

УДК 567.08

**С.В. Сазонов<sup>1,2</sup>, Ф.А. Фадеев<sup>1,2</sup>, А.Д. Никанорова<sup>2</sup>, А.В. Замятин<sup>3</sup>****ЗАВИСИМОСТЬ ЭКСПРЕССИИ ДЕНДРИТНЫМИ КЛЕТКАМИ РЕЦЕПТОРА CCR7 ОТ СПОСОБА СТИМУЛЯЦИИ СОЗРЕВАНИЯ**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, г. Екатеринбург, Российская Федерация;

<sup>2</sup> ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий», г. Екатеринбург,  
Российская Федерация;

<sup>3</sup> ГАУЗ СО «Свердловский областной онкологический диспансер»,  
г. Екатеринбург, Российская Федерация

**Резюме.** Дендритные клетки (ДК), сенсibilизированные опухолеассоциированными антигенами, рассматриваются как перспективное средство для терапии онкологических заболеваний. Рецептор CCR7 играет ключевую роль в миграции ДК в лимфоузлы и в инициации ими противоопухолевого иммунного ответа.

**Целью** работы являлось исследование влияния различных способов стимуляции созревания ДК на уровень экспрессии ими CCR7.

**Материалы и методы.** ДК были получены из моноцитов периферической крови в среде с GM-CSF и IL-4. Для стимуляции созревания использовали 5 различных смесей. Уровень экспрессии CCR7 и иных рецепторов оценивали с помощью проточной цитофлуориметрии.

**Результаты и обсуждение.** Наиболее высокий уровень экспрессии данного рецептора наблюдался при использовании «цитокинового коктейля» (TNF+IL-1+IL-6+PGE2) или poly I:C для стимуляции созревания. В то же время не исключается возможность иммуносупрессивного эффекта PGE2 и poly I:C, что требует проведения дополнительных исследований функциональной активности ДК после стимуляции созревания.

**Ключевые слова:** дендритные клетки, рецептор CCR7, стимуляция созревания

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Фадеев Федор Алексеевич

fdf79@mail.ru

Дата поступления 21.02.2022 г.

Образец цитирования:

Сазонов С.В., Фадеев Ф.А., Никанорова А.Д., Замятин А.В. Зависимость экспрессии дендритными клетками рецептора CCR7 от способа стимуляции созревания. [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2022, Том 19, №1, с. 14–22, DOI: 10.22138/2500-0918-2022-19-1-14-22

**Введение**

Иммунотерапия является одним из перспективных и динамично развивающихся современных направлений в лечении онкологических заболеваний. Данный способ лечения, в отличие от традиционных методов химиотерапии, у которых есть побочный эффект в виде иммуносупрессии, направлена на стимуляцию у пациента противоопухолевого иммунного ответа. Применение препаратов на основе аутогенных ДК пациента («дендритноклеточных вакцин») рассматривается как перспективный способ противоопухолевой иммунотерапии. Дендритноклеточные вакцины не являются токсичными и оказывают минимальный негативный побочный эффект [1]. Иммунотерапия ДК применяется для лечения онкологических заболеваний в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова (Санкт-Петербург). Применяемая там методика также была внедрена в ГАУЗ СО «Свердловский

областной онкологический диспансер» [2].

Основной функцией ДК является поглощение и презентация антигена Т-лимфоцитам, что делает их ключевым звеном в активации адаптивного иммунного ответа. Помимо этого, ДК являются источником костимулирующих сигналов для активации иммунного ответа за счет как прямого лиганд-рецепторного взаимодействия с клетками иммунной системы, так и секретируемых ими цитокинов. Для дендритноклеточной терапии могут использоваться клетки из различных источников, в частности ДК, выделяемые из мононуклеарной фракции периферической крови. Недостатком такого метода является очень небольшое количество выделяемых ДК, доля которых среди мононуклеарных клеток (МНК) составляет около 1%. Также ДК могут быть получены путем искусственно стимулированной дифференцировки из моноцитов периферической крови пациента или из гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) костного мозга. Искусственная дифференцировка позволяет получить существенно большие объемы клеточного материала, например, из моноцитов 100 мл периферической крови обычно удается получить 10-25 млн дендритных клеток. Помимо этого, рецепторный пейзаж таких искусственно получаемых дендритных клеток в значительной мере зависит от технологии дифференцировки.

