

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНЫ

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

**Д.Ф. Глузман, А.А. Фильченков,  
Л.М. Скляренко, Т.С. Ивановская**

# **ДИФФЕРЕНЦИРОВОЧНЫЕ АНТИГЕНЫ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА**

**Краткое справочное пособие**

Киев  
Издательство Лира-К  
2019

*Рекомендовано к печати Ученым советом  
Института экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии  
им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины, протокол № 7 от 11.09.2019*

**Д50 Дифференцировочные антигены клеток человека.** Краткое справочное пособие / Д.Ф. Глузман, А.А. Фильченков, Л.М. Скляренко, Т.С. Ивановская. – Киев: Издательство Лира-К. – 248 с., 4 табл.

Систематизированы современные сведения о примерно 400 антигенах клеток человека, вошедших в кластеры дифференцировки (cluster of differentiation – CD), которые в 1982–2014 гг. были зарегистрированы на 11 Международных рабочих совещаниях HLDA (Human Leucocyte Differentiation Antigens). Представлена информация о генах, кодирующих молекулы CD, их семействах, хромосомной локализации и экспрессии мРНК в кроветворных, лимфоидных клетках и клетках различных тканей и органов человека. Приведены характеристики изоформ белковых молекул CD, их молекулярной массы, тканевой специфичности. Дан детальный анализ биологических функций различных антигенов и механизмов их реализации. Изложены данные об экспрессии антигенов на разных стадиях дифференцировки и активации иммунокомпетентных и кроветворных клеток различных линий, их взаимодействии с клетками и внеклеточными структурами микроокружения. Приведены примеры использования моноклональных антител к молекулам CD для иммунофенотипирования и идентификации стволовых опухолевых клеток и основной массы неопластических клеток при различных формах гемобластозов и солидных новообразований.

Пособие предназначено для иммунологов и цитологов, специалистов в области молекулярной и клеточной биологии, врачей-гематологов, онкологов, специалистов лабораторной медицины.

**Differentiation Antigens of Human Cells.** The Brief Reference Book / D.F. Gluzman, A.A. Philchenkov, L.M. Sklyarenko, T.S. Ivanovskaya. – Kyiv: Publisher Lira-K – 248 p., 4 Tables.

The book contains the up-to-date information on about 400 antigens of human cells comprising the clusters of differentiation (CD) that were registered in 1982–2014 by HLDA (Human Leucocyte Differentiation Antigens) International Workshops. The data on coding genes for CD molecules, their families, chromosomal localization and mRNA expression in hematopoietic, lymphoid cells and other human cells of different tissues and organs are compiled. The isoforms of CD proteins are characterized with the data on their molecular weight and tissues specificity. The biological functions of various antigens and mechanisms of their realization are considered in details. The data on expression of the antigens throughout the stages of differentiation and activation of immunocompetent and hematopoietic cells of various lineages as well as their interactions with cells and extracellular structures of microenvironment are disclosed. The examples are provided for using the monoclonal antibodies against CD molecules with the aim of immunophenotyping and identification of cancer stem cells and the bulk of neoplastic cells in various forms of hematoblastoses and solid tumors are considered.

The reference book is intended for immunologists and cytologists, the specialists in the field of molecular biology and cell biology, practical hematologists, oncologists and specialists in laboratory medicine.

Публикуется при содействии Клиники персонализированного дизайна диагностики и терапии «Онкотераностика», Украина, Киев, 03022, ул. Васильковская, 45  
тел: +38 066 9923981, +38 068 4122154  
[www.oncotheranostics.com.ua](http://www.oncotheranostics.com.ua), [help@oncotheranostics.com.ua](mailto:help@oncotheranostics.com.ua)

*Посвящается 120-летию со дня рождения  
выдающегося ученого онколога-патолога  
академика Ростислава Евгеньевича Кавецкого*

