

**Е.А. Пашкина<sup>1,2</sup>, М.В. Быкова<sup>1</sup>, М.Т. Беришвили<sup>1,2</sup>, Н.В. Пронкина<sup>1</sup>,  
О.Л. Круглеева<sup>2</sup>, В.А. Козлов<sup>1</sup>**

## **СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ CD44 НА МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТКАХ КРОВИ В НОРМЕ И ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ЛИМФОЛЕЙКОЗЕ**

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Российская Федерация;  
<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет»  
Минздрава России, г. Новосибирск, Российская Федерация

**Резюме.** CD44 – трансмембранный гликопротеин, экспрессирующийся в норме на мембранах различных клеток, в том числе лимфоцитов, гранулоцитов, моноцитов и эритроцитов, играющий важную роль в процессах миграции, адгезии и других взаимодействиях. Также CD44 довольно часто встречается на поверхности большого количества опухолевых клеток, включая солидные опухоли, лейкозы и лимфомы. Отмечается положительная корреляция между уровнем экспрессии CD44 на клетках и риском рецидива заболевания, а также неблагоприятным прогнозом при большинстве гематологических злокачественных новообразований. **Цель исследования:** провести оценку экспрессии CD44 на различных популяциях мононуклеарных клеток крови у условно здоровых доноров и пациентов с хроническим лимфолейкозом. **Материалы и методы.** В качестве материала исследования выбрана венозная кровь условно здоровых доноров и пациентов с хроническим лимфолейкозом. Мононуклеарные клетки периферической крови выделялись стандартным методом в градиенте плотности фиколл-урографина. Сравнительная оценка экспрессии CD44 различными субпопуляциями мононуклеарных клеток крови у доноров и пациентов с хроническим лимфолейкозом проводилась методом проточной цитометрии. **Результаты исследования** показали, что уровень экспрессии CD44 на различных субпопуляциях мононуклеарных клеток может значительно варьировать как у доноров, так и у больных хроническим лимфолейкозом, при этом на Т-хелперах больных уровень экспрессии был высоким, в то время как на В-лимфоцитах и моноцитах – снижен в сравнении со значениями у доноров.

**Ключевые слова:** хронический лимфолейкоз, мононуклеарные клетки периферической крови, лимфоциты, CD44, гиалуроновая кислота

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Пашкина Екатерина Александровна

epashkina@niikim.ru

Дата поступления: 01.09.2024

Образец цитирования: Пашкина Е.А., Быкова М.В., Беришвили М.Т., Пронкина Н.В., Круглеева О.Л., Козлов В.А. Сравнительная оценка экспрессии CD44 на мононуклеарных клетках крови в норме и при хроническом лимфолейкозе. [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2024, Том 21, № 3, с. 276–284, DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-3-276-284

### **Введение**

В настоящее время считается, что CD44 – это мембранный рецептор, ответственный за процессы миграции и клеточной адгезии, включая лимфопоз, ангиогенез, заживление ран, экстравазацию лейкоцитов в очаг воспаления и метастазирование опухолевых клеток [1-3]. Основным лигандом для CD44 служит гиалуроновая кислота (ГК), однако также возможно взаимодействие с рядом других

молекул, таких как остеопонтин, интегрины, E-селектин, фибронектин, коллаген [4, 5]. Специфичность связывания CD44 с различными молекулами зависит от изоформы данной молекулы, а также меняется в процессе посттрансляционной модификации [6].

Для лимфоцитов данный белок важен в осуществлении хоминга, поэтому он экспрессируется на ранних стадиях развития в центральных органах иммунной системы и на зрелых клетках. В случае В-лимфоцитов экспрессия CD44 наблюдается на раннем этапе развития на стадии преВ-клеток, затем экспрессия данного белка прекращается, возобновляясь лишь по окончании созревания в костном мозге [7, 8].

Для Т-лимфоцитов экспрессия CD44 является одним из важнейших маркеров дифференцировки в тимусе на самых ранних стадиях DN (DN1 CD44+CD25- и DN2 CD44+CD25+) [9]. Наивные Т-лимфоциты, вышедшие из тимуса, обладают фенотипом CD44<sup>low</sup>, а после контакта с антигеном уровень экспрессии возрастает и клетки приобретают фенотип CD44<sup>hi</sup> [10].

