

И.О. Чикилева, И.Ж. Шубина, М.В. Киселевский

ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» РАМН, Москва

Влияние регуляторных Т-клеток на функциональную активность натуральных киллеров при иммунотерапии злокачественных опухолей

Одним из наиболее распространенных доводов против иммунотерапии на основе активированных интерлейкином 2 (ИЛ-2) натуральных киллеров является вероятность активации под действием ИЛ-2 одновременно с ними регуляторных Т-клеток. В работе определяли число регуляторных Т-клеток $Foxp3+CD4+CD25+$ в образцах мононуклеарных клеток крови здоровых доноров, которые культивировали в присутствии или без интерлейкина-2. Установлено заметное повышение процентной доли Т-клеток $CD4+CD25+$ в присутствии ИЛ-2. Однако доля регуляторных Т-клеток $Foxp3+CD4+CD25+$ увеличивалась мало, оставалась на том же уровне или даже снижалась по сравнению с содержанием мононуклеарных клеток, которые культивировали без ИЛ-2. Судя по отсутствию экспрессии $Foxp3$, большую часть Т-клеток $CD4+CD25+$, очищенных из образцов активированных мононуклеарных клеток крови, составили активированные Т-хелперные лимфоциты, а не регуляторные. Более того, добавление предполагаемых регуляторных Т-клеток с фенотипом $CD4+CD25+$ к образцам активированных натуральных киллеров не подавляло их цитотоксических реакций.

Ключевые слова: иммунотерапия, натуральные киллеры, регуляторные Т-клетки, $FoxP3$.

60

Введение

Одна из самых важных неразрешенных задач медицины — поиск эффективных и безопасных способов лечения рака. В 80-е гг. XX в. работы Розенберга дали надежду на возможность использования ресурсов иммунной системы для терапии пациентов с неоплазиями [1]. Розенберг основывал свои методы терапии главным образом на активации эффекторов врожденного иммунитета — натуральных киллеров (НК). Открытие в 1994 г. метода генерации *in vitro* дендритных клеток (ДК), самых мощных профессиональных антиген-презентирующих клеток, обусловило дальнейший поиск специфических опухолевых антигенов и попытки активации более мощной и специфической адаптивной иммунной системы для разрушения опухолей [2]. Однако последующие работы показали, что, к сожалению, терапия на основе активации эффекторов

адаптивной иммунной системы не способна эффективно бороться со злокачественно трансформированными опухолевыми клетками и в лучшем случае может служить лишь для продления безрецидивного периода после радикального удаления опухоли или химиотерапии [3]. Объяснений этому много. Во-первых, многие опухоли по своему антигенному составу практически не отличаются от здоровых тканей, и зачастую опухолевые клетки полностью теряют или в значительной степени подавляют экспрессию на своей поверхности молекул презентации антигенов главного комплекса гистосовместимости I типа (МНС I). Опухоли обычно гетерогенны. Даже в случае присутствия клонов опухолевых клеток, которые распознаются адаптивной иммунной системой, ее действие часто приводит к неблагоприятному для организма процессу «иммуноредактирования» опухоли, т.е. к отбору наиболее агрессивных клонов, устойчивых к реакциям цитотоксических Т-лимфоцитов [4].

I.O. Chikileva, I.Zh. Shubina, M.V. Kiselevsky

Establishment of the Russian Academy for Medical Sciences N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS

Influence of regulatory t cells on the functioning of natural killer cells during cancer immunotherapy

One of the common arguments against cancer immunotherapy based on natural killer (NK) cells activated in the presence of interleukin-2 (IL-2) is the probability of the activation of regulatory T cells (Tregs) by IL-2 besides NK cells. Thus, we have monitored numbers of $FoxP3+CD4+CD25+$ T cells in the samples of healthy volunteers' peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) cultured with or without IL-2. We observed marked increase in the percentages of the $CD4+CD25+$ T cells in the presence of IL-2. Proportions of $Foxp3+CD4+CD25+$ T cells feebly increased, remained on the same level or even decreased compared to PBMCs cultured without exogenous IL-2. Based on the absence of $FoxP3$ expression, most of the $CD4+CD25+$ T cells purified from IL-2 activated PBMCs were not Tregs, but activated Th cells. Moreover, the addition of the purified supposed Tregs to samples of activated NK cells never inhibited their cytotoxic reactions.

