

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ МОДЕЛИ ИЗУЧЕНИЯ МЕХАНИЗМОВ ОСТРОЙ РЕАКЦИИ ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА (РТПХ) НА ГРЫЗУНАХ

П. А. Бутылин, Р. Ш. Бадаев, Д. В. Моторин

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Северо-Западный федеральный медицинский
исследовательский центр»

Контактная информация:

Бутылин Павел Андреевич,
Федеральное государственное бюджетное учреждение «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр» (ФГБУ СЗФМИЦ),
ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург,
Россия, 197341.
Тел.: 8 (812) 702-37-00.
E-mail: butylin_pa@almazovcentre.ru

*Статья поступила в редакцию
01.12.15 и принята к печати 02.02.15.*

Резюме

Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток — необходимая, и подчас единственная возможность излечения для многих пациентов с онкогематологическими заболеваниями. Современное развитие медицинских технологий всё больше расширяет спектр показаний к аллогенной трансплантации ГСК. Наряду с успехами в проведении трансплантаций остаются нерешенными ряд вопросов, касающихся осложнений после трансплантации. Одним из основных осложнений при аллогенной ТГСК является развитие иммунного конфликта между клетками донора и тканями реципиента, получившего название реакции трансплантат против хозяина (РТПХ). Ключевые исследования механизмов РТПХ проводятся на модельных животных, в первую очередь на трансгенных мышах. Данный обзор посвящен обзору исследовательских моделей острой РТПХ, использование которых позволяет расширить знания о патогенезе этого явления и исследовать новые терапевтические схемы.

Ключевые слова: аллогенная пересадка гемопоэтических стволовых клеток (алло ТГСК), реакция трансплантат против хозяина (РТПХ), ксеногенная трансплантация, экспериментальные модели, иммунодефицитные мыши

Для цитирования: Бутылин П. А., Бадаев Р. Ш., Моторин Д. В. Экспериментальные модели изучения механизмов острой реакции трансплантат против хозяина (РТПХ) на грызунах. Трансляционная медицина 2015;2-3(31-32):90-97.

REVIEW OF EXPERIMENTAL ANIMAL MODELS TO STUDY MECHANISMS OF ACUTE GRAFT VERSUS HOST DISEASE (GVHD)

P. Butylin, R. Badaev, D. Motorin

Federal Almazov North-West Research Centre,
St-Petersburg, Russia

Contact Information:

Pavel Butylin,
Federal North-West Medical Research
Centre, 2 Akkuratova str., Saint-Petersburg,
Russia, 197341.
E-mail: butylin_pa@almazovcentre.ru

Received 01 December 2014;
accepted 02 February 2015

Abstract

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is a necessary and sometimes the only available treatment for the many of the patients with hematological neoplasms. Development of the technologies and protocols for allows broadening of the spectrum of patients that could be treated with allogenic HSCT. One of the main complications in allogenic HSCT is immune conflict of the donor cells with patient's tissues, named graft versus host disease (GVHD). Key studies of the mechanisms of GVHD are made in experimental models of transplantation in transgenic mice. This paper review current models of acute GVHD that helps to study mechanisms of GVHD and develop new therapeutic schemes to improve efficiency, decrease adverse effects and improving overall survival rate.

Key words: allogeneic transplantation of hematopoietic stem cells (ALLO HSCT), graft-versus-host disease (GVHD), xenogeneic transplantation, experimental models, immunodeficient mice.

For citation: P. Butylin, R. Badaev, D. Motorin. Review of experimental animal models to study mechanisms of acute graft versus host disease (GVHD). *Translacionnaja medicina = Translational Medicine*. 2015;2-3(31-32):90-97.

Введение

Трансплантация ГСК является наиболее распространенным типом трансплантации стволовых клеток [1]. В качестве источника стволовых клеток могут выступать костный мозг, периферическая кровь и пуповинная кровь [2]. В 1959 г. Tomas впервые описал случай лечения острого лейкоза путем аллогенной трансплантации костного мозга. Открытие антигенов основного комплекса гистосовместимости (HLA) позволило лучше понять причины неудач при трансплантации и разработать подходы к подбору доноров ГСК.

Костный мозг у взрослого человека являет собой гетерогенную популяцию различных клеток: ГСК, макрофагов, эритроцитов, фибробластов, адипоцитов и эндотелиальных клеток. Заготовка ГСК

возможна несколькими способами, отличающимися как по механизму осуществления, так и по клеточному составу получаемого трансплантата. Одним из основных методов является операция миелоэкسفфузии, представляющая собой непосредственную аспирацию костного мозга из гребней подвздошных костей [3]. Другим способом является аферез ГСК из периферической крови. Для стимуляции выхода ГСК в периферическую кровь используются различные схемы, включающие химиотерапию, гранулоцитарные колониестимулирующие факторы, а также препараты, нарушающие механизмы хоуминга стволовых клеток. Реже для трансплантации применяют стволовые клетки пуповинной крови (СКПК) [4, 5]. В последнее время появились работы, в которых в качестве дополнительного

возможного источника гемопоэтических клеток-предшественников рассматривается плацента [6].