Тем не менее, использование аутогенных дендритных клеток, сенсibilизированных опухолеассоциированными антигенами, в качестве средства иммунотерапии онкологических заболеваний зачастую дает ограниченный клинический эффект. Снижение эффективности дендритноклеточной терапии обусловлено целым рядом факторов, к числу которых относят уменьшение экспрессии опухолевыми клетками антигенов, используемых для сенсibilизации дендритных клеток, толерогенный эффект опухоли, а также с низкий уровень экспрессии опухолевыми клетками рецепторов МНС [3]. Помимо этого, функциональная активность вводимых ДК зависит от их способности мигрировать в периферические лимфоузлы для вступления в контакт с Т-лимфоцитами [4].

Считается, что ключевую роль в миграции дендритных клеток играет рецептор CCR7. В частности, показано, что ДК, не экспрессирующие данный рецептор, достигают лимфоузлов гораздо хуже, чем ДК «дикого типа» [5]. Лигандом CCR7 является хемокин CCL21, связывание которого с данным рецептором стимулирует миграцию ДК в лимфоузлы [6].

В связи с вышеизложенным, целью данной работы являлась сравнительная оценка уровня экспрессии рецептора CCR7 на ДК, полученных из моноцитов периферической крови, при использовании различных способов стимуляции их созревания.

## Материалы и методы

Получение ДК из моноцитов периферической крови донора путем цитокиновой стимуляции осуществляли по модифицированной методике, используемой в НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова [7]. Кровь в объеме 100 мл брали после получения от донора информированного согласия. Из крови выделяли фракцию МНК методом центрифугирования на градиенте плотности с использованием раствора «Lympholyte-N» (Cedarlane). Полученные МНК отмывали, рассаживали в культуральные флаконы T175 Nunc и переносили в CO<sub>2</sub>-инкубатор. Через 2 часа несвязавшиеся с пластиком лимфоциты удаляли отмыванием, а адгезированные на поверхности пластика моноциты заливали дифференцировочной средой AIM-V (ThermoFisher Scientific) с добавлением GM-CSF и ИЛ-4. Дифференцировка моноцитов в ДК происходила в течение 7 суток в CO<sub>2</sub>-инкубаторе (37°C, 5% CO<sub>2</sub>).

Полученные незрелые ДК снимали с пластика раствором TrypLE с 0,25% ЭДТА (ThermoFisher Scientific), ресуспендировали в дифференцировочной среде AIM-V с добавлением GM-CSF и ИЛ-4 и рассаживали в 24-луночные культуральные планшеты (Eppendorf) с плотностью посева 100 тыс. клеток/см<sup>2</sup>. В лунки также вносили соответствующие компоненты для стимуляции созревания ДК. Планшеты инкубировали в CO<sub>2</sub>-инкубаторе в течение 3 суток, в течение которых происходило созревание ДК.

После завершения инкубации открепившиеся от пластика ДК переносили в центрифужные пробирки. Оставшиеся на поверхности пластика клетки снимали раствором TrypLE с 0,25% ЭДТА и переносили в соответствующие пробирки с неадгезивными клетками. Клетки осаждали центрифугированием, отмывали PBS и окрашивали антителами для проточной цитофлуориметрии [8].

Для окрашивания клеток использовали следующие антитела и красители (производство Biolegend):

- анти-CD14-APC
- анти-CD11c-APC-Cy7
- анти-HLA-DR-PB
- анти-CCR7-PE
- анти-CD86-PC5.5
- анти-CD83-PC5.5
- Zombie Aqua (окрашивание на жизнеспособность).

Стимуляцию созревания ДК осуществляли с использованием следующих компонентов:

- без стимуляции созревания (контроль)
- TNF
- цитокиновый коктейль: TNF + IL-1 $\beta$  + IL-6 + простагландин E2 (PGE2)
- poly I:C
- цитокиновый коктейль + poly I:C
- липополисахарид (ЛПС).

Окрашивание производили в соответствии с инструкциями производителя. Оценку уровня флуоресценции окрашенных клеток осуществляли с помощью проточного цитофлуориметра Navios 10 (Beckman Coulter). Анализ полученных данных осуществляли с помощью программного обеспечения проточного цитофлуориметра. Первичное гейтирование ДК осуществляли по параметрам прямого и бокового светорассеяния, из полученной фракции для дальнейшего анализа выделяли жизнеспособные клетки (ZA-), экспрессирующие рецептор CD11c. Уровень экспрессии CCR7 оценивали по доле CCR7+ ДК, а также по их средней интенсивности флуоресценции.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета «Statistica 6.0». Для оценки достоверности различий между группами использовали непараметрический критерий Манна-Уитни (двусторонний вариант), при уровне значимости  $p=0,05$ .