Key words: immunotherapy, natural killers, regulatory T-cells, $FoxP3$.

Таким образом, в наши дни опять возник и возрос интерес к противоопухолевому воздействию НК, которые способны распознавать и уничтожать опухолевые клетки с измененными или утерянными молекулами МНС I. Наша исследовательская группа показала, что для лечения опухолевых серозитов эффективна терапия на основе введения МНК, активированных ИЛ-2 (лимфокин-активированных киллеров — ЛАК), или прямого внутриспирального введения ИЛ-2 в низких дозах [5–7]. Главные противоопухолевые эффекторы среди активированных МНК — это натуральные киллеры. Эффективность ЛАК-терапии составила 88% (71% — полный ответ, 17% — частичный ответ). Японские исследователи с успехом применяли ЛАК для профилактики развития рецидивов после радикального удаления опухоли и/или химиотерапии [8]. Удачной комбинацией для лечения злокачественных новообразований оказалось сочетание противоопухолевой ДК-вакцины и ЛАК [9]. Другая группа исследователей продемонстрировала, что сочетание ЛАК с таргетной терапией на основе моноклональных антител к опухолевым антигенам (например, антитела ритуксимаб, направленные против В-лимфомы) существенно увеличивает эффективность таргетной терапии и позволяет применять ее в отношении пациентов с опухолями, устойчивыми к действию монотерапии на основе одних лишь моноклональных антител [10]. Следует отметить, что НК через свой рецептор иммуноглобулинов CD16 распознают специфические моноклональные антитела, связавшиеся с опухолевой клеткой. Далее они осуществляют цитотоксическую реакцию, опосредованную антителами, эффективно убивая опухолевые клетки. В отличие от химиотерапии, терапия на основе активированных НК не вызывает серьезных побочных эффектов, стимулирует иммунную систему пациентов и улучшает их общее состояние [5].

Одним из факторов, снижающих эффективность противоопухолевой иммунотерапии, считают Трег, которые способны подавлять активность практически всех эффекторов иммунной системы, включая ДК, цитотоксические Т-лимфоциты и НК [11]. Ранее фенотип их характеризовали как CD4⁺CD25⁺. CD4 — маркер Тх-клеток, а CD25 — компонент рецептора ИЛ-2, маркер активации. Однако более поздние исследования показали, что для точной характеристики Трег необходимо учитывать экспрессию транскрипционного фактора супрессии *FoxP3* [12]. Общеизвестно, что ИЛ-2 — один из важнейших факторов пролиферации и активации Трег [13]. До сих пор многие методики выделения Трег и методы системного удаления Трег направлены именно на субпопуляцию CD4⁺CD25⁺ Т-лимфоцитов, которые считаются Трег. В связи с этим целью нашей работы стала, во-первых, оценка доли истинных Трег среди CD4⁺CD25⁺ Т-лимфоцитов, выделенных из МНК, активированных ИЛ-2, а, во-вторых, определение степени ингибирования НК CD4⁺CD25⁺-фракцией Т-лимфоцитов.

Материалы и методы

Очистка клеток и их активация

В работе использовали гепаринизированные препараты лейкомагсы из крови 10 доноров, взятой при их информированном согласии. МНК получали из периферической крови доноров путем градиентного центрифугирования в растворе фиколла с плотностью 1,077 г/см³ (ПанЭко, Россия). Для активации их инкубировали в присутствии ИЛ-2 (1000 м.е./мл) от 2 до 20 сут.

CD4⁺CD25⁺ Трег очищали из МНК, которые культивировали с ИЛ-2 не менее 10 сут при помощи

магнитной сепарации с использованием набора для выделения CD4⁺CD25⁺ Трег Dynabeads[®] for the isolation of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells (Dyna, США).

Определение активности Натуральных киллеров.

Цитотоксический тест

Для определения НК-активности применяли стандартный МТТ-тест (thiazolyl blue tetrazolium bromide) (5 мг/мл) (ПанЭко, Россия) в отношении НК-чувствительной линии эритромиелобластного лейкоза человека К-562. В лунки плоскодонной 96-луночной планшеты (Corning Incorporated COSTAR, США) вносили по 100 мкл суспензии К-562, к ним добавляли МНК каждого из образцов (соотношение эффекторы/мишени — 2:1). В некоторые лунки добавляли различное количество очищенных Трег. Конечный объем в каждой из лунок был постоянным и составлял 200 мкл. В качестве контроля использовали отдельно культивируемые клетки К-562, а также МНК отдельно или с добавлением Трег.