## **ПРЕДИСЛОВИЕ**

Разработка лауреатами Нобелевской премии G. Kohler и C. Milstein (1975) гибридной технологии получения моноклональных антител (МкАт) привела к настоящей революции в иммунологии и многих областях биологии и медицины. Развитие гибридной технологии способствовало получению в широких масштабах высокочувствительных реагентов, взаимодействующих с высокой степенью специфичности с антигенами поверхностных мембран лейкоцитов и клеток других тканей и органов. Одновременно возникла проблема, обусловленная тем, что многие МкАт, полученные в лабораториях разных стран и распознающие одни и те же молекулы, стали получать различные наименования. Первая попытка разработать принципы классификации антигенов лейкоцитов человека, выявляемых МкАт со сходной специфичностью, была предпринята на I Международном рабочем совещании по дифференцировочным антигенам лейкоцитов человека (Human Leucocyte Differentiation Antigens – HLDA) в Париже в 1982 г. [1]. Исследования, выполненные 55 коллективами ученых из 14 стран по единому заранее разработанному протоколу, позволили объединить изученные к тому времени антигены с учетом их специфичности в 15 групп, или кластеров, обозначенных буквами CD (Cluster of Differentiation). В каждую группу были включены МкАт со сходной специфичностью, распознающие антигены с одними и теми же биохимическими свойствами, с одинаковой (или близкой) молекулярной массой. При связывании с антигенами некоторые МкАт, принадлежащие к одной группе, полностью или частично блокировали друг друга. Таким образом, было показано, что МкАт, объединенные в один кластер, взаимодействуют с одним и тем же или разными эпитопами одного антигена. Сегодня термином CD принято обозначать дискретный антиген на поверхностных мембранах клетки, который идентифицируется двумя или более МкАт. В последующие годы указанная номенклатура была принята научным сообществом, признана Международным союзом иммунологических обществ и одобрена Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ).

В настоящее время рабочие совещания HLDA проводятся неправительственной организацией Human Cell Differentiation Molecules (HCDM) со штаб-квартирой в Барселоне (Испания) под эгидой комитетов Международного союза иммунологических обществ и Всемирной организации здравоохранения по номенклатуре и стандартизации.

Одной из ключевых миссий HCDM является проведение широкомасштабных оценок структуры, функции и распределения антигенов поверхностных мембран лейкоцитов человека и других клеток иммунной системы [2]. По решению Совета HCDM был расширен круг исследований с возможностью анализа антигенов не только лейкоцитов, но и стромальных и иных клеток, имеющих отношение к иммунной системе. Предполагается также, помимо поверхностных антигенов,

охарактеризовать и внутриклеточные молекулы, принимающие участие в передаче регуляторных сигналов.

В работе четырех Международных рабочих совещаний и конференций принимали участие и украинские ученые. В составе этих рабочих совещаний работали секции, посвященные исследованию гемопоэтических стволовых клеток и кроветворных клеток-предшественников, тромбоцитов, дендритных и эндотелиальных клеток с использованием МкАт, полученных в лабораториях разных стран. Для характеристики молекул CD, используемых в качестве маркеров при выделении и идентификации различных популяций и субпопуляций лейкоцитов в норме, при разных заболеваниях и особенно при иммунофенотипировании и диагностике различных форм опухолей кроветворной и лимфоидной ткани, в настоящее время широко применяются методы проточной цитометрии, иммуногистохимии, иммуноцитохимии и иммунобиохимии (иммунопреципитация, иммуноблоттинг). Для значительной части антигенов, вошедших в CD, методами генной инженерии клонированы гены, получены трансфектанты. Чрезвычайно важно, что наименования CD существуют в контексте согласованной номенклатуры названий генов.

На проведенных до настоящего времени 11 Международных рабочих совещаниях (табл. 1) были зарегистрированы более чем 400 CD-антигенов и их подтипов [4–17]. Так, на IX Международном рабочем совещании HLDA, которое состоялось в мае 2010 г. в Барселоне, в работе которого приняли участие более 200 экспертов из Великобритании, Венгрии, Германии, Израиля, Испании, Италии, Канады, Китая, Мексики, Норвегии, Польши, Российской Федерации, Словакии, США, Украины, Франции, Чешской Республики, Швеции и Японии, после тестирования панели МкАт было идентифицировано 20 новых CD, преимущественно экспрессирующихся на плазмацитоидных дендритных клетках, В-лимфоцитах и плазматических клетках [14–16]. На следующем (пока последнем) X Международном рабочем совещании HLDA, состоявшемся в декабре 2014 г. в Воллонгоне при участии Австралийского общества иммунологов, группа идентифицированных ранее антигенов лейкоцитов человека была пополнена семью новыми CD [17, 18].

Краткое изложение данных, относящихся к антигенам лейкоцитов и других клеток кроветворной и лимфоидной ткани, было приведено нами ранее [19, 20]. Со времени выхода последней из наших работ прошло более 13 лет. За этот период было идентифицировано 32 новых CD и появилось много важных публикаций по указанной проблеме, что побудило авторов к написанию нового пособия. В частности, в предлагаемом вниманию читателя кратком справочном пособии мы приводим дополнительно уточненные данные, касающиеся маркеров, представленных Советом HCDM в мае 2006 г. в Квебеке, а также на IX (2010) и X (2010) Международных рабочих совещаниях HLDA, которые ранее в обобщенном виде в отечественных изданиях не публиковались.