### Результаты и их обсуждение

Результаты оценки уровня экспрессии рецептора CCR7 (по доле CCR7+ клеток и по среднему уровню флуоресценции меченных антителами клеток) представлены на рисунке.

В контроле, не подвергнувшись стимуляции созревания, доля CCR7+ клеток была незначительной (менее 15%). При использовании ЛПС как доля CCR7+, так и средний уровень флуоресценции, достоверно не отличались от контрольных ( $p>0,05$ ). В среде с добавлением TNF доля CCR7+ клеток составила почти 30%, уровень флуоресценции был также выше контрольного. Максимальный уровень экспрессии данного рецептора был достигнут при стимуляции цитокиновым коктейлем и, в меньшей степени, polyI:C (доля CCR7+ клеток составила 73,4% и 71,8%, соответственно). В то же время, при сочетании коктейля с polyI:C доля CCR7+ ДК была низкой и достоверно не отличалась от контрольной, уровень флуоресценции также не превышал контрольный (рисунок).

Этап созревания дендритных клеток является крайне важным для определения их функциональной активности и, в частности, способности к привлечению Т-лимфоцитов, презентации им антигенов и к активации их пролиферации и дифференцировки. Стимуляция созревания ДК *in vitro* чаще всего осуществляется с использованием цитокинов (в том числе их смесей) или лигандов для Toll-подобных рецепторов (TLRs). В данной работе нами была проведена оценка влияния состава смесей для стимуляции созревания ДК на экспрессию ими рецептора CCR7, играющего ключевую роль в миграции ДК в лимфоузлы.

Чаще всего для дифференцировки используют TNF $\alpha$  или цитокиновый коктейль на его основе, включающий в себя также IL-6, IL-1 $\beta$  и PGE2 [9]. В данной работе нами было показано, что, как TNF $\alpha$ , так и цитокиновый коктейль, стимулируют созревание ДК, о чем свидетельствует значительное повышение уровня экспрессии рецепторов CD86, CD83, HLA-DR по сравнению с незрелыми клетками (данные не представлены). Тем не менее, при использовании коктейля доля клеток, экспрессирующих CCR7, была более чем в 2 раза выше, чем при использовании только TNF $\alpha$ . По данным литературы, содержащийся в коктейле PGE2 усиливает стимулирующий эффект TNF $\alpha$  и одновременно значительно увеличивает уровень экспрессии ДК рецептора CCR7 [10].