Цитометрический анализ и флуоресцентная микроскопия

Фенотипические характеристики клеток определяли при помощи многоцветного флуоресцентного окрашивания согласно инструкциям производителей. Подсчитывали клетки в гейте (области) лимфоцитов. Были использованы флуоресцентные конъюгаты антител к следующим человеческим антигенам: CD3 (фикоэритрин — PE) (Beckman-Coulter, США), CD16 (флуоресцеинизотиоцианат — FITC) (Beckman-Coulter, США), NKG2D (PE) (MiltenyiBiotec, Германия), NKp30 (PE) (MiltenyiBiotec, Германия), CD56 (фикоцианин 5 — PC5) (Beckman-Coulter, США), CD56 (аллофикоцианин — APC) (Beckman-Coulter, США), CD4 (PE) (Beckman-Coulter, США), CD25 (FITC) (Beckman-Coulter, США), HLA-DR (PE) (Beckman-Coulter, США). Уровень экспрессии *FoxP3* определяли при помощи внутриклеточного окрашивания клеток моноклональными антителами к *FoxP3* (APC) (Miltenyi Biotec Inc., Германия). Измерения проводили на проточном цитометре FACSCalibur (BD Biosciences, США). Данные анализировали при помощи программы WinMDI 2.8.

Для флуоресцентной микроскопии суспензию клеток, приготовленных так же, как и для проведения цитометрии, центрифугировали при 1500 об/мин в течение 5 мин и ресуспендировали клеточный осадок в 5 мкл 1,5% параформа в фосфатно-солевом буфере (PBS). Суспензию помещали на стекла, покрытые полилизинном, и высушивали. Далее добавляли 4 мкл 50% глицерина в PBS, накрывали покровными стеклами и анализировали посредством видеосистемы AxioPlan 2 Imaging (Zeiss, Германия).

Результаты и обсуждение

МНК, активированные ИЛ-2 (аМНК), представлены, главным образом, активированными Т-лимфоцитами, НК и НКТ-клетками, которые наряду с Т-клеточным рецептором (ТКР) несут маркеры, свойственные НК, и сочетают функциональные особенности, свойственные НК и Т-лимфоцитам (рис. 1). Т-клетки характеризовали по экспрессии компонента ТКР CD3, а НК — по экспрессии их маркеров CD16 и CD56. Лимфоциты под воздействием ИЛ-2 активно пролиферируют. НК увеличиваются в размерах и приобретают неправильную форму, характерную для больших гранулярных лимфоцитов.

Фенотипическое исследование образцов МНК, показало, что на 3-и сут инкубации в присутствии ИЛ-2

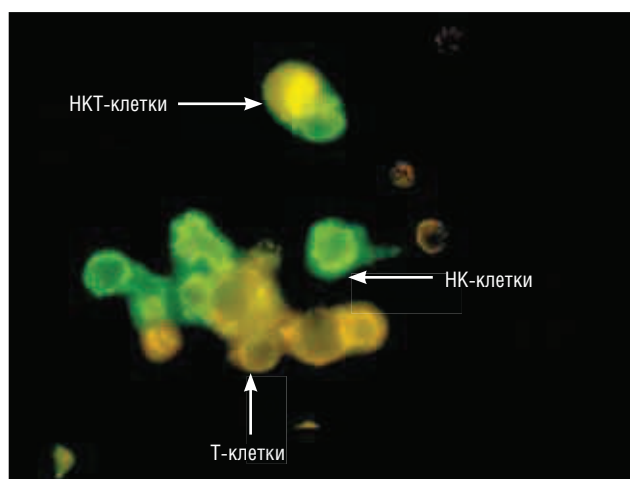


Рис. 1. Микрофотография суспензии МНК, активированных ИЛ-2. Окраска флуоресцентными антителами к CD3 (PE) и CD16 (FITC). Т-клетки, окрашенные антителами к CD3 (PE), имеют бледно-оранжевый цвет, антителами к CD16 (FITC) — зеленый. НКТ-клетки, которые связываются с антителами к обоим маркерам, характеризуются желтой окраской. Клеточные типы указаны на фотографии. Исходное увеличение 900.

