

ВПЛИВ БІОПОЛІМЕРІВ *Staphylococcus aureus* НА ФЕНОТИПОВЕ І ФУНКЦІОНАЛЬНЕ ДОЗРІВАННЯ ДЕНДРИТНИХ КЛІТИН ЛЮДИНИ *in vitro*

Л. М. Сківка¹
Ю. В. Швець¹
О. Г. Федорчук²
Н. М. Храновська³
В. В. Позур¹
Н. В. Сенчило¹

¹ННЦ «Інститут біології», Київський національний університет
імені Тараса Шевченка

²Інститут експериментальної патології, онкології
та радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України, Київ

³«Національний інститут раку», Київ

E-mail: realmed@i.com.ua

Отримано 08.09.2011

Для стимуляції дозрівання дендритних клітин *in vitro* використовують агоністи ад'ювантних рецепторів, зокрема й патогенасоційовані молекулярні патерни: ліпополісахарид, CpG ДНК, пептидоглікан тощо. Метою роботи був порівняльний аналіз здатності біополімерів *Staphylococcus aureus*: ліпотейхоевої кислоти, тейхоевої кислоти і пептидоглікану стимулювати фенотипове і функціональне дозрівання дендритних клітин людини моноцитарного походження *in vitro*. Показано, що найбільшою мірою посилення фенотипової зрілості дендритних клітин спричинювали патогенасоційовані молекулярні патерни, у складі яких присутній ліпідний компонент. Функціональну зрілість дендритних клітин стимулювали всі досліджені біополімери. Однак ліпотейхоева кислота справляла активаторний вплив у мінімальній концентрації (0,2 мкг/мл), а пептидоглікан і тейхоева кислота — у максимальній (2 мкг/мл). Усі зазначені біополімери *S. aureus* не мали токсичного впливу на дендритні клітини і їх можна використовувати для стимуляції фенотипового і функціонального дозрівання дендритних клітин *in vitro*.

Ключові слова: дендритні клітини, тейхоева кислота, ліпотейхоева кислота, пептидоглікан.

Вакцини на основі дендритних клітин (ДК) — одна з найбільш перспективних розробок у галузі імунобіотехнології. Функціональна пластичність цих клітин дає змогу не лише активувати адаптивну імунну відповідь, а й спрямовувати її [1]. Вакцини на основі плазмацитоїдних ДК (пДК) використовують для активації утворення регуляторних Т-клітин у терапії алергічних захворювань і атеросклерозу [2, 3]. Вакцинні препарати на основі міелоїдних ДК (мДК) успішно застосовують для профілактики рецидивів особливо небезпечних інфекційних захворювань, таких як малярія, а також для запобігання метастазуванню й рецидивам злоякісних новоутворень [4, 5].

Генерація ДК *in vitro* для створення на їх основі вакцин зводиться до отримання фенотипово і функціонально зрілих клітин, здатних процесувати і презентувати антигени. Активація дозрівання мДК відбувається у відповідь на прозапальні стимули, об'єднані під загальною назвою «сигнали небез-

пеки» (danger-associated molecular patterns, DAMP).

До цієї групи належать розчинні молекули, що їх експресують клітини в процесі загибелі (такі як протеїни теплового шоку, HMG-протеїни та ін.), а також так звані патогенасоційовані молекулярні патерни (ПАМП) — бактеріальний ліпополісахарид (ЛПС), пептидоглікан (ПГ), CpG-ДНК, флагелін тощо. ДК експресують дві основні категорії рецепторів: антигенахоплювальні рецептори, призначені для ендоцитозу антигенів із подальшим їх процесингом і презентацією в комплексі з МНС-молекулами, та рецептори для DAMP, або ад'ювантні рецептори [6, 7].

Одночасна активація антигенних та ад'ювантних рецепторів спричинює функціональне дозрівання ДК і посилює антигенпрезентацію. Ад'ювантні рецептори становлять родину toll-like рецепторів (TLRs), експресованих як на мДК, так і на пДК [8]. Цитокіни, зокрема фактор некрозу пухлин,

інтерлейкіни 1 і 6, також здатні сприяти дозріванню ДК, однак вони не замінюють впливу агоністів TLRs. Це пов'язано з тим, що здатність ДК презентувати процесовані антигени у комплексі з МНС II молекулами (необхідна для активації CD4+ Т-клітин) залежить від присутності у складі фагосоми лігандів TLRs [9].