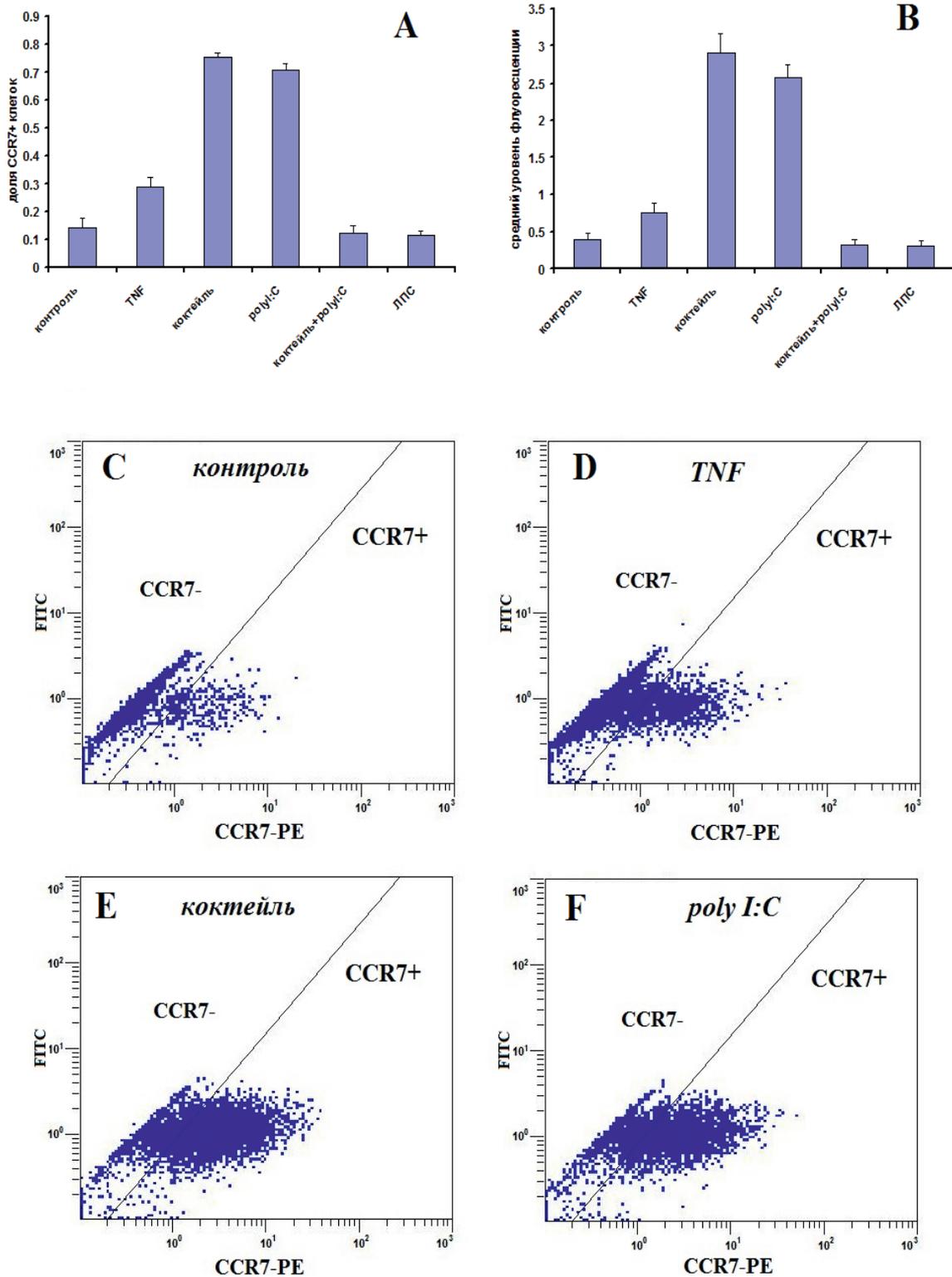


Рис. Экспрессия ДК рецептора CCR7 при использовании различных способов стимуляции созревания. А: доля CCR7+ клеток. В: средний уровень флуоресценции за вычетом фоновой аутофлуоресценции. Доля CCR7+ клеток и уровень флуоресценции при использовании коктейля + poly I:C и ЛПС не превышают контрольные значения, при использовании TNF, коктейля и poly I:C данные показатели достоверно выше контрольных ( $p < 0,05$ ). С-Ф: репрезентативные результаты цитометрии. Figure. CCR7 expression under different maturation conditions. A: percentage of CCR7+ cells. B: mean fluorescence intensity (MFI) after autofluorescence correction. When using the cocktail + poly I:C and LPS the percentage of CCR7+ cells and MFI did not differ significantly from control; under poly I:C, TNF and cocktail these parameters were significantly higher, than in control ( $p < 0,05$ ). C-F: dot-plot representation of results of flow cytometry.

Также в данной работе для стимуляции созревания ДК был использован poly I:C (полиинозин-овая-полицитидиловая кислота). Poly I:C является лигандом TLR3, выступая в роли структурного аналога PAMP, 2-цепочечной РНК. Взаимодействие TLR3 с лигандом приводит к активации факторов транскрипции NF- $\kappa$ B, IRF3 и AP-1, что, в свою очередь, сопровождается секрецией ДК цитокинов (IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-12) [11]. В нашей работе ДК, полученные путем стимуляции poly I:C, также имели высокий уровень экспрессии CCR7. При этом интересно отметить, что при ДК, для созревания которых использовался цитокиновый коктейль с добавлением poly I:C, имели более низкий уровень экспрессии CCR7.

Еще одним способом стимуляции созревания ДК является воздействие бактериальным ЛПС. Данный компонент так же, как и poly I:C, выступает в роли аналога PAMP и связывается с TLR4. Взаимодействие ЛПС с TLR4 сопровождается каскадом реакций, приводящих к активации NF- $\kappa$ B, что наблюдается также при воздействии на ДК TNF $\alpha$  [12]. Помимо этого, ЛПС инициирует ряд других сигнальных путей (приводящих к активации p38-MAPK, ERK1/2 и JNK), которые влияют на созревание и секреторную активность ДК [13]. В то же время, есть данные, что стимуляция созревания ДК с помощью ЛПС сопровождается активацией генов DUSP-1 и TNFAIP3, что приводит к ингибированию активности NF- $\kappa$ B, p38-MAPK, ERK1/2 и JNK и создает механизм саморегулирования стимулирующей активности ЛПС в отношении ДК [12]. В данной работе стимуляция ЛПС не привела к существенному увеличению экспрессии CCR7.

