

**П.В. Васильченко^{1,2}, Е.В. Баторов¹, Т.А. Аристова¹, В.В. Денисова¹,
Д.С. Баторова¹, С.А. Сизикова¹, Г.Ю. Ушакова¹,
А.А. Останин¹, Е.Р. Черных¹**

ЭКСПРЕССИЯ PD-1 И TIM-3 РЕГУЛЯТОРНЫМИ Т-КЛЕТКАМИ И ИНТЕРЛЕЙКИН-10-ПРОДУЦИРУЮЩИМИ CD4⁺ Т-КЛЕТКАМИ У ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ МИЕЛОМОЙ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ АУТОЛОГИЧНЫХ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии», г. Новосибирск, Российская Федерация;

²ФГАОУ ВО «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», г. Новосибирск, Российская Федерация

Резюме. В работе представлен анализ относительного содержания PD-1- и TIM-3-позитивных регуляторных Т-клеток (Treg) и интерлейкин-10(IL-10)-продуцирующих CD4⁺ Т-клеток у пациентов с множественной миеломой. **Цель исследования:** оценить содержание Treg и CD4⁺IL-10⁺ Т-клеток, экспрессирующих чекпоинт рецепторы PD-1, TIM-3 и маркер функциональной активности CD39 у пациентов с множественной миеломой после высокодозной химиотерапии с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток. **Материалы и методы.** В исследование были включены 47 больных с множественной миеломой и 27 сопоставимых здоровых доноров. Содержание популяций CD4⁺CD25^{hi}CD127^{FOXP3}⁺ Treg и IL-10-продуцирующих CD4⁺ Т-клеток, экспрессирующих PD-1 и TIM-3, эктонуклеотидазу CD39, транскрипционные факторы эомезодермин (EOMES) и FOXP3 оценивали в периферической крови методом проточной цитометрии. **Результаты исследования.** Относительное содержание Treg и IL-10-продуцирующих CD4⁺ Т-клеток было выше у больных с множественной миеломой в сравнении с донорами. Количество IL-10-продуцирующих Т-клеток было выше у больных миеломой в сравнении с популяцией Treg у той же когорты пациентов. Доля Treg, экспрессирующих рецепторы PD-1 и TIM-3, у больных с множественной миеломой в ремиссии значимо не отличалась от значений у доноров. После высокодозной химиотерапии с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток возрастало содержание Treg в сравнении со значениями перед высокодозной химиотерапией. Относительное количество CD39⁺ Treg клеток было значимо выше у больных с множественной миеломой в ремиссии в сравнении с донорами. TIM-3⁺ Treg больных множественной миеломой более активированы в сравнении с PD-1⁺ популяцией клеток данных пациентов. После высокодозной химиотерапии с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток функциональная активность Treg значимо возрастала. Установлено, что более 90% IL-10-продуцирующих Т-клеток экспрессируют транскрипционный фактор EOMES.

Ключевые слова: регуляторные Т-клетки, IL-10, PD-1, TIM-3, множественная миелома

Конфликт интересов отсутствует.

Контактная информация автора, ответственного за переписку:

Васильченко Полина Вячеславовна

p.vasilchenko@g.nsu.ru

Дата поступления: 01.09.2024

Образец цитирования: Васильченко П.В., Баторов Е.В., Аристова Т.А., Денисова В.В., Баторова Д.С., Сизикова С.А., Ушакова Г.Ю., Останин А.А., Черных Е.Р. Экспрессия PD-1 и TIM-3 регуляторными Т-клетками и интерлейкин-10-продуцирующими CD4⁺ Т-клетками у пациентов с множествен-

ной миеломой после трансплантации аутологичных гемопоэтических стволовых клеток. [Электронный ресурс] Вестник уральской медицинской академической науки. 2024, Том 21, № 4, с. 422–435, DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-4-422-435

Введение

Множественная миелома (ММ) является одним из злокачественных гематологических заболеваний, при котором происходит поражение В-клеточного звена иммунитета; отличительная черта – неконтролируемая пролиферация мутировавших клональных плазматических клеток в красном костном мозге [1, 2].

Заболевание развивается как моноклональная гаммапатия неопределенного значения вследствие цитогенетических изменений, инициирующих драйверные мутации, позднее эволюционирует в тлеющую (бессимптомную) миелому, прогрессируя в конце до симптоматической миеломы с инфильтрацией костного мозга.

При ММ в избытке синтезируются специфические антитела, которые могут вызывать клинические проявления в виде остеолитических поражений, анемии, гиперкальциемии и почечной недостаточности [3, 4].

В прогрессировании ММ важное значение отводится иммуносупрессивной природе микроокружения костного мозга, которое создает благоприятные условия для пролиферации опухолевого клона [5]. Одним из механизмов ускользания от иммунного надзора является повышение поверхностной экспрессии рецепторов иммунных «контрольных точек» («чекпоинт», *immune checkpoints*), сигналы которых ограничивают функции эффекторных Т-клеток [6]. Иммунные контрольные точки поддерживают аутопереносимость и защищают собственные ткани от избыточной активности иммунной системы. Однако благодаря этому опухолевые клетки ускользают от иммунного ответа и формируют лекарственную устойчивость. Изменения в экспрессии иммунных контрольных точек напрямую связаны с прогнозом и активностью злокачественного процесса [7].

Особая роль в регуляции микроокружения принадлежит экспрессии ингибирующих чекпоинт рецепторов, таких как PD-1 (*programmed cell death protein-1*) и TIM-3 (*T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3*). При взаимодействии данных рецепторов с соответствующими лигандами осуществляется нарушение функции эффекторных Т-клеток [8]. Изменения в соотношении экспрессии чекпоинт рецепторов у больных ММ может лежать в основе высоких рисков рецидивов и неблагоприятного течения заболевания. Применение моноклональных антител – ингибиторов чекпоинт рецепторов – имеет целью восстановление противоопухолевого иммунитета [6, 9].

Несмотря на то, что миелоаблативная высокодозная химиотерапия (ВХ) с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК) после индукционной терапии остается рекомендуемым методом лечения ММ, у практически всех больных заболевание рецидивирует и прогрессирует [10]. Использование ингибиторов протеасом, а также иммуномодуляторов, имеет важное значение в терапии ММ, однако потребность в альтернативных методах лечения ММ остается актуальной [10]. В связи выявленным аномальным микроокружением опухоли, перспективной является разработка иммунной терапии, основанной на ингибировании иммунных контрольных точек после ВХ с ауто-ТГСК [9,10]. Однако, неизвестно патогенетическое значение экспрессии ингибирующих чекпоинт рецепторов на регуляторных Т-клетках (Treg), популяции Т-хелперов с иммуносупрессирующей активностью. Остается открытым вопрос о возможном негативном влиянии Treg на результаты анти-PD-1 таргетной терапии, так как воздействие анти-PD1 моноклональных антител способно оказать противоположный эффект и еще больше усилить активность Treg [11].