62

на поверхности НК возрастает экспрессия молекул адгезии CD56 (рис. 2 а, б). Нарастает экспрессия на поверхности НК молекул, ответственных за презентацию антигена МНС II HLA-DR (рис. 2 в, г). Интактные МНК здоровых доноров практически никогда не экспрессируют активационный рецептор NKp30 (рис. 2 д), но в значительной степени позитивны по NKG2D (70–100%) (рис. 2 ж). Под воздействием ИЛ-2 НК начинают экспрессировать NKp30 (рис. 2 е). Уровень экспрессии NKG2D, с которым коррелирует интенсивность флуоресценции антител, специфичных к маркеру, возрастает (рис. 2 з).

Для эффективного лизиса НК клеток-мишеней (опухолевых и инфицированных клеток) необходима их активация, в ходе которой на поверхности НК возрастает уровень экспрессии активационных рецепторов (CD16, NKG2D, NKp30), необходимых для распознавания лигандов, индуцируемых микроорганизмами или злокачественной трансформацией клеток на поверхности клеток-мишеней [14]. Активационные НК-рецепторы, в отличие от ингибирующих, запускают лизис клеток-мишеней, когда распознают на их поверхности свои лиганды. Ингибиторные НК-рецепторы взаимодействуют с нормальными аллельными вариантами молекул МНС I и предотвращают цитотоксическое действие НК в отношении нормальных клеток. Лиганды активационного рецептора NKG2D — MICA, MICB (MHC-I chain-related molecules — молекулы, подобные MHC I), которые индуцируются клеточным стрессом при вирусной инфекции или злокачественной трансформации клеток. Кроме того, при активации НК возрастает экспрессия молекул адгезии (CD58, CD56), которые необходимы для успешного проникновения НК в поврежденные ткани, а также для их взаимодействия с лизируемыми клетками. НК способны к презентации антигенов, полученных из убитых ими клеток, поэтому на их поверхности после активации экспрессируются молекулы презентации антигенов HLA-DR [14].

Параллельно с активацией НК в присутствии экзогенного ИЛ-2 происходило нарастание доли CD4⁺CD25⁺ Т-клеток. Хотя в подавляющем большинстве образцов

наблюдалось более или менее значительное увеличение содержания CD4⁺CD25⁺ Т-лимфоцитов, следует отметить значительный разброс содержания данной фракции, включающей как Трег, так и активированные Тх-клетки в интактных МНК (от 2 до 15%, в среднем 5,8%) и в аМНК (от 5 до 18%, в среднем 8,5%) (рис. 3 а, б). Изменение числа Трег CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ оказывалось менее выраженным, и зачастую их доля по отношению к суммарным лимфоцитам даже снижалась или оставалась на том же уровне (рис. 3 в, г). Содержание CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Трег в нестимулированных МНК колебалось от 0,2 до 3,8% (среднее 1,8%), а в аМНК — от 0,7 до 4,8% (среднее 2,1%). На 10–20-е сут инкубации доля CD4⁺CD25⁺ Т-лимфоцитов как среди МНК, культивируемых с экзогенным ИЛ-2, так и в его отсутствии, составляла порядка 30–50% от всех лимфоцитов (рис. 3 д), однако доля CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Трег все равно не превышала 5% (рис. 3 е). При этом значительная часть клеток слабо экспрессировала FoxP3 (рис. 3 е), что указывает на то, что они не являлись истинными Трег, но активированными Тх. Как показали последние исследования, лишь постоянно высокая экспрессия FoxP3 служит индикатором Трег, а невысокая временная экспрессия FoxP3 индуцируется при активации эффекторных Тх [15]. Нарастание доли CD4⁺CD25⁺ Т-лимфоцитов в отсутствие экзогенного ИЛ-2, по-видимому, происходит за счет эндогенного цитокина, секретируемого клетками при культивировании.

