

Научная статья

УДК 611–018.1

doi:10.18499/2225-7357-2022-11-1-9-21

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

14.03.02 – патологическая анатомия



Особенности распределения фермента CD38 в триптаза-позитивных тучных клетках: цитофизиологические и гистотопографические аспекты

Д. А. Атякшин^{1, 2✉}, А. А. Костин¹, В. В. Шишкина², И. Б. Бухвалов³, М. Тиманн³

¹Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

²Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко, Воронеж, Россия

³Институт гематопатологии, Гамбург, Германия

Аннотация. Биологическое значение молекулы CD38 выходит за рамки метаболических, ферментативных и пролиферативных функций. Обладая одновременно функциями экзофермента и рецептора, CD38 активно задействован в механизмах адгезии, миграции, межклеточного сигналинга, формирования иммунных синапсов и модуляции деятельности широкого спектра иммунных и неиммунных клеток. Однако детекция CD38 в тучных клетках (ТК) на срезах органов, фиксированных в формалине и заключенных в парафин, ранее не проводилась.

Цель исследования – иммуногистохимическая оценка цитологических и гистотопографических характеристик распределения CD38 в ТК кожи, молочной железы, небных миндалин и костного мозга.

Материал и методы. В соответствии с дизайном эксперимента исследован биоматериал органов от пациентов с нейротрофическими язвами кожи, тонзиллитом, мастоцитозом, раком молочной железы и аденокарциномой поджелудочной железы. CD38 выявляли иммуногистохимически, для исследования цитотопографических закономерностей распределения фермента в ТК и выявления особенностей их гистотопографии использовалась мультиплексная технология окрашивания.

Результаты. Впервые показана возможность иммуногистохимической детекции CD38 в ТК на гистологических срезах различных органов. Экспрессия CD38 выявлялась в меньшей части популяции ТК и характеризовалась широкой вариабельностью от слабого до выраженного уровня. Содержание CD38 в ТК обладало органоспецифическими особенностями, а также зависело от развития патологических процессов в специфическом тканевом микроокружении.

Заключение. Технологии мультиплексной иммуногистохимии позволяют выявлять экспрессию CD38 в тучных клетках и исследовать взаимодействие тучных клеток с другими CD38⁺-мишенями в тканях, открывая новые представления о механизмах реализации эффектов преформированных компонентов секрета в норме и патологии.

Ключевые слова: CD38, тучные клетки, триптаза, секреторные пути, онкогенез

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Атякшин Д.А., Костин А.А., Шишкина В.В., Бухвалов И.Б., Тиманн М. Особенности распределения фермента CD38 в триптаза-позитивных тучных клетках: цитофизиологические и гистотопографические аспекты // Журнал анатомии и гистопатологии. 2022. Т. 11, №1. С. 9–21. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2022-11-1-9-21>

ORIGINAL ARTICLES

Original article

Features of CD38 enzyme distribution in tryptase-positive mast cells: cytophysiological and histotopographic aspects

D. A. Atyakshin^{1, 2✉}, A. A. Kostin¹, V. V. Shishkina², I. B. Buchwalow³, M. Tiemann³

¹Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, Russia

²N.N. Burdenko Voronezh State Medical University, Voronezh, Russia

³Haematopathology Institute, Hamburg, Germany

Abstract. Biological significance of the CD38 molecule goes beyond its metabolic, enzymatic, and proliferative functions. Possessing the functions of both an exoenzyme and a receptor, CD38 is actively involved in the mechanisms of adhesion, migration, intercellular signaling, formation of immune synapses, and modulation of a wide range of immune and non-immune cells. However, the detection of CD38 in mast cells (MC) on formalin-fixed and paraffin-embedded organ sections has not been previously performed.

The aim of the study was to evaluate immunohistochemically cytological and histotopographic features of CD38 distribution in MC of the skin, breast, palatine tonsils and bone marrow.

Materials and methods. In accordance with the design of the experiment, the authors studied biomaterial of organs from patients with neurotrophic skin ulcers, tonsillitis, mastocytosis, breast cancer, and pancreatic adenocarcinoma. CD38 was detected immunohistochemically; multiplex staining technology was used to study cytotopographic patterns of the enzymes distribution in MC and to identify the features of their histotopography.

Results. The possibility of immunohistochemical detection of CD38 in MC on histological sections of various organs was shown for the first time. CD38 expression was detected in a smaller part of the MC population and was characterized by wide variability from mild to pronounced levels. The content of CD38 in MC had organ-specific features and also depended on the development of pathological processes in a specific tissue microenvironment.

Conclusion. Multiplex immunohistochemistry technologies allow detecting CD38 expression in mast cells and studying interaction of mast cells with other CD38⁺-targets in tissues, developing novel ideas about the mechanisms of realization of the preformed secretome component effects in normal and pathological conditions.

Key words: CD38, mast cells, tryptase, secretory pathways, oncogenesis.

Conflict of interests: the authors declare no conflict of interests.

For citation: Atyakshin D.A., Kostin A.A., Shishkina V.V., Buchwalow I.B., Tiemann M. Features of CD38 enzyme distribution in tryptase-positive mast cells: cytophysiological and histotopographic aspects. Journal of Anatomy and Histopathology. 2022. Т. 11, №1. С. 9–21. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2022-11-1-9-21>

Введение

Молекула CD38 была впервые идентифицирована на поверхности Т-лимфоцитов, были показаны ее функции в механизмах клеточной активации и пролиферации [35, 42]. К настоящему времени знания о биологическом значении CD38 и экспрессионных профилях в клетках специфического тканевого микроокружения существенно расширились [25, 35]. Помимо функции экзофермента с множеством субстратов и вторичных продуктов, участвующих в передаче сигналов кальция и регулиющих метаболизма, CD38 является поверхностным рецептором. В этом качестве он активно задействован в механизмах адгезии, миграции и межклеточного сигналинга, включая формирование иммунных синапсов. Рецепторные свойства наделяют CD38 способностью модулировать деятельность широкого спектра иммунных и неиммунных клеток [29]. В настоящее время активно исследуются цитометаболические функции CD38, связанные с регуляцией деятельности митохондрий, усилением энергетического обмена, достаточно выраженными антиоксидантными свойствами, подавлением механизмов воспаления, апоптоза, некроза и аутофагии [29]. Таким образом, роль CD38 выходит за рамки метаболических, ферментативных и пролиферативных функций [22, 24, 25], и может претендовать на активное участие в морфогенезе и иммуногенезе. В связи с этим высокую актуальность приобрело исследование экспрессии CD38 на других клетках. Было выявлено, что наибольшей экспрессией CD38 характеризуются плазмобласты и плазмоциты, для которых данная молекула стала специфическим молекулярным маркером при иммуногистохимических исследованиях [41]. В меньшей степени CD38 представлен на других клетках лимфоидного и миелоидного ряда [10, 11, 15]. Располагаясь на плазмалемме Т- и

В-лимфоцитов, CD38 структурно и функционально связан с другими молекулами, в частности, TCR, BCR, FcγRIII, CD19, CD16 и др., участвуя в инициации различных программ транскрипции и специфических эффекторных функций с помощью дегрануляции и секреции, включая цитотоксичные воздействия [32, 39]. Экспрессия CD38 на клетках иммунной системы, включая В- и Т-лимфоциты, дендритные клетки, моноциты, макрофаги и гранулоциты может изменяться в зависимости от степени дифференцировки и статуса активации [20, 25, 48]. Известна экспрессия CD38 на неиммунных клетках, в том числе эритроцитах, тромбоцитах, предшественниках остеокластов и остеобластов, эпителии простаты, почек, островках Лангерганса поджелудочной железы, нейронах, нейроглии, гладких миоцитах, поперечно-полосатой мускулатуре и др. [25].

Несмотря на полученные данные, в настоящее время очевидна необходимость дальнейшего изучения экспрессии и активности CD38 в клетках опухолевого микроокружения, обладающих выраженным регуляторным потенциалом. Среди них особое значение имеют тучные клетки (ТК), обладающие как протуморогенными, так и разносторонними противопухолевыми эффектами [2, 9, 16, 27, 37]. Однако, до сих пор в литературе отсутствуют публикации, затрагивающие вопросы гистохимической визуализации CD38 в ТК. Единственные работы, исследовавшие экспрессию CD38 в ТК, были выполнены с использованием технологии жидкостной цитометрии и секвенирования РНК одиночных клеток [12, 38], результаты которых показали высокую степень вариабельности представленности экзофермента на ТК даже в пределах схожих тканевых локализаций [38]. Для выяснения особенностей распределения CD38 в органоспецифичных ТК при морфологическом исследовании было выполнено настоящее исследование.