На зрелых лимфоцитах связывание CD44 с ГК необходимо для осуществления роллинга, экстравазации и миграции в очаг воспаления [11, 12]. Интересно, что нейтрофилам для аналогичных процессов также нужна молекула CD44, но взаимодействие происходит не с ГК, а с E-селектином [13]. Помимо нейтрофилов, Т-лимфоциты также могут использовать взаимодействие CD44 с E-селектином для роллинга *in vivo*, причем этот процесс также не зависит от взаимодействия CD44–ГК [14]. Также имеются данные, что CD44 вовлечен в процесс регуляции иммунного ответа и участвует в апоптозе Т-клеток, определяя клональную экспансию [15]. Показано, что различные популяции Т-хелперов могут обладать различным уровнем экспрессии CD44, и в случае Th17 он выше, чем в случае Th1, при этом блокировка CD44 приводит к снижению продукции IL-17 [16].

Благодаря взаимодействию с ГК, CD44 определяет различные биологические функции макрофагов, такие как адгезия к внеклеточному матриксу, фагоцитоз, миграция к очагу воспаления и секреция цитокинов [17]. Однако CD44 в свежеизолированных моноцитах периферической крови находится в состоянии покоя и не обладает способностью связывать ГК, пока клетки не дифференцируются в зрелые макрофаги [17, 18]. В случае альвеолярных макрофагов CD44 способствует выживаемости клеток благодаря участию в формировании оболочки из ГК [19].

В связи с особой ролью в миграции клеток, а также благодаря ряду других функций, CD44 важен не только в норме, но и при онкопатологии. На опухолевых клетках экспрессия CD44 вносит значительный вклад в активацию роста: пролиферацию клеток, метастазирование, инвазию, миграцию, формирование и поддержание пула опухолевых стволовых клеток [20]. Повышенный уровень экспрессии CD44 отмечается как в случае солидных опухолей, так и при гемобластозах.

Экспрессия CD44, рецептора для гиалуроновой кислоты, обнаружена при многих гемобластозах, кроме того, отмечается положительная корреляция между уровнем экспрессии CD44 и риском рецидива, а также негативным прогнозом при большинстве гематологических злокачественных новообразований [21–23].

Ранее в модели хронического миелоидного лейкоза было показано, что связывание CD44 с ГК необходимо для развития заболевания у мышей при введении опухолевых клеток [24]. Предположительно, блокада данного взаимодействия является перспективной при проведении аутологичной трансплантации для предотвращения рецидива заболевания. Известно, что клетки хронического лимфоцитарного лейкоза (ХЛЛ) экспрессируют высокие уровни CD44, уровень экспрессии ассоциируется с тяжестью заболевания [25]. Моноклональное антитело, специфичное для CD44, приводило к гибели В-клеток пациентов с лейкозом, но оказывало незначительное влияние на нормальные В-клетки [25]. Тем не менее, в данном исследовании не оценивалось действие антитела на другие популяции клеток. Следовательно, CD44 является перспективной мишенью для осуществления таргетной терапии, однако в связи с разнообразием функций данной молекулы, необходимо дальнейшее изучение роли CD44 как в норме, так и при патологии.

**Цель:** провести сравнительный анализ экспрессии CD44 на различных популяциях мононуклеарных клеток крови у условно здоровых доноров и пациентов с хроническим лимфолейкозом.

### Материалы и методы

Образцы венозной крови были получены от 5 условно здоровых доноров и 6 пациентов с хроническим лимфолейкозом (ХЛЛ), наблюдаемых амбулаторно в клинике иммунопатологии НИИФКИ.

У всех исследуемых была взята кровь из кубитальной вены в одноразовые полипропиленовые пробирки с литий-гепарином (Sarstedt, Германия) в объеме 9 мл.

От всех доноров и пациентов было получено информированное письменное согласие.

Мононуклеарные клетки периферической крови (МНК ПК) были выделены из образцов крови с использованием стандартного метода: использования градиента плотности фиколла-урографина ( $d=1,077 \text{ г/см}^3$ ). Доля моноклональной популяции опухолевых клеток среди МНК ПК пациентов определялась методом проточной цитометрии и составляла более шестидесяти процентов.