Для увеличения эффективности цитотоксической активности МНК, стимулированных ИЛ-2, предлагается удалять из их состава CD4⁺CD25⁺ Трег. Чтобы протестировать эффективность данного подхода, мы выделили CD4⁺CD25⁺ Трег при помощи набора Dynal (Dynabeads® для сепарации CD4⁺CD25⁺ Трег). Набор Dynal обеспечивает высокий уровень очистки клеток CD4⁺CD25⁺ Т-лимфоцитов (93–97%) (рис. 3 ж). Однако, как оказалось, большая их часть не экспрессирует маркер Трег (FoxP3) (рис. 3 з).

По некоторым данным, Трег способны ингибировать цитотоксические реакции НК [11]. Именно поэтому нами было изучено влияние очищенных CD4⁺CD25⁺ Т-лимфоцитов на цитотоксичность аутологических НК (рис. 4).

Мы не наблюдали ингибирования НК-активности ни в одном из экспериментов, и даже наоборот — была отмечена некоторая тенденция к стимулированию лизиса К-562 в присутствии очищенных CD4⁺CD25⁺ Т-лимфоцитов, что мы связываем с присутствием огромного избытка, по сравнению с Трег, активированных CD4⁺CD25⁺ Тх-лимфоцитов, способных стимулировать за счет секреции цитокинов цитотоксическую реакцию. Кроме того, следует упомянуть о данных, полученных другими исследователями, которые отмечают, что Трег не способны ингибировать действие НК, активированных в присутствии ИЛ-2, но скорее подавляют их активацию в присутствии более слабых стимуляторов [11].

Обычно под воздействием ИЛ-2 наблюдается нарастание доли клеток, экспрессирующих α-субъединицу рецептора ИЛ-2 CD25, в частности, CD4⁺CD25⁺-клеток. Необходимо подчеркнуть, что данную рецепторную молекулу ни в коем случае не следует считать специфическим маркером регуляторных Т-клеток, т.к. ее экспрессируют многие активированные лимфоциты [13]. Очевидно, что особенно важно отличать активированные эффекторные Тх-клетки от Трег в популяциях стимулированных клеток (например, аМНК). Зачастую для повышения эффективности иммунного ответа исследователи пытаются удалять Трег, которые обычно-