Таблица 1

| Первичные антитела, использованные в исследовании | | | |
|--|-------------------------|---|------------|
| Антитела | Характеристика | Производитель | Разведение |
| CD38 (SP149) | Кроличьи моноклональные | Cell Marque, США | 1:300 |
| CD38 (IB4; IB6, SUN-4B7) | Мышиные моноклональные | Антитела любезно предоставлены Фабио Малаваси, Университет Турина, Италия | 1:200 |
| Anti-Mast Cell Tryptase antibody [AA1] #ab2378 | Мышиные моноклональные | Abcam, Великобритания | 1:3000 |
| Anti-Mast Cell Tryptase antibody [EPR9522] #ab151757 | Кроличьи моноклональные | Abcam, Великобритания | 1:2000 |

Материал и методы исследования

Образцы тканей были взяты для диагностических целей. Биоматериал кожи нижних конечностей был получен от пациентов мужского пола возраста от 35 до 58 лет с диагнозом «нейтрофические язвы» (n=6) или другими состояниями, не сопровождающимися признаками патологических изменений кожи (n=5). Биопсийный материал молочных желез был получен в ходе уточнения диагноза рака молочной железы, при этом количество лиц с подтвержденным диагнозом рака и без него составило 6 и 5 пациенток соответственно. Ткань небных миндалин была получена у мужчин и женщин в возрасте от 8 до 27 лет, перенесших тонзилэктомию в связи с рецидивирующим тонзиллитом. Кроме того, в исследовании были включены 4 пациента с индолентным системным мастоцитозом (3 мужчин и 1 женщина возрастом от 25 до 46 лет), от которых при трепанобиопсии получали костный мозг из гребня подвздошной кости; а также с аденокарциномой поджелудочной железы. Биоматериал был получен из архива Института гематопатологии, Гамбург и Института патологии Университета Людвиг-Максимилиана, Мюнхен (Германия). Исследование проведено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы медицинских исследований с участием человека в качестве испытуемого» и было одобрено Наблюдательным советом Института гематопатологии, Гамбург, Германия.

Биопсийный материал после стандартной фиксации в забуференном 4% формальдегиде заливали в парафин. Трепанобиоптаты костного мозга перед заключением в парафин подвергали декальцинации раствором этилендиаминтетрауксусной кислоты (0,07%) в течение не менее 8 часов. Депарафинированные и регидратированные Сект. (толщиной 2 мкм) подвергали извлечению антигена путем нагревания в испарителе с цитратно-натриевым буфером, pH 6,0, при 95°C в течение 30 мин [7].

Для иммуногистохимического анализа депарафинированные срезы подвергали про-

цедуре демаскировки антигена с помощью реагента «R-UNIVERSAL Epitope Recovery Buffer» (Aptum Biologics Ltd., Southampton, UK) при 95°C в течение 30 мин. Блокирование эндогенных Fc-рецепторов перед инкубацией с первичными антителами не проводилось в соответствии с нашими рекомендациями [6]. Список первичных антител, использованных в данном исследовании, представлен в табл. 1. Первичные антитела наносили в концентрации от 1 до 5 мкг/мл и инкубировали в течение ночи при +4°C. Для повышения чувствительности системы детекции первичных антител к экзоферменту CD 38 использовали тирамидную амплификацию сигнала (TSA) [7, 46].

Связанные с тканевыми и клеточными мишенями первичные антитела визуализировали с использованием вторичных антител, конъюгированных с флуорохромами Cy3 или Alexa Fluor-488. Конечная концентрация вторичных антител составляла от 5 до 10 мкг/мл PBS. Однократное и множественное иммунофлуоресцентное мечение выполняли в соответствии со стандартными протоколами [7]. Ядра контрастировали DAPI (5 мкг/мл в PBS) в течение 15 с, и проводили заключение гистологического среза с помощью монтажной среды VectaShield. Список вторичных антител и других реагентов, использованных в данном исследовании, представлен в табл. 2.

Для определения объема CD38+ субпопуляции ТК учитывалось представительство экзофермента в триптаза-позитивных ТК. Исследовали от 500 до 1000 ТК, в которых определяли относительное количество с экспрессией CD38. Из общего числа CD38-позитивных ТК выявляли клетки с высокой, умеренной и слабой экспрессией экзофермента, и подсчитывали их относительное содержание (в %). Для этого интенсивность окрашивания условно оценивали от (+) до (+++) при использовании объектива ×100. Таким образом, определяли наименьшее (+) или наибольшее (+++) содержание CD38 в ТК. Количественную оценку ТК проводили с помощью алгоритма подсчета программного обеспечения AxioVision (Carl Zeiss Vision, Oberkochen, Germany).

Таблица 2

Вторичные антитела и другие реагенты

| Антитела и другие реагенты | Производитель, каталожные номера | Разведение | Метка |
|--|---|--------------|-----------------|
| Антитела козы к иммуноглобулинам мыши | Jackson ImmunoResearch, #115-165-166 | 1/200 | Cy3 |
| Антитела козы к иммуноглобулинам кролика | Invitrogen Darmstadt, Germany, #A-11034 | 1/200 | Cy3 |
| Антитела козы к иммуноглобулинам мыши | Invitrogen Darmstadt, Germany, #A-11029 | 1/200 | Alexa Fluor 488 |
| Антитела козы к иммуноглобулинам кролика | Invitrogen Darmstadt, Germany, #A-11034 | 1/200 | Alexa Fluor 488 |
| Монтажная среда VECTASHIELD | Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA, #H-1000 | ready-to-use | w/o |
| TSA Plus Fluorescein | PerkinElmer, Rodgau Germany, #NEL741E001K | 1/200 | Fluorescein |
| TSA Plus Cyanine 3 | PerkinElmer, Rodgau Germany, #NEL744E001KT | 1/200 | Cyanine 3 |

Таблица 3

Результативность иммуногистохимической детекции CD38 в тучных клетках

| Орган | Первичные кроличьи моноклональные антитела к CD38 (SP149, Cell Marque, США) | | | | Первичные мышинные моноклональные антитела к CD38 (IB4, IB6, SUN-4B7) ^Δ | | | |
|---|---|------------------------------|----------|----------|--|------------------------------|----------|----------|
| | Доля CD38 ⁺ ТК (%) | Интенсивность экспрессии (%) | | | Доля CD38 ⁺ ТК (%) | Интенсивность экспрессии (%) | | |
| | | + | ++ | +++ | | + | ++ | +++ |
| Кожа (норма, n=5) | 5,2±0,5 | 65,2±3,1 | 22,3± | 12,5±1,1 | 8,8±0,5 | 52,4±4,2 | 39,2±2,5 | 8,4±0,5 |
| Кожа (нейтро-трофические язвы, n=5) | 7,3±0,6 | 13,2±0,8 | 62±4,3 | 24,8±1,6 | 14,1±1,2 | 15,6±1,1 | 66,7±4,3 | 17,7±1,3 |
| Молочная железа (норма, n =5) | 3,2±0,2 | 58,9±5,1 | 32,7±2,8 | 8,4±0,9 | 8,4±0,6 | 45,6±3,4 | 47,1±3,1 | 7,3±0,5 |
| Рак молочной железы (n=6) | 3,1±0,3 | 23,5±1,9 | 61,3±5,3 | 15,2±1,4 | 12,3±1,3 | 35,6±2,2 | 55,6±3,2 | 8,8±0,4 |
| Костный мозг (мастоцитоз, n=4) | * | – | – | – | 8,2±0,6 | 65,2±4,3 | 29,5±1,8 | 5,3±0,3 |
| Небная миндалина (хроническое воспаление, n=10) | * | – | – | – | 9,7±0,5 | 59,4±4,1 | 35,9±2,2 | 4,7±0,4 |

Примечание: * – единичные клетки, + – слабая экспрессия, ++ – умеренная экспрессия, +++ – выраженная экспрессия, ^Δ – антитела предоставлены руководителем лаборатории иммуногенетики Фабио Малаваси (университет Турина, Италия).

Результаты и их обсуждение

Эффективность выявления CD38 в ТК зависела от использования антител определенного производителя. Первичные кроличьи моноклональные антитела к клону SP149 молекулы CD38 (Cell Marque, USA) обладали меньшей эффективностью для детекции CD38 в триптаза-позитивных ТК. В миндалине и костном мозге выявлялись лишь единичные CD38⁺-ТК. В коже и молочной железе количество CD38⁺ ТК было выше (табл. 3). При патологии количество ТК с экспрессией CD38 возрастало, особенно у пациентов с нейро-

трофическими язвами (табл. 3). Иногда наблюдались некоторые внутрипопуляционные скопления ТК, обладающих экспрессией CD38, в том числе в опухолевом микроокружении аденокарциномы поджелудочной железы (рис. 1а). Вместе с тем возрастала интенсивность экспрессии CD38, выявлялись клетки с очень высоким содержанием CD38, которая обнаруживалась как на плазмалемме, так и в цитоплазме (рис. 1б, в).

При использовании антител к клонам IB4, IB6 и SUN-4B7 фермента CD38 эффективность выявления CD38⁺-ТК была более высокая во всех исследованных органах.