Цель: оценка содержания Treg, экспрессирующих чекпоинт рецепторы PD-1, TIM-3 и маркер функциональной активности CD39, у пациентов с множественной миеломой после высокодозной химиотерапии с трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток.

Материалы и методы

Пациенты

Данное исследование было одобрено локальным этическим комитетом НИИФКИ. Пациенты включались в группы после подписания формы информированного добровольного согласия. Обследовано

47 пациентов с ММ в возрасте 36-69 лет (медиана 51 год) в полной или частичной ремиссии. Гендерный состав: 25 женщин и 22 мужчины. У 35 пациентов диагностирован IgG-вариант парапротеина, у 5 – IgA вариант, у 7 – миелома Бенс-Джонса. Перед ВХ пациенты получали стандартные бортезомиб-содержащие курсы индукционной терапии, при необходимости – курсы второй линии (ДСЕР – режим иммунохимиотерапии, включающий циклофосфамид, этопозид, цисплатин, дексаметазон, EDAP – содержащий этопозид, дексаметазон, цитарабин, цисплатин) или терапию на основе леналидомида. Средняя доза реинфузированных CD34⁺ гемопоэтических клеток-предшественников составила $4,4 \times 10^6/\text{кг}$ ($3,3-6,0 \times 10^6/\text{кг}$).

Вместе с этим изучены показатели в группе из 27 сопоставимых по полу и возрасту здоровых доноров в качестве контроля.

Проточная цитометрия

Образцы периферической крови пациентов для исследования получали после индукционной терапии перед проведением ВХ (n=34) и после ауто-ТГСК (дни +14 – +25) (n=22).

Методом проточной цитометрии оценивали CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻FOXP3⁺ Treg и CD4⁺IL-10⁺ Т-клетки, экспрессирующие PD-1 или TIM-3, используя коктейль моноклональных антител Human Regulatory T-Cell Cocktail (BD Pharmingen™, США, Cat №560249), анти-CD4 (FITC, BD Pharmingen™, США), анти-CD25 (APC-Cy7, BD Pharmingen™, США), анти-CD39 (APC, BD Pharmingen™, США), анти-FOXP3 (PerCP/Cy 5.5, Biolegend, США), анти-IL-10 (PE, BD Pharmingen™, США), анти-EOMES (APC, R&D Systems, США), анти-PD-1 (PE, APC, BD Pharmingen™, США), анти-TIM-3 (PE, PerCP/Cy 5.5, Biolegend, США; BV421, BD Pharmingen™, США) моноклональные антитела.

Экспрессию эктонуклеотидазы CD39 на PD-1/TIM-3-позитивных и негативных Treg исследовали в отдельной серии экспериментов на CD4⁺CD25^{hi}FOXP3⁺ Т-клетках.

Для оценки внутриклеточного содержания IL-10 мононуклеарные клетки (МНК) активировали в течение 5 часов форболмирикатом ацетатом (Sigma, Германия; конечная концентрация 10 нг/мл суспензии клеток), иономицином (Sigma; конечная концентрация 10 мкг/мл суспензии клеток); после первого часа добавляли BD GolgiStop™ (BD Pharmingen™, США). Для фиксации и пермеабиллизации МНК использовали набор растворов True-Nuclear Transcription Factor Buffer Set (Biolegend, США). Исследование проводили на проточном цитометре FACS Canto II (BD Biosciences, США). Анализ результатов проводили после накопления не менее 30000 событий в регионе CD4⁺ Т-клеток. Стратегия гейтирования представлена на рисунке 1.

Статистический анализ данных

Данные анализировали с помощью пакета программ Statistica v.6.0 (StatSoft, США). Данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона. Сравнение между двумя группами проводили с помощью U-непараметрического теста Манна-Уитни. Сравнение между двумя показателями внутри группы проводили с помощью парного критерия знаков. Двусторонний $p < 0,05$ указывал на достоверную разницу и считался статистически значимым.

Результаты

Относительное содержание циркулирующих CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻FOXP3⁺ Treg и IL-10-продуцирующих CD4⁺ Т-клеток было значимо выше у больных ММ в стадии ремиссии перед ВХ в сравнении с донорами (Табл. 1), количество IL-10-продуцирующих Т-лимфоцитов было выше в сравнении с популяцией Treg. Доля Treg, экспрессирующих рецепторы PD-1 и TIM-3, у больных ММ в ремиссии перед ВХ не имела значимых отличий от значений у доноров (Табл. 1). В сравнении со здоровыми людьми, в образцах больных ММ перед ВХ было увеличено только содержание PD-1-экспрессирующих CD4⁺IL-10⁺ Т-клеток (Табл. 1).

У пациентов с ММ после прохождения процедуры ауто-ТГСК было значимо увеличено процентное содержание CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻FOXP3⁺ Treg, PD-1- и TIM-3-экспрессирующих субпопуляций Treg, IL-10-продуцирующих CD4⁺ Т-клеток и доля PD-1-позитивных CD4⁺IL-10⁺ Т-клеток в сравнении со здоровыми людьми. Содержание PD-1-/TIM-3-экспрессирующих популяций Treg и CD4⁺IL-10⁺ Т-клеток после ауто-ТГСК не изменялось по сравнению со значениями перед ВХ, однако значимо повышался уровень Treg в целом (Табл. 1).

В нашем исследовании, учитывая установленную роль эктонуклеотидазы CD39 в продукции аденозина, обладающего супрессорными функциями [12], было проведено исследование экспрессии

CD39 на Treg (Рис. 2).

Установлено, что относительное количество циркулирующих CD39⁺ CD4⁺CD25^{hi}FOXP3⁺ Treg у доноров было небольшим, независимо от экспрессии PD-1 и TIM-3. Доля CD39⁺ Treg была значительно выше у больных ММ в ремиссии перед ВХ в сравнении с донорами как в общем пуле клеток, так и в PD-1⁻ и TIM-3-позитивных и негативных субпопуляциях (Табл. 2). При этом объем CD39-экспрессирующих клеток был выше в субпопуляциях TIM-3⁺ и PD-1⁺TIM-3⁺ Treg в сравнении с PD-1⁺ Treg ($p=0,0013$ согласно критерию знаков). У пациентов с ММ после прохождения процедуры ауто-ТГСК было отмечено дальнейшее увеличение количества CD39⁺ Treg. Значимое увеличение в сравнении с показателями перед ВХ отмечено для популяции Treg в целом, для PD-1-экспрессирующей субпопуляции и для Treg, не экспрессирующих PD-1 и TIM-3 (Табл. 2).