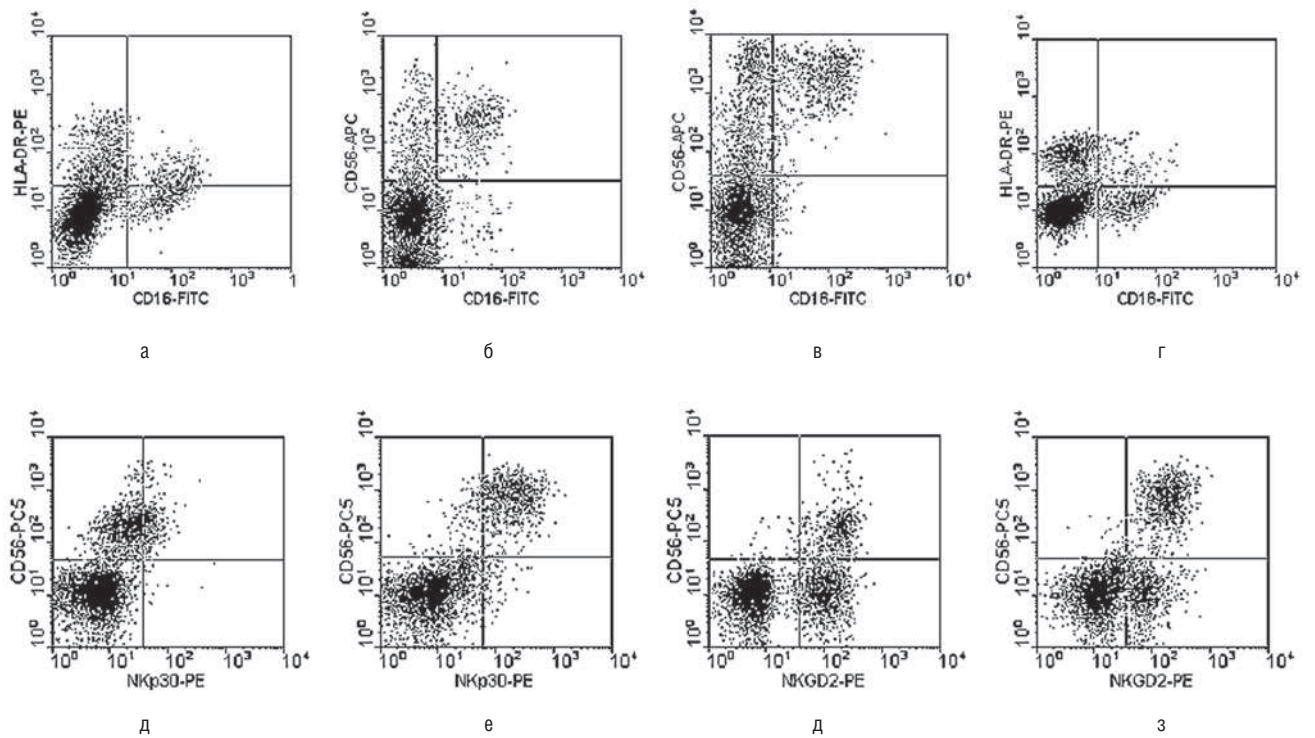


Рис. 2. Сравнение степени выраженности экспрессии активационных маркеров интактными НК и НК-клетками, стимулированными ИЛ-2 (а, в, д, ж — интактные МНК; б, г, е, з — МНК, стимулированные ИЛ-2). Представлены точечные графики (дот-плоты) в координатах логарифма интенсивности флуоресценции (относительные единицы — о.е.) различных флуоресцентных красителей, конъюгированных с антителами к различным маркерам. а и б — CD16-FITC и CD56-APC; в и г — CD16-FITC и HLA-DR-PE; д и е — NKp30-PE и CD56-PC5; ж и з — NKGD2-PE и CD56-PC5.