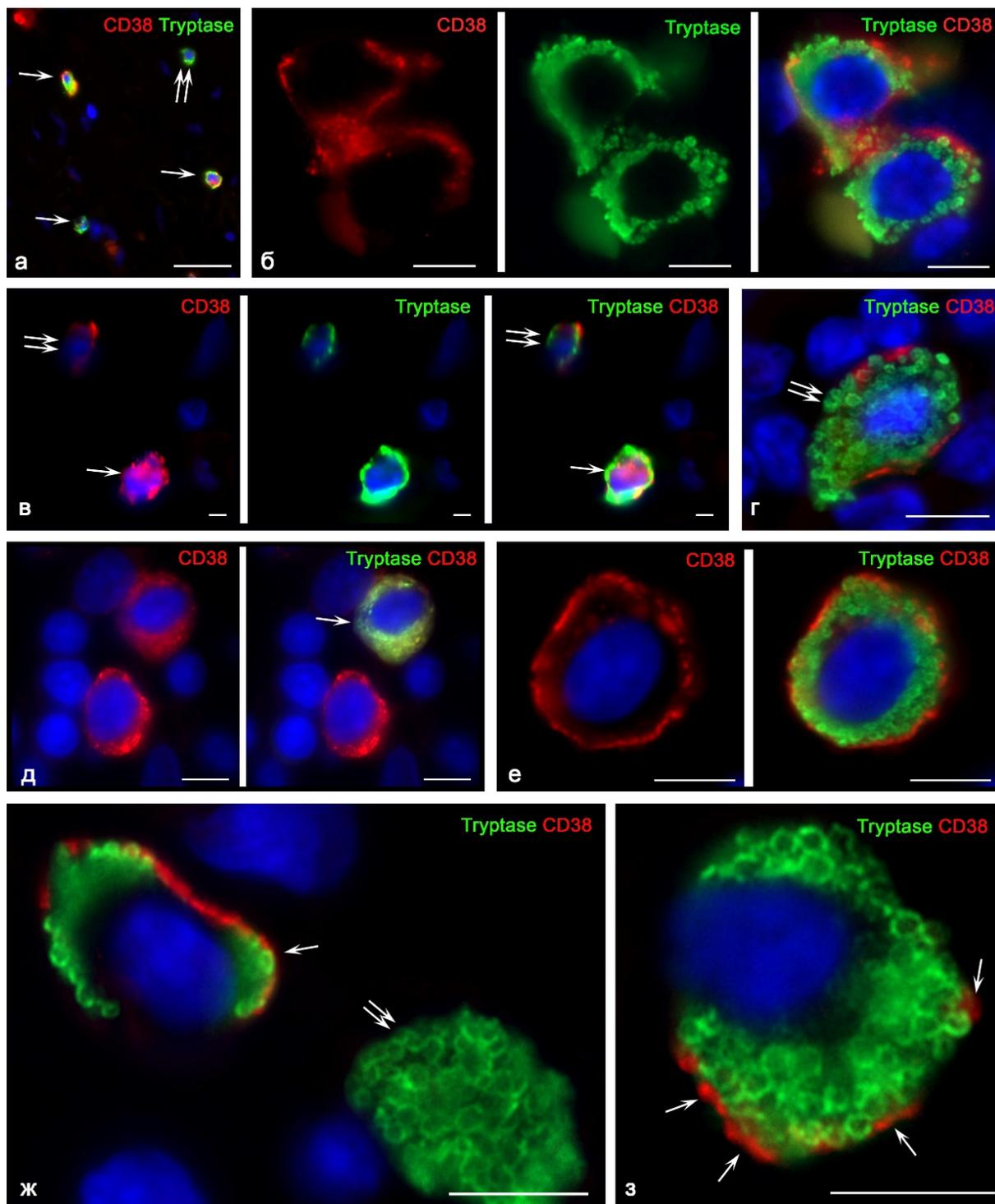


Рис. 1. Цитотопография CD38 в тучных клетках. Использованные первичные антитела: а–д – кроличьи моноклональные (Cell Marque, USA), е–з – мышьиные моноклональные (произведены в лаборатории иммуногенетики университета Турина, Италия). Обозначения: а – карцинома поджелудочной железы. Определяются клетки с экспрессией (указано стрелкой) и без экспрессии (двойная стрелка) CD38; б – молочная железа. Экспрессия CD38 в цитоплазме и на плазматической мембране (указано стрелкой); в – карцинома поджелудочной железы; ТК с высокой (стрелка) и умеренной (двойная стрелка) экспрессией CD38; г – молочная железа. Преимущественно периферическое расположение CD38 в области плазматической мембраны, с различной выраженностью на ее протяжении, включая области полного отсутствия (двойная стрелка); д – костный мозг, индолентный мастоцитоз. Диффузное распределение CD38 в цитоплазме гипогранулированной ТК (обозначена стрелкой); е – рак молочной железы. Преимущественное периферическое расположение CD38; ж, з – кожа, нейротрофическая язва; ж – периферическая локализация CD38 в некоторых локусах плазматической мембраны (обозначено стрелкой); з – ТК с экспрессией CD38 на плазмалемме (указано стрелкой). Ядра докрасены DAPI. Шкала: 50 мкм (а), остальные – 5 мкм.

CD38⁺-ТК более часто определялись в молочной железе (рис. 1г), а также обнаруживались в костном мозге и небной миндалине (рис. 1д). При этом наибольшей частотой иммуногистохимического выявления CD38 характеризовалась популяция ТК в коже (рис. 1е, ж, з). При мастоцитозе ТК отличались по уровню содержания CD38. Обращала на себя внимание выраженная экспрессия в некоторых из них. Гипохромные ТК 1а типа, обладающие удлинённой формой, обнаруживали наибольшую экспрессию CD38, особенно на плазматической мембране (рис. 2а). Наибольшее количество CD38⁺-ТК выявлялось в коже при нейротрофических язвах, как в мелких, так и крупных ТК, заполненных крупными триптаза-позитивными гранулами (рис. 2б). Несмотря на то, что в небной миндалине выявлялось наименьшее количество CD38⁺-ТК, обнаруживалась более частая их солокализация с другими CD38⁺-клетками лимфоидной ткани (рис. 2в, 3а, 4). В некоторых случаях визуализировался процесс поступления триптаза-позитивных гранул в цитоплазму CD38⁺-клеток (рис. 4а, б, в, г).

Следует обратить внимание на очевидную связь экспрессии CD38 с состоянием специфического тканевого микроокружения. В частности, при воспалении или онкогенезе экспрессия CD38 в ТК существенно возрастала (рис. 2г, д). У пациентов с нейротрофическими язвами ТК обладали наибольшей экспрессией CD38 (рис. 2е). В молочной железе, вместе с возрастанием экспрессии CD38 в ТК при канцерогенезе (табл. 3) отмечалось существенное различие в преимущественной локализации экзофермента.

Необходимо отметить различные варианты цитотопографии преимущественной экспрессии CD38 в ТК. В некоторых из них CD38 идентифицировался преимущественно или исключительно на плазмалемме (рис. 1б, г, е, ж, з, рис. 2б, г, е), у других экспрессия характеризовалась прежде всего внутрицитоплазматическим распределением (рис. 1в, д, рис. 2в, 2е). Наконец, встречались клетки, экспрессия CD38 которых выявлялась как на плазматической мембране, так и в структурах цитоплазмы (рис. 2а).

Анализируя цитотопографическую локализацию молекулы CD38, следует отметить, что первичные антитела к ее клонам IB4, IB6 и SUN-4B7 выявляли фермент преимущественно в области плазматической мембраны, хотя в ряде случаев была отмечена и его внутрицитоплазматическое нахождение. Кроличьи моноклональные антитела производителя Cell Marque, наряду с детекцией экзофермента на плазматической мембране, с большей частотой выявляли CD38 в цитоплазматических структурах. В некоторых случаях можно было провести аналогию между гранулами и содержанием экзофермента. В то же время, гораздо более часто наблюдалось диффузное

окрашивание цитоплазмы без какой-либо точной внутрицитоплазматической локализации фермента (рис. 2в, е).

Обращала на себя внимание закономерность более редкого выявления CD38 в ТК, содержащих хорошо выраженные гранулы. При мастоцитозе CD38 более часто экспрессировалась в гипохромных ТК, содержащих мелкие гранулы [3].

Возможно, что внутрицитоплазматическое распределение CD38 имело место и в ТК, обладающих выраженной экспрессией экзофермента на плазмалемме. Однако, данный факт по техническим характеристикам делает затруднительным регистрацию камерой более слабого сигнала при наличии более выраженного. Таким образом, даже при четко выраженном паттерне распределения CD38 на плазмалемме можно предполагать содержание CD38 в малом количестве в цитоплазме.