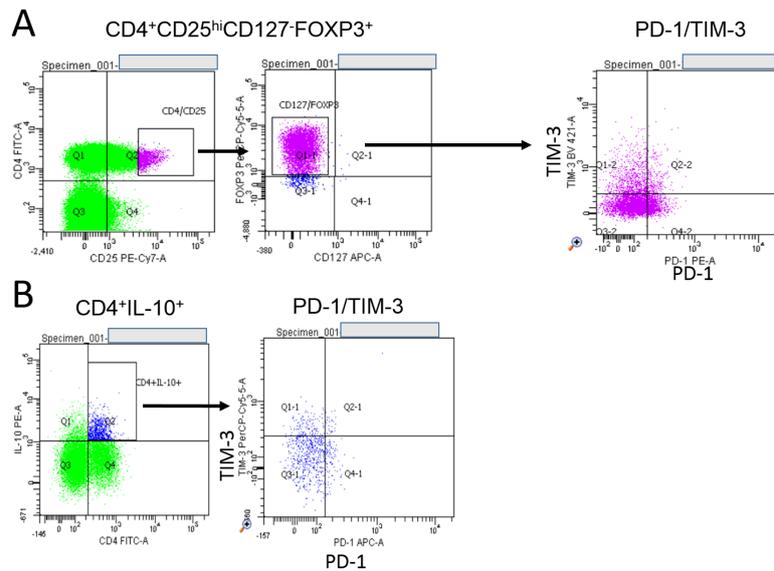


Рисунок 1. Стратегия гейтирования регуляторных Т-клеток

Примечание: представлена цитометрическая характеристика (А) CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻FOXP3⁺ регуляторных Т-клеток и (В) IL-10-продуцирующих CD4⁺ Т-клеток, экспрессирующих чекпойнт рецепторы PD-1 и TIM-3, больного множественной миеломой

Figure 1. Regulatory T-cell gating strategy

Note: cytometric characterization of (A) CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻FOXP3⁺ regulatory T-cells and (B) IL-10-producing CD4⁺ T-cells expressing checkpoint receptors PD-1 and TIM-3 in a patient with multiple myeloma is shown

В выполненном исследовании нами также был изучен уровень экспрессии фактора транскрипции эомезодермина (EOMES), ассоциированного с функциональной активностью IL-10-продуцирующих Treg 1-го типа (Tr1), и FOXP3, характерного для Treg, однако его экспрессия для Tr1 остаётся в настоящее время предметом дискуссий.

Показано, что более 90% IL-10-продуцирующих CD4⁺ Т-клеток являются EOMES-позитивными, при этом около 30-50% ко-экспрессируют FOXP3. Изолированная FOXP3⁺EOMES⁻ наблюдалась крайне редко (Рис. 3, Табл. 3).

Таблица 1

Относительное количество PD-1- и TIM-3-экспрессирующих CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻FOXP3⁺ регуляторных Т-клеток и IL-10-продуцирующих CD4⁺ Т-клеток в периферической крови доноров и больных множественной миеломой

Table 1

The relative number of PD-1- and TEAM-3-expressing CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻FOXP3⁺ regulatory T-cells and IL-10-producing CD4⁺ T-cells in the peripheral blood of donors and patients with multiple myeloma

Показатель Indicator	Доноры Donors	Больные перед высокодозной химиотерапией Patients before high-dose chemotherapy	Больные после ауто-ТГСК Patients after aHST
Treg, % от числа лимфоцитов Treg, % of the number of lymphocytes	0,8 (0,3-1,5)	1,5 (0,9-2,3)**	3,4 (1,5-3,6)**#
PD1 ⁺ , % от числа Treg PD1 ⁺ , % of the number of Treg	6,2 (2,0-11,4)	8,1 (4,2-18,6)	11,2 (4,1-18,1)*
TIM3 ⁺ , % от числа Treg TIM3 ⁺ , % of the number of Treg	6,1 (2,8-11,8)	10,1 (1,6-21,2)	17,8 (3,8-35,7)*
CD4 ⁺ IL10 ⁺ , % от числа лимфоцитов CD4 ⁺ IL10 ⁺ , % of the number of lymphocytes	3,4 (2,4-4,1)	5,4 (3,1-11,4)*	5,5 (4,0-8,5)*
PD1 ⁺ , % от числа CD4 ⁺ IL10 ⁺ PD1 ⁺ , % of the number of CD4 ⁺ IL10 ⁺	10,3 (7,0-14,8)	19,35 (13,9-29,7)*	35,5 (22,7-38,2)**
TIM3 ⁺ , % от числа CD4 ⁺ IL10 ⁺ TIM3 ⁺ , % of the number of CD4 ⁺ IL10 ⁺	13,9 (6,8-17,7)	14,8 (11,9-18,8)	13,5 (10,6-19,9)

Примечание: ауто-ТГСК – трансплантация аутологических гемопоэтических стволовых клеток; данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона; значимость различий между группами оценена по U-критерию Манна-Уитни; *PU <0,05, **PU <0,005 – в сравнении с донорами, #PU <0,01 – в сравнении с больными перед высокодозной химиотерапией

Note: aHST – autologous haematopoietic stem cell transplantation; the data is presented in the form of a median and an interquartile range; the significance of differences between groups was assessed using the Mann-Whitney U-test; *PU <0,05, **PU <0,005 – compared with healthy donors, #PU <0,01 – compared with patients before high-dose chemotherapy

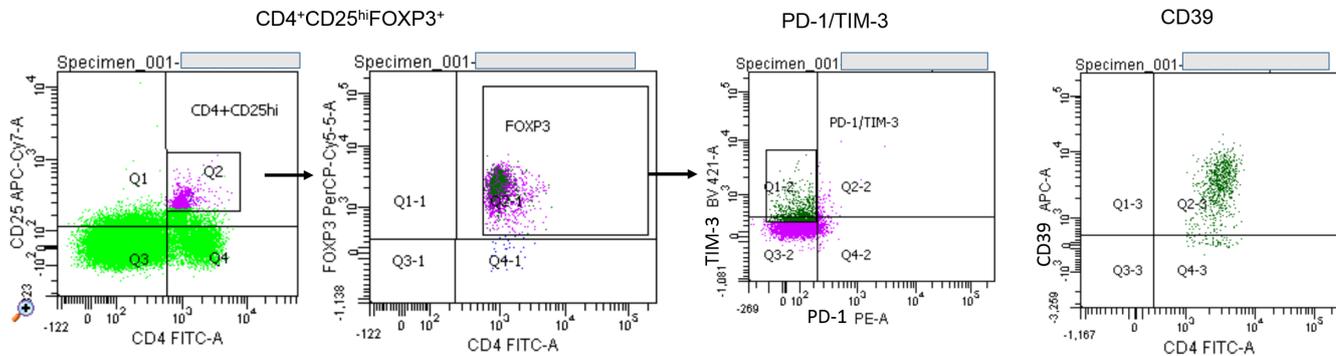


Рисунок 2. Стратегия гейтирования регуляторных Т-клеток, экспрессирующих эктонуклеотидазу CD39
Примечание: представлена цитометрическая характеристика CD4⁺CD25^{hi}FOXP3⁺ Treg, экспрессирующих чекпойнт рецепторы PD-1 и TIM-3 и эктонуклеотидазу CD39, больного множественной миеломой
Figure 2. Gating strategy for regulatory T-cells expressing CD39 ectonucleotidase