Таким образом, наиболее высокий уровень экспрессии CCR7 на ДК был отмечен после стимуляции созревания цитокиновым коктейлем и poly I:C. Максимальный уровень экспрессии рецепторов CD86, CD83, HLA-DR, являющихся маркерами созревания, также был выявлен на ДК стимулированных коктейлем и poly I:C (данные не представлены). В то же время, содержащийся в цитокиновом коктейле PGE2 может оказывать ингибирующий эффект на активацию Т-лимфоцитов. Данный медиатор может ингибировать продукцию ДК хемокина CCL19, являющегося аттрактором Т-клеток [10]. Кроме того, PGE2 может стимулировать секрецию ДК индоламин-2,3-диоксигеназы-1 (IDO-1). Данный фермент обладает иммуносупрессивным эффектом и подавляет активацию и пролиферацию Т-клеток, с одной стороны, и стимулирует появление Т-регуляторных клеток, с другой [14, 15]. Также есть данные, что использование poly I:C при определенных обстоятельствах может привести к генерации толергентных ДК с относительно низким уровнем секреции IL-12 и IL-23 и высоким уровнем секреции IL-10 [16]. В связи с этим, оценка функциональной активности ДК при различных способах стимуляции созревания требует, помимо иммунофенотипирования, проведения дополнительных исследований, в частности, оценки их секреторного профиля и способности к активации Т-лимфоцитов.

## Выводы

1) Использование цитокинового коктейля (TNF + IL-1 $\beta$  + IL-6 + PGE2) или poly I:C для стимуляции созревания ДК обеспечивает наиболее высокий уровень экспрессии рецептора CCR7.

2) В то же время требуется проведение дополнительных исследований функциональной активности получаемых ДК для оценки возможного ингибирующего эффекта компонентов используемых смесей для стимуляции созревания на способность ДК активировать Т-клеточный иммунный ответ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Burgdorf, S.K., Fischer, A., Myschetzky, P.S., Munksgaard, S.B., Zocca, M., Claesson, M.H., & Rosenberg, J. Clinical responses in patients with advanced colorectal cancer to a dendritic cell based vaccine // *Oncology Reports*. 2008. V. 20. P. 1305-1311. DOI:10.3892/or\_00000145

2. Елишев В.Г., Микеров И.А., Фадеев Ф.А., Леонтьев С.Л., Бриллиант А.А., Широкова О.Н., Зубарева Н.А., Ковалева Я.В., Емельянов Д.Е., Замятин А.В. Результаты применения противоопухолевых дендритно-клеточных вакцин у больных с метастатическими формами злокачественных новообразований и исчерпанными возможностями стандартной терапии // *Уральский медицинский журнал*, 2020, №2 (185), с. 31-33. DOI 10.25694/URMJ.2020.02.08

3. van Gulijk M., Dammeijer F., Aerts J.G.J.V., Vroman H. Combination Strategies to Optimize Efficacy of Dendritic Cell-Based Immunotherapy // *Front. Immunol.* 2018. V.9. 2759. DOI:10.3389/

fimmu.2018.02759.

4. Nestle, F.O., Farkas, A., Conrad, C. Dendritic-cell-based therapeutic vaccination against cancer // *Curr. Opin. Immunol.* 2005. V.17. P. 163–169. DOI:10.1016/j.coi.2005.02.003.

5. Weber, M., Hauschild, R., Schwarz, J., Moussion, C., de Vries, I., Legler, D.F., et al. Interstitial dendritic cell guidance by haptotactic chemokine gradients // *Science.* 2013. V. 339. P. 328–332. DOI:10.1126/science.1228456

6. Tal, O., Lim, H.Y., Gurevich, I., Milo, I., Shipony, Z., Ng, L.G., et al. DC mobilization from the skin requires docking to immobilized CCL21 on lymphatic endothelium and intralymphatic crawling // *J. Exp. Med.* 2011. V. 208. P. 2141–2153. DOI: 10.1084/jem.20102392.