Высокий интерес с точки зрения реализации межклеточного сигналинга представляет собой солокализация ТК, обладающих и не обладающих экспрессией CD38 (рис. 2а). Возможное близкое расположение таких ТК позволяет предположить неизвестные ранее механизмы внутрипопуляционного взаимодействия и рассмотрения экзофермента как непосредственного участника направленной индукции в миграционной активности, чувствительности рецепции и секреторной деятельности.

Солокализация ТК с другими CD38⁺-клетками специфического тканевого микроокружения органов представляет собой отдельный интерес (рис. 3а, г–и, рис. 4). Этот подход позволяет объективно проводить исследование пространственной солокализации и проводить анализ межклеточного взаимодействия с учетом компонентов секрета ТК. Анализ таких данных позволяет выявить морфологические свидетельства реализации сигнальных путей, индукции образования иммунокомпетентных клеточных ансамблей в соответствии с направленностью формирования проопухолевого или антитуморогенного микроокружения. Иногда ТК контактировали сразу с несколькими CD38⁺-клетками (рис. 3е, з, рис. 4а, ж). Данные картины можно рассматривать с точки зрения реализации селективной дегрануляции ТК с образованием специфического иммунологического синапса в определенном локусе клетки, характеризующегося определенной молекулярной кластеризацией, сегрегацией и направленной секрецией необходимых компонентов секрета [13]. При этом особое информационное значение имеет локальное воздействие специфических протеаз ТК, включая триптазу, на область межклеточного контакта. Данную поляризованную дегрануляцию в пределах иммунологического синапса с направленной секрецией триптазы можно идентифицировать на микропрепаратах (рис. 4).

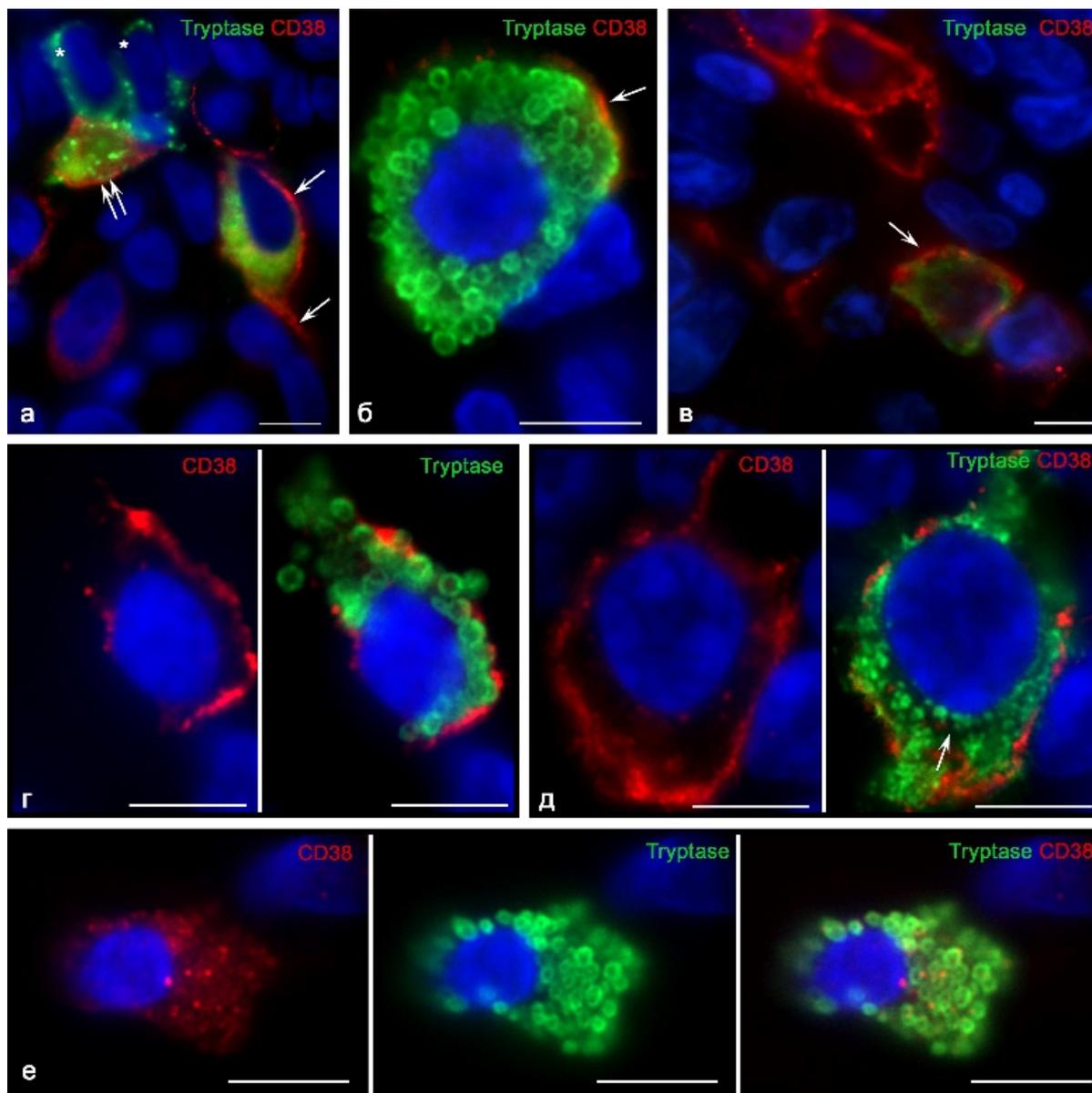


Рис. 2. Внутриклеточное распределение CD38 в тучных клетках. Использованные первичные антитела: а, б, г, д – мышинные моноклональные (произведены в лаборатории иммуногенетики университета Турина, Италия); в, е – кроличьи моноклональные (Cell Marque, США). Обозначения: а – индолентный системный мастоцитоз, костный мозг. В гипохромной ТК 1а типа выявляется преимущественная локализация CD38 на плазматической мембране (указано стрелкой); обнаруживаются ТК с локализацией CD38 на внутриклеточных структурах (двойная стрелка), а также отсутствием экспрессии экзофермента (указано звездочкой); б – кожа, нейротрофическая язва. Различная степень экспрессии CD38 на плазмалемме ТК, от полного отсутствия до высокой интенсивности (указано стрелкой); в – экстрафолликулярная лимфоидная ткань небной миндалины. В тучной клетке детектируется как внутрицитоплазматическая экспрессия CD38, так и на плазмалемме (указано стрелкой); г, д – рак молочной железы. Варианты распределения CD38 на плазмалемме ТК; е – небная миндалина, строма; преимущественно внутрицитоплазматическая экспрессия CD38 в ТК. Ядра докрашены DAPI. Шкала: 5 мкм.

Содержание триптазы ТК в ядрах CD38⁺-клеток в норме – достаточно редкое явление. Наиболее часто данные картины выявлялись в миндалине (рис. 3а). Вместе с тем, при патологии частота выявления триптазы в ядрах других клеток возрастала, в частности, у пациентов с нейротрофическими язвами или при онкогенезе (рис. 3б, в, г). Иногда наблюдался прямой непосредственный контакт ТК с CD38⁺-клетками, ядра которых содержали триптазу (рис. 3а). Интересно, что в массиве

CD38⁺-клеток иногда выявлялись клетки с триптаза-позитивными ядрами, без какого либо присутствия ТК поблизости (рис. 3б, г). Это позволяет предположить поступление триптазы из внеклеточных ресурсов протеазы, источником которых могут выступать свободно расположенные в соединительной ткани гранулы ТК. Как известно, гранулы ТК могут определенное время располагаться в межклеточном матриксе, обладают определенной автономностью и представляют собой резерв