Оценка экспрессии CD44 на различных субпопуляциях МНК ПК проводилась методом проточной цитометрии. Для этого клетки окрашивали моноклональными антителами, мечеными флуорохромами CD44-APC (Elabscience, Китай), а также CD3-FITC, CD4-PE/Cy7, CD19-APC, CD14-PerCP (Biolegend, США). Окрашивание клеток осуществлялось в течение 20 минут в темноте при комнатной температуре, после чего клетки отмывали Stain буфером (фосфатно-солевой буфер PBS, содержащий 0,5% FSC), данные анализировали на проточном цитофлуориметре FACS Canto II (BD Biosciences, США) с использованием программного обеспечения FACSDiva (BD, США). Анализ результатов осуществляли при наличии не менее 10 000 событий в образце.

Статистический анализ проводился при помощи программы GraphPad Prism v.9.3.1 (GraphPad Software, США). Все оцененные признаки проверялись на нормальность распределения данных при помощи критерия Колмогорова-Смирнова. Все экспериментальные данные выражались в виде среднего значения ( $M$ )  $\pm$  стандартная ошибка среднего (SEM). Оценка достоверности различий проводилась с помощью t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Различия считали статистически значимыми при достигнутом уровне  $p < 0,05$ .

## Результаты

В результате проведения исследования нами было показано, что процент мононуклеарных клеток, несущих на своей поверхности маркер CD44, был достаточно высоким и составлял в среднем более 90% среди всех исследуемых популяций клеток как у условно здоровых доноров, так и пациентов с ХЛЛ (Табл. 1.). Достоверных различий между относительным количеством клеток, экспрессирующих CD44, между исследуемыми группами не наблюдалось.

Отдельный интерес представлял анализ средней интенсивности флуоресценции (mean fluorescent intensity, MFI), коррелирующей с плотностью CD44 на поверхности клеток, позволяющий оценить уровень экспрессии данного белка (Табл. 2). Было показано, что на CD4+ Т-хелперах уровень экспрессии CD44 был выше у больных ХЛЛ в сравнении с донорами, а на В-лимфоцитах и моноцитах, напротив, снижен. Достоверных различий между интенсивностью флуоресценции CD44+ цитотоксических Т лимфоцитов у доноров и пациентов с ХЛЛ не наблюдалось.

## Обсуждение

Таким образом, нами было обнаружено, что, несмотря на схожее относительное количество клеток, несущих на своей поверхности CD44, уровень плотности экспрессии данного белка может значительно варьировать у доноров и у пациентов на различных субпопуляциях мононуклеарных клеток периферической крови. Так, на Т-хелперах уровень экспрессии рецептора был высоким, в то время как на В-лимфоцитах и моноцитах – снижен в сравнении с теми же показателями у доноров.

Поскольку, согласно литературным данным, Т-клетки памяти имеют высокий уровень экспрессии CD44 [10], повышение уровня экспрессии данного маркера в нашем исследовании у Т-хелперов, предположительно, свидетельствует об увеличении пула Т-клеток памяти у больных ХЛЛ в сравнении с донорами. Возможно, данное увеличение связано с истощением Т-клеточного пула, наблюдаемого на фоне онкопатологии. В случае моноцитов, наблюдаемое снижение экспрессии у пациентов может быть связано с нарушением созревания моноцитов либо изменением субпопуляционного состава данных клеток.

Таблица 1  
Относительное количество CD44+-клеток среди различных субпопуляций МНК ПК у доноров и пациентов с ХЛЛ  
Table 1  
Relative number of CD44+-cells among different subpopulations of PBMCs in donors and patients with CLL

Группа Group	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> , %	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>-</sup> , %	CD19 <sup>+</sup> , %	CD14 <sup>+</sup> , %
Пациенты с ХЛЛ CLL patients	96,9±1,33	96,1±1,37	92,8±4,99	90,8±6,67
Доноры Donors	97,5±0,63	95,8±1,32	98,2±0,42	99,8±0,16

Примечание: данные представлены в виде среднего значения (M) ± стандартной ошибки среднего (SEM)  
Note: the data is presented as an average value (M) ± standard error of the mean (SEM)

Таблица 2  
Средняя интенсивность флуоресценции CD44+-клеток среди различных субпопуляций мононуклеаров периферической крови у доноров и пациентов с ХЛЛ  
Table 2  
Mean fluorescence intensity CD44+-cells among different subpopulations of PBMCs in donors and patients with CLL