Мієлоїдні ДК експресують TLRs 1–6 і 8, більша частина яких локалізована на клітинній поверхні. pДК експресують TLRs 7 і 9, локалізовані в клітинних компартментах [10]. Найбільшою мірою у модуляції антигенпрезентації ДК задіяні TLRs 2–5 і 8 [11]. ДК моноцитарного походження характеризуються змішаним профілем експресії TLRs [12, 13]. Природні й синтетичні агоністи TLRs набули широкого застосування в онкології як ад'юванти у складі протипухлинних вакцин, у тому числі й вакцин на основі ДК [14, 15]. Із цією метою використовують як ліганди окремих TLRs у різних концентраціях [16], так і комбінації різних агоністів [17–19]. Ефективними також є агоністи TLRs у поєднанні з анти-CD40 антитілами, IFN- γ і простагландином E [20, 21]. Одноставної думки з приводу оптимального ад'ювантного компонента для стимуляції дозрівання ДК *in vitro* фахівці поки що не досягли і тому пошук його ще триває.

Метою цієї роботи була порівняльна оцінка здатності природних лігандів TLRs: ліпoteйхоевої кислоти *Staphylococcus aureus* (ЛТК), а також тейхоевої кислоти (ТК) і ПГ *Staphylococcus aureus* Wood 46 стимулювати функціональне дозрівання ДК людини моноцитарного походження *in vitro*.

Матеріали і методи

ДК отримували з моноцитів периферичної крові п'яти практично здорових осіб. Для цього виділяли мононуклеарні лейкоцити методом центрифугування з використанням градієнта щільності фікол-верографіну ($\rho = 1,077$). Із загального пулу мононуклеарів відділяли моноцити за здатністю прикріплюватися до пластикової поверхні.

Моноцити культивували впродовж 8 діб у середовищі RPMI 1640 (Sigma, США) з додаванням 10% аутологічної плазми і фактора дозрівання G-CSF (Grastim, Dr.Reddy's Laboratories Ltd, Індія) при 37 °C та 5% CO₂.

На 7-му добу культивування до ДК як додатковий стимул для дозрівання додавали такі ПАМП: ПГ та ТК клітинної стінки *S. aureus* Wood 46, отримані на кафедрі мікробіології та загальної імунології Київсь-

кого національного університету імені Тараса Шевченка за описаними раніше методиками [22, 23], а також ЛТК *S. aureus* і ЛПС *E. coli* (Sigma, США) у концентраціях: 0,1; 0,25; 0,5; 1 та 2 мкг/мл.

На 8-му добу культивування аналізували фенотипові властивості клітин, а також їхні функціональні властивості в реакції змішаної культури лімфоцитів (ЗКЛ), для чого до ДК додавали алогенні лімфоцити (ЛЦ) у співвідношенні ДК:ЛЦ — 1:10 та інкубували впродовж 3 діб.

Після цього визначали ДНК-статус лімфоцитів, що проліферували, методом точної цитофлуориметрії. Після інкубації з ДК лімфоцити інкубували в 1%-му розчині Triton X-100 у забуференому фізіологічному розчині з додаванням РНК-ази (25 мкг/мл) і ДНК-тропного барвника пропідій-йодиду (PI) (5 мкг/мл).

Далі клітини відмивали і фіксували 1%-м розчином параформальдегіду. Аналізували проби з використанням проточного цитофлуориметра FACScan (Becton Dickinson, США) і програми обробки даних ModFit.

Для визначення фенотипових властивостей ДК обробляли моноклональними антитілами анти-CD86-FITC (Dako, Данія) та анти-HLA-DR-PE (Сорбент, Росія) і фіксували 1%-м розчином параформальдегіду.

Аналізували фенотип ДК, використовуючи проточний цитофлуориметр FACScan (Becton Dickinson, США) і програми обробки даних CellQuest.

Результати та обговорення

Вплив ПАМП на фенотипові властивості ДК *in vitro*

На першому етапі досліджень визначали вплив ПАМП, застосованих у різних концентраціях, на фенотипові особливості ДК моноцитарного походження, вирощених *in vitro*. Зважаючи на те, що з літератури відома дозова залежність імуномодуляторної дії ПАМП [24, 25], для дослідження було обрано такі концентрації бактеріальних полімерів: 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0 мкг/мл. Бактеріальні полімери додавали до ДК наприкінці культивування, тобто на 7-му добу. У такий термін, як правило, додають субстанції, що додатково стимулюють дозрівання ДК, зокрема ЛПС. Саме тому ЛПС *E. coli* в наших дослідженнях слугував контролем. Для визначення ролі ПАМП у дозріванні ДК нами було обрано підхід вирощування ДК *in vitro* лише з додаванням до моноцитів периферичної крові фактора росту гранулоцитів G-CSF.