7. Нехаева, Т.Л. Оптимизация аутологичных дендритно-клеточных вакцин для лечения больных злокачественными новообразованиями // *Сибирский онкологический журнал.* 2013. Т. 3(57). с. 52-56.

8. Фадеев Ф.А., Замятин А.В., Седнева-Луговец Д.В., Микеров И.А., Губаева О.В. Получение дендритных клеток для терапии онкологических заболеваний // *Вестник уральской медицинской академической науки.* 2021. Том 17, № 4. с. 347-353.

9. Chabot, V., Martin, L., Meley, D., Sensebé, L., Baron, C., Lebranchu, Y., Dehaut, F., Velge-Roussel, F. Unexpected impairment of TNF- $\alpha$ -induced maturation of human dendritic cells in vitro by IL-4 // *Journal of translational medicine.* 2016. V. 14:93. DOI: 10.1186/s12967-016-0848-2

10. Muthuswamy, R., Mueller-Berghaus, J., Haberkorn, U., Reinhart, T. A., Schadendorf, D., & Kalinski, P. PGE(2) transiently enhances DC expression of CCR7 but inhibits the ability of DCs to produce CCL19 and attract naive T cells // *Blood.* 2010. V. 116(9). P. 1454–1459. DOI: 10.1182/blood-2009-12-258038

11. Matsumoto, M., Takeda, Y., Tatematsu, M., & Seya, T. Toll-Like Receptor 3 Signal in Dendritic Cells Benefits Cancer Immunotherapy // *Frontiers in immunology.* V. 2017. V. 8: 1897. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01897

12. Castiello, L., Sabatino, M., Jin, P., Clayberger, C., Marincola, F. M., Krensky, A. M., & Stronck, D. F. Monocyte-derived DC maturation strategies and related pathways: a transcriptional view // *Cancer immunology, immunotherapy.* 2011. V.60(4). P. 457–466. DOI: 10.1007/s00262-010-0954-6

13. Nakahara, T., Uchi, H., Urabe, K., Chen, Q., Furue, M., & Moroi, Y. Role of c-Jun N-terminal kinase on lipopolysaccharide induced maturation of human monocyte-derived dendritic cells // *International immunology.* 2004. V. 16(12). P. 1701–1709. DOI:10.1093/intimm/dxh171

14. Trabanelli, S., Lecciso, M., Salvestrini, V., Cavo, M., Očadlíková, D., Lemoli, R. M., & Curti, A. PGE2-induced IDO1 inhibits the capacity of fully mature DCs to elicit an in vitro antileukemic immune response // *Journal of immunology research.* V. 2015: 253191. DOI:10.1155/2015/253191

15. Krause, P., Singer, E., Darley, P. I., Klebensberger, J., Groettrup, M., & Legler, D. F. Prostaglandin E2 is a key factor for monocyte-derived dendritic cell maturation: enhanced T cell stimulatory capacity despite IDO // *Journal of leukocyte biology.* 2007. V. 82(5). P. 1106–1114. DOI:10.1189/jlb.0905519

16. Pavlović, B., Tomić, S., Đokić, J., Vasiljić, S., Vučević, D., Lukić, J., Gruden-Movsesijan, A., Pić, N., Marković, M., & Čolić, M. Fast dendritic cells matured with Poly (I:C) may acquire tolerogenic properties // *Cytotherapy.* 2015. V. 17(12). P. 1763–1776. DOI: 10.1016/j.jcyt.2015.08.001

#### Авторы

Сазонов Сергей Владимирович

ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»

Доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой гистологии

Российская Федерация, 620028, Екатеринбург, ул. Репина, д. 3

prof-ssazonov@yandex.ru

Фадеев Федор Алексеевич

ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»

Кандидат биологических наук, доцент

Заведующий лабораторией

Российская Федерация, 620026, Екатеринбург, ул. Карла Маркса, д. 22 а

fdf79@mail.ru

Никанорова Анастасия Дмитриевна  
ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий»  
Лаборант-исследователь  
Российская Федерация, 620026, Екатеринбург, ул. Карла Маркса, д. 22 а  
anastasia.nikanorova@yandex.ru

Замятин Александр Викторович  
ГАУЗ СО «Свердловский областной онкологический диспансер»  
Кандидат медицинских наук, врач-онколог, заведующий отделением персонализированной терапии  
Российская Федерация, 620036, Екатеринбург, ул. Соболева, д. 29  
zamyatin.av@gmail.com.