Группа Group	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> , RFU	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>-</sup> , RFU	CD19 <sup>+</sup> , RFU	CD14 <sup>+</sup> , RFU
Пациенты с ХЛЛ CLL patients	19407±1442*	16835±1390	13404±1886*	23159±4415*
Доноры Donors	15997± 493,8	15611±435,4	37177± 3624	40994±2810

Примечание: RFU – относительные флуоресцентные единицы; данные представлены в виде среднего значения (M) ± стандартной ошибки среднего (SEM); \*p<0,05 достоверное различие в сравнении с группой доноров

Note: RLU – relative fluorescent units; the data is presented as an average value (M) ± standard error of the mean (SEM); p<0,05 significant difference compared to donors

Исходя из того, что у пациентов с ХЛЛ преимущественно клетки опухоли, а у доноров – нормальные В-лимфоциты, можно сделать вывод, что плотность экспрессии CD44 на опухолевых клетках ниже, чем на нормальных В-лимфоцитах. Тем не менее, как уже было упомянуто ранее, для связывания с лигандом важен ряд факторов [6], следовательно, наблюдаемое при использовании моноклонального антитела усиление цитотоксичности только по отношению к опухолевым клеткам, а не к В-лимфоцитам здоровых доноров [25] может быть связано с различными изоформами либо посттрансляционной модификацией CD44, что требует дальнейшего изучения.

### Заключение

Таким образом несмотря на то, что относительная доля клеток, несущих на себе CD44, среди различных субпопуляций мононуклеарных клеток крови не отличалась у условно здоровых доноров и пациентов с ХЛЛ, уровень экспрессии данного маркера имел особенности. У пациентов с ХЛЛ в сравнении с донорами экспрессия CD44 была выше на Т-хелперах, снижена – на В-лимфоцитах и моноцитах.

### Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда в рамках научного проекта РНФ №23-25-00375.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Johnson P., Maiti A., Brown K.L., Li, R. A role for the cell adhesion molecule CD44 and sulfation in leukocyte–endothelial cell adhesion during an inflammatory response? *Biochemical Pharmacology*. 2000;

59(5):455–465. doi:10.1016/s0006-2952(99)00266-x.

2. Senbanjo L.T., Chellaiah M.A. CD44: A Multifunctional Cell Surface Adhesion Receptor Is a Regulator of Progression and Metastasis of Cancer Cells. *Front Cell Dev Biol.* 2017; 5:18. doi:10.3389/fcell.2017.00018.

3. Weng X, Maxwell-Warburton S., Hasib A., Ma L., Kang L. The membrane receptor CD44: novel insights into metabolism. *Trends Endocrinol Metab.* 2022; 33(5):318-332. doi:10.1016/j.tem.2022.02.002.

4. Morath, I., Hartmann, T.N., Orian-Rousseau V. CD44: More than a mere stem cell marker. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* 2016; 81:166–173. doi:10.1016/j.biocel.2016.09.009.

5. Li L., Ding Q., Zhou J., Wu Y., Zhang M., Guo X., Long M., Lü S. Distinct binding kinetics of E-, P- and L-selectins to CD44. *FEBS J.* 2022; 289(10):2877-2894. doi:10.1111/febs.16303.

6. Sackstein R. The biology of CD44 and HCELL in hematopoiesis: the ‘step 2-bypass pathway’ and other emerging perspectives. *Curr Opin Hematol.* 2011; 18(4):239-48. doi:10.1097/MOH.0b013e3283476140.

7. Vaskova M., Fronkova E., Starkova J., Kalina T., Mejstrikova E., Hrusak O. CD44 and CD27 delineate B-precursor stages with different recombination status and with an uneven distribution in nonmalignant and malignant hematopoiesis. *Tissue Antigens.* 2008; 71(1):57-66. doi:10.1111/j.1399-0039.2007.00968.x.

8. Laidlaw B.J., Cyster J.G. Transcriptional regulation of memory B cell differentiation. *Nat Rev Immunol.* 2021; 21:209-220. doi:10.1038/s41577-020-00446-2.