Як показали результати досліджень, серед трьох досліджуваних біополімерів *S. aureus* більш ефективними щодо індукції експресії поверхневих маркерів ДК CD86 та HLA-DR виявилися ЛТК та ПГ (рис. 1).

ЛТК — одна з невід’ємних складових клітинної стінки грампозитивних бактерій, яка характеризується потужною імуномодуляторною і прозапальною активністю. Структурна складність препаратів ЛТК тривалий час не дозволяла з’ясувати, які саме компоненти відповідальні за прозапальну активацію ефекторних клітин природної резистентності. Інтенсивні дослідження з цього приводу за останні 10 років дали змогу виявити у структурі ЛТК *S. aureus* та деяких інших грампозитивних бактерій ліпопротеїн, відповідальний за імуномодуляторні властивості цього бактеріального біополімера [26]. Окрім того, існують дані щодо присутності в складі комерційних препаратів ЛТК домішок ендотоксину [27].

Як видно з рис. 1, А, здатність ЛПС, використаного як контрольний ПАМП, стимулювати експресію ДК HLA-DR не залежала від концентрації препарату, тоді як експресія CD86 збільшувалася зі зростанням концентрації ПАМП і сягала максимального рівня за концентрації 1–2 мкг/мл.

Саме в цій концентрації ЛПС найчастіше застосовують з метою стимуляції кінцевого дозрівання ДК різного походження (моноцитарних і кістковомозкових) *in vitro*. Чітка дозова залежність стимуляторної здатності ЛПС була відсутня.

За результатами наших досліджень рівень експресії костимуляторних молекул ДК за впливу на них ЛТК (рис. 1, В) практично не відрізнявся від рівня в пробах клітин, стимульованих ЛПС (рис. 1, А).

А в пробах ДК, стимульованих ЛТК у низькій концентрації, рівень експресії CD86 був навіть вищим, ніж у пробах клітин, стимульованих такою самою кількістю ЛПС. Дозова залежність впливу ЛТК на експресію костимуляторних молекул ДК також була відсутня.

Натомість ПГ справляв стимуляторний вплив щодо експресії HLA-DR та CD86 у додозалежний спосіб (рис. 1, С). Причому оброблення ДК препаратом у найвищій концентрації спричиняло навіть більш виразну стимуляцію експресії зазначених молекул порівняно з ЛПС та ЛТК.

ТК найменшою мірою стимулювала експресію поверхневих маркерів зрілості ДК порівняно з іншими досліджуваними бактеріальними полімерами (рис. 1, D). Відмітною особливістю стимуляторного ефекту ТК було те, що експресія HLA-DR та CD86 під впливом цього біополімеру посилювалася однаковою мірою, тимчасом як усі вищезазначені ПАМП більше посилювали експресію HLA-DR і менше — CD86. Чіткої дозової залежності впливу ТК на експресію поверхневих маркерів зрілості ДК не спостерігали.

Однак слід зазначити, що збільшення концентрації препарату супроводжувалося зниженням стимуляторного ефекту, що може бути пов’язаним з токсичністю ТК [28].

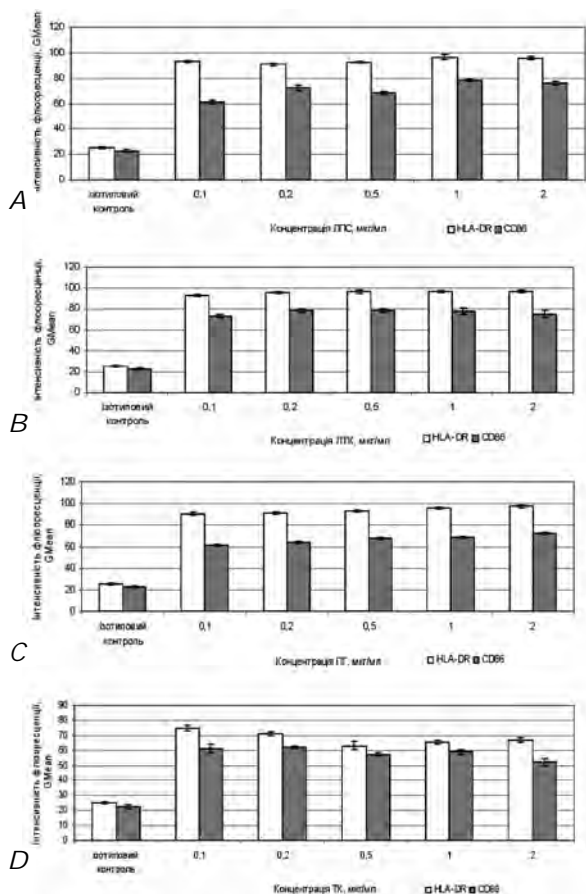


Рис. 1. Інтенсивність флуоресценції поверхневих маркерів ДК:

А — стимуляція ліпополісахаридом; В — стимуляція ліпотейхоевою кислотою; С — стимуляція пептидогліканом; D — стимуляція тейхоевою кислотою

Вплив ПАМП на функціональні властивості ДК *in vitro*

Можна припустити, що зрілі за фенотиповими властивостями ДК є також зрілими функціонально. Однією з ключових властивостей зрілих ДК є здатність активно стимулювати розвиток специфічних до антигену клонів Т-клітин *in vivo*. Після взаємодії зі зрілими ДК Т-клітини активуються, проліферують і далі диференціюють, утворюючи пул ефекторних клітин. Здатність стимулювати проліферацію лімфоцитів з боку ДК *in vitro*, як правило, вивчають з використанням реакції ЗКЛ.

Наступний етап досліджень було присвячено вивченню проліферативної активності лімфоцитів шляхом встановлення їхнього ДНК-статусу і визначення проліферативного індексу.

Проліферативним індексом вважають відсоток клітин, які активно діляться і перебувають в S- та G2-M-фазах клітинного циклу. Як відомо, за умов відсутності активної імунної відповіді проліферативний індекс лімфоцитів периферичної крові практично здорової людини становить близько 10% клітин [29].

Як позитивний контроль проліферації Т-лімфоцитів ми використовували клітини, стимульовані Т-клітинним мітогеном — фітогемаглютиніном (ФГА). Слід відзначити, що зростання проліферативного індексу в популяції лімфоцитів, стимульованих ФГА, відбувалося завдяки істотному збільшенню фракції клітин у S-фазі й помірному зростанню клітин у фазі G2-M (рис. 2). Натомість, стимуляція проліферації Т-клітин з боку ДК відбувалася, в основному, за рахунок зростання кількості клітин у G2-M-фазі клітинного циклу і не завжди супроводжувалася збільшенням кількості клітин у S-фазі. Це є відображенням відмінності механізмів індукування проліферативної активності Т-лімфоцитів з боку мітогенів і ДК.

Значення проліферативних індексів у пробах лімфоцитів, стимульованих ДК, були нижчі за аналогічний показник у Т-клітин, активованих до проліферації ФГА. Найвищі значення проліферативного індексу зареєстровано у пробах лімфоцитів, культивованих з ДК, дозрівання яких було стимульовано ТК і ПГ у максимальній концентрації. Максимальні проліферативні індекси у пробах з ДК, дозрівання яких проходило у присутності ЛПС та ЛТК, були дещо нижчими.

Незбіжність результатів фенотипового і функціонального стану ДК за впливу ПАМП може пояснюватись тим, що функціональне дозрівання ДК супроводжується не лише посиленням експресії коstimуляторних молекул, а й стимуляцією їхньої секреторної активності тощо. Можливо, ТК і ПГ більшою мірою стимулювали секреторну активність ДК, що й позначилося на потужнішій активації проліферації алогенних Т-лімфоцитів. Однак це припущення потребує експериментальної перевірки.

Детальний аналіз залежності функціонального стану ДК від концентрації ПАМП показав таке. Функціональна активність ДК, стимульованих ЛПС, не залежала від концентрації препарату (рис. 2, А). Найвищі значення проліферативного індексу спостерігали у пробах Т-клітин, культивованих з ДК, що активувалися ЛПС у концентрації 0,2 мкг/мл та 2 мкг/мл.

Додатковим критерієм активації Т-лімфоцитів з боку ДК у реакції ЗКЛ є рівень їх апоптозу (індукований активацією апоптоз) [30]. Як впливає з рис. 3, кількість апоптичних клітин у пробах лімфоцитів, стимульованих ФГА, в 1,5 раза перевищувала аналогічний показник у суспензії нестимульованих лімфоцитів.