Наиболее частыми осложнениями при пересадке гемопоэтических стволовых клеток являются: недостаточность трансплантата (неприживление или отторжение), рецидив основного заболевания, реакция трансплантат против хозяина (РТПХ) [7]. При тяжелом течении РТПХ может приводить к летальному исходу. Существуют различные схемы терапии и профилактики РТПХ, включающие, в том числе, глюкокортикостероиды, ингибиторы кальциневрина, метотрексат и другие препараты [8].

Причины РТПХ лежат глубоко в биологии иммунной системы. Т-лимфоциты в процессе своего развития проходят процесс негативной селекции, при котором Т-лимфоциты, распознающие аутоантигены, выбраковываются путём индукции апоптоза [9]. Оставшиеся аутореактивные Т-лейкоциты ингибируются путем анергии а также регуляторными клетками, в первую очередь Т-супрессорами. Указанные системы позволяют избежать, в большинстве случаев, аутоиммунных осложнений. Именно наличие регуляторных клеточных систем позволяет успешно осуществлять аллогенную пересадку гемопоэтических клеток. Даже совпадение аллелей HLA у донора и реципиента не гарантирует идентичность других антигенных детерминант. В основе РТПХ лежит ситуация, когда ткани реципиента узнаются созревающими донорскими лимфоцитами, в результате возникает воспалительная реакция, получившая название реакции трансплантат против хозяина (РТПХ). Классификация РТПХ включает острую и хроническую формы. Основными очагами воспаления при РТПХ являются периферические органы — кожа и кишечник, также затрагиваются и другие внутренние органы, в первую очередь печень, легкие, лимфатическая и гемопоэтическая системы [10].

Развитие новых средств терапии РТПХ, в том числе с использованием клеточной терапии, требует создания исследовательских моделей, на которых возможно изучение основных этапов развития РТПХ. Наиболее адекватным исследовательским объектом является мышь лабораторная (*Mus musculus laboratoris*). Использование инбредных линий мышей позволяет проводить пересадку ГСК при постоянном генетическом бекграунде и строго контролируемых условиях биологического эксперимента.

Патогенез острой РТПХ

Основные механизмы патогенеза РТПХ открыты в экспериментах по трансплантации ГСК в мышиных моделях. Billingham в 1966 году сформули-

ровал основные требования к развитию РТПХ: (1) Трансплантат должен содержать иммунологически компетентные клетки; (2) успешное приживление трансплантата; (3) реципиент должен экспрессировать тканевые антигены, которые не присутствуют у донора [11].

Классически различают три стадии развития острой РТПХ. Первая фаза возникает еще до инфузии стволовых клеток. Она связана с повреждением тканей организма реципиента под воздействием режима кондиционирования, в качестве которого может выступать химиотерапия или облучение. Режим кондиционирования усиливает выброс клетками провоспалительных цитокинов, таких как IL-1 и TNF-α [12]. Также под действием режима кондиционирования происходит повреждение эпителия стенки кишечника, что приводит к изменению его защитных свойств и попаданию ЛПС бактерий, находящихся в кишечнике, в циркуляторное русло [13]. ЛПС бактерий в свою очередь может активировать иммунные клетки, усиливая выброс цитокинов [14].

Большинство иммунных клеток узнают компоненты бактериальных агентов с помощью специальных рецепторов, таких как Toll-like рецепторы (TLR) и NOD-подобные рецепторы (NLR). TLR относятся к трансмембранным протеинам и располагаются на поверхности клеток и эндосомах, в то время как NLR находятся в цитоплазме. На настоящее время было обнаружено 11 типов TLR у людей и 13 у мышей [15].

Большое значение имеет TLR-4, обеспечивающий связывание с ЛПС бактерий (16). Ferrara с коллегами, используя мышиные модели, показали возможность уменьшать активность РТПХ при использовании антагонистов ЛПС (17). TLR-7/8 распознает одноцепочечную РНК и запускает противовирусный иммунный ответ. Использование агониста TLR-7 приводит к инфильтрации тканей активированными Т-клетками и усиливает РТПХ [18]. TLR-9 активируется с помощью бактериальной и вирусной ДНК, системное введение агониста TLR-9 — CpG олигонуклеотидов, приводит к усилению РТПХ [19]. Основной функцией NOD-подобных рецепторов является распознавание компонентов бактерий. В работах по изучению РТПХ кишечника была доказана важная роль полиморфизма одного из типов NOD-подобных рецепторов — NOD/CARD15 в динамике развития РТПХ [20].