9. Hager-Theodorides A.L., Rowbotham N.J., Outram S.V., Dessens J.T., Crompton T. Beta-selection: abundance of TCRbeta-/gammadelta- CD44- CD25- (DN4) cells in the foetal thymus. *Eur J Immunol.* 2007; 37(2):487-500. doi:10.1002/eji.200636503.

10. Stout R.D., Suttles J. T cells bearing the CD44hi “memory” phenotype display characteristics of activated cells in G1 stage of cell cycle. *Cellular Immunology.* 1992; 141(2):433-443. doi:10.1016/0008-8749(92)90161-h.

11. DeGrendele H.C., Estess P., Picker L.J., Siegelman M.H. CD44 and its ligand hyaluronate mediate rolling under physiologic flow: a novel lymphocyte-endothelial cell primary adhesion pathway. *J Exp Med.* 1996; 183(3):1119-30. doi:10.1084/jem.183.3.1119.

12. DeGrendele H.C., Estess P., Siegelman M.H. Requirement for CD44 in activated T cell extravasation into an inflammatory site. *Science.* 1997; 278(5338):672-5. doi:10.1126/science.278.5338.672.

13. Katayama Y., Hidalgo A., Chang J., Peired A., Frenette P.S. CD44 is a physiological E-selectin ligand on neutrophils. *J Exp Med.* 2005; 201(8):1183-9. doi:10.1084/jem.20042014.

14. DeGrendele H.C., Estess P., Siegelman M.H. Requirement for CD44 in activated T cell extravasation into an inflammatory site. *Science.* 1997; 278(5338):672-5. doi:10.1126/science.278.5338.672.

15. Baaten B.J., Li C.R., Bradley L.M. Multifaceted regulation of T cells by CD44. *Commun Integr Biol.* 2010; 3(6):508-12. doi:10.4161/cib.3.6.13495.

16. Schumann J., Stanko K., Schliesser U., Appelt C., Sawitzki B. Differences in CD44 Surface Expression Levels and Function Discriminates IL-17 and IFN- $\gamma$  Producing Helper T Cells. *PLoS One.* 2015; 10(7):e0132479. doi:10.1371/journal.pone.0132479.

17. Zhang G., Zhang H., Liu Y., He Y., Wang W., Du Y., Yang C., Gao F. CD44 clustering is involved in monocyte differentiation. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2014; 46(7):540-7. doi:10.1093/abbs/gmu042.

18. Levesque M.C., Haynes B.F. In vitro culture of human peripheral blood monocytes induces hyaluronan binding and up-regulates monocyte variant CD44 isoform expression. *J Immunol.* 1996; 156:1557-1565.

19. Dong Y., Poon G.F.T., Arif A.A., Lee-Sayer S.S.M., Dosanjh M., Johnson P. The survival of fetal and bone marrow monocyte-derived alveolar macrophages is promoted by CD44 and its interaction with hyaluronan. *Mucosal Immunol.* 2018; 11(3):601-614. doi:10.1038/mi.2017.83.

20. Hassn Mesrati M., Syafruddin S.E., Mohtar M.A., Syahir A. CD44: A Multifunctional Mediator of Cancer Progression. *Biomolecules.* 2021; 11(12):1850. doi:10.3390/biom11121850.

21. Hertweck M.K., Erdfelder F., Kreuzer K.A. CD44 in hematological neoplasias. *Ann Hematol.* 2011; 90(5):493-508. doi:10.1007/s00277-011-1161-z.

22. Khan N.I., Cisterne A., Devidas M., Shuster J., Hunger S.P., Shaw P.J., Bradstock K.F., Bendall L.J. Expression of CD44, but not CD44v6, predicts relapse in children with B cell progenitor acute lymphoblastic leukemia lacking adverse or favorable genetics. *Leuk Lymphoma.* 2008; 49(4):710-8. doi:10.1080/10428190701861660.

23. Marques L.V.C., Noronha E.P., Andrade F.G., Dos Santos-Bueno F.V., Mansur M.B., Terra-Granado

E., Pombo-de-Oliveira M.S. CD44 Expression Profile Varies According to Maturational Subtypes and Molecular Profiles of Pediatric T-Cell Lymphoblastic Leukemia. *Front Oncol.* 2018; 8:488. doi:10.3389/fonc.2018.00488.