Note: cytometric characterization of CD4⁺CD25^{hi}FOXP3⁺ Tregs expressing checkpoint receptors PD-1 and TIM-3 and ectonucleotidase CD39 in a patient with multiple myeloma is presented

Таблица 2

Относительное содержание регуляторных Т-клеток, экспрессирующих CD39, у больных множественной миеломой и доноров

Table 2

Relative abundance of CD39-expressing regulatory T-cells in patients with multiple myeloma and donors

Показатель Indicator	Доноры Donors	Больные перед высоко- дозной химиотерапией Patients before high-dose chemotherapy	Больные после ауто-ТГСК Patients after aHST
CD39 ⁺ , % от числа Treg CD39 ⁺ , % of the number of Treg	5,3 (3,1-25,5)	56,7 (26,2-72,5)**	83,4 (66,0-91,7)**#
CD39 ⁺ , % от числа PD1 ⁺ Treg CD39 ⁺ , % of the number of PD1 ⁺ Treg	6,0 (1,8-16,7)	50,2 (28,8-62,8)*	84,7 (63,4-88,6)**#
CD39 ⁺ , % от числа TIM3 ⁺ Treg CD39 ⁺ , % of the number of TIM3 ⁺ Treg	16,2 (0,0-32,4)	75,1 (58,0-91,1)**	92,4 (76,9-4,9)**
CD39 ⁺ , % от числа PD1 ⁺ TIM3 ⁺ Treg CD39 ⁺ , % of the number of PD1 ⁺ TIM3 ⁺ Treg	14,3 (8,3-33,3)	76,9 (62,0-85,9)*	89,5 (70,4-96,4)**
CD39 ⁺ , % от числа PD1 ⁻ TIM3 ⁻ Treg CD39 ⁺ , % of the number PD1 ⁻ TIM3 ⁻ Treg	6,8 (1,9-12,5)	49,1 (17,3-73,2)**	82,8 (56,0-89,9)**#

Примечание: ауто-ТГСК – трансплантация аутологичных гемопоэтических стволовых клеток; данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона; значимость различий между группами оценена по U-критерию Манна-Уитни; *PU <0,05, **PU <0,005 – в сравнении с донорами, #PU <0,05 – в сравнении с больными перед высокодозной химиотерапией

Note: aHST – autologous haematopoietic stem cell transplantation; the data is presented in the form of a median and an interquartile range; the significance of differences between groups was assessed using the Mann-Whitney U-test; *PU <0,05, **PU <0,005 – compared with healthy donors, #PU <0,05 – compared with patients before high-dose chemotherapy

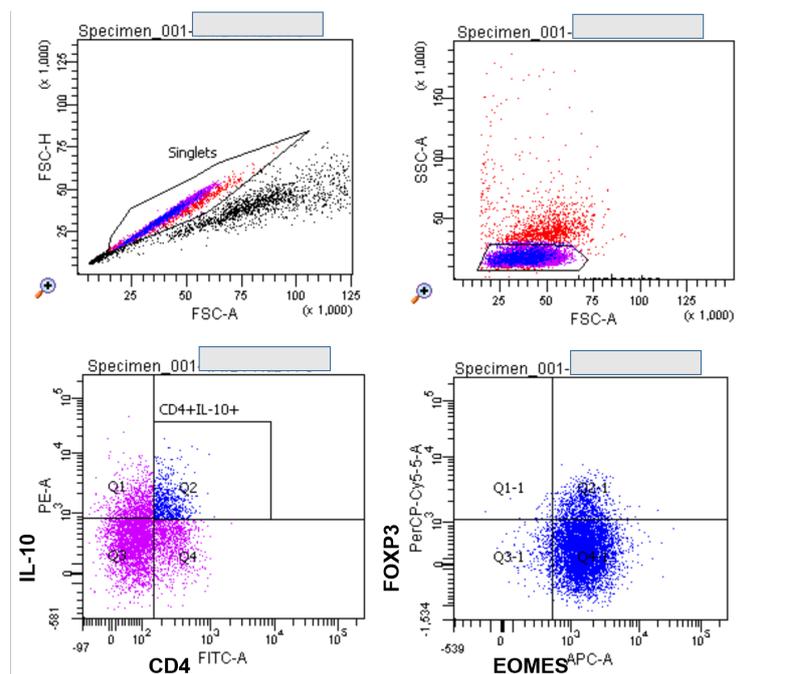


Рисунок 3. Стратегия гейтирования IL-10-продуцирующих CD4⁺ Т-клеток, экспрессирующих транскрипционные факторы EOMES и FOXP3

Примечание: представлена цитометрическая характеристика IL-10-продуцирующих CD4⁺IL-10⁺ Т-клеток, экспрессирующих транскрипционные факторы EOMES и FOXP3, больного множественной миеломой

Figure 3. Gating strategy for IL-10-producing CD4⁺ T-cells expressing EOMES and FOXP3 transcription factors

Note: cytometric characterization of IL-10-producing CD4⁺IL-10⁺ T-cells expressing transcription factors EOMES and FOXP3 in a patient with multiple myeloma is presented

Относительное содержание транскрипционных факторов FOXP3 и EOMES в IL-10-продуцирующих CD4⁺ Т-клетках у доноров и больных множественной миеломой

Table 3

Relative content of transcription factors FOXP3 and EOMES in IL-10-producing CD4⁺ T-cells from donors and patients with multiple myeloma

Показатель Indicator	Доноры Donors	Больные перед высокодозной химиотерапией Patients before high-dose chemotherapy
FOXP3 ⁺ EOMES ⁻ , % от числа CD4 ⁺ IL10 ⁺ FOXP3 ⁺ EOMES ⁻ , % of the number CD4 ⁺ IL10 ⁺	0 (0-0)	0,7 (0,6-1,7)
EOMES ⁺ FOXP3 ⁻ , % от числа CD4 ⁺ IL10 ⁺ EOMES ⁺ FOXP3 ⁻ , % of the number CD4 ⁺ IL10 ⁺	49,9 (43,8-57,3)	68,3 (43,9-84,0)
FOXP3 ⁺ EOMES ⁺ , % от числа CD4 ⁺ IL10 ⁺ FOXP3 ⁺ EOMES ⁺ , % of the number CD4 ⁺ IL10 ⁺	50,0 (42,4-56,2)	30,6 (15,352,0)

Примечание: данные представлены в виде медианы и интерквартильного диапазона

Note: the data is presented in the form of a median and an interquartile range

Обсуждение

В нашем исследовании была охарактеризована экспрессия чекпоинт рецепторов PD-1 и TIM-3 популяциями CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻FOXP3⁺ Treg и IL-10-продуцирующими CD4⁺ Т-клетками у больных ММ в стадии ремиссии после индукционной терапии и после ВХ с ауто-ТГСК.

