

DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2025-20-1-122-127> CC BY 4.0

Оценка экспрессии молекул CD44 и PD-L1 при сокультивировании опухолевых и гемопоэтических стволовых клеток

М.В. Быкова¹, А.А. Актанова^{1,2}, И.П. Скачков^{1,2}, В.В. Денисова³, Е.А. Пашкина^{1,2}¹ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии»; Россия, 630099 Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14;²ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России; Россия, 630091 Новосибирск, Красный пр-кт, 52;³Клиника иммунопатологии ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии»; Россия, 630047 Новосибирск, ул. Залесского, 6**Контакты:** Мария Владимировна Быкова maria18021997@mail.ru

Введение. На опухоль-ассоциированных клетках, включая стволовые, в микроокружении опухоли гиперэкспрессируется молекула CD44, которая в большинстве случаев является плохим прогностическим маркером течения опухолевого процесса. Молекула PD-L1 положительно коррелирует с CD44, что ассоциировано с резистентностью к противоопухолевой терапии, поэтому данные маркеры являются перспективными мишенями как для диагностики, так и для терапии онкологических заболеваний.

Цель исследования – определить экспрессию чекпойнт-молекул и CD44 на клетках при сокультивировании опухолевых и гемопоэтических стволовых клеток при различных условиях.

Материалы и методы. Для исследования использовали CD34⁺ гемопоэтические стволовые клетки ($n = 10$) и опухолевые линии 1301, K562 и SK-mel37. Анализ образцов, меченных моноклональными антителами к CD44, PD-L1 и PD-1, проводили с помощью проточной цитометрии.

Результаты. При культивации гемопоэтических стволовых клеток с несколькими типами опухолей экспрессия молекул была различной: количество CD34⁺CD44⁺-клеток было в 3 раза ниже в группе с SK-mel37 по сравнению с лейкозами 1301 и K562 (медиана 7,1; 22,4 и 22,7 соответственно). К тому же экспрессия молекулы PD-L1 на SK-mel37 была статистически значимо выше, чем на других опухолевых клетках ($p < 0,05$).

Заключение. Необходимо исследовать закономерности изменения не только экспрессии данных молекул, но и ко-экспрессии в зависимости от типа и условий взаимодействия клеток друг с другом.

Ключевые слова: CD44⁺, контрольная точка иммунного ответа, раковая стволовая клетка