Слід також відзначити значну індивідуальну варіабельність значень проліферативного індексу в межах групи здорових донорів, кров яких було використано для досліджень. Вплив ЛТК на функціональний статус ДК також не мав чітко вираженої дозової залежності. Однак максимальне значення проліферативного індексу зареєстровано у пробах з ДК, дозрівання яких відбувалось у присутності ЛТК у мінімальній концентрації (рис. 2, В). Стимуляторний ефект ТК щодо функціональної активності ДК у реакції ЗКЛ також не мав дозової залежності

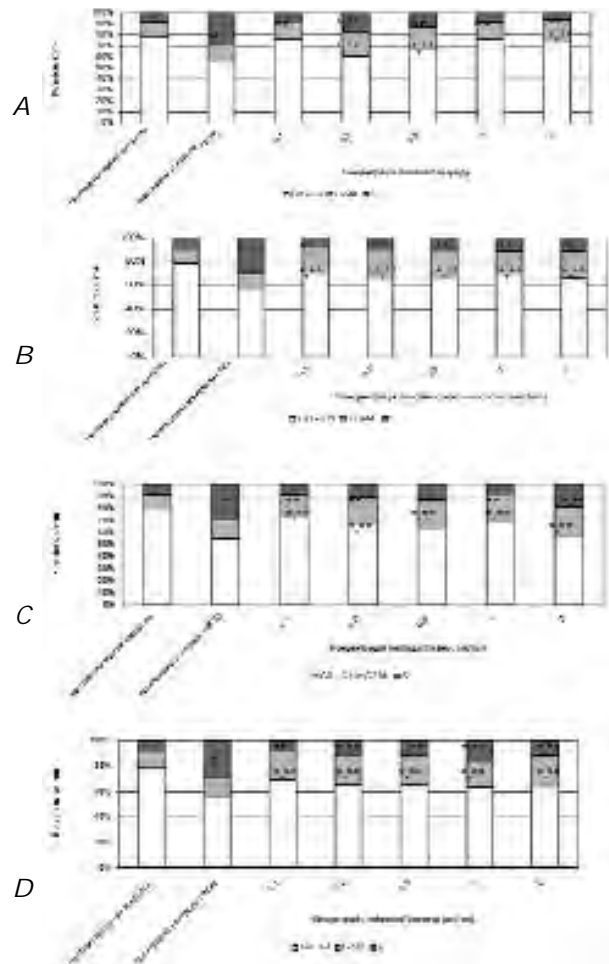


Рис. 2. Проліферативна активність лімфоцитів після трьох діб інкубації з алогенними ДК, обробленими:

А — ліпополісахаридом; В — ліпотейхоєвою кислотою; С — пептидогліканом;

Д — тейхоєвою кислотою.

* — $P < 0,05$ порівняно з нестимульованим контролем;

** — $P < 0,05$ порівняно з позитивним контролем

(рис. 2, D). Натомість, вплив ПГ на функціональну активність ДК мав дозозалежний характер, так само, як і в разі експресії поверхневих маркерів ДК.

У пробах лімфоцитів, культивованих з ДК, що дозрівали в присутності ЛПС (рис. 3, A), середня кількість апоптичних клітин була нижча за таку в пробах з ФГА.

Чіткої залежності між рівнем апоптозу і проліферативним індексом не було, однак максимальний рівень апоптозу лімфоцитів зареєстровано у пробах з найвищим проліферативним індексом (лімфоцити, культивовані з ДК, обробленими ЛПС у концентрації 2 мкг/мл).

У пробах з ДК, що дозрівали в присутності ЛТК (рис. 3, B) також не спостерігався зв'язок між проліферативним індексом і рівнем апоптозу лімфоцитів у реакції ЗКЛ. Однак максимальний рівень апоптозу так само зафіксовано у пробах, де проліферативний індекс був найвищим (концентрація ЛТК 0,2 мкг/мл).

Повністю був відсутній корелятивний зв'язок між рівнем активації проліферації та рівнем апоптозу і в пробах з ДК, стимульованих до дозрівання ТК (рис. 3, C). Що ж до лімфоцитів, культивованих з ДК, дозрівання яких було індуковано ПГ, то тут спос-

терігалася зворотно пропорційна залежність між проліферативним індексом і рівнем апоптозу лімфоцитів (рис. 3, D).

Отримані результати вказують на те, що рівень апоптозу лімфоцитів у реакції ЗКЛ з ДК не відображує рівня їхньої проліферативної активності й у цьому разі не може бути використаний для оцінки активаторного впливу ДК.

Таким чином, усі застосовані в роботі біополімери *S. aureus* спричиняють фенотипове і функціональне дозрівання ДК людини моноцитарного походження, що виявляється в посиленні експресії клітинами HLA-DR та CD86 молекул і в стимуляції проліферації алогенних Т-лімфоцитів у ЗКЛ відповідно.

Стимуляторний вплив ПАМП на експресію ДК HLA-DR та CD86 молекул не залежав від концентрації, за винятком ПГ, характер стимуляторної дії якого мав чітко виражену дозову залежність.

Основна відмінність впливу ПГ на клітини природного імунітету, у тому числі й ДК, від впливу решти використаних нами ПАМП полягає у відмінності рецепторного сигналіngu.