В ответ на токсическое действие режима кондиционирования происходит непосредственное высвобождение провоспалительных цитокинов. Данные цитокины приводят к увеличению экспрессии молекул адгезии, костимуляторных молекул, антигенов МНС II и хемокинов, которые активиру-

ют антигенпрезентирующие клетки хозяина и введенные донорские иммунные клетки. Shlomchik с соавторами доказали особую роль антиген презентующих клеток реципиента в патогенезе РТПХ в своих работах с мышинными моделями по созданию химер АПК [21].

В основе второй фазы лежит активация Т-клеток донора АПК клетками. Наибольшее значение имеют АПК клетки хозяина, особенно дендритные клетки [22]. Активированные АПК синтезируют провоспалительные цитокины, наибольшее значение из которых имеют цитокины Th-1: IL-2 и TNF-α [23]. В связи с основной ролью в развитии РТПХ, IL-2 и TNF-α используются при таргетной терапии РТПХ, например при терапии циклоспорином или моноклональными антителами. Также в ряде работ было показано ингибирующее действие цитокинов Th-2, в частности IL-4, на развитие РТПХ кожи и кишечника и его активирующее действие на развитие поражения легких [24]. На мышинных моделях было показано, что активация Т-клеток антигенпрезентирующими клетками при РТПХ происходит при наличии костимулирующих сигналов на поверхности АПК через B7 семейство молекул (CD80/86)/CD28 и B7H/ICOS (индуцируемый костимулятор) и ингибируется Т-регуляторными клетками через B7/CTLA-4 и PD-L1/PD взаимодействие [25, 26].

Третья или эффекторная фаза приводит к поражению тканей организма цитотоксическими или NK-клетками и провоспалительными цитокина, такими как TNF-α и IL-1. Клеточными эффекторами острой РТПХ в основном являются цитотоксические Т лимфоциты и NK-клетки. Fas/Fas лиганд и перфорин/гранзим являются основными механизмами повреждения клеток организма [27].

Провоспалительные цитокины приводят к дальнейшему повреждению тканей организма. Макрофаги, которые были активированы с помощью IFN-γ во время второй фазы, синтезируют провоспалительные цитокины TNF-α и IL-1, после получения вспомогательного сигнала. Такой сигнал может быть получен через TLR с помощью микробного ЛПС [28]. Активированные макрофаги также синтезируют оксид азота, который оказывает повреждающее действие на ткани организма под действием РТПХ [29]. Оксид азота также ингибирует репаративные механизмы в поврежденных тканях, нарушая пролиферацию эпителиальных клеток в кишечнике [30].

Модели РТПХ с неродственным МНС

Индукция острой РТПХ на моделях мышей может быть основана на пересадке костного мозга

у близкородственных линий, отличающихся по составу молекул комплексов гистосовместимости первого и второго класса. И хотя основные инбредные линии мышей являются близкородственными по составу генов основного комплекса гистосовместимости (HLA), они могут отличаться по составу аллелей молекул малого комплекса гистосовместимости (miHA). При использовании животных с различиями в генах MHC I происходит активация CD8⁺ Т-лимфоцитов; при различиях в MHC II активируются CD4⁺ Т-клетки [31]. С использованием данных моделей было показано, в частности, что активация CD8⁺ Т-лимфоцитов происходит исключительно антиген-презентирующими клетками (АПК) реципиента [21], в то же время CD4⁺ клетки могут быть активированы как АПК как донора, так и реципиента [22].

Другим случаем использования МНС несовместимой трансплантации является пересадка костного мозга от родителей к потомству первого поколения (родитель-F1). В этом случае различия наблюдаются как в составе MHC I, так и MHC II, и, соответственно, активацию CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов. Использование этих моделей позволяет изучать протоколы кондиционирования и деплеции клеточных популяций по отношению к развитию острой РТПХ.

Хотя для получения наилучшего результата практикуется поиск донора с полной совместимостью комплексов гистосовместимости, в современной клинической практике нередки случаи применения частично совместимых доноров, вплоть до гаплоидентичной трансплантации. Исследование животных моделей с различающимися МНС позволяет исследовать терапевтические схемы, направленные на увлечение эффективности трансплантации при частичном несовпадении HLA [33].

Антиген- специфические модели РТПХ

Использование моделей с неродственными МНС не позволяет выявить специфический антиген, распознаваемый Т-клетками. Использование мышей, экспрессирующих Т-клеточный рецептор с известной специфичностью позволяет обойти это ограничение. Ранние исследования механизмов подавления аутоиммунных реакций использовали модели, в которых чужеродный белок экспрессировался под контролем промотора инсулина [34,35]. В этих работах было определено, что в этом случае в периферических органах обнаруживаются лимфоциты, не способные к развитию иммунной реакции. Таким образом основным механизмом подавления иммунного ответа служит индукция анергии, а не индукция апоптоза в реактивных Т-клетках.