*S.V. Sazonov<sup>1,2</sup>, F.A. Fadeyev<sup>1,2</sup>, A.D. Nikanorova<sup>2</sup>, A.V. Zamyatin<sup>3</sup>*

## THE DEPENDENCE OF THE EXPRESSION OF CCR7 BY MONOCYTE-DERIVED DENDRITIC CELLS ON THE MATURATION COMPOUND

<sup>1</sup> Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russian Federation;

<sup>2</sup> Institute of Medical Cell Technologies, Yekaterinburg, Russian Federation;

<sup>3</sup> Sverdlovsk Regional Oncological Dispensary, Yekaterinburg, Russian Federation

**Abstract.** Dendritic cells (DCs), loaded with tumor antigens, are widely investigated as a potential therapeutic tool for cancer treatment. CCR7 plays the key role in DCs migration to lymph nodes for the anti-tumor immune response activation.

**The purpose** of this study was to investigate the effect of different compositions for DC maturation on the CCR7 expression.

**Materials and methods.** DCs were derived from peripheral blood monocytes in medium supplemented with GM-CSF and IL-4. Five different compounds were used for stimulation of DCs maturation. The expression of CCR7 was evaluated by flow cytometry.

**Results and discussion.** The highest level of CCR7 expression was seen when the “cytokine cocktail” (TNF+IL-1+IL-6+PGE2) or the poly I:C were used for the stimulation of cell maturation. At the same time, the immunosuppressive effect of PGE2 and poly I:C cannot be excluded. Therefore, additional investigations of functionality of DCs after induced maturation are required.

**Keywords:** dendritic cells, CCR7 expression, stimulation of maturation

There is no conflict of interest.

Contact details of the corresponding author:

Fedor A. Fadeyev

fdf79@mail.ru

Received 13.02.2021

For citation:

Sazonov S.V., Fadeyev F.A., Nikanorova A.D., Zamyatin A.V. The dependence of the expression of CCR7 by monocyte-derived dendritic cells on the maturation compound. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2022, Vol. 19, no. 1, pp. 14–22. DOI: 10.22138/2500-0918-2022-19-1-14-22 (In Russ)

### REFERENCES

1. Burgdorf, S.K., Fischer, A., Myschetzky, P.S., Munksgaard, S.B., Zocca, M., Claesson, M.H., & Rosenberg, J. Clinical responses in patients with advanced colorectal cancer to a dendritic cell based