В историческом плане следует отметить, что в бывшем СССР работы по получению МкАт к дифференцировочным антигенам лейкоцитов и клеток других тканей и органов человека начались в 80-х годах прошлого столетия. Группой исследователей из Всесоюзного онкологического научного центра АМН СССР

**Международные рабочие совещания по дифференцировочным антигенам лейкоцитов человека (HLDA) [3]**

№ п/п	Место проведения	Год проведения	Охарактеризованные антигены
<b>I</b> (HLDA1)	Париж (Франция)	1982	CD1–CDw15
<b>II</b> (HLDA2)	Бостон (США)	1984	CD16– CDw26
<b>III</b> (HLDA3)	Оксфорд (Великобритания)	1986	CD27–CD45
<b>IV</b> (HLDA4)	Вена (Австрия)	1989	CD46–CDw78
<b>V</b> (HLDA5)	Бостон (США)	1993	CD79–CD130
<b>VI</b> (HLDA6)	Кобэ (Япония)	1996	CD131–CD166
<b>VII</b> (HLDA7)	Харрогейт (Великобритания)	2000	CD167–CD247
<b>VIII</b> (HLDA8)	Аделаида (Австралия)	2004	CD248–CD339
HCDM*	Квебек (Канада)	2006	CD340–CD350
<b>IX</b> (HLDA9)	Барселона (Испания)	2010	CD351–CD364
<b>X</b> (HLDA10)	Воллонгонг (Австралия)	2014	CD365–CD371

\* Первое рабочее совещание по дифференцировочным антигенам лейкоцитов человека, проведенное организацией Human Cell Differentiation Molecules

под руководством А.Ю. Барышникова были получены МкАт серии ИКО к дифференцировочным антигенам Т-лимфоцитов. Гибридомы – продуценты МкАт серии LT были созданы А.В. Филатовым в Институте иммунологии МЗ СССР. О.В. Рохлиным во Всесоюзном кардиологическом научном центре АМН СССР и В.Б. Климовичем в Центральном научно-исследовательском рентгено-радиологическом институте МЗ СССР были получены гибридомы, вырабатывающие МкАт к тяжелым и легким цепям иммуноглобулинов. МкАт к антигенам Т-лимфоцитов и других кроветворных клеток были созданы Т.И. Булычевой из ВГНЦ МЗ СССР. В Украине работы по получению гибридом, продуцирующих МкАт к дифференцировочным антигенам лейкоцитов человека, были начаты в 1982 г. сотрудниками лаборатории цитохимии и иммуноцитологии ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины. С.П. Сидоренко, Е.П. Ветровой, А.Г. Бердовой, А.И. Евсевьевой, Л.Н. Шлапацкой были получены первые гибридомы серии ИПО, продуцирующие МкАт к ряду антигенов лейкоцитов человека, которые были представлены для исследований, проводившихся в рамках Международных рабочих совещаний. В их числе были МкАт ИПО-24 к антигену CD37, ИПО-3 к антигену CD150 и ИПО-4 к антигену CD95. Указанные и другие гибридомы серии ИПО защищены авторскими свидетельствами, прошли апробацию в лабораториях многих стран, включая Великобританию, Германию, Израиль, Кубу, Российскую Федерацию, США, Украину, Францию, Чешскую Республику и Японию.

Номенклатура CD-антигенов представляет собой хронологически выстроенный список, в котором порядковый номер молекулы в основном характеризует время ее регистрации. Наличие при некоторых CD буквы «w»

(от англ. Workshop) указывает, что антиген охарактеризован лишь частично и для окончательной регистрации нуждается в проведении дополнительных исследований.

Подавляющее число молекул CD имеют белковую природу и лишь некоторые обладают углеводной структурой. К последней группе относятся CD15, CD15u, CD15s, CD15su, CD17, CD57, CD60a, CD60b, CD60c, CD65, CD65s, CD75, CD75s, CD77, CD173, CD174, CD175, CD175s и CD176. Для четырех CD-антигенов (CD139, CDw145, CD165 и CD245) кодирующий ген пока не клонирован. Некоторые CD имеют подтипы. Например, небольшое семейство селектинов представлено антигенами CD62E, CD62L и CD62P, специфичными для активированных эндотелиальных клеток, лимфоцитов и тромбоцитов, соответственно. CD49a, CD49b, CD49c, CD49d, CD49e и CD49f представляют собой различные варианты  $\alpha$ -субъединицы рецепторов интегринов. Что касается антигенов CD45RA, CD45RB, CD45RC и CD45RO, то они представляют собой соответственно изоформы 6, 7, 8 и 4 антигена CD45, образующиеся в результате альтернативного сплайсинга. Подавляющее большинство изученных и представленных в классификации CD-антигенов локализовано на поверхностных мембранах клеток, однако встречаются также внутриклеточные и секретируемые формы. Образование секретируемой формы CD связано с частичным протеолизом мембраносвязанной молекулы либо с альтернативным вариантом посттранскрипционного процессинга пре-мРНК.