Установлено, что относительное содержание циркулирующих Treg было значимо выше у больных ММ в сравнении с донорами. Согласно известным данным, ранее было описано как снижение [13], так и увеличение [14, 15] количества Treg в сравнении с пулом здоровых людей, равно как и отсутствие выявленных изменений [16, 17]. По нашим данным доля CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻FOXP3⁺ Treg, экспрессирующих ингибиторные рецепторы PD-1 и TIM-3, у здоровых и у больных ММ в стадии ремиссии после индукции была относительно низкой. После ВХ с ауто-ТГСК выявлено значимое увеличение содержания CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻FOXP3⁺ Treg в сравнении со значениями перед ВХ, а PD-1- и TIM-3-экспрессирующих субпопуляций Treg – в сравнении со значениями доноров.

Полученные данные по экспрессии мембранного «супрессорного» экзофермента CD39 свидетельствуют о выраженном функциональном потенциале Treg у больных ММ в сравнении с донорами. Доля CD39⁺ клеток в субпопуляции PD-1⁺ Treg находилась на уровне PD-1⁻TIM-3⁻ Treg. TIM-3-позитивные Treg, по-видимому, более активированы (на основании данных относительного содержания CD39⁺ Treg). После ВХ с ауто-ТГСК функциональная активность Treg в целом и PD-1⁺ субпопуляций значимо увеличивалась.

По нашим данным, относительное количество IL-10-продуцирующих CD4⁺ Т-клеток было выше у больных ММ в сравнении с донорами. Сходные отличия установлены и у циркулирующих CD4⁺IL-10⁺, экспрессирующих PD-1.

Широко известно, что экспрессия PD-1 и TIM-3 Treg при онкологических заболеваниях, как правило, ассоциирована с выраженной супрессорной активностью [11, 18]. Р.М. Roessner et al. (2021) связывали экспрессию PD-1 с популяцией IL-10-продуцирующих CD25⁻FOXP3⁻ регуляторных Т-клеток I типа при хроническом лимфолейкозе [19]. При ММ данные о PD-1⁺/TIM-3⁺ Treg ограничены. Описано более высокое содержание Treg, экспрессирующих PD-1 и LAG-3, обработка анти-PD-1 моноклональными антителами *in vitro* приводила к усилению экспансии Treg [20]. J. Dahlhoff et al. (2022) показали, что экспрессия чекпоинт рецепторов опухоль-ассоциированными Treg отражала высокую супрессорную активность клеток [21]. Интересно, что, согласно нашим данным, относительное количество CD4⁺IL-10⁺ у больных ММ было выше в сравнении с числом Treg (5,4% в сравнении с 1,5% соответственно).

Известно, что IL-10 играет важную роль в патогенезе ММ [22], и патогенетическая значимость IL-10-продуцирующих Т-клеток при ММ нуждается в дальнейших исследованиях. Данные об экспрессии PD-1 и/или TIM-3 CD4⁺IL-10⁺ Т-клетками при ММ в настоящее время отсутствуют. Представленные нами данные о содержании IL-10-секретирующих Т-клеток могут иметь важное значение, с учётом выявленного увеличенного их количества в сравнении с Treg. Нами установлено, что более 90% популяции IL-10-продуцирующих Т-клеток экспрессируют транскрипционный фактор EOMES, зна-

чение которого в функционировании CD4⁺ Т-хелперов недостаточно изучено. При этом, также была выявлена ко-экспрессия ассоциированного с Treg транскрипционного фактора FOXP3. Информация о продукции IL-10 FOXP3-позитивными и негативными Т-клетками согласуется с данными литературы [23], но остаётся предметом дискуссий о фенотипической характеристике Tr1 и нуждается в дальнейшем изучении.

Заключение

Установлено, что относительное количество CD4⁺CD25^{hi}CD127⁻FOXP3⁺ Treg и IL-10-продуцирующих CD4⁺ Т-клеток было выше у больных ММ в сравнении с донорами. Количество IL-10-продуцирующих Т-лимфоцитов у больных множественной миеломой было выше в сравнении с популяцией Treg у тех же больных. Доля Treg, экспрессирующих рецепторы PD-1 и TIM-3, у больных ММ в ремиссии значимо не отличалась от значений здоровых и была относительно низкой. После ВХ с ауто-ТГСК увеличивалось количество Treg в сравнении со значениями перед ВХ, PD-1- и TIM-3-экспрессирующих субпопуляций Treg – в сравнении со значениями доноров. Доля CD39⁺ Treg была больше у больных ММ в стадии ремиссии в сравнении со здоровыми людьми. TIM-3⁺ Treg, по-видимому, более активированы (согласно данным относительного количества клеток, экспрессирующих CD39⁺) в сравнении с PD-1⁺ популяцией. После ВХ с ауто-ТГСК функциональная активность Treg как в целом, так и PD-1⁺ субпопуляций значимо увеличивалась. Более 90% IL-10-продуцирующих Т-клеток экспрессируют транскрипционный фактор EOMES.

Благодарности

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-25-00399.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fairfield H., Falank C., Avery L., Reagan M.R. Multiple myeloma in the marrow: pathogenesis and treatments. *Ann N Y Acad Sci.* 2016; 1364(1):32-51. doi:10.1111/nyas.13038.
2. Barreto I.V., Machado C.B., Almeida D.B., Pessoa F.M.C.P., Gadelha R.B., Pantoja L.D.C., Oliveira D.S., Ribeiro R.M., Lopes G.S., de Moraes Filho M.O., de Moraes M.E.A., Khayat A.S., de Oliveira E.H.C., Moreira-Nunes C.A. Kinase Inhibition in Multiple Myeloma: Current Scenario and Clinical Perspectives. *Pharmaceutics.* 2022; 14(9):1784. doi:10.3390/pharmaceutics14091784.
3. Atkin C., Richter A., Sapey E. What is the significance of monoclonal gammopathy of undetermined significance? *Clin Med (Lond).* 2018; 18(5):391-396. doi:10.7861/clinmedicine.18-5-391.
4. Dimopoulos M.A., Moreau P., Terpos E., Mateos M.V., Zweegman S., Cook G., Delforge M., Hájek R. Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2021; 32(3):309-322. doi:10.1016/j.annonc.2020.11.014.
5. García-Ortiz A., Rodríguez-García Y., Encinas J., Maroto-Martín E., Castellano E., Teixidó J., Martínez-López J. The Role of Tumor Microenvironment in Multiple Myeloma Development and Progression. *Cancers (Basel).* 2021; 13(2):217. doi:10.3390/cancers13020217.
6. Liu Z., Xu X., Liu H., Zhao X., Yang C., Fu R. Immune checkpoint inhibitors for multiple myeloma immunotherapy. *Exp Hematol Oncol.* 2023; 12(1):99. doi:10.1186/s40164-023-00456-5.
7. Hadjiaggelidou C., Katodritou E. Regulatory T-Cells and Multiple Myeloma: Implications in Tumor Immune Biology and Treatment. *J Clin Med.* 2021; 10(19):4588. doi:10.3390/jcm10194588.
8. Wherry E.J., Kurachi M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. *Nat Rev Immunol.* 2015; 15(8):486-99. doi:10.1038/nri3862.
9. Chung D.J., Pronschinske K.B., Shyer J.A., Sharma S., Leung S., Curran S.A., Lesokhin A.M., Devlin S.M., Giralt S.A., Young J.W. T-cell Exhaustion in Multiple Myeloma Relapse after Autotransplant: Optimal Timing of Immunotherapy. *Cancer Immunol Res.* 2016; 4(1):61-71. doi:10.1158/2326-6066.CIR-15-0055.
10. Cowan A.J., Green D.J., Kwok M., Lee S., Coffey D.G., Holmberg L.A., Tuazon S., Gopal A.K., Libby E.N. Diagnosis and Management of Multiple Myeloma: A Review. *JAMA.* 2022; 327(5):464-477. doi:10.1001/jama.2022.0003.
11. Kamada T., Togashi Y., Tay C., Ha D., Sasaki A., Nakamura Y., Sato E., Fukuoka S., Tada Y., Tanaka A., Morikawa H., Kawazoe A., Kinoshita T., Shitara K., Sakaguchi S., Nishikawa H. PD-1⁺ regulatory