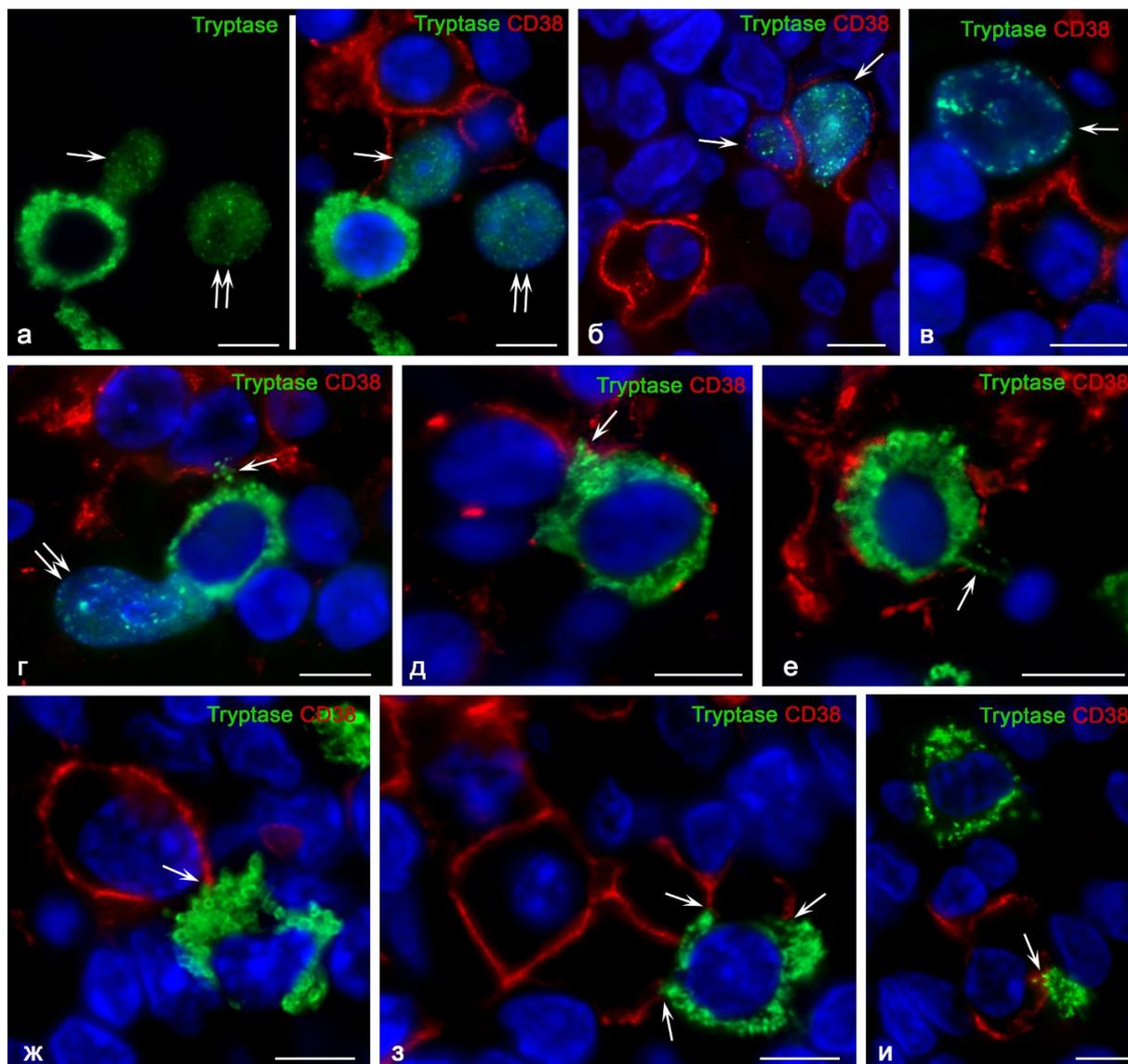


Рис. 3. Особенности взаимодействия тучных клеток с $CD38^+$ -клетками в специфическом тканевом микроокружении. Используемые первичные антитела: а, б, з-и – кроличьи моноклональные (Cell Marque, USA), в-ж – мышьи моноклональные (произведены в лаборатории иммуногенетики университета Турина, Италия). Обозначения: а – небная миндалина. Контактное взаимодействие тучной клетки с $CD38^+$ -клетками, локализация триптазы в ядре $CD38^+$ -клетки и $CD38^-$ -клетки (стрелка и двойная стрелка соответственно); б – молочная железа. Расположение триптазы ТК в ядрах $CD38^+$ -клеток (указано стрелкой); в – кожа, нейротрофическая язва. Триптаза в $CD38^-$ -клетке; г – индолентный системный мастоцитоз, костный мозг. Направленная секреция триптазы ТК в $CD38^+$ -клетку (стрелка), триптаза в ядре прилегающей $CD38^-$ -клетки (двойная стрелка); д – небная миндалина. $CD38^+$ -тучная клетка формирует контакт на значительной площади с $CD38^+$ -клеткой (указано стрелкой); е – рак молочной железы. ТК в тесном контакте с $CD38^+$ -клетками, секреция триптазы в направлении ядра прилегающей клетки (стрелка); ж, з, и – небная миндалина. Различные варианты секреции триптазы и контактирования гранул ТК с плазмалеммой $CD38^+$ -клеток (указано стрелкой). Ядра докрашены DAPI. Шкала: 5 мкм.

специфической протеазы, который может использоваться при необходимости.

С точки зрения объяснения механизма поступления триптазы в ядра $CD38^+$ -клеток можно предположить регуляторные последствия данного феномена. В частности, данное явление может влиять на состояние гистонов, а также клеточную пролиферацию, при этом триптаза проявляет антипролиферативные эффекты [1, 36].

С момента открытия $CD38$ практически четыре десятилетия назад накопленные дан-

ные указывают на его важную роль в деятельности различных типов клеток как в физиологическом, так и в патологическом контексте [31]. Мультипотентные стволовые клетки крови человека могут пролиферировать и дифференцироваться в зрелые ТК [23], при этом коммитированные предшественники ТК содержат антиген $CD38$ [33, 40]. $CD38$ экспрессируется на ранней стадии дифференцировки стволовых клеток $CD34^+$ и сохраняется в зрелых иммунных клетках, включая Т-клетки и НК-клетки, В-клетки и плазматические,

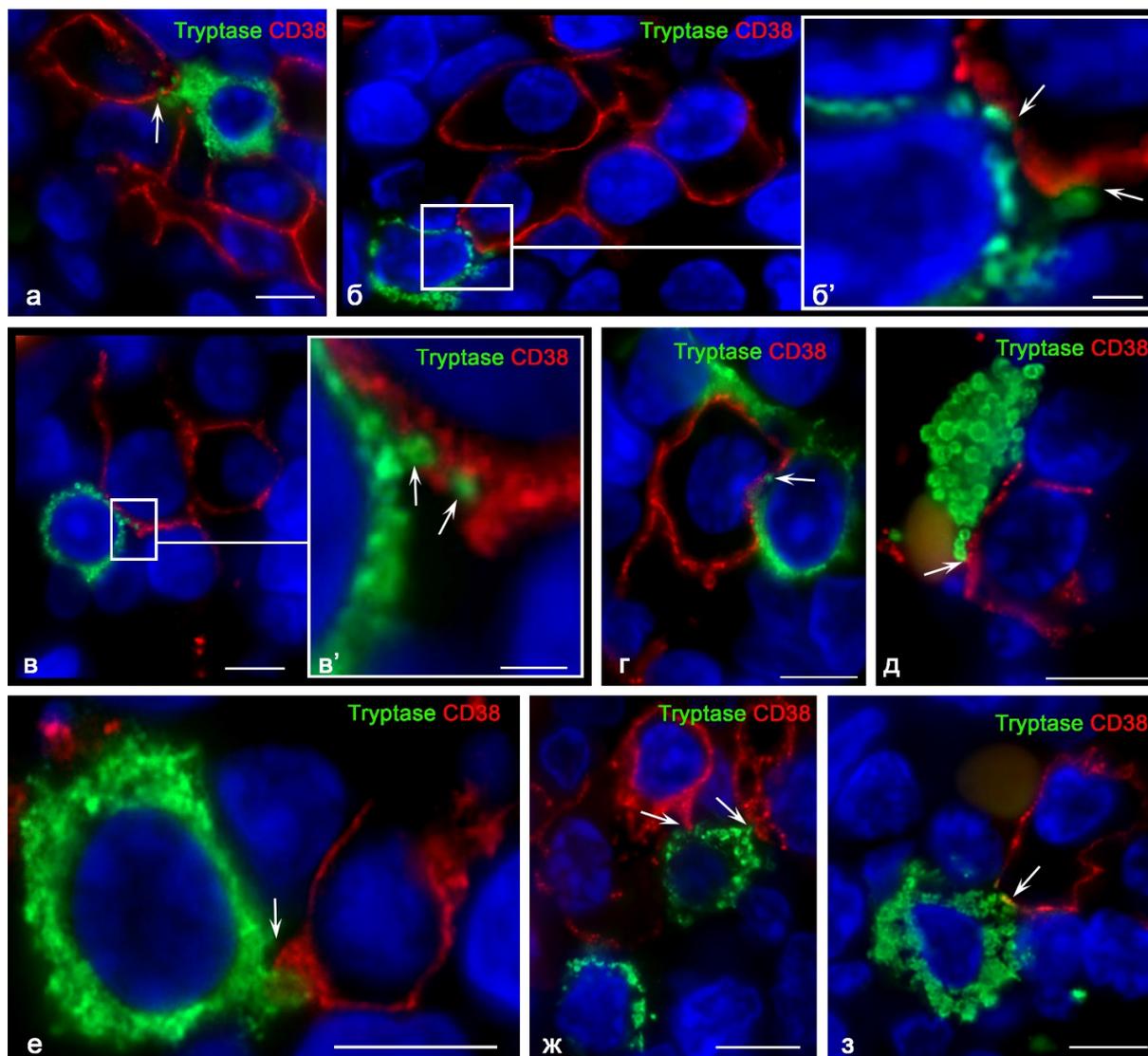


Рис. 4. Гистоархитектоника специализированных иммунных контактов тучных клеток с $CD38^+$ -клетками в небной миндалине. Использованные первичные антитела: а–д – кроличьи моноклональные (*Cell Marque, США*), е–з – мышьи моноклональные (произведены в лаборатории иммуногенетики университета Турина, Италия). Обозначения: а – солокализация ТК с несколькими $CD38^+$ -клетками. Визуализируется поступление триптаза-позитивных гранул в цитоплазму $CD38^+$ -клетки по направлению к ядру (указано стрелкой); б–б', в–в', г – контакт ТК с $CD38^+$ -клетками, различные варианты солокализации триптаза-содержащих гранул с плазмалеммой $CD38^+$ -клеток (указано стрелкой); е, д – взаимодействие триптаза-позитивных гранул с экзоферментом на плазмалемме солокализованной клетки (указано стрелкой); е–з – различные морфологические варианты формирования взаимодействия гранул ТК с $CD38^+$ -клетками миндалины (указано стрелкой). Шкала: 1 мкм (б', в'), 5 мкм – остальные рисунки.