При проведении исследований, помимо выделения CD-положительных и CD-отрицательных клеток, некоторые популяции клеток также определяют как CD<sup>hi</sup>, CD<sup>mid</sup> или CD<sup>low</sup> (альтернативные определения CD<sup>bright</sup>, CD<sup>mid</sup> или CD<sup>dim</sup>), что указывает на вариабельность уровня экспрессии CD, особенно по сравнению с другими изучаемыми клетками.

Важно отметить, что данная номенклатура классифицирует CD безотносительно их функциональной активности. Многие CD-антигены служат рецепторами или лигандами, участвующими во взаимодействии клеток между собой либо с белками внеклеточного матрикса. Ряд CD опосредуют передачу регуляторных сигналов внутрь клетки. Кроме того, дифференцировочные антигены могут выполнять функции, непосредственно не связанные с регуляцией активации, пролиферации, дифференцировки или миграции клеток. Например, CD150 – мембранный белок из семейства сигнальных лимфоцитарных молекул активации SLAM служит рецептором для вируса кори [21], а мембранный гликопротеин CD36 обеспечивает восприятие вкуса пищи, содержащей длинноцепочечные жирные кислоты («масляный вкус») [22]. При этом протеоформы CD-антигенов отличаются от полноразмерной («канонической») формы не только по молекулярной массе, но, в ряде случаев, по биологическим эффектам. Так, в отличие от полноразмерной формы «рецептора смерти» CD95 (Fas), все изоформы этого рецептора, лишённые трансмембранного домена, способны блокировать апоптоз Fas<sup>+</sup>-клеток, индуцированный агонистическими МкАт либо Fas-лигандом [23].

Таковы в общих чертах базовые принципы существующей номенклатуры CD-антигенов. В последующих разделах в табличной форме будет приведена

информация о генах, кодирующих CD, тканевой специфичности, а также структурно-функциональных особенностях этих молекул. При составлении таблиц использовались сведения, полученные в результате поиска по общественным базам данных (включая базы данных UniProtKB [24], GlycomeDB [25, 26], NCBI [27] и GeneCards [28]) и имеющиеся в доступных источниках литературы по молекулярной биологии, генетике, фундаментальной медицине и клиническим исследованиям. Следует отметить, что в справочном руководстве используется однобуквенный тип обозначений аминокислот (аланин – А; аргинин – R; аспарагин – N; аспарагиновая кислота – D; цистеин – С; глутамин – Q; глутаминовая кислота – E; глицин – G; гистидин – H; лейцин – L; лизин – K; метионин – M; фенилаланин – F; пролин – P; серин – S; треонин – T; триптофан – W; тирозин – Y; валин – V). Справочное пособие дополнено указателем CD-антигенов, что облегчит читателям поиск нужной информации по отдельным CD.