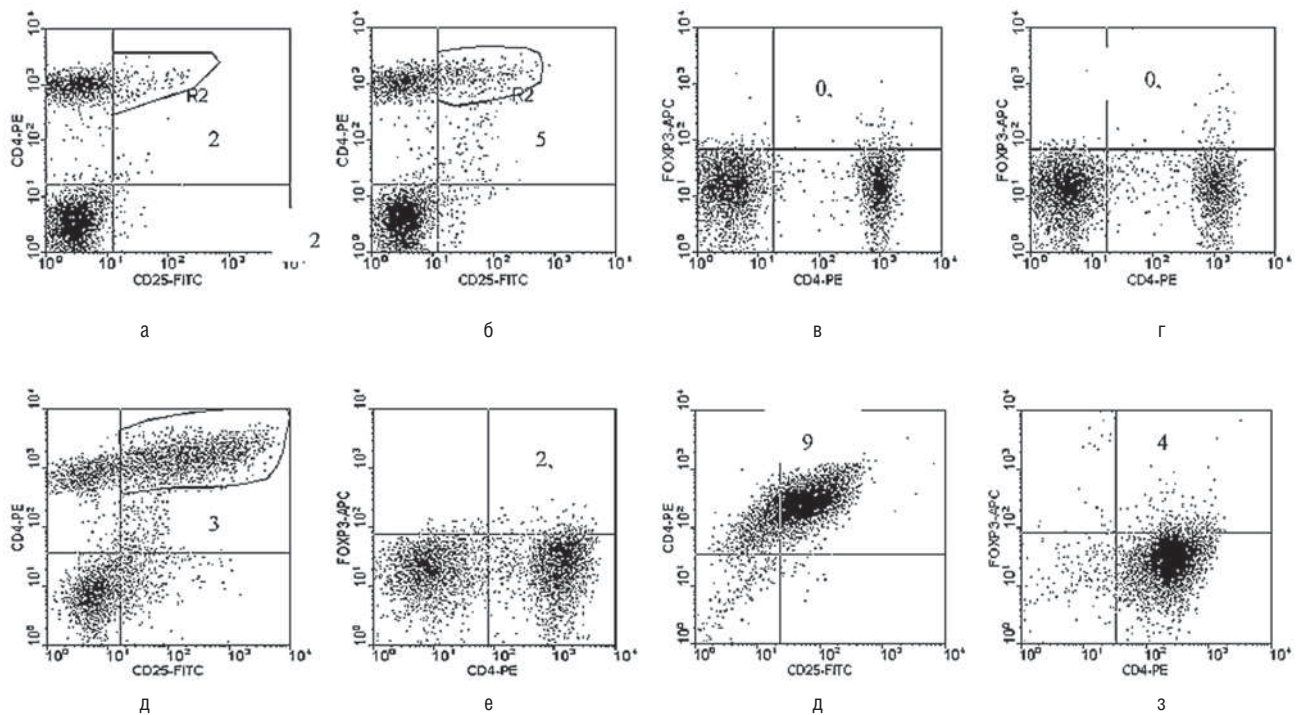


Рис. 3. Изменение содержания CD4⁺CD25⁺ Т-клеток и CD4⁺CD25⁺ FoxP3⁺ Трег в МНК при активации ИЛ-2. Точечные графики описывают содержание: а и б — CD4⁺CD25⁺ Т-клеток среди лимфоцитов, которые культивировали без (а) или с ИЛ-2 (б) в течение 4 сут; в и г — CD4⁺CD25⁺ FoxP3⁺ Трег среди лимфоцитов, которые культивировали без (в) или с ИЛ-2 (г) в течение 4 сут; д — CD4⁺CD25⁺ Т-клеток среди лимфоцитов, которые культивировали с ИЛ-2 в течение 10 сут; е — CD4⁺CD25⁺ FoxP3⁺ Трег среди лимфоцитов, которые культивировали с ИЛ-2 в течение 10 сут; ж — степень очистки CD4⁺CD25⁺ Т-лимфоцитов, выделенных при помощи набора Dynal (Dynabeads® для сепарации CD4⁺CD25⁺ Трег); з — CD4⁺CD25⁺ FoxP3⁺ Трег среди очищенных CD4⁺CD25⁺ Т-лимфоцитов. Оси абсцисс и ординат — логарифм интенсивности флуоресценции специфических антител CD4-PE, CD25-FITC и FoxP3-APC (о.е.).

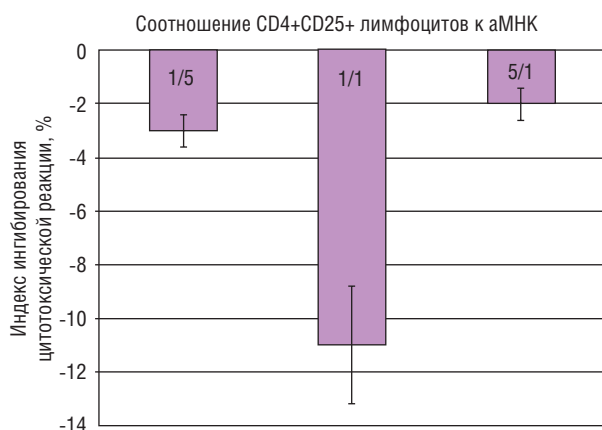


Рис. 4. Влияние CD4⁺CD25⁺ Т-лимфоцитов на цитотоксичность аутологичных активированных НК. Приведены данные об индексе ингибирования цитотоксической активности, который равняется процентному соотношению разности ЦТ аМНК в отсутствие Трег и с их добавлением к исходной цитотоксичности аМНК. Индекс был рассчитан на основании результатов 3 независимых экспериментов.

венно сдерживают или даже подавляют реакции эффекторных клеток. К сожалению, для их удаления до сих пор приходится использовать именно CD25, рецептор ИЛ-2, постоянно экспрессируемый Трег, но свойственный также активированным лимфоцитам [13]. Более специфичным маркером Трег считается транскрипционный фактор *FoxP3*, который, как было показано, играет важную роль в развитии Трег и абсолютно необходим для предотвращения избыточных реакций иммунной системы, которые могут приводить к аутоиммунным заболеваниям [12]. Однако, будучи внутриклеточной молекулой, он пригоден лишь для характеристики и определения числа, но не для направленного удаления Трег.

Результаты выполненной работы свидетельствуют о том, что значительного нарастания доли FoxP3⁺ Трег среди аМНК не наблюдается даже на поздних сроках инкубации, когда доля собственно CD4⁺CD25⁺ Т-клеток может превышать 40% от общего числа лимфоцитов. Таким образом, основная доля CD4⁺CD25⁺ Т-лимфоцитов в аМНК представлена не Трег, а активированными Тх-клетками, в связи с чем удаление CD4⁺CD25⁺ Т-клеток из популяций аМНК нецелесообразно.