T cells amplified by PD-1 blockade promote hyperprogression of cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019; 116(20):9999-10008. doi:10.1073/pnas.1822001116.

12. Salcido-Ochoa F., Tsang J., Tam P., Falk K., Rotzschke O. Regulatory T cells in transplantation: does extracellular adenosine triphosphate metabolism through CD39 play a crucial role? *Transplant Rev (Orlando).* 2010; 24(2):52-66. doi:10.1016/j.trre.2010.01.002.

13. Prabhala R.H., Neri P., Bae J.E., Tassone P., Shammass M.A., Allam C.K., Daley J.F., Chauhan D., Blanchard E., Thatte H.S., Anderson K.C., Munshi N.C. Dysfunctional T regulatory cells in multiple myeloma. *Blood.* 2006; 107(1):301-304. doi:10.1182/blood-2005-08-3101.

14. Beyer M., Schultze J.L. Regulatory R cells in cancer. *Blood.* 2006; 108(3):804-811. doi:10.1182/blood-2006-02-002774.

15. Muthu Raja K.R., Rihova L., Zahradova L., Klincova M., Penka M., Hajek R. Increased T regulatory cells are associated with adverse clinical features and predict progression in multiple myeloma. *PLoS One.* 2012; 7(10):e47077. doi:10.1371/journal.pone.0047077.

16. Foglietta M., Castella B., Mariani S., Coscia M., Godio L., Ferracini R., Ruggeri M., Muccio V., Omedé P., Palumbo A., Boccadoro M., Massaia M. The bone marrow of myeloma patients is steadily inhabited by a normal-sized pool of functional regulatory T cells irrespective of the disease status. *Haematologica.* 2014; 99(10):1605-1610. doi:10.3324/haematol.2014.105866.

17. D'Arena G., Rossi G., Laurenti L., Statuto T., D'Auria F., Valvano L., Simeon V., Giudice A., Innocenti I., De Feo V., Filosa R., Musto P. Circulating Regulatory T-Cells in Monoclonal Gammopathies of Uncertain Significance and Multiple Myeloma: In Search of a Role. *J Immunol Res.* 2016; 2016:9271469. doi:10.1155/2016/9271469.

18. Alissafi T., Hatzioannou A., Legaki A.I., Varveri A., Verginis P. Balancing cancer immunotherapy and immune-related adverse events: The emerging role of regulatory T cells. *J Autoimmun.* 2019; 104:102310. doi:10.1016/j.jaut.2019.102310.

19. Roessner P.M., Llaó Cid L., Lupar E., Roeder T., Bordas M., Schifflers C., Arseni L., Gaupel A.C., Kilpert F., Krötschel M., Arnold S.J., Sellner L., Colomer D., Stilgenbauer S., Dietrich S., Lichter P., Izcue A., Seiffert M. EOMES and IL-10 regulate antitumor activity of T regulatory type 1 CD4⁺ T cells in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia.* 2021; 35(8):2311-2324. doi:10.1038/s41375-021-01136-1.

20. Bae J., Accardi F., Hideshima T., Tai Y.T., Prabhala R., Shambley A., Wen K., Rowell S., Richardson P.G., Munshi N.C., Anderson K.C. Targeting LAG3/GAL-3 to overcome immunosuppression and enhance anti-tumor immune responses in multiple myeloma. *Leukemia.* 2022; 36(1):138-154. doi:10.1038/s41375-021-01301-6.

21. Dahlhoff J., Manz H., Steinfatt T., Delgado-Tascon J., Seebacher E., Schneider T., Wilnit A., Mokhtari Z., Tabares P., Böckle D., Rasche L., Martin Kortüm K., Lutz M.B., Einsele H., Brandl A., Beilhack A. Transient regulatory T-cell targeting triggers immune control of multiple myeloma and prevents disease progression. *Leukemia.* 2022; 36(3):790-800. doi:10.1038/s41375-021-01422-y.

22. Wang H., Wang L., Chi P.D., Wang W.D., Chen X.Q., Geng Q.R., Xia Z.J., Lu Y. High level of interleukin-10 in serum predicts poor prognosis in multiple myeloma. *Br J Cancer.* 2016; 114(4):463-468. doi:10.1038/bjc.2016.11.

23. Wang J.N., Cao X.X., Zhao A.L., Cai H., Wang X., Li J. Increased activated regulatory T cell subsets and aging Treg-like cells in multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance: a case control study. *Cancer Cell Int.* 2018; 18:187. doi:10.1186/s12935-018-0687-8.