циты и др. Экспрессия $CD38^+$ в нейтрофилах является важным подтверждением возможности идентификации этой молекулы в ТК, поскольку нейтрофилы и ТК имеют общего костномозгового предшественника. Действительно, возможность детекции $CD38$ в созревших ТК с помощью проточной цитометрии была показана в нескольких работах, несмотря на высокую вариабельность экспрессии экзофермента [12, 38]. При этом по результатам scRNA-seq были выявлены различные фенотипы ТК дыхательных путей с высокой и низкой экспрессией $CD38$ ($CD38^{\text{high}}CD117^{\text{low}}$ и $CD38^{\text{low}}CD117^{\text{high}}$). Авторы сделали предположение, что данные иммунофенотипы представляют собой два поляризованных состоя-

ния со специфическими особенностями транскриптома, протеома и гистотопографическими характеристиками [12, 38]. Кроме того, в качестве промежуточного фенотипа авторы предположили ТК с иммунофенотипом $CD38^{\text{high}}CD117^{\text{high}}$, которые выявлялись в малом количестве.

Результаты проведенного нами иммуногистохимического анализа подтвердили данные о возможности идентификации $CD38$ в ТК человека. В то же время, принципиальным остается вопрос о специфичности используемых антител, поскольку очевидна их различная эффективность в связи со сродством к различным эпитопам молекулы $CD38$. О важности данного факта в аспекте мультиплек-

ной иммуногистохимии свидетельствуют результаты выполненной работы, показавшей неодинаковую эффективность детекции STLA-4 с помощью различных антител [43]. Наши результаты показали как особенности в детекции CD38 в ТК с помощью использованных антител, так и различную интенсивность экспрессии экзофермента. Полученные данные согласуются с результатами исследования, выявившего особенности эффектов таргетной терапии в соответствии с неодинаковой афинностью антител к различным эпитопам CD38, включая механизмы индукции апоптоза клеток-мишеней [21, 26, 44].

Интересным моментом для дискуссии может быть закономерность коэкспрессии CD117 и CD38 в ТК. Действительно, судя по нашим данным, можно выявить некую аналогию между количеством CD117⁺-ТК и CD38⁺-ТК в органоспецифичной популяции. Несмотря на то, что CD117 является надежным маркером ТК, его выявление не гарантирует определение общей совокупности ТК в органе. Возможно, что существует определенный переход между этими двумя иммунофенотипами ТК. Дальнейшие исследования поляризации ТК в отношении экспрессии экзофермента CD38 и белковой тирозинкиназы Kit (CD117) могут принести интересные результаты для интерпретации функционального состояния.

Для оценки цитотопографического распределения CD38 необходимо учитывать, что экспрессия экзофермента зависит от ультраструктурной конфигурации молекулы и ее внутриклеточной топографии. Помимо плазмалеммы CD38 также был идентифицирован в экзосомах, в которых он сохранял свою ферментативную активность, а также на внеклеточных микровезикулах, которые также содержали другие компоненты аденозинергического аппарата, включая CD203a, CD39 и CD73 [30, 31, 34]. Этот факт создает предпосылки для исследования CD38 в экзосомах и микровезикулах ТК для понимания и интерпретации межклеточной коммуникации. Внутриклеточный пул CD38 связан с митохондриальными и ядерными мембранами [19]. Очевидно, именно с этим может быть связано то, что ряд структур в цитоплазме ТК обладает иммунопозитивностью к экзоферменту, возможно, и структуры гранул (рис. 2e). В то же время, определенный внутриклеточный уровень CD38 может формироваться благодаря механизму интернализации CD38, приводящему к распределению экзофермента в цитоплазме.

Внутриклеточное распределение CD38 может определяться в связи с уровнем активности фагоцитоза. В частности, CD38 обнаруживается в формирующихся фагосомах макрофагов 1-го типа [45]. Поскольку ТК обладают функциональными возможностями для фагоцитоза, возможно, что высокая экспрес-

сия CD38 в некоторых из их пула обладает дополнительными функциональными свойствами в отношении развития взаимоотношений с опухолью или другими патологическими агентами. Таким образом, внутриклеточное распределение CD38 может быть дополнительным маркером оценки биологических эффектов ТК в опухолевом микроокружении.

При иммуногистохимическом исследовании интенсивная экспрессия CD38 на плазмалемме является довольно надежным маркером идентификации плазматических клеток [4, 41]. В то же время, активированные В-клетки и Т-клетки, включая НК-клетки, могут повышать экспрессию CD38 до уровня плазматических клеток [18]. Данная закономерность была выявлена также при исследовании моноцитов, макрофагов, дендритных клеток и гранулоцитов. Очевидно, что и в ТК уровень экспрессии CD38 является лабильным признаком и может меняться в зависимости от состояния специфического тканевого микроокружения.

Оценивая возможности мультиплексной иммуногистохимии в оценке уровня экспрессии CD38, необходимо принимать во внимание, что низкий визуализируемый фон экзофермента в ТК может быть связан с особенностями работы монохромной камеры при проведении фотодокументирования иммуногистохимического окрашивания с использованием флуорохромов. Как известно, камера адаптируется под сигнал с высоким уровнем свечения, и если уровень экспрессии в соседних мишенях достаточно низкий, то они могут оставаться слабо видимыми или вообще незаметными.

Продолжаются исследования механизма роли CD38 в прогрессировании онкогенеза и механизмов уклонения опухоли от иммунитета. Ряд исследований показал значение CD38 как фактора, способствующего развитию опухоли вследствие изменения локального метаболического микроокружения опухоли с провоспалительного на противовоспалительное, в том числе благодаря поляризации макрофагов [14, 17]. Это позволяет рассматривать CD38 в качестве маркера для мониторинга противоопухолевого иммунного ответа, определяя метаболический профиль тканей [45]. Очевидно, что различная экспрессия CD38 на ТК может отражать их физиологическое состояние и степень участия в онкогенезе, свидетельствовать о целенаправленной секреции ряда цитокинов, хемокинов и факторов роста, обладающих проонкогенными или антитуморогенными эффектами. Однако данные предположения потребуют дополнительных исследований.

Очевидно, что CD38 может определять и активность миграции ТК, поскольку известно его участие в эффективности хемотаксиса других иммунокомпетентных клеток человека [25].

В последнее десятилетие иммунологическая роль ТК неуклонно возрастает. Они обладают богатым арсеналом для регуляции других иммунных клеток как с помощью прямых контактов, так и опосредованно [7]. Наши результаты указывают на важную диагностическую значимость событий, связанных с сококализацией ТК и CD38⁺-клеток. Значительный интерес представляет собой формирование межклеточных контактов, в частности, специализированной сигнальной области ТК, которая получила название ADDS (antibody-dependent degranulatory synapse) в связи с локальной дегрануляцией [12]. Осуществляемая секреция ТК в данной области может иметь негативные последствия для сококализированной клетки, в частности, вызывать лизис посредством TNF, каспазы 3 или гранзима В [12]. Цитотоксические повреждения другим клеткам ТК могут наноситься с помощью экзосом, секреторных гранул, макро- и микровезикул. При этом экзосомы могут захватываться клетками контакта и индуцировать их цитолиз с участием специфических протеаз ТК [12]. Помимо данного эффекта следует учитывать индуктивные функции триптазы, оказываемые на пролиферативные потенции клетки иммунного контакта [28]. Таким образом, выявленные иммунологические синапсы между CD38⁺-клетками и ТК могут отражать сложные механизмы межклеточного сигналинга и быть косвенным маркером эффективности противоопухолевой терапии. Интересным представляется регуляция секреторной активности ТК с участием CD38, поскольку хорошо известны активирующие влияния на секрецию гранзимов и цитокинов в НК-клетках с приобретением цитотоксического фенотипа [47].