ЛПС, ЛТК і ТК розпізнаються TLR2 або/і TLR4. Трансдукція сигналу від цих рецепторів відбувається із залученням адаптерного протеїну MyD88 з наступною активацією транскрипційного фактора NF-κB і MAPK.

ПГ розпізнається TLR2 і/або цитозольними сенсорами Nod1 and Nod2, у сигнальному шляху яких активація NF-κB відбувається із залученням інших адаптерів (RICK/Rip2/CARDIAK) [31]. Можливо саме у цьому сигнальному шляху кількість стимулювання позначається на наслідках активації.

Найбільшою мірою посилення експресії поверхневих маркерів зрілості ДК спричинювали ПАМП, у складі яких присутній ліпідний компонент, — ЛПС та ЛТК.

Функціональна зрілість ДК, оцінена в наших дослідженнях за проліферативним індексом алогенних Т-лімфоцитів у ЗКЛ, істотно зростала за впливу генерованих ДК. Причому всі використані біополімери золотистого стафілокока справляли стимуляторний вплив на функціональну активність ДК, порівнянний із впливом ЛПС, традиційно використовуваного у протоколах отримання ДК *in vitro* природного агоністу TLRs.

Особливості стимуляторного впливу різних ПАМП полягали в тому, що для досягнення максимальної функціональної активності ДК ліпідвмісних ПАМП достатньо було невеликої концентрації (0,2 мкг/мл), тимчасом як ПГ і ТК спричинювали високий рівень функціонального дозрівання ДК лише в максимальних концентраціях (2 мкг/мл).

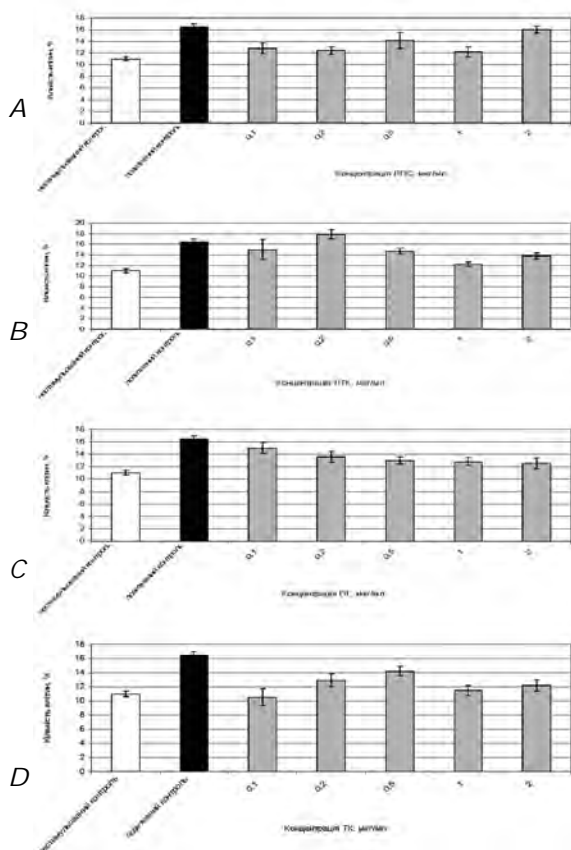


Рис. 3. Рівень апоптозу лімфоцитів після трьох діб інкубації з алогенними ДК, обробленими: A — ліпополісахаридом; B — ліпотейхоєвою кислотою; C — пептидогліканом; D — тейхоєвою кислотою