Авторы

Васильченко Полина Вячеславовна

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

Лаборант лаборатории клеточно-молекулярных механизмов иммунопатологии

Новосибирск, Российская Федерация

p.vasilchenko@g.nsu.ru

Баторов Егор Васильевич

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

К. м. н., старший научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии
Новосибирск, Российская Федерация
ebatorov@mail.ru

Аристова Татьяна Андреевна

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

К. м. н., врач-гематолог отделения гематологии с блоком трансплантации костного мозга клиники иммунопатологии
Новосибирск, Российская Федерация
taris06@mail.ru

Денисова Вера Васильевна

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

К. м. н., заведующий отделением гематологии с блоком трансплантации костного мозга клиники иммунопатологии
Новосибирск, Российская Федерация
verden@bk.ru

Баторова Дарья Сергеевна

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

К. м. н., врач-гематолог отделения гематологии с блоком трансплантации костного мозга клиники иммунопатологии
Новосибирск, Российская Федерация
sugar1983@mail.ru

Сизикова Светлана Анатольевна

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

К. м. н., врач-гематолог отделения гематологии с блоком трансплантации костного мозга клиники иммунопатологии
Новосибирск, Российская Федерация
svetlana_sizikova@mail.ru

Ушакова Галина Юрьевна

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

К. м. н., врач-гематолог отделения гематологии с блоком трансплантации костного мозга клиники иммунопатологии
Новосибирск, Российская Федерация
bmt-novosibirsk@mail.ru

Останин Александр Анатольевич

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

Д. м. н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории клеточной иммунотерапии
Новосибирск, Российская Федерация
ostanin62@mail.ru

Черных Елена Рэмовна
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт фундаментальной и клинической иммунологии» (НИИФКИ)
Д. м. н., профессор, член-корреспондент РАН, заведующий лабораторией клеточной иммунотерапии
Новосибирск, Российская Федерация
ct_lab@mail.ru

*P.V. Vasilchenko^{1,2}, E.V. Batorov¹, T.A. Aristova¹, V.V. Denisova¹, D.S. Batorova¹,
S.A. Sizikova¹, G.Yu. Ushakova¹, A.A. Ostanin¹, E.R. Chernykh¹*

PD-1 AND TIM-3 EXPRESSION BY REGULATORY T CELLS AND INTERLEUKIN-10-PRODUCING CD4⁺ T-CELLS IN PATIENTS WITH MULTIPLE MYELOMA AFTER AUTOLOGOUS HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

¹FSBSI «Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology»,
Novosibirsk, Russian Federation;

²Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russian Federation

Abstract. The paper presents an analysis of the relative content of PD-1- and TIM-3-positive regulatory T-cells (Treg) and interleukin-10(IL-10)-producing CD4⁺ T-cells in patients with multiple myeloma (MM). *The aim of the study* was to evaluate the content of Tregs and CD4⁺IL-10⁺ T-cells expressing the checkpoint receptors PD-1, TIM-3 and the functional activity marker CD39 in patients with MM after high-dose chemotherapy (HC) with autologous hematopoietic stem cell transplantation (auto-HSCT). *Materials and methods.* The study included 47 patients with MM and 27 matched donors. The content of CD4⁺CD25^{hi}CD127⁺FOXP3⁺ Treg populations and IL-10-producing CD4⁺ T-cells expressing PD-1 and TIM-3, ectonucleotidase CD39, transcription factors eomesodermin (EOMES) and FOXP3 were assessed in peripheral blood by flow cytometry. *Results.* The relative content of Treg and IL-10-producing CD4⁺ T-cells was higher in MM patients compared to donors. The content of IL-10-producing T-cells was higher compared to the Treg population. The proportion of Treg expressing PD-1 and TIM-3 receptors in MM patients in remission did not differ significantly from the values in healthy donors. After HC with auto-HSCT, the content of Treg increased compared to the values before IC. The percentage of CD39⁺ Tregs was significantly higher in MM patients in remission compared to healthy donors. TIM-3⁺ Tregs were more activated compared to the PD-1⁺ population. After HC with auto-HSCT, the functional activity of Tregs significantly increased. It was found that more than 90% of IL-10-producing T-cells express the EOMES transcription factor.

Keywords: regulatory T cells, IL-10, PD-1, TIM-3, multiple myeloma

There is no conflict of interest.

Contact information for the corresponding author:

Polina V. Vasilchenko
p.vasilchenko@g.nsu.ru

Received: 01.09.2024

For citation: Vasilchenko P.V., Batorov E.V., Aristova T.A., Denisova V.V., Batorova D.S., Sizikova S.A., Ushakova G.Yu., Ostanin A.A., Chernykh E.R. PD-1 and TIM-3 expression by regulatory T-cells and interleukin-10-producing CD4⁺ T-cells in patients with multiple myeloma after autologous hematopoietic stem cell transplantation. [Online] Vestn. Ural. Med. Akad. Nauki. = Journal of Ural Medical Academic Science. 2024, Vol. 21, no. 4, pp. 422–435. DOI: 10.22138/2500-0918-2024-21-4-422-435 (In Russ)