Ценность приводимых в пособии материалов для иммунологов, онкологов и онкогематологов, по нашему мнению, состоит в том, что они проливают свет на вопросы экспрессии антигенов на разных стадиях дифференцировки и активации иммунокомпетентных и кроветворных клеток различных линий, их взаимодействия с клетками и внеклеточными структурами микроокружения. В доступной литературе представлен далеко неполный перечень антигенов, определяющихся на поверхностных мембранах полипотентных гемопоэтических клеток и кроветворных клеток-предшественников: полипотентные гемопоэтические стволовые клетки (ПГСК) – CD34<sup>+</sup>, CD90<sup>+</sup>, CD117<sup>+</sup>, CD123<sup>+</sup>, CD164<sup>+</sup>, CD166<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>, CD172<sup>+</sup>, CD173<sup>+</sup>, CD174<sup>+</sup>, CD175<sup>+</sup>, CD176<sup>+</sup>, CD224<sup>+</sup>, CD227<sup>+</sup>, CD239<sup>+</sup>; мультипотентные клетки-предшественники (КОЕ-ГМЭ-Mer) – CD34<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>, CD45RA<sup>+</sup>, CD33<sup>+</sup>, CD117<sup>+</sup>, CD123<sup>+</sup>, CD213<sup>+</sup>, CD230<sup>+</sup>; клетки-предшественники гранулоцитарно-моноцитарного ряда (КОЕ-ГМ) – CD34<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>, CD45RA<sup>+</sup>, CD33<sup>+</sup>, CD13<sup>+</sup>, CD15<sup>+</sup>, CD64<sup>+</sup>, CD115<sup>+</sup>, CD116<sup>+</sup>, CD123<sup>+</sup>, CD131<sup>+</sup>, CD183<sup>+</sup>, CD213<sup>+</sup>, CD230<sup>+</sup>; клетки-предшественники гранулоцитарного ряда (КОЕ-Г) – CD13<sup>+</sup>, CD15<sup>+</sup>, CD32<sup>+</sup>, CD33<sup>+</sup>, CD35<sup>+</sup>, CD66<sup>+</sup>, CD89<sup>+</sup>, CD116<sup>+</sup>, CD123<sup>+</sup>; клетки-предшественники моноцитарного ряда (КОЕ-М) – CD13<sup>+</sup>, CD15<sup>+</sup>, CD33<sup>+</sup>, CD115<sup>+</sup>, CD116<sup>+</sup>, CD123<sup>+</sup>, CD213<sup>+</sup>, CD230<sup>+</sup>; ранние эритроидные клетки-предшественники (КОЕ-Э) – CD34<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>, CD33<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup>, CD71<sup>+</sup>, CD36<sup>+</sup>, CD38<sup>+</sup>, CD238<sup>+</sup>; ранние клетки-предшественники мегакариоцитарного ряда (КОЕ-Mer) – CD34<sup>+</sup>, CD38<sup>low</sup>, HLA-DR<sup>+</sup>, CD33<sup>+</sup>, CD41<sup>+</sup>, CD61<sup>+</sup>. Некоторые из приведенных антигенов используются в качестве гистогенетических маркеров неопластических клеток при различных формах лейкозов, лимфом и солидных новообразований. Антигены клеточной поверхности неопластических клеток все шире используются в качестве мишеней при индивидуализированной иммунотерапии онкологических больных. Некоторые из этих вопросов нашли отражение в последних публикациях, подготовленных сотрудниками Отдела онкогематологии ИЭПОР им. Р.Е. Кавецкого НАН Украины. Освещены вопросы, связанные с идентификацией лейкемических стволовых клеток (ЛСК) у человека, сравнительным изучением иммунофенотипических особенностей ЛСК и бластных лейкозных клеток при

различных формах острых миелоидных лейкозов (ОМЛ), выделяемых в соответствии с ФАБ-классификацией и новой классификацией ВОЗ (2016). Так, для идентификации ЛСК при ОМЛ предлагается определение следующих дифференцировочных антигенов: CD34, CD38, CD90, CD123, CD117, CD71, CD366, CD371, HLA-DR и CD45RA; для характеристики ЛСК при ХМЛ в хронической фазе заболевания – CD34, CD38, CD45RA, CD71 и HLA-DR. В панель для изучения иммунофенотипа клеток при МДС могут быть включены МкАт к антигенам CD34, CD38, CD45RA, CD90, CD99, IL1R1 и CD366. ЛСК при множественной миеломе могут быть выявлены на основе определения антигенов CD138, CD38, CD44, рецептора хемокинов CXCR и белка ALDH1.

Исследования с использованием методов проточной цитометрии и панели мкАт к новым дифференцировочным антигенам позволили выявить иммунофенотипические отличия ЛСК от полипотентных стволовых кроветворных клеток (ПГСК) и ранних гемопоэтических клеток-предшественников, трансформация которых лежит в основе возникновения различных форм ОМЛ. Согласно современным представлениям, большинство лейкозных бластных клеток у больных ОМЛ неспособны к самоподдержанию и не обладают пролиферативной активностью. Клональные свойства присущи только ЛСК, преимущественно содержащимся в основной фракции CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup>-клеток, составляющим лишь очень небольшой процент от общего количества всех лейкозных клеток. Новая концепция таргетной терапии предусматривает создание средств, избирательно направленных против ЛСК, которые бы не оказывали действия на ПГСК, участвующие в восстановлении нормального кроветворения. Рассматриваются возможные пути создания новых лекарственных препаратов для терапии ОМЛ с использованием в качестве мишеней специфических маркеров поверхностной мембраны ЛСК и препаратов, направленных на сигнальные пути и микроокружение ЛСК [29, 30].

## СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие.....	3
Список сокращений, условных обозначений, символов, единиц измерения и терминов.....	9
Гены молекул дифференцировки (CD) человека.....	14
Изоформы, молекулярная масса и специфичность CD-антигенов .....	57
Особенности структуры CD-антигенов, функции и молекулярные механизмы действия.....	118
Литература .....	242
Указатель CD-антигенов.....	244