ЛІТЕРАТУРА

1. Hashimoto D., Miller J., Merad M. Dendritic cell and macrophage heterogeneity in vivo // *Immunity*. — 2011. — V. 35, N 3. — P. 323–335.
2. Cantillo J. F., Puerta L. New approaches for allergen-specific immunotherapy // *Biomedica*. — 2010. — V. 30, N 3. — P. 440–453.
3. Manthey H. D., Zerneck A. Dendritic cells in atherosclerosis: functions in immune regulation and beyond // *Thromb. Haemost.* — 2011. — V. 106, N 5. — P. 772–778.
4. Overstreet M. G., Cockburn I. A., Chen Y. C., Zavala F. Protective CD8 T cells against *Plasmodium* liver stages: immunobiology of an 'unnatural' immune response // *Immun. Rev.* — 2008. — V. 225. — P. 272–283.
5. Palucka K., Ueno H., Banchereau J. Recent developments in cancer vaccines // *J. Immun.* — 2011. — V. 186, N 3. — P. 1325–1331.
6. Medzhitov R., Janeway C. A. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition // *Cell*. — 1997. — V. 91, N 3. — P. 295–308.
7. Janeway C. A., Medzhitov R. Innate immune recognition // *Annu. Rev. Immun.* — 2002. — V. 20. — P. 197–216.
8. Zarembek K. A., Godowski P. J. Tissue Expression of Human Toll-Like Receptors and Differential Regulation of Toll-Like Receptor mRNAs in Leukocytes in Response to Microbes, Their Products, and Cytokines // *J. Immunol.* — 2002. — N 168. — P. 554–561.
9. Gilboa E. DC-based cancer vaccines // *J. Clin. Invest.* — 2007. — V. 117, N 5. — P. 1195–1203.
10. Seya T., Funami K., Taniguchi M., Matsumoto M. Antibodies against human Toll-like receptors (TLRs): TLR distribution and localization in human dendritic cells // *J. Endotox. Res.* — 2005. — V. 11, N 6. — P. 369–374.
11. Iwasaki A., Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune response // *Nat. Immun.* — 2004. — V. 5, N 10. — P. 987–994.
12. Hoene V., Peiser M., Wanner R. Human monocyte-derived dendritic cells express TLR9 and react directly to the CpG-A oligonucleotide D-19 // *J. Leukoc. Biol.* — 2006. — V. 80, N 6. — P. 1328–1336.
13. Heinemann D. E., Peters J. H. Follicular dendritic-like cell derived from human monocytes // *BCM Immun.* — 2005. — N 23. — P. 1–13.
14. Shimizu K., Fujii S. An adjuvant role of in situ dendritic cells (DCs) in linking innate and adaptive immunity // *Front. Biosci.* — 2008. — N 13. — P. 6193–6201.
15. Hemmi H., Akira S. TLR signaling and the function of dendritic cells // *Chem. Immun. Allergy*. — 2005. — N 86. — P. 120–135.
16. Seya T., Akazawa T., Tsujita T., Matsumoto M. Role of toll-like receptors in adjuvant-augmented immune therapy // *Evid. Based. Complement. Alternat. Med.* — 2006. — N 1. — P. 31–38.
17. Tada H., Aiba S. Synergistic effect of Nod1 and Nod2 agonists with toll-like receptor agonists on human dendritic cells to generate interleukin-12 and T-helper type 1 cells // *Infect. Immun.* — 2005. — N 12. — P. 7967–7976.
18. Hermans I. F., Silk J. D. Dendritic cell function can be modulated through cooperative actions of TLR ligands and invariant NKT cells // *J. Immun.* — 2007. — N 5. — P. 2721–2729.
19. Wells J. W., Cowled C. J. Combined triggering of dendritic cell receptors results in synergistic activation and potent cytotoxic immunity // *Ibid.* — 2008. — N 5. — P. 3422–3431.
20. Dauer M., Lam V. Combined use of toll-like receptor agonists and prostaglandin E (2) in the FastDC model: rapid generation of human monocyte-derived dendritic cells capable of migration and IL-12p70 production // *J. Immun. Meth.* — 2008. — N 2. — P. 97–105.
21. Boullart A. C., Aarntzen E. H. Maturation of monocyte-derived dendritic cells with Toll-like receptor 3 and 7/8 ligands combined with prostaglandin E (2) results in high interleukin-12 production and cell migration // *Cancer Immun. Immunother.* — 2008. — N 11. — P. 1589–1597.
22. Pozur V. K., Mikhal'skii L. A. Heterogeneity of peptidoglycans of bacterial origin // *Ukr. Biokhim. Zh.* — 1995. — N 1. — P. 96–100.
23. Skivka L. M., Potebnya G. P. Influence of teichoic acid from *S. aureus* on metabolic activity of macrophages and cytotoxic activity of splenocytes of mice bearing Lewis lung carcinoma // *Exp. Oncol.* — 2008. — N 3. — P. 220–223.
24. Li J., Moran T. Regulation of IL-8 and IL-1beta expression in Crohn's disease associated NOD2/CARD15 mutations // *Hum. Mol. Genet.* — 2004. — V. 13, N 16. — P. 1715–1725.
25. Jacobsen S., Andersen P. H., Toelboell T. Dose dependency and individual variability of the lipopolysaccharide-induced bovine acute phase protein response // *J. Dairy. Sci.* — 2004. — V. 87, N 10. — P. 3330–3339.
26. Hashimoto M., Furuyashiki M. Evidence of immunostimulating lipoprotein existing in the natural lipoteichoic acid fraction // *Infect. Immun.* — 2007. — V. 75, N 4. — P. 1926–1932.
27. Gao J. J., Xue Q. Commercial preparations of lipoteichoic acid contain endotoxin that contributes to activation of mouse macrophages *in vitro* // *Ibid.* — 2001. — V. 69, N 2. — P. 751–757.
28. Xia G., Kohler T., Peschel A. The wall teichoic acid and lipoteichoic acid polymers of *Staphylococcus aureus* // *Int. J. Med. Microbiol.* — 2010. — N 2–3. — P. 148–154.
29. Меньшиков В. В. Клиническая лабораторная диагностика / Частные аналитические технологии в клинической лаборатории. — М.: Лабинформ-РАМЛД, 1999. — С. 170–177.