REFERENCES

- Mule J.J., Shu S., Schwarz S.L., Rosenberg S.A. Adoptive immunotherapy of established pulmonary metastases with LAK cells and recombinant interleukin-2. *Science*. 1984; 225: 1487–1489.
- Sallusto F., Lanzavecchia A. Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor plus interleukin-4 and down-regulated by tumor necrosis factor α . *J. Exp. Med.* 1994; 179: 1109–1118.
- Schadendorf D., Ugurel S., Schuler-Thurner B. et al. Dacarbazine (DTIC) versus vaccination with autologous peptide-pulsed dendritic cells (DC) in first-line treatment of patients with metastatic melanoma: a randomized phase III trial of the DC study group of the DeCOG. *Ann. Oncol.* 2006; 17: 563–570.
- Grabenbauer G.G., Lahmer G., Distel L., Niedobitek G. Tumor-Infiltrating Cytotoxic T Cells but not Regulatory T Cells Predict Outcome in Anal Squamous Cell Carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 2006; 12 (11): 3355–3360.
- Shubina I.Zh., Demidov L.V., Chikileva I.O. et al. LAK immunotherapy in clinical studies. In: Kiselevsky M.V. (ed.). *Atlas. Effectors of Antitumor Immunity*. Springer. 2008. 101–111 p.
- Titov K.S., Demidov L.V., Kiselevskij M.V. i dr. Intrapleural'naya IL-2 immunoterapiya pacientov s metastatichiskimi plevritami. *Ros. Onkol. Zh.* 2010; 4: 20–24.
- Titov K.S., Shubina I.Zh., Volkov S.M. i dr. Immunoterapiya opuholevyh serozitov / Pod red. V.Yu. Sel'chuka, M.B. Bychkova, M.V. Kiselevskogo. *Opuholevye serozity. Plevrity, ascity, perikardity. M.: Prakticheskaya medicina*. 2011. 233–265 s.
- Kimura H., Iizasa T., Ishikawa A. et al. Prospective Phase II Study of Post-surgical Adjuvant Chemo-immunotherapy Using Autologous dendritic cells and activated killer cells from tissue culture of tumor-draining lymph nodes in primary lung cancer patients. *Anticancer Research*. 2008; 28: 1229–1238.
- Valteau-Couanet D., Leboulaire C., Maincent K. et al. Dendritic cells for NK/LAK activation: rationale for multicellular immunotherapy in neuroblastoma patients. *Blood*. 2002; 100: 2554–2561.
- Berdeja J.G., Hess A., Lucas D.M., O'Donnell P. et al. Systemic interleukin-2 and adoptive transfer of lymphokine-activated killer cells improves antibody-dependent cellular cytotoxicity in patients with relapsed B-Cell lymphoma treated with rituximab. *Clin. Cancer Res.* 2007; 13: 2392–2399.
- Ralainirina N., Poli A., Michel T. et al. Control of NK cell functions by CD4+CD25+ regulatory T cells. *J. Leukoc. Biol.* 2007; 81: 144–153.
- Fontenot J.D., Rasmussen J.P., Williams L.M. et al. Regulatory T cell lineage specification by the forkhead transcription factor foxp3. *Immunity*. 2005; 22: 329–341.
- Jiang S, editor. *Regulatory T cells and clinical application*. Springer. 2008. 586 p.
- Caligiuri M.A. Human natural killer cells. *Blood*. 2008; 112: 461–469.
- Allan S.E., Crome S.Q., Crellin N.K. et al. Activation-induced FOXP3 in human T effector cells does not suppress proliferation or cytokine production. *International Immunol.* 2007; 19: 345–354.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Чикилева Ирина Олеговна — кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории клеточного иммунитета НИИ ЭДнТО ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» РАМН
Адрес: 115478, Москва, Каширское ш., д. 2
Тел./факс: 8(495) 324-27-94
E-mail: irinatchikileva@mail.ru

Шубина Ирина Жановна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточного иммунитета НИИ ЭДнТО ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» РАМН
Адрес: 115478, Москва, Каширское ш., д. 24
Тел./факс: 8(495) 324-27-94
E-mail: irinashubina@mail.ru

Киселевский Михаил Валентинович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией клеточного иммунитета НИИ ЭДнТО ФГБУ «Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина» РАМН
Адрес: 115478, Москва, Каширское ш., д. 24
Тел./факс: 8(495)324-27-94
E-mail: kisele@inbox.ru