Заключение

Проведенное исследование показывает принципиальную возможность детекции CD38 в тучных клетках на гистологических препаратах. Важное значение при этом имеют антитела, направленные на определенные эпитопы CD38, с чем связана их специфичность и эффективность детекции тучных клеток. Очевидно, что интенсивность экспрессии CD38 в тучных клетках обусловлена функциональной активностью. Детали этого механизма и особенности могут стать плодотворной почвой для будущих исследований в различных лабораториях. С другой стороны, CD38⁺-тучные клетки могут представлять собой отдельную субпопуляцию с характерными свойствами, что также заслуживает продолжения исследований тучных клеток с использованием омиксных технологий, включая геномные, транскриптомные, протеомные, липидомные и др. Чем больше информации будет получено о протеине CD38 и тучных клетках, тем более селективным может быть изменение статуса

специфического тканевого микроокружения, включая формирование провоспалительного иммунного ответа и повышение эффективности элиминации опухоли.

Список источников / References

- Alanazi S, Grujic M, Lampinen M, Rollman O, Sommerhoff CP, Pejler G, et al. Mast Cell β -Tryptase Is Enzymatically Stabilized by DNA. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020 Jul 17;21(14):5065. doi: 10.3390/ijms21145065
- Aponte-López A, Muñoz-Cruz S. Mast Cells in the Tumor Microenvironment. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2020;(1273):159–73. doi: 10.1007/978-3-030-49270-0_9
- Atiakshin D, Buchwalow I, Horny P, Tiemann M. Protease profile of normal and neoplastic mast cells in the human bone marrow with special emphasis on systemic mastocytosis. *Histochemistry and Cell Biology*. 2021 Jan 25;155(5):561–80. doi: 10.1007/s00418-021-01964-3
- Bataille R, Jégo G, Robillard N, Barillé-Nion S, Harousseau JL, Moreau P, Amiot M, Pellat-Deceunynck C. The phenotype of normal, reactive and malignant plasma cells. Identification of "many and multiple myelomas" and of new targets for myeloma therapy. *Haematologica*. 2006 Sep;91(9):1234–40.
- Buchwalow I, SamoiloVA V, Boecker W, Tiemann M. Multiple immunolabeling with antibodies from the same host species in combination with tyramide signal amplification. *Acta Histochemica*. 2018 Jul;120(5):405–11. doi: 10.1016/j.acthis.2018.05.002
- Buchwalow I, SamoiloVA V, Boecker W, Tiemann M. Non-specific binding of antibodies in immunohistochemistry: fallacies and facts. *Scientific Reports*. 2011 Jul 1;1(1):28. doi: 10.1038/srep00028
- Buchwalow IB, Boecker W. *Immunohistochemistry: Basics and Methods*. 1st ed. Germany: Springer; 2010.
- Carroll-Portillo A. Mast cell synapses and exosomes: membrane contacts for information exchange. *Frontiers in Immunology*. 2012;15(3):46. doi: 10.3389/fimmu.2012.00046
- Choi HW, Naskar M, Seo HK, Lee HW. Tumor-Associated Mast Cells in Urothelial Bladder Cancer: Optimizing Immuno-Oncology. *Biomedicines*. 2021 Oct 20;9(11):1500. doi: 10.3390/biomedicines9111500
- Deaglio S, Mehta K, Malavasi F. Human CD38: a (r)evolutionary story of enzymes and receptors. *Leukemia Research*. 2001 Jan;25(1):1–12. doi: 10.1016/S0145-2126(00)00093-x
- Benfaremo D, Gabrielli A. Is There a Future for Anti-CD38 Antibody Therapy in Systemic Auto-immune Diseases? *Cells*. 2019 Dec 27;9(1):77. doi: 10.3390/cells9010077
- Dwyer DF, Ordovas-Montanes J, Allon SJ, Buchheit KM, Vukovic M, Derakhshan T, et al. Human airway mast cells proliferate and acquire distinct inflammation-driven phenotypes during type 2 inflammation. *Science Immunology*. 2021 Feb 12;6(56). doi: 10.1126/sciimmunol.abb7221
- Espinosa E, Valitutti S. New roles and controls of mast cells. *Current Opinion in Immunology*. 2018 Feb;50:39–47. doi: 10.1016/j.coi.2017.10.012

14. Glaría E, Valledor AF. Roles of CD38 in the Immune Response to Infection. *Cells*. 2020 Jan 16;9(1):228. doi: 10.3390/cells9010228
15. Hiepe F, Radbruch A. Plasma cells as an innovative target in autoimmune disease with renal manifestations. *Nature Reviews Nephrology*. 2016 Feb 29;12(4):232–40. doi: 10.1038/nrneph.2016.20
16. Komi DEA, Redegeld FA. Role of Mast Cells in Shaping the Tumor Microenvironment. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*. 2019 Jun 29;58(3):313–25. doi: 10.1007/s12016-019-08753-w
17. Konen JM, Fradette JJ, Gibbons DL. The Good, the Bad and the Unknown of CD38 in the Metabolic Microenvironment and Immune Cell Functionality of Solid Tumors. *Cells*. 2019 Dec 24;9(1):52. doi: 10.3390/cells9010052
18. Krejcik J, Casneuf T, Nijhof IS, Verbist B, Bald J, Plesner T, et al. Daratumumab depletes CD38+ immune regulatory cells, promotes T-cell expansion, and skews T-cell repertoire in multiple myeloma. *Blood*. 2016 Jul 21;128(3):384–94. doi: 10.1182/blood-2015-12-687749
19. Krejcik J, Frerichs KA, Nijhof IS, van Kessel B, van Velzen JF, Bloem AC, et al. Monocytes and Granulocytes Reduce CD38 Expression Levels on Myeloma Cells in Patients Treated with Daratumumab. *Clinical Cancer Research*. 2017 Oct 12;23(24):7498–511. doi: 10.1158/1078-0432.ccr-17-2027
20. Lam JH, Ng HHM, Lim CJ, Sim XN, Malavasi F, Li H, et al. Expression of CD38 on Macrophages Predicts Improved Prognosis in Hepatocellular Carcinoma. *Frontiers in Immunology*. 2019 Sep 4;10:2093. doi: 10.3389/fimmu.2019.02093
21. Lammerts van Bueren J, Jakobs D, Kaldenhoven N, Roza M, Hiddingh S, Meesters J, et al. Direct in Vitro Comparison of Daratumumab with Surrogate Analogs of CD38 Antibodies MOR03087, SAR650984 and Ab79. *Blood*. 2014 Dec 6;124(21):3474–4. doi: 10.1182/blood.v124.21.3474.3474
22. Lee HC. Structure and Enzymatic Functions of Human CD38. *Molecular Medicine*. 2006 Nov;12(11-12):317–23. doi: 10.2119/2006-00086.lee
23. Li Z, Liu S, Xu J, Zhang X, Han D, Liu J, et al. Adult Connective Tissue-Resident Mast Cells Originate from Late Erythro-Myeloid Progenitors. *Immunity*. 2018 Oct;49(4):640–53. doi: 10.1016/j.immuni.2018.09.023
24. Malavasi F, Deaglio S, Ferrero E, Funaro A, Sancho J, Ausiello CM, et al. CD38 and CD157 as Receptors of the Immune System: A Bridge Between Innate and Adaptive Immunity. *Molecular Medicine*. 2006 Nov;12(11-12):334–41. doi: 10.2119/2006-00094.malavasi
25. Malavasi F, Deaglio S, Funaro A, Ferrero E, Horenstein AL, Ortolan E, et al. Evolution and Function of the ADP Ribosyl Cyclase/CD38 Gene Family in Physiology and Pathology. *Physiological Reviews*. 2008 Jul;88(3):841–86. doi: 10.1152/physrev.00035.2007
26. Martin TG, Corzo K, Chiron M, van de Velde H, Abbadessa G, Campana F, et al. Therapeutic Opportunities with Pharmacological Inhibition of CD38 with Isatuximab. *Cells*. 2019 Nov 26;8(12):1522. doi: 10.3390/cells8121522
27. Mehtani D, Puri N. Steering Mast Cells or Their Mediators as a Prospective Novel Therapeutic Approach for the Treatment of Hematological Malignancies. *Frontiers in Oncology*. 2021 Sep 24;11:731323. doi: 10.3389/fonc.2021.731323
28. Melo FR, Wallerman O, Paivandy A, Calounova G, Gustafson A-M, Sabari BR, et al. Tryptase-catalyzed core histone truncation: A novel epigenetic regulatory mechanism in mast cells. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2017 Aug;140(2):474–85. doi: 10.1016/j.jaci.2016.11.044
29. Morandi F, Airoidi I, Marimpietri D, Bracci C, Faini AC, Gramignoli R. CD38, a Receptor with Multifunctional Activities: From Modulatory Functions on Regulatory Cell Subsets and Extracellular Vesicles, to a Target for Therapeutic Strategies. *Cells*. 2019 Nov 27;8(12):1527. doi: 10.3390/cells8121527
30. Morandi F, Marimpietri D, Horenstein AL, Bolzoni M, Toscani D, Costa F, et al. Microvesicles released from multiple myeloma cells are equipped with ectoenzymes belonging to canonical and non-canonical adenosinergic pathways and produce adenosine from ATP and NAD+. *OncoImmunology*. 2018 Mar 29;7:e1458809. doi: 10.1080/2162402x.2018.1458809
31. Morandi F, Marimpietri D, Horenstein AL, Corrias MV, Malavasi F. Microvesicles expressing adenosinergic ectoenzymes and their potential role in modulating bone marrow infiltration by neuroblastoma cells. *OncoImmunology*. 2019 Feb 19;8(5):e1574198. doi: 10.1080/2162402x.2019.1574198
32. Muñoz P, Navarro M-C, Pavón EJ, Salmerón J, Malavasi F, Sancho J, et al. CD38 Signaling in T Cells Is Initiated within a Subset of Membrane Rafts Containing Lck and the CD3-ζ Subunit of the T Cell Antigen Receptor. *Journal of Biological Chemistry*. 2003 Dec;278(50):50791–802. doi: 10.1074/jbc.m308034200
33. Nakahata T, Toru H. Cytokines Regulate Development of Human Mast Cells from Hematopoietic Progenitors. *International Journal of Hematology*. 2002 May;75(4):350–6. doi: 10.1007/bfo2982123
34. Nielsen T, Kristensen SR, Gregersen H, Teodorescu EM, Christiansen G, Pedersen S. Extracellular vesicle-associated procoagulant phospholipid and tissue factor activity in multiple myeloma. *Camussi G, editor. PLOS ONE*. 2019 Jan 14;14(1):e0210835. doi: 10.1371/journal.pone.0210835
35. Quarona V, Zaccarello G, Chillemi A, Brunetti E, Singh VK, Ferrero E, et al. CD38 and CD157: a long journey from activation markers to multifunctional molecules. *Cytometry Part B, Clinical Cytometry*. 2013 Jul 1;84(4):207–17. doi: 10.1002/cyto.b.21092
36. Rabelo Melo F, Santosh Martin S, Sommerhoff CP, Pejler G. Exosome-mediated uptake of mast cell tryptase into the nucleus of melanoma cells: a novel axis for regulating tumor cell proliferation and gene expression. *Cell Death & Disease*. 2019 Sep;10(9):659. doi: 10.1038/s41419-019-1879-4
37. Ribatti D, Annese T, Tamma R. Controversial role of mast cells in breast cancer tumor progression and angiogenesis. *Clinical Breast Cancer*. 2021 Aug;21(6):486–91. doi: 10.1016/j.clbc.2021.08.010
38. Rönnberg E, Boey DZH, Ravindran A, Säfholm J, Orre A-C, Al-Ameri M, et al. Immunoprofiling reveals novel mast cell receptors and a continuous