24. Krause D.S., Lazarides K., von Andrian U.H., Van Etten R.A. Requirement for CD44 in homing and engraftment of BCR-ABL-expressing leukemic stem cells. *Nat Med.* 2006; 12(10):1175-80. doi:10.1038/nm1489.

25. Zhang S., Wu C.C., Fecteau J.F., Cui B., Chen L., Zhang L., Wu R., Rassenti L., Lao F., Weigand S., Kipps T.J. Targeting chronic lymphocytic leukemia cells with a humanized monoclonal antibody specific for CD44. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013; 110(15):6127-32. doi:10.1073/pnas.1221841110.

## Авторы

Пашкина Екатерина Александровна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ)

К.б.н., заведующий внебюджетной лабораторией регуляции иммунного ответа

Новосибирск, Российская Федерация

eapashkina@niikim.ru

Быкова Мария Владимировна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ)

Младший научный сотрудник внебюджетной лаборатории регуляции иммунного ответа

Новосибирск, Российская Федерация

maria18021997@mail.ru

Беришвили Мария Теймуразовна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ)

Лаборант-исследователь внебюджетной лаборатории регуляции иммунного ответа

Новосибирск, Российская Федерация

ma.be@bk.ru

Пронкина Наталья Викторовна

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ)

К.м.н., заведующая лабораторией клинической иммунологии Клиники иммунопатологии

Новосибирск, Российская Федерация

pronkinanv@niikim.ru

Круглеева Ольга Леонидовна

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России)

К.м.н., и.о. заведующего кафедрой клинической иммунологии

Новосибирск, Российская Федерация

krugleeva@mail.ru

Козлов Владимир Александрович

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ)

Д.м.н., профессор, академик РАН, научный руководитель НИИФКИ

Новосибирск, Российская Федерация

vakoz40@yandex.ru

*E.A. Pashkina*<sup>1,2</sup>, *M.V. Bykova*<sup>1</sup>, *M.T. Berishvil*<sup>1,2</sup>, *N.V. Pronkina*<sup>1</sup>,  
*O.L. Krugleeva*<sup>2</sup>, *V.A. Kozlov*<sup>1</sup>

## COMPARATIVE ASSESSMENT OF CD44 EXPRESSION ON MONONUCLEAR BLOOD CELLS FROM DONORS AND PATIENTS WITH CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

<sup>1</sup>FSBSI «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology»,  
Novosibirsk, Russian Federation

<sup>2</sup>FSBEI HE «Novosibirsk State Medical University» MON Russia,  
Novosibirsk, Russian Federation

**Abstract.** CD44 is a transmembrane glycoprotein normally expressed on the membranes of various cells, including lymphocytes, granulocytes, monocytes, and erythrocytes, and plays a role in cell interactions, migration, and adhesion. CD44 is also quite common on the surface of many tumor cells, including solid tumors, leukemias, and lymphomas. There is a positive correlation between the level of CD44 expression and the risk of disease relapse, as well as a worse prognosis for most hematological malignancies. **The aim of the study:** to evaluate CD44 expression on various populations of blood mononuclear cells in conditionally healthy donors and patients with chronic lymphocytic leukemia. **Materials and methods.** The study material was venous blood of conditionally healthy donors and patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL). Peripheral blood mononuclear cells were isolated by the standard method in a ficoll-urografen density gradient. Comparative evaluation of CD44 expression by various subpopulations of mononuclear blood cells in donors and patients with CLL was performed using flow cytometry. **The results of the study** showed that the level of CD44 expression can vary significantly in donors and patients on various subpopulations of mononuclear cells. At the same time, on the cells of patients, in the case of T-helpers, the level of expression increased, while on B-lymphocytes and monocytes it decreased compared to the same indicators in donors.

**Keywords:** chronic lymphocytic leukemia, peripheral blood mononuclear cells, lymphocytes, CD44, hyaluronic acid

There is no conflict of interest.