REFERENCES

1. Fairfield H., Falank C., Avery L., Reagan M.R. Multiple myeloma in the marrow: pathogenesis and treatments. *Ann N Y Acad Sci.* 2016; 1364(1):32-51. doi:10.1111/nyas.13038.
2. Barreto I.V., Machado C.B., Almeida D.B., Pessoa F.M.C.P., Gadelha R.B., Pantoja L.D.C., Oliveira D.S., Ribeiro R.M., Lopes G.S., de Moraes Filho M.O., de Moraes M.E.A., Khayat A.S., de Oliveira E.H.C., Moreira-Nunes C.A. Kinase Inhibition in Multiple Myeloma: Current Scenario and Clinical Perspectives. *Pharmaceutics.* 2022; 14(9):1784. doi:10.3390/pharmaceutics14091784.
3. Atkin C., Richter A., Sapey E. What is the significance of monoclonal gammopathy of undetermined significance? *Clin Med (Lond).* 2018; 18(5):391-396. doi:10.7861/clinmedicine.18-5-391.
4. Dimopoulos M.A., Moreau P., Terpos E., Mateos M.V., Zweegman S., Cook G., Delforge M., Hájek R. Multiple myeloma: EHA-ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2021; 32(3):309-322. doi:10.1016/j.annonc.2020.11.014.
5. García-Ortiz A., Rodríguez-García Y., Encinas J., Maroto-Martín E., Castellano E., Teixidó J., Martínez-López J. The Role of Tumor Microenvironment in Multiple Myeloma Development and Progression. *Cancers (Basel).* 2021; 13(2):217. doi:10.3390/cancers13020217.
6. Liu Z., Xu X., Liu H., Zhao X., Yang C., Fu R. Immune checkpoint inhibitors for multiple myeloma immunotherapy. *Exp Hematol Oncol.* 2023; 12(1):99. doi:10.1186/s40164-023-00456-5.
7. Hadjiaggelidou C., Katodritou E. Regulatory T-Cells and Multiple Myeloma: Implications in Tumor Immune Biology and Treatment. *J Clin Med.* 2021; 10(19):4588. doi:10.3390/jcm10194588.
8. Wherry E.J., Kurachi M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion. *Nat Rev Immunol.* 2015; 15(8):486-99. doi:10.1038/nri3862.
9. Chung D.J., Pronschinske K.B., Shyer J.A., Sharma S., Leung S., Curran S.A., Lesokhin A.M., Devlin S.M., Giralto S.A., Young J.W. T-cell Exhaustion in Multiple Myeloma Relapse after Autotransplant: Optimal Timing of Immunotherapy. *Cancer Immunol Res.* 2016; 4(1):61-71. doi:10.1158/2326-6066.CIR-15-0055.
10. Cowan A.J., Green D.J., Kwok M., Lee S., Coffey D.G., Holmberg L.A., Tuazon S., Gopal A.K., Libby E.N. Diagnosis and Management of Multiple Myeloma: A Review. *JAMA.* 2022; 327(5):464-477. doi:10.1001/jama.2022.0003.
11. Kamada T., Togashi Y., Tay C., Ha D., Sasaki A., Nakamura Y., Sato E., Fukuoka S., Tada Y., Tanaka A., Morikawa H., Kawazoe A., Kinoshita T., Shitara K., Sakaguchi S., Nishikawa H. PD-1⁺ regulatory T-cells amplified by PD-1 blockade promote hyperprogression of cancer. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2019; 116(20):9999-10008. doi:10.1073/pnas.1822001116.
12. Salcido-Ochoa F., Tsang J., Tam P., Falk K., Rotzschke O. Regulatory T cells in transplantation: does extracellular adenosine triphosphate metabolism through CD39 play a crucial role? *Transplant Rev (Orlando).* 2010; 24(2):52-66. doi:10.1016/j.ttre.2010.01.002.
13. Prabhala R.H., Neri P., Bae J.E., Tassone P., Shamma M.A., Allam C.K., Daley J.F., Chauhan D., Blanchard E., Thatte H.S., Anderson K.C., Munshi N.C. Dysfunctional T regulatory cells in multiple myeloma. *Blood.* 2006; 107(1):301-304. doi:10.1182/blood-2005-08-3101.
14. Beyer M., Schultze J.L. Regulatory T cells in cancer. *Blood.* 2006; 108(3):804-811. doi:10.1182/blood-2006-02-002774.
15. Muthu Raja K.R., Rihova L., Zahradova L., Klincova M., Penka M., Hajek R. Increased T regulatory cells are associated with adverse clinical features and predict progression in multiple myeloma. *PLoS One.* 2012; 7(10):e47077. doi:10.1371/journal.pone.0047077.
16. Foglietta M., Castella B., Mariani S., Coscia M., Godio L., Ferracini R., Ruggeri M., Muccio V., Omedé P., Palumbo A., Boccadoro M., Massaia M. The bone marrow of myeloma patients is steadily inhabited by a normal-sized pool of functional regulatory T cells irrespective of the disease status. *Haematologica.* 2014; 99(10):1605-1610. doi:10.3324/haematol.2014.105866.
17. D'Arena G., Rossi G., Laurenti L., Statuto T., D'Auria F., Valvano L., Simeon V., Giudice A., Innocenti I., De Feo V., Filosa R., Musto P. Circulating Regulatory T-Cells in Monoclonal Gammopathies of Uncertain Significance and Multiple Myeloma: In Search of a Role. *J Immunol Res.* 2016; 2016:9271469. doi:10.1155/2016/9271469.
18. Alissafi T., Hatzioannou A., Legaki A.I., Varveri A., Verginis P. Balancing cancer immunotherapy and immune-related adverse events: The emerging role of regulatory T cells. *J Autoimmun.* 2019; 104:102310.

doi:10.1016/j.jaut.2019.102310.

19. Roessner P.M., Llaó Cid L., Lupar E., Roider T., Bordas M., Schiffers C., Arseni L., Gaupel A.C., Kilpert F., Krötschel M., Arnold S.J., Sellner L., Colomer D., Stilgenbauer S., Dietrich S., Lichter P., Izcue A., Seiffert M. EOMES and IL-10 regulate antitumor activity of T regulatory type 1 CD4⁺ T cells in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia*. 2021; 35(8):2311-2324. doi:10.1038/s41375-021-01136-1.

20. Bae J., Accardi F., Hideshima T., Tai Y.T., Prabhala R., Shambley A., Wen K., Rowell S., Richardson P.G., Munshi N.C., Anderson K.C. Targeting LAG3/GAL-3 to overcome immunosuppression and enhance anti-tumor immune responses in multiple myeloma. *Leukemia*. 2022; 36(1):138-154. doi:10.1038/s41375-021-01301-6.

21. Dahlhoff J., Manz H., Steinfatt T., Delgado-Tascon J., Seebacher E., Schneider T., Wilnit A., Mokhtari Z., Tabares P., Böckle D., Rasche L., Martin Kortüm K., Lutz M.B., Einsele H., Brandl A., Beilhack A. Transient regulatory T-cell targeting triggers immune control of multiple myeloma and prevents disease progression. *Leukemia*. 2022; 36(3):790-800. doi:10.1038/s41375-021-01422-y.

22. Wang H., Wang L., Chi P.D., Wang W.D., Chen X.Q., Geng Q.R., Xia Z.J., Lu Y. High level of interleukin-10 in serum predicts poor prognosis in multiple myeloma. *Br J Cancer*. 2016; 114(4):463-468. doi:10.1038/bjc.2016.11.

23. Wang J.N., Cao X.X., Zhao A.L., Cai H., Wang X., Li J. Increased activated regulatory T cell subsets and aging Treg-like cells in multiple myeloma and monoclonal gammopathy of undetermined significance: a case control study. *Cancer Cell Int*. 2018; 18:187. doi:10.1186/s12935-018-0687-8.

Authors

Polina V. Vasilchenko

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

Laboratory assistant of the laboratory of cellular and molecular mechanisms of immunopathology

Novosibirsk, Russian Federation

p.vasilchenko@g.nsu.ru

Egor V. Batorov

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

PhD, senior researcher of the laboratory of cellular immunotherapy

Novosibirsk, Russian Federation

ebatorov@mail.ru

Tatyana A. Aristova

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

PhD, hematologist of the Hematology Department with the bone marrow transplantation unit of the Immunopathology Clinic

Novosibirsk, Russian Federation

taris06@mail.ru

Vera V. Denisova

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

PhD, head of the Hematology Department with the Bone Marrow Transplantation Unit of the Immunopathology Clinic

Novosibirsk, Russian Federation

verden@bk.ru

Darya S. Batorova

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

PhD, hematologist of the Hematology Department with the bone marrow transplantation unit of the Immunopathology Clinic

Novosibirsk, Russian Federation

sugar1983@mail.ru

Svetlana A. Sizikova

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

PhD, hematologist of the Hematology Department with the bone marrow transplantation unit of the Immunopathology Clinic

Novosibirsk, Russian Federation

svetlana_sizikova@mail.ru

Galina Y. Ushakova

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

PhD, hematologist of the Hematology Department with the bone marrow transplantation unit of the Immunopathology Clinic

Novosibirsk, Russian Federation

bmt-novosibirsk@mail.ru

Alexander A. Ostanin

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

DM, Professor, Chief Researcher of the Laboratory of Cellular Immunotherapy

Novosibirsk, Russian Federation

ostanin62@mail.ru

Elena R. Chernykh

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

DM, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Head of the Laboratory of Cellular Immunotherapy

Novosibirsk, Russian Federation

ct_lab@mail.ru