- vaccine. *Oncology Reports*. 2008. Vol. 20. pp. 1305-1311. DOI:10.3892/or\_00000145
2. Elishev V.G., Mikerov I.A., Fadeev F.A., Leontiev S.L., Brilliant A.A., Shirokova O.N., Zubareva N.A., Kovaleva I.B., Emelyanov D.E., Zamyatin A.V. The results of antitumor dendritic cell vaccines use in patients with metastatic forms of malignant neoplasms and exhausted possibilities of standard therapy. *Ural Medical Journal*. 2020. Vol. 2 (185). pp. 31-33. DOI 10.25694/URMJ.2020.02.08
3. van Gulijk M., Dammeijer F., Aerts J.G.J.V., Vroman H. Combination Strategies to Optimize Efficacy of Dendritic Cell-Based Immunotherapy. *Front. Immunol.* 2018. Vol. 9. 2759. DOI:10.3389/fimmu.2018.02759.
4. Nestle, F.O., Farkas, A., Conrad, C. Dendritic-cell-based therapeutic vaccination against cancer. *Curr. Opin. Immunol.* 2005. Vol. 17. pp. 163–169. DOI:10.1016/j.coi.2005.02.003.
5. Weber, M., Hauschild, R., Schwarz, J., Moussion, C., de Vries, I., Legler, D.F., et al. Interstitial dendritic cell guidance by haptotactic chemokine gradients. *Science*. 2013. Vol. 339. pp. 328–332. DOI:10.1126/science.1228456
6. Tal, O., Lim, H.Y., Gurevich, I., Milo, I., Shipony, Z., Ng, L.G., et al. DC mobilization from the skin requires docking to immobilized CCL21 on lymphatic endothelium and intralymphatic crawling. *J. Exp. Med.* 2011. Vol. 208. pp. 2141–2153. DOI: 10.1084/jem.20102392.
7. Nehaeva, T.L. Autologous Dendritic Cell Vaccine Optimization for Therapy of Patients with Disseminated Malignant Neoplasms. *Siberian journal of oncology*. 2013;(3): 52-56. (In Russ.)
8. Fadeyev F.A., Zamyatin A.V., Sedneva-Lugovets D.V., Mikerov I.A., Gubaeva O.V. Generation of dendritic cells for cancer therapy. *Journal of Ural Medical Academic Science*. 2020. Vol. 7, No. 4. pp. 347-353.
9. Chabot, V., Martin, L., Meley, D., Sensebé, L., Baron, C., Lebranchu, Y., Dehaut, F., Velge-Roussel, F. Unexpected impairment of TNF- $\alpha$ -induced maturation of human dendritic cells in vitro by IL-4. *Journal of translational medicine*. 2016. Vol. 14:93. DOI: 10.1186/s12967-016-0848-2
10. Muthuswamy, R., Mueller-Berghaus, J., Haberkorn, U., Reinhart, T. A., Schadendorf, D., & Kalinski, P. PGE(2) transiently enhances DC expression of CCR7 but inhibits the ability of DCs to produce CCL19 and attract naive T cells // *Blood*. 2010. V. 116(9). P. 1454–1459. DOI: 10.1182/blood-2009-12-258038
11. Matsumoto, M., Takeda, Y., Tatematsu, M., & Seya, T. Toll-Like Receptor 3 Signal in Dendritic Cells Benefits Cancer Immunotherapy. *Frontiers in immunology*. Vol. 2017. Vol. 8: 1897. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01897
12. Castiello, L., Sabatino, M., Jin, P., Clayberger, C., Marincola, F. M., Krensky, A. M., & Stronck, D. F. Monocyte-derived DC maturation strategies and related pathways: a transcriptional view. *Cancer immunology, immunotherapy*. 2011. Vol. 60(4). pp. 457–466. DOI: 10.1007/s00262-010-0954-6
13. Nakahara, T., Uchi, H., Urabe, K., Chen, Q., Furue, M., & Moroi, Y. Role of c-Jun N-terminal kinase on lipopolysaccharide induced maturation of human monocyte-derived dendritic cells. *International immunology*. 2004. Vol. 16 (12). pp. 1701–1709. DOI:10.1093/intimm/dxh171
14. Trabanelli, S., Lecciso, M., Salvestrini, V., Cavo, M., Očadlíková, D., Lemoli, R. M., & Curti, A. PGE2-induced IDO1 inhibits the capacity of fully mature DCs to elicit an in vitro antileukemic immune response. *Journal of immunology research*. Vol. 2015: 253191. DOI:10.1155/2015/253191
15. Krause, P., Singer, E., Darley, P. I., Klebensberger, J., Groettrup, M., & Legler, D. F. Prostaglandin E2 is a key factor for monocyte-derived dendritic cell maturation: enhanced T cell stimulatory capacity despite IDO. *Journal of leukocyte biology*. 2007. Vol. 82 (5). pp. 1106–1114. DOI:10.1189/jlb.0905519
16. Pavlović, B., Tomić, S., Đokić, J., Vasilijić, S., Vučević, D., Lukić, J., Gruden-Movsesijan, A., Ilić, N., Marković, M., & Čolić, M. Fast dendritic cells matured with Poly (I:C) may acquire tolerogenic properties. *Cytotherapy*. 2015. Vol. 17 (12). pp. 1763–1776. DOI: 10.1016/j.jcyt.2015.08.001

#### Authors

Sergey V. Sazonov

Ural State Medical University, Department of Histology, Cytology and Embryology

Institute of Medical Cell Technologies, Deputy Chief Physician for Science

MD, professor, chief of the department

Russian Federation, 620028, Yekaterinburg, Repin str., 3

prof-ssazonov@yandex.ru

Fedor A. Fadeyev  
Institute of Medical Cell Technologies  
Candidate of biological sciences, docent.  
Chief of laboratory.  
Russian Federation, 620026, Ekaterinburg, 22A Karl Marx str  
fdf79@mail.ru

Anastasia D. Nikanorova  
Institute of Medical Cell Technologies  
Technician  
Russian Federation 620026, Ekaterinburg, 22A Karl Marx str.  
anastasia.nikanorova@yandex.ru.

Aleksandr V. Zamyatin  
Sverdlovsk Regional Oncological Dispensary  
Candidate of medical sciences  
Oncologist, Chief of the personalized therapy department.  
Russian Federation 620036, Ekaterinburg, 29 Sobolev str.  
zamyatin.av@gmail.com.