Contact information of the corresponding author:

Ekaterina A. Pashkina

eapashkina@niikim.ru

Received: 01.09.2024

For citation: Pashkina E.A., Bykova M.V., Berishvil M.T., Pronkina N.V., Krugleeva O.L., Kozlov V.A. Comparative assessment of CD44 expression on mononuclear blood cells from donors and patients with chronic lymphocytic leukemia. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2024, Vol. 21, no. 3, pp. 276–284. DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-3-276-284 (In Russ)

### REFERENCES

1. Johnson P., Maiti A., Brown K.L., Li, R. A role for the cell adhesion molecule CD44 and sulfation in leukocyte–endothelial cell adhesion during an inflammatory response? *Biochemical Pharmacology*. 2000; 59(5):455–465. doi:10.1016/s0006-2952(99)00266-x.
2. Senbanjo L.T., Chellaiah M.A. CD44: A Multifunctional Cell Surface Adhesion Receptor Is a Regulator of Progression and Metastasis of Cancer Cells. *Front Cell Dev Biol*. 2017; 5:18. doi:10.3389/fcell.2017.00018.
3. Weng X, Maxwell-Warburton S., Hasib A., Ma L., Kang L. The membrane receptor CD44: novel insights into metabolism. *Trends Endocrinol Metab*. 2022; 33(5):318-332. doi:10.1016/j.tem.2022.02.002.
4. Morath, I., Hartmann, T.N., Orian-Rousseau V. CD44: More than a mere stem cell marker. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2016; 81:166–173. doi:10.1016/j.biocel.2016.09.009.

5. Li L., Ding Q., Zhou J., Wu Y., Zhang M., Guo X., Long M., Lü S. Distinct binding kinetics of E-, P- and L-selectins to CD44. *FEBS J.* 2022; 289(10):2877-2894. doi:10.1111/febs.16303.
6. Sackstein R. The biology of CD44 and HCELL in hematopoiesis: the 'step 2-bypass pathway' and other emerging perspectives. *Curr Opin Hematol.* 2011; 18(4):239-48. doi:10.1097/MOH.0b013e3283476140.
7. Vaskova M., Fronkova E., Starkova J., Kalina T., Mejstrikova E., Hrusak O. CD44 and CD27 delineate B-precursor stages with different recombination status and with an uneven distribution in nonmalignant and malignant hematopoiesis. *Tissue Antigens.* 2008; 71(1):57-66. doi:10.1111/j.1399-0039.2007.00968.x.
8. Laidlaw B.J., Cyster J.G. Transcriptional regulation of memory B cell differentiation. *Nat Rev Immunol.* 2021; 21:209-220. doi:10.1038/s41577-020-00446-2.
9. Hager-Theodorides A.L., Rowbotham N.J., Outram S.V., Dessens J.T., Crompton T. Beta-selection: abundance of TCRbeta-/gammadelta- CD44- CD25- (DN4) cells in the foetal thymus. *Eur J Immunol.* 2007; 37(2):487-500. doi:10.1002/eji.200636503.
10. Stout R.D., Suttles J. T cells bearing the CD44<sup>hi</sup> "memory" phenotype display characteristics of activated cells in G1 stage of cell cycle. *Cellular Immunology.* 1992; 141(2):433-443. doi:10.1016/0008-8749(92)90161-h.
11. DeGrendele H.C., Estess P., Picker L.J., Siegelman M.H. CD44 and its ligand hyaluronate mediate rolling under physiologic flow: a novel lymphocyte-endothelial cell primary adhesion pathway. *J Exp Med.* 1996; 183(3):1119-30. doi:10.1084/jem.183.3.1119.
12. DeGrendele H.C., Estess P., Siegelman M.H. Requirement for CD44 in activated T cell extravasation into an inflammatory site. *Science.* 1997; 278(5338):672-5. doi:10.1126/science.278.5338.672.
13. Katayama Y., Hidalgo A., Chang J., Peired A., Frenette P.S. CD44 is a physiological E-selectin ligand on neutrophils. *J Exp Med.* 2005; 201(8):1183-9. doi:10.1084/jem.20042014.
14. DeGrendele H.C., Estess P., Siegelman M.H. Requirement for CD44 in activated T cell extravasation into an inflammatory site. *Science.* 1997; 278(5338):672-5. doi:10.1126/science.278.5338.672.
15. Baaten B.J., Li C.R., Bradley L.M. Multifaceted regulation of T cells by CD44. *Commun Integr Biol.* 2010; 3(6):508-12. doi:10.4161/cib.3.6.13495.
16. Schumann J., Stanko K., Schliesser U., Appelt C., Sawitzki B. Differences in CD44 Surface Expression Levels and Function Discriminates IL-17 and IFN- $\gamma$  Producing Helper T Cells. *PLoS One.* 2015; 10(7):e0132479. doi:10.1371/journal.pone.0132479.
17. Zhang G., Zhang H., Liu Y., He Y., Wang W., Du Y., Yang C., Gao F. CD44 clustering is involved in monocyte differentiation. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai).* 2014; 46(7):540-7. doi:10.1093/abbs/gmu042.
18. Levesque M.C., Haynes B.F. In vitro culture of human peripheral blood monocytes induces hyaluronan binding and up-regulates monocyte variant CD44 isoform expression. *J Immunol.* 1996; 156:1557-1565.
19. Dong Y., Poon G.F.T., Arif A.A., Lee-Sayer S.S.M., Dosanjh M., Johnson P. The survival of fetal and bone marrow monocyte-derived alveolar macrophages is promoted by CD44 and its interaction with hyaluronan. *Mucosal Immunol.* 2018; 11(3):601-614. doi:10.1038/mi.2017.83.
20. Hassn Mesrati M., Syafruddin S.E., Mohtar M.A., Syahir A. CD44: A Multifunctional Mediator of Cancer Progression. *Biomolecules.* 2021; 11(12):1850. doi:10.3390/biom11121850.
21. Hertweck M.K., Erdfelder F., Kreuzer K.A. CD44 in hematological neoplasias. *Ann Hematol.* 2011; 90(5):493-508. doi:10.1007/s00277-011-1161-z.
22. Khan N.I., Cisterne A., Devidas M., Shuster J., Hunger S.P., Shaw P.J., Bradstock K.F., Bendall L.J. Expression of CD44, but not CD44v6, predicts relapse in children with B cell progenitor acute lymphoblastic leukemia lacking adverse or favorable genetics. *Leuk Lymphoma.* 2008; 49(4):710-8. doi:10.1080/10428190701861660.
23. Marques L.V.C., Noronha E.P., Andrade F.G., Dos Santos-Bueno F.V., Mansur M.B., Terra-Granado E., Pombo-de-Oliveira M.S. CD44 Expression Profile Varies According to Maturational Subtypes and Molecular Profiles of Pediatric T-Cell Lymphoblastic Leukemia. *Front Oncol.* 2018; 8:488. doi:10.3389/fonc.2018.00488.
24. Krause D.S., Lazarides K., von Andrian U.H., Van Etten R.A. Requirement for CD44 in homing and engraftment of BCR-ABL-expressing leukemic stem cells. *Nat Med.* 2006; 12(10):1175-80. doi:10.1038/nm1489.
25. Zhang S., Wu C.C., Fecteau J.F., Cui B., Chen L., Zhang L., Wu R., Rassenti L., Lao F., Weigand S.,