30. Brenner D., Krammer P. H., Arnold R. Concepts of activated T cell death // Crit. Rev. Oncol. Hematol. — 2008. — V. 66, N 1. — P. 52–64.

31. Franchi L., Park J. H. Intracellular NOD-like receptors in innate immunity, infection and disease // Cell. Microbiol. — 2008. — V. 10, N 1. — P. 1–8.

**ВЛИЯНИЕ БИОПОЛИМЕРОВ
Staphylococcus aureus НА ФЕНОТИПИ-
ЧЕСКОЕ И ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ
СОЗРЕВАНИЕ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК
ЧЕЛОВЕКА *in vitro***

Л. М. Скивка¹
Ю. В. Швец¹
А. Г. Федорчук²
Н. Н. Храновская³
В. В. Позур¹
Н. В. Сенчило¹

¹ННЦ «Институт биологии»,
Киевский национальный университет
имени Тараса Шевченко

²Институт экспериментальной патологии,
онкологии и радиобиологии
им. Р. Е. Кавецкого, Киев

³Национальный институт рака, Киев

E-mail: realmed@i.com.ua

Для стимуляции созревания дендритных клеток *in vitro* используются агонисты адьювантных рецепторов, в частности и патогенассоциированные молекулярные паттерны: липополисахарид, CpG ДНК, пептидогликан и др. Целью работы был сравнительный анализ способности биополимеров *Staphylococcus aureus*: липотейхоевой кислоты, тейхоевой кислоты и пептидогликана стимулировать фенотипическое и функциональное созревание дендритных клеток человека моноцитарного происхождения *in vitro*. Показано, что в наибольшей степени усиление фенотипической зрелости дендритных клеток вызывали патогенассоциированные молекулярные паттерны, в составе которых присутствует липидный компонент. Функциональную зрелость дендритных клеток стимулировали все исследованные биополимеры. Однако липотейхоевая кислота активировала функции дендритных клеток в минимальной концентрации (0,2 мкг/мл), а пептидогликан и тейхоевая кислота — в максимальной (2 мкг/мл). Все указанные биополимеры *S. aureus* не оказывали токсического воздействия на дендритные клетки и могут быть использованы для стимуляции их фенотипического и функционального созревания дендритных клеток *in vitro*.

Ключевые слова: дендритные клетки, тейхоевая кислота, липотейхоевая кислота, пептидогликан.

**THE EFFECT OF *Staphylococcus aureus*
BIOPOLYMERS ON PHENOTYPIC AND
FUNCTIONAL MATURATION OF HUMAN
DENDRITIC CELLS *in vitro***

L. M. Skivka¹
Yu. V. Shvets¹
O. G. Fedorchuk²
N. M. Khranovska³
V. V. Pozur¹
N. V. Senchilo¹

¹Educational and Scientific Center
«Institute of Biology», Taras Shevchenko
National University, Kyiv

²Kavetsky Institute Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology, Kyiv

³National Cancer Institute, Kyiv

E-mail: realmed@i.com.ua

To stimulate maturation of dendritic cells *in vitro* adjuvant receptors agonists are used, including Pathogen-Associated Molecular Patterns: lipopolysaccharide, CpG DNA, peptidoglycan etc. The aim of the work was to perform the comparative analysis of the ability of biopolymers of *Staphylococcus aureus*: lipoteichoic acid, teichoic acid and peptidoglycan to stimulate phenotypic and functional maturation of human monocyte-derived dendritic cells *in vitro*. It was shown that Pathogen Associated Molecular Patterns with lipid constituent caused more expressed phenotypic maturity of dendritic cells. All of the biopolymers used in the investigation induced functional maturation of dendritic cells, but at the different concentration: lipoteichoic acid — at the minimal concentration (0.2 µg/ml), teichoic acid and peptidoglycan — at the maximal (2 µg/ml). All the investigated *S. aureus* biopolymers did not exert toxic effect on dendritic cells and could be used for stimulation of its maturity *in vitro*.

Key words: dendritic cells, teichoic acid, lipoteichoic acid, peptidoglycan.