Так как одним из основных органов, в которых развивается РТПХ, является кожа, то экспрессия чужеродных белков в клетках эпителия позволяет изучать особенности иммунного ответа, происходящее в дерме. Одной из продуктивно исследуемых моделей является линия мышей, экспрессирующих куриный овалальбумин под контролем промотора кератина K14-sOVA [36]. Для индукции иммунного ответа используется линия OT-1, CD8+ клетки которой содержат трансгенный Т-клеточный рецептор (TCR), специфически распознающий пептид куриного овалальбумина, связанный с МНС I класса. Пересадка лейкоцитов от линии OT-1 мышам линии K14-sOVA приводит к развитию воспалительной реакции преимущественно в дерме кожи реципиентов. Данная экспериментальная модель позволила выявить ключевую роль дендритных клеток в развитии аутоиммунных заболеваний, а также зависимости индукции анергии от силы сигнала (количества чужеродного антигена). Также была выяснена роль IL-12, IL-15, INF- α , β в развитии аутоиммунных реакций и толерантности [37,38].

Подобные эксперименты позволили выявить ключевые механизмы индукции анергии, ключевую роль Т-регуляторных клеток, в том числе T_H17 в процессе развития РТПХ [39,40]; а также роль хемокинов в привлечении Т-лимфоцитов в периферические органы РТПХ [41].

Исследования с использованием антиген-специфических TCR особенно актуальны при развитии аутоиммунных нарушений, однако же мало применимы к РТПХ, имеющей системный характер и полиантигенную направленность. Другим принципиальным ограничением данных моделей является невозможность тестировать клеточные продукты на основе клеток человека, чему мешают различия молекулярные механизмы иммунитета человека и мыши, а также распознавание трансплантируемых клеток как чужеродных.

Модели РТПХ на основе пересадки клеток человека мышам с врожденным иммунодефицитом

Использование для трансплантации мышинных клеток, несмотря на то, что даёт возможность использовать линейных животных в качестве донора и реципиента, оставляет за кадром фундаментальные различия в функционировании иммунных систем человека и мыши. Для исследования клеток человека применяют линии мышей, которые в силу своих особенностей обладают способностью к заселению костного мозга гемопоэтическими стволовыми клетками другого вида (человека). Такой особенностью обладают мыши с иммунодефицитом, осо-

бое распространение получили мыши с мутацией Prkdc^{scid}. Данная мутация находится в гене, активность которого необходима для рекомбинации генов цепей иммуноглобулинов. В результате мутации у мышей отсутствуют функциональные- активные Т и В-клетки [42]. Однако же сама по себе данная мутация недостаточна для достижения значимого донорского химеризма, в результате активности миелоидных (моноцитов, дендритных клеток) и НК-клеток [43]. Мыши с врожденным диабетом без ожирения (non-obese diabetic NOD) в комбинации с Prkdc^{scid} мутацией (а также вариант без диабета — NOD/LtSz-scid) имеют сниженный NK-клеточный иммунитет и значительно более высокий уровень донорского химеризма. Минусом этой линии мышей является их высокая чувствительность к радиации [44], что затрудняет использование режимов кондиционирования, основанных на облучении, а также спонтанное образование лимфом [45]. Наиболее высокий уровень приживления клеток человека показан у линии мышей, содержащие SCID мутацию в сочетании с инактивацией гамма цепи рецептора интерлейкина 2, и получивших название NSG [46]. Использование этой линии позволяет добиваться высокого уровня включения приживления при невысоком риске образования лимфом [47]. Также для ксенотрансплантации используются мыши с инактивацией RAG2 и гамма цепи рецептора интерлейкина 2 [48], а также NOD-scid с инактивацией бета-2 микроглобулина [49]. Проблемой используемых линий остаётся спонтанная «протечка» мутаций, в результате чего развиваются зрелые Т и В лимфоциты. Использование двойных мутаций позволяет частично решить эту проблему [50].

Несмотря на значительные успехи в изучении патогенеза РТПХ при использовании иммунодефицитных мышей на основе scid-мутации, постоянно предпринимаются новые попытки в разработке более совершенных линий мышей способных к приживлению клеток человека [51,52].

В качестве источника клеток человека для трансплантации используются: фетальные клетки, клетки тимуса, лимфатические узлы (целиком); лейкоциты периферической крови [53], в том числе содержащих мобилизованные клетки; пуповинная кровь, а также ГСК человека, полученные из костного мозга [45].

По способу введения в мышь различают: введение во внутрибрюшную полость, подкожное введение. Основным путём введения клеток является внутривенное введение, при этом наиболее часто используется введение в хвостовую вену, а также непосредственно в печень или сердце под контролем ультразвука. В отдельных случаях производят

внутрикостную пересадку, т. е. непосредственно в полость костного мозга, обычно в полость бедренной кости [54].

При подготовке животного а также после трансплантации могут быть использованы: облучение, химиотерапия, антибиотики, избирательное удаление клеток реципиента (например, макрофагов под действием липосом с клондронатом), воздействие специфическими агентами, например анти-TNFa [55, 56].

Характер и динамику развития РТПХ оценивают по следующим диагностическим параметрам: выживаемость, потеря веса, состояние волосяного покрова, физическая активность, целостность кожных покровов, состояние позвоночника (сгорбленность).

Использование моделей на основе клеток человека способно дать возможность исследовать новые виды терапии РТПХ, в том числе основанные на использовании клеточной терапии. Однако значительные ограничения должны быть приняты во внимание при использовании этих моделей. В первую очередь течение РТПХ у мышей отличается от таковой у человека. РТПХ чаще всего протекает по острому типу и заканчивается смертью животного [57]. Воспроизведение хронической РТПХ возможно лишь частично [58]. Недостатком всех моделей грызунов является то, что в организме реципиента практически не происходит образования зрелых Т и В-клеток вследствие отсутствия тимуса, таким образом не происходит выработки аутореактивных антител, что не даёт возможность изучать подтип секретирующей хронической РТПХ.

Конфликт интересов / Conflict of interest

Авторы заявили об отсутствии потенциального конфликта интересов. / The authors declare no conflict of interest.

Список литературы / References

1. Copelan EA. Hematopoietic stem-cell transplantation. *N Engl J Med.* 2006 Apr 27;354(17):1813–26.
2. Watt FM, Driskell RR. The therapeutic potential of stem cells. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2010 Jan 12;365(1537):155–163.
3. Anderlini P, Rizzo JD, Nugent ML, Schmitz N, Champlin RE, Horowitz MM; IBMTR Statistical Center of the International Bone Marrow Transplant Registry, Medical College of Wisconsin, Milwaukee, WI, USA; EBMT, Kiel, Germany. Peripheral blood stem cell donation: an analysis from the International Bone Marrow Transplant Registry (IBMTR) and European Group for Blood and Marrow Transplant (EBMT) databases. *Bone Marrow Transplant.* 2001 Apr;27(7):689–692.
4. Uccelli A, Prockop DJ. Why should mesenchymal stem cells (MSCs) cure autoimmune diseases? *Curr Opin Immunol.* 2010 Dec;22(6):768–774.
5. Dazzi F, Krampera M. Mesenchymal stem cells and autoimmune diseases. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2011 Mar;24(1):49–57.
6. Bárcena A, Muench MO, Kapidzic M, Gormley M, Goldfien GA, Fisher SJ. Human placenta and chorion: potential additional sources of hematopoietic stem cells for transplantation. *Transfusion.* 2011 Nov;51.
7. Sung AD, Chao NJ. Concise review: acute graft-versus-host disease: immunobiology, prevention, and treatment. *Stem Cells Transl Med.* 2013 Jan;2(1):25–32.
8. Ruutu T, Gratwohl A, de Witte T, Afanasyev B, Apperley J, Bacigalupo A, Dazzi F, Dreger P, Duarte R, Finke J, Garderet L, Greinix H, Holler E, Kröger N, Lawitschka A, Mohty M, Nagler A, Passweg J, Ringdén O, Socié G, Sierra J, Sureda A, Wiktor-Jedrzejczak W, Madrigal A, Niederwieser D. Prophylaxis and treatment of GVHD: EBMT-ELN working group recommendations for a standardized practice. *Bone Marrow Transplant.* 2014 Feb;49(2):168–173.
9. Charles A Janeway, Jr, Paul Travers, Mark Walport, and Mark J Shlomchik. *Immunobiology*, 7th edition, The Immune System in Health and Disease, Garland Science; 2007. 7th ed. ISBN 0–8153–4101–6.
10. Wysocki CA, Panoskaltsis-Mortari A, Blazar BR, Serody JS. Leukocyte migration and graft-versus-host disease. *Blood.* 2005 Jun;105(11):4191–4199.
11. Billingham RE. The biology of graft-versus-host reactions. *Harvey Lect.* 1966;62:21–78.
12. Xun CQ, Thompson JS, Jennings CD, Brown SA, Widmer MB. Effect of total body irradiation, busulfan-cyclophosphamide, or cyclophosphamide conditioning on inflammatory cytokine release and development of acute and chronic graft-versus-host disease in H-2-incompatible transplanted SCID mice. *Blood.* 1994 Apr 15;83(8):2360–2367.
13. Hill GR, Crawford JM, Cooke KR, Brinson YS, Pan L, Ferrara JL. Total Body Irradiation and Acute Graft-Versus-Host Disease: The Role of Gastrointestinal Damage and Inflammatory Cytokines. *Blood.* 1997 Oct 15;90(8):3204–3213.
14. Frederick E Nestel, Kursteen S. Price, Thomas A. Seemayer. Macrophage priming and lipopolysaccharide-triggered release of tumor necrosis factor alpha during graft-versus-host disease. *J Exp Med.* Feb 1, 1992; 175(2): 405–413.
15. Shin O. S. and Harris J. B. Innate immunity and transplantation tolerance: the potential role of TLRs/NLRs in GVHD. *Korean J Hematol.* Jun 2011; 46 (2): 69–79.
16. Poltorak A1, He X, Smirnova I, Liu MY, Van Huffel C, Du X, Birdwell D, Alejos E, Silva M, Galanos C, Freudenberg M, Ricciardi-Castagnoli P, Layton B, Beutler B. Defective LPS Signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScCr Mice: Mutations in Tlr4 Gene. *Science.* 1998 Dec 11;282(5396):2085–2088.
17. Cooke KR1, Gerbitz A, Crawford JM, Teshima T, Hill GR, Tesolin A, Rossignol DP, Ferrara JL. LPS antagonism reduces graft-versus-host disease and preserves graft-versus-leukemia activity after experimental bone marrow transplantation. *J Clin Invest.* 2001 Jun;107(12):1581–1589.
18. Chakraverty R1, Côté D, Buchli J, Cotter P, Hsu R, Zhao G, Sachs T, Pittsillides CM, Bronson R, Means T, Lin C, Sykes M. An inflammatory checkpoint regulates recruitment of graft-versus-host reactive T cells to peripheral tissues. *J Exp Med.* 2006 Aug 7;203 (8):2021–31. Epub 2006 Jul 31.
19. Taylor PA1, Ehrhardt MJ, Lees CJ, Panoskaltsis-Mortari A, Krieg AM, Sharpe AH, Murphy WJ, Serody JS, Hemmi H, Akira S, Levy RB, Blazar BR. TLR agonists regulate alloresponses and uncover a critical role for donor APCs in allogeneic bone marrow rejection. *Blood.* 2008 Oct 15;112 (8):3508–3516.
20. Landfried K1, Bataille F, Rogler G, Brenmoehl J, Kosovac K, Wolff D, Hilgendorf I, Hahn J, Edinger M, Hoffmann P, Obermeier F, Schoelmerich J, Andreesen R, Holler E. Recipient NOD2/CARD15 status affects cellular infiltrates in human intestinal

- graft-versus-host disease. *ClinExpImmunol.* 2010 Jan;159 (1):87–92.
21. Shlomchik WD1, Couzens MS, Tang CB, McNiff J, Robert ME, Liu J, Shlomchik MJ, Emerson SG. Prevention of Graft Versus Host Disease by Inactivation of Host Antigen-Presenting Cells. *Science.* 1999 Jul 16;285(5426):412–5.
 22. Sallusto F1, Lanzavecchia A. The instructive role of dendritic cells on T-cell responses. *Arthritis Res.* 2002;4Suppl 3: S127–32. Epub 2002 May 9.
 23. Ju XP1, Xu B, Xiao ZP, Li JY, Chen L, Lu SQ, Huang ZX. Cytokine expression during acute graft-versus-host disease after allogeneic peripheral stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2005 Jun;35(12):1179–86.
 24. Coghill JM1, Sarantopoulos S, Moran TP, Murphy WJ, Blazar BR, Serody JS. Effector CD4+ T cells, the cytokines they generate, and GVHD: something old and something new. *Blood.* 2011 Mar 24;117(12):3268–76. doi: 10.1182/blood-2010-12-290403. Epub 2011 Jan 18.
 25. Li J1, Semple K, Suh WK, Liu C, Chen F, Blazar BR, Yu XZ. Roles of CD28, CTLA4, and inducible costimulator in acute graft-versus-host disease in mice. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2011 Jul;17(7):962–9. doi: 10.1016/j.bbmt.2011.01.018. Epub 2011 Mar 27.
 26. Amarnath S1, Costanzo CM, Mariotti J, Ullman JL, Telford WG, Kapoor V, Riley JL, Levine BL, June CH, Fong T, Warner NL, Fowler DH. Regulatory T cells and human myeloid dendritic cells promote tolerance via programmed death ligand-1. *PLoS Biol.* 2010 Feb 2;8(2): e1000302.
 27. Kagi D, Vignaux F, Ledermann B, Burki K, Depraetere V, Nagata S, Hengartner H, Golstein P. Fas and perforin pathways as major mechanisms of T cell-mediated cytotoxicity. *Science* 1994; 265: 528–530.
 28. Iwasaki A, Medzhitov R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat Immunol* 5:987, 2004.
 29. Falzarano G, Krenger W, Snyder KM, et al: Suppression of B-cell proliferation to lipopolysaccharide is mediated through induction of the nitric oxide pathway by tumor necrosis factor-alpha in mice with acute graft-versus-host disease. *Blood* 87:2853, 1996.
 30. Nestel FP, Greene RN, Kichian K, et al: Activation of macrophage cytostatic effector mechanisms during acute graft-versus-host disease: Release of intracellular iron and nitric oxide-mediated cytostasis
 31. Sprent J, Schaefer M, Korngold R. Role of T cell subsets in lethal graft-versus-host disease (GVHD) directed to class I versus class II H-2 differences. II. Protective effects of L3T4+ cells in anti-class II GVHD. *J Immunol.* 1990 Apr 15;144(8):2946–54.
 32. Anderson BE, McNiff JM, Jain D, Blazar BR, Shlomchik WD, Shlomchik MJ. Distinct roles for donor- and host-derived antigen-presenting cells and costimulatory molecules in murine chronic graft-versus-host disease: requirements depend on target organ. *Blood.* 2005 Mar 1;105(5):2227–34.
 33. Bhamidipati PK, DiPersio JF, Stokerl-Goldstein K, Rashidi A, Gao F, Uy GL, Westervelt P, Vij R, Schroeder MA, Abboud CN, Keller JW, Fehniger TA, RomeeR. Haploidentical transplantation using G-CSF-mobilized T-cell replete PBSCs and post-transplantation CY after non-myeloablative conditioning is safe and is associated with favorable outcomes. *Bone Marrow Transplant.* 2014 Aug;49(8):1124–6
 34. Oldstone MB, Nerenberg M, Southern P, Price J, Lewicki H. Virus infection triggers insulin-dependent diabetes mellitus in a transgenic model: role of anti-self (virus) immune response. *Cell.* 1991 Apr 19;65(2):319–31.
 35. Ohashi PS, Oehen S, Buerki K, Pircher H, Ohashi CT, Odermatt B, Malissen B, Zinkernagel RM, Hengartner H. Ablation of “tolerance” and induction of diabetes by virus infection in viral antigen transgenic mice. *Cell.* 1991 Apr 19;65 (2):305–17.
 36. Shibaki A, Sato A, Vogel JC, Miyagawa F, Katz SI. Induction of GVHD-like skin disease by passively transferred CD8 (+) T-cell receptor transgenic T cells into keratin 14-ovalbumin transgenic mice. *J Invest Dermatol.* 2004 Jul;123(1):109–15.
 37. Curtsinger JM, Lins DC, Mescher MF. Signal 3 determines tolerance versus full activation of naive CD8 T cells: dissociating proliferation and development of effector function. *J Exp Med.* 2003 May 5;197(9):1141–51.
 38. Miyagawa F, Tagaya Y, Kim BS, Patel HJ, Ishida K, Ohteki T, Waldmann TA, Katz SI. IL-15 serves as a costimulator in determining the activity of autoreactive CD8 T cells in an experimental mouse model of graft-versus-host-like disease. *J Immunol.* 2008 Jul 15;181(2):1109–19.
 39. Iclozan C, Yu Y, Liu C, Liang Y, Yi T, Anasetti C, Yu XZ. T helper17 cells are sufficient but not necessary to induce acute graft-versus-host disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2010 Feb;16 (2):170–8.
 40. Cheng H, Tian J, Li Z, Zeng L, Pan B, Song G, Chen W, Xu K. TH17 cells are critical for skin-specific pathological injury in acute graft-versus-host disease. *Transplant Proc.* 2012 Jun;44 (5):1412–8.
 41. Villarreal VA, Okiyama N, Tsuji G, Linton JT, Katz SI. CXCR3-mediated skin homing of autoreactive CD8 T cells is a key determinant in murine graft-versus-host disease. *J Invest Dermatol.* 2014 Jun;134(6):1552–60
 42. Malynn BA, Blackwell TK, Fulop GM, Rathbun GA, Furlay AJ, Ferrier P, Heinke LB, Phillips RA, Yancopoulos GD, Alt FW. The scid defect affects the final step of the immunoglobulin VDJ recombination mechanism. *Cell.* 1988 Aug 12;54(4):453–60.
 43. Berney T, Molano RD, Pileggi A, Cattani P, Li H, Ricordi C, Inverardi L. Patterns of engraftment in different strains of immunodeficient mice reconstituted with human peripheral blood lymphocytes. *Transplantation.* 2001 Jul 15;72(1):133–40.
 44. Greiner DL, Hesselton RA, Shultz LD. SCID mouse models of human stem cell engraftment. *Stem Cells.* 1998;16 (3):166–77.
 45. Shultz LD, Lyons BL, Burzenski LM, Gott B, Chen X, Chaleff S, Kotb M, Gillies SD, King M, Mangada J, Greiner DL, Handgretinger R. Human lymphoid and myeloid cell development in NOD/LtSz-scid IL2R gamma null mice engrafted with mobilized human hemopoietic stem cells. *J Immunol.* 2005 May 15;174 (10):6477–89.
 46. McDermott SP, Eppert K, Lechman ER, Doedens M, Dick JE. Comparison of human cord blood engraftment between immunocompromised mouse strains. *Blood.* 2010 Jul 15;116(2):193–200. doi: 10.1182/blood-2010-02-271841.
 47. Ishikawa F, Yasukawa M, Lyons B, Yoshida S, Miyamoto T, Yoshimoto G, Watanabe T, Akashi K, Shultz LD, Harada M. Development of functional human blood and immune systems in NOD/SCID/IL2 receptor {gamma} chain (null) mice. *Blood.* 2005 Sep 1;106(5):1565–73.
 48. van Rijn RS, Simonetti ER, Hagenbeek A, Hogenes MC, de Weger RA, Canninga-van Dijk MR, Weijer K, Spits H, Storm G, van Bloois L, Rijkers G, Martens AC, Ebeling SB. A new xenograft model for graft-versus-host disease by intravenous transfer of human peripheral blood mononuclear cells in RAG2-/- gammac-/- double-mutant mice. *Blood.* 2003 Oct 1;102(7):2522–31.
 49. Christianson SW, Greiner DL, Hesselton RA, Leif JH, Wagar EJ, Schweitzer IB, Rajan TV, Gott B, Roopenian DC, Shultz LD. Enhanced human CD4+ T cell engraftment in beta2-microglobulin-deficient NOD-scid mice. *J Immunol.* 1997 Apr 15;158(8):3578–86.
 50. Katano I, Ito R, Eto T, Aiso S, Ito M. Immunodeficient NOD-scid IL-2Rγ (null) mice do not display T and B cell leakiness. *Exp Anim.* 2011;60(2):181–6.

51. Büchner SM, Sliva K, Bonig H, Völker I, Waibler Z, Kirberg J, Schnierle BS. Delayed onset of graft-versus-host disease in immunodeficient human leucocyte antigen-DQ8 transgenic, murine major histocompatibility complex class II-deficient mice repopulated by human peripheral blood mononuclear cells. *ClinExpImmunol*. 2013 Aug;173(2):355–64.

52. Suzuki M, Takahashi T, Katano I, Ito R, Ito M, Harigae H, Ishii N, Sugamura K. Induction of human humoral immune responses in a novel HLA-DR-expressing transgenic NOD/Shi-scid/ γ cnul mouse. *IntImmunol*. 2012 Apr;24(4):243–52.

53. Ito R, Katano I, Kawai K, Hirata H, Ogura T, Kamisako T, Eto T, Ito M. Highly sensitive model for xenogenic GVHD using severe immunodeficient NOG mice. *Transplantation*. 2009 Jun 15;87(11):1654–8.

54. Shultz LD, Ishikawa F, Greiner DL. Humanized mice in translational biomedical research. *Nat Rev Immunol*. 2007 Feb;7(2):118–30.

55. Korngold R, Marini JC, de Baca ME, Murphy GF, Giles-Komar J. Role of tumor necrosis factor- α in graft-versus-host disease and graft-versus-leukemia responses. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2003 May;9(5):292–303.

56. King MA, Covassin L, Brehm MA, Racki W, Pearson T, Leif J, Laning J, Fodor W, Foreman O, Burzenski L, Chase TH, Gott B, Rossini AA, Bortell R, Shultz LD, Greiner DL. Human peripheral blood leucocyte non-obese diabetic-severe combined immunodeficiency interleukin-2 receptor gamma chain gene mouse model of xenogeneic graft-versus-host-like disease and the role of host major histocompatibility complex. *ClinExpImmunol*. 2009 Jul;157(1):104–18.

57. Schroeder MA, DiPersio JF. Mouse models of graft-versus-host disease: advances and limitations. *Dis Model Mech*. 2011 May;4(3):318–33.

58. Hogenes MC, van Dorp S, van Kuik J, Monteiro FR, terHoeve N, van Dijk MR, Martens AC, de Weger RA. Histological assessment of the sclerotic graft-versus-host response in the humanized RAG2- γ c- mouse model. *BiolBlood Marrow Transplant*. 2012 Jul;18(7):1023–35.

Информация об авторах:

Бутылин Павел Андреевич — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник НИЛ онкогематологии Института гематологии ФГБУ «ФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Бадаев Ренат Шамильевич — младший научный сотрудник НИЛ трансфузиологии и эфферентной терапии Института гематологии, ординатор отделения гематологии с блоком трансплантации ФГБУ «ФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России;

Моторин Дмитрий Васильевич — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник Института гематологии, врач-гематолог отделения гематологии с блоком трансплантации ФГБУ «ФМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России.

Author information:

Pavel Butylin — PhD, senior staff scientist in oncohematology lab of Hematology institute of Almazov federal medical research center;

Renat Badaev junior scientist in laboratory of transfusiology and efferent therapy of Hematology institute of Almazov federal medical research center;

Dmitry Motorin — PhD, senior staff scientist in Institute of Hematology, hematologist of institute of Almazov federal medical research center.