Kipps T.J. Targeting chronic lymphocytic leukemia cells with a humanized monoclonal antibody specific for CD44. Proc Natl Acad Sci USA. 2013; 110(15):6127-32. doi:10.1073/pnas.1221841110.

### **Authors**

Ekaterina A. Pashkina

Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology» (RIFCI)

PhD, Head of the Extra-Budgetary Laboratory of Immune Response Regulation

Novosibirsk, Russian Federation

eapashkina@niikim.ru

Maria V. Bykova

Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology» (RIFCI)

Junior Researcher, Extra-Budgetary Laboratory of Immune Response Regulation

Novosibirsk, Russian Federation

maria18021997@mail.ru

Maria T. Berishvili

Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology» (RIFCI)

Research Assistant, Extra-Budgetary Laboratory of Immune Response Regulation

Novosibirsk, Russian Federation

ma.be@bk.ru

Natalia V. Pronkina

Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology» (RIFCI)

PhD, Head of the Laboratory of Clinical Immunology, Clinic of Immunopathology

Novosibirsk, Russian Federation

pronkinanv@niikim.ru

Olga L. Krugleeva

Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «Novosibirsk State Medical University» of the Ministry of Health of the Russian Federation (FSBEI HE NSMU MON Russia)

PhD, Acting Head of the Department of Clinical Immunology

Novosibirsk, Russian Federation

krugleeva@mail.ru

Vladimir A. Kozlov

Federal State Budgetary Scientific Institution «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology» (RIFCI)

MD, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Scientific Director of the RIFCI

Novosibirsk, Russian Federation

vakoz40@yandex.ru