both CD4+FOXP3+ regulatory T cells and CD14+HLA-DR−/low myeloid-derived suppressor cells and decreased level of dendritic cells in patients with multiple myeloma. Scand J Immunol. 2010; 72(6): 540–547. DOI: 10.1111/j.1365-3083.2010.02463.
28. Wang Z., Zhang L., Wang H., et al. Tumor-induced CD14+HLA-DR−/low myeloid-derived suppressor cells correlate with tumor progression and outcome of therapy in multiple myeloma patients. Cancer Immunol Immunother. 2015; 64: 389–399. DOI: 10.1007/s00262-014-1646-4.
29. Favaloro J., Liyadipitiya T., Brown R., et al. Myeloid derived suppressor cells are numerically, functionally and phenotypically different in patients with multiple myeloma. Leuk Lymphoma. 2014; 55(12): 2893–2900. DOI: 10.3109/10428194.2014.904511.
30. Görgün G.T., Whitehill G., Anderson J.L., et al. Tumor-promoting immune-suppressive myeloid-derived suppressor cells in the multiple myeloma microenvironment in humans. Blood. 2013; 121(15): 2975–2987. DOI: 10.1182/blood-2012-08-448548.
31. Ramachandran I.R., Martner A., Pisklakova A., et al. Myeloid-derived suppressor cells regulate growth of multiple myeloma by inhibiting T cells in bone marrow. J Immunol. 2013; 190(7): 3815–3823. DOI: 10.4049/jimmunol.1203373.
32. Binsfeld M., Muller J., Lamour V., et al. Granulocytic myeloid-derived suppressor cells promote angiogenesis in the context of multiple myeloma. Oncotarget. 2016; 7(25): 37931–37943. DOI: 10.18632/oncotarget.9270.
33. Ai L., Mu S., Sun C., et al. Myeloid-derived suppressor cells endow stem-like qualities to multiple myeloma cells by inducing piRNA-823 expression and DNMT3B activation. Mol Cancer. 2019; 18(10): 88. DOI: 10.1186/s12943-019-1011-5.
34. Van Valckenborgh E., Schouppe E., Movahedi K., et al. Multiple myeloma induces the immunosuppressive capacity of distinct myeloid-derived suppressor cell subpopulations in the bone marrow. Leukemia. 2012; 26(11): 2424. DOI: 10.1038/leu.2012.113.
35. Batorov E.V., Tikhonova M.A., Pronkina N.V., et al. Increased circulating CD4+FOXP3+ T cells associate with early relapse following autologous hematopoietic stem cell transplantation in multiple myeloma patients. Oncotarget. 2018; 9: 27305–27317. DOI: 10.18632/oncotarget.25553.

26. Li L., Wang L. Multiple myeloma: What do we do about immunodeficiency. J Cancer. 2019; 10(7): 1675–1684. DOI: 10.7150/jca.29993.
27. Brimnes M.K., Vangsted A.J., Knudsen L.M., et al. Increased level of both CD4+FOXP3+ regulatory T cells and CD14+HLA-DR−/low myeloid-derived suppressor cells and decreased level of dendritic cells in patients with multiple myeloma. Scand J Immunol. 2010; 72(6): 540–547. DOI: 10.1111/j.1365-3083.2010.02463.
28. Wang Z., Zhang L., Wang H., et al. Tumor-induced CD14+HLA-DR−/low myeloid-derived suppressor cells correlate with tumor progression and outcome of therapy in multiple myeloma patients. Cancer Immunol Immunother. 2015; 64: 389–399. DOI: 10.1007/s00262-014-1646-4.
29. Favaloro J., Liyadipitiya T., Brown R., et al. Myeloid derived suppressor cells are numerically, functionally and phenotypically different in patients with multiple myeloma. Leuk Lymphoma. 2014; 55(12): 2893–2900. DOI: 10.3109/10428194.2014.904511.
30. Görgün G.T., Whitehill G., Anderson J.L., et al. Tumor-promoting immune-suppressive myeloid-derived suppressor cells in the multiple myeloma microenvironment in humans. Blood. 2013; 121(15): 2975–2987. DOI: 10.1182/blood-2012-08-448548.
31. Ramachandran I.R., Martner A., Pisklakova A., et al. Myeloid-derived suppressor cells regulate growth of multiple myeloma by inhibiting T cells in bone marrow. J Immunol. 2013; 190(7): 3815–3823. DOI: 10.4049/jimmunol.1203373.
32. Binsfeld M., Muller J., Lamour V., et al. Granulocytic myeloid-derived suppressor cells promote angiogenesis in the context of multiple myeloma. Oncotarget. 2016; 7(25): 37931–37943. DOI: 10.18632/oncotarget.9270.
33. Ai L., Mu S., Sun C., et al. Myeloid-derived suppressor cells endow stem-like qualities to multiple myeloma cells by inducing piRNA-823 expression and DNMT3B activation. Mol Cancer. 2019; 18(10): 88. DOI: 10.1186/s12943-019-1011-5.
34. Van Valckenborgh E., Schouppe E., Movahedi K., et al. Multiple myeloma induces the immunosuppressive capacity of distinct myeloid-derived suppressor cell subpopulations in the bone marrow. Leukemia. 2012; 26(11): 2424. DOI: 10.1038/leu.2012.113.
35. Batorov E.V., Tikhonova M.A., Pronkina N.V., et al. Increased circulating CD4+FOXP3+ T cells associate with early relapse following autologous hematopoietic stem cell transplantation in multiple myeloma patients. Oncotarget. 2018; 9: 27305–27317. DOI: 10.18632/oncotarget.25553.

Информация об авторах

Аристова Татьяна Андреевна*, врач-гематолог гематологического отделения с блоком трансплантации костного мозга, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
e-mail: taris06@mail.ru
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4885-8327

Баторов Егор Васильевич, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
e-mail: Ebatorov@mail.ru
ORCID: http://orcid.org/0000-0003-2902-9336

Information about the authors

Tatiana A. Aristova*, Physician (haematology), Department of Haematology with Bone Marrow Transplantation Unit, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology,
e-mail: taris06@mail.ru
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4885-8327

Egor V. Batorov, Cand. Sci. (Med.), Researcher, Laboratory of Cell Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology,
e-mail: Ebatorov@mail.ru
ORCID: http://orcid.org/0000-0003-2902-9336

Сергеевичева Вера Васильевна, кандидат медицинских наук, заведующая гематологическим отделением с блоком трансплантации костного мозга, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
e-mail: verden@bk.ru
ORCID: http://orcid.org/0000-0003-1951-2260

Сизикова Светлана Анатольевна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог гематологического отделения с блоком трансплантации костного мозга, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
e-mail: svetlana_sizikova@mail.ru
ORCID: http://orcid.org/0000-0001-7109-3839

Ушакова Галина Юрьевна, кандидат медицинских наук, врач-гематолог гематологического отделения с блоком трансплантации костного мозга, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
e-mail: bmt-novosibirsk@mail.ru
ORCID: http://orcid.org/0000-0003-1822-6326

Гилевич Андрей Викторович, кандидат медицинских наук, заведующий отделением реанимации и интенсивной терапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
e-mail: agilevich@bk.ru
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0792-3110

Шевела Екатерина Яковлевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
e-mail: shevelak@mail.ru
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8997-3586

Останин Александр Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
e-mail: ostanin62@mail.ru
ORCID: http://orcid.org/0000-0001-6895-938X

Черных Елена Рэмовна, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующая лабораторией клеточной иммунотерапии, ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии»,
e-mail: ct_lab@mail.ru
ORCID: http://orcid.org/0000-0003-2346-6279

*** Автор, ответственный за переписку**
Поступила: 03.02.2021
Принята в печать: 15.06.2021

Vera V. Sergeevicheva, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Haematology with Bone Marrow Transplantation Unit, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology,
e-mail: verden@bk.ru
ORCID: http://orcid.org/0000-0003-1951-2260

Svetlana A. Sizikova, Cand. Sci. (Med.), Physician (haematology), Department of Haematology with Bone Marrow Transplantation Unit, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology,
e-mail: svetlana_sizikova@mail.ru
ORCID:http://orcid.org/0000-0001-7109-3839

Galina Yu. Ushakova, Cand. Sci. (Med.), Physician (haematology), Department of Haematology with Bone Marrow Transplantation Unit, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology,
e-mail: bmt-novosibirsk@mail.ru
ORCID: http://orcid.org/0000-0003-1822-6326

Andrey V. Gilevich, Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Resuscitation and Intensive Care, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology,
e-mail: agilevich@bk.ru
ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0792-3110.

Ekaterina Ya. Shevela, Dr. Sci. (Med.), Leading Researcher, Laboratory of Cell Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology,
e-mail: shevelak@mail.ru
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8997-3586

Alexander A. Ostanin, Dr. Sci. (Med.), Professor, Chief Researcher, Laboratory of Cell Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology,
e-mail: ostanin62@mail.ru
ORCID: http://orcid.org/0000-0001-6895-938X

Elena R. Chernykh, Dr. Sci. (Med.), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Cell Immunotherapy, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology,
e-mail: ct_lab@mail.ru
ORCID: http://orcid.org/0000-0003-2346-6279

*** Corresponding author**
Received 03.02.2021
Accepted 15.06.2021