- nature of human lung mast cell heterogeneity. 2021 Mar 12. doi: 10.1101/2021.03.12.435093
39. Scopocchia G, Titus JA, Mazzoni A, Visintin A, Pericle F, Hicks SW, et al. CD38 Triggers Cytotoxic Responses in Activated Human Natural Killer Cells. *Blood*. 1999 Dec 1;94(11):3864–71. doi: 10.1182/blood.v94.11.3864.423k14_3864_3871
 40. Shiohara M, Koike K. Regulation of Mast Cell Development. Mast Cells in Allergic Diseases. 2005;87:1–21. doi: 10.1159/000087566
 41. Steiniger BS, Raimer L, Ecke A, Stuck BA, Cetin Y. Plasma cells, plasmablasts, and AID+/CD30+ B lymphoblasts inside and outside germinal centres: details of the basal light zone and the outer zone in human palatine tonsils. *Histochemistry and Cell Biology*. 2020 Mar 14;154(1):55–75. doi: 10.1007/s00418-020-01861-1
 42. Terhorst C, van Agthoven A, Leclair K, Snow P, Reinherz E, Schlossman S. Biochemical studies of the human thymocyte cell-surface antigens T6, T9 and T10. *Cell*. 1981 Mar;23(3):771–80. doi: 10.1016/0092-8674(81)90441-4
 43. Tiemann M, Atiakshin D, SamoiloVA V, Buchwalow I. Identification of CTLA-4-Positive Cells in the Human Tonsil. *Cells*. 2021 Apr 27;10(5):1027. doi: 10.3390/cells10051027
 44. van de Donk NWCJ, Usmani SZ. CD38 Antibodies in Multiple Myeloma: Mechanisms of Action and Modes of Resistance. *Frontiers in Immunology*. 2018 Sep 20;9:2134. doi: 10.3389/fimmu.2018.02134
 45. Wo YJ, Gan ASP, Lim X, Tay ISY, Lim S, Lim JCT, et al. The Roles of CD38 and CD157 in the Solid Tumor Microenvironment and Cancer Immunotherapy. *Cells*. 2019 Dec 20;9(1):26. doi: 10.3390/cells9010026
 46. Zhang W, Hubbard A, Jones T, Racolta A, Bhaumik S, Cummins N, et al. Fully automated 5-plex fluorescent immunohistochemistry with tyramide signal amplification and same species antibodies. *Laboratory Investigation*. 2017 May 15;97(7):873–85. doi: 10.1038/labinvest.2017.37
 47. Zambello R, Barilà G, Manni S, Piazza F, Semenzato G. NK cells and CD38: Implication for (Immuno)Therapy in Plasma Cell Dyscrasias. *Cells*. 2020 Mar 21;9(3):768. doi: 10.3390/cells9030768
 48. Zilber M-T, Gregory S, Mallone R, Deaglio S, Malavasi F, Charron D, et al. CD38 expressed on human monocytes: A coaccessory molecule in the superantigen-induced proliferation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2000 Mar 7;97(6):2840–5. doi: 10.1073/pnas.050583197

Статья поступила в редакцию 14.01.2022; одобрена после рецензирования 28.02.2022; принята к публикации 1.03.2022.
The article was submitted 14.01.2022; approved after reviewing 28.02.2022; accepted for publication 1.03.2022.

Информация об авторах

✉ Атякшин Дмитрий Андреевич – д-р мед. наук, зав. лабораторией патоморфологии с лекарственной токсикологией Центра коллективного пользования Российского университета дружбы народов. Ул. Миклохо-Маклая, 6, Москва, 117198; earth-mars38@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8347-4556>
Костин Андрей Александрович – д-р мед. наук, профессор, чл.-корр. РАН, первый проректор – проректор по научной работе Российского университета дружбы народов. Ул. Миклохо-Маклая, 6, Москва, 117198; rudn@rudn.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0792-6012>
Шишкина Виктория Викторовна – канд. мед. наук, доцент, директор НИИ экспериментальной биологии и медицины Воронежского государственного медицинского университета им. Н.Н. Бурденко. Ул. Студенческая, 10, Воронеж, 394036; 4128069@gmail.com <https://orcid.org/0000-0001-9185-4578>
Бухвалов Игорь Борисович – д-р. мед. наук, профессор, зав. лабораторией иммуногистохимии Института гематопатологии. Fangdieckstr, 75a, Hamburg, 22547, Germany; buchwalow@pathologie-hh.de <https://orcid.org/0000-0003-1142-7483>
Тимманн Маркус – д-р. мед. наук, профессор, директор Института гематопатологии. Fangdieckstr, 75a, Hamburg, 22547, Germany; info@hp-hamburg.de <https://orcid.org/0000-0002-6499-4855>

Information about the authors

✉ Dmitrii A Atiakshin – Doct. Med. Sci., head laboratory of pathomorphology with drug toxicology of the Center for Collective Use of Peoples' Friendship University of Russia. Ul. Miklokho-Maklaya, 6, Moscow, 117198; earth-mars38@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-8347-4556>
Andrei A Kostin – Doct. Med. Sci., Prof., Corresponding member of RAS, First Vice-Rector – Vice-Rector for Science of Peoples' Friendship University of Russia. Ul. Miklokho-Maklaya, 6, Moscow, 117198; rudn@rudn.ru; <https://orcid.org/0000-0002-0792-6012>
Viktoriya V Shishkina – Cand. Med. Sci., head of the Research Institute of Experimental Biology and Medicine of N.N. Burdenko Voronezh State Medical University. Ul. Studencheskaya, 10, Voronezh, 394036; 4128069@gmail.com <https://orcid.org/0000-0001-9185-4578>
Igor' B Buchwalow – MD, Prof., head of immunohistochemistry laboratory, Institute for Hematopathology, Fangdieckstr, 75a, Hamburg, 22547, Germany; buchwalow@pathologie-hh.de <https://orcid.org/0000-0003-1142-7483>
Markus Tiemann – MD, Prof., head the Institute for Hematopathology, Fangdieckstr, 75a, Hamburg, 22547, Germany; info@hp-hamburg.de <https://orcid.org/0000-0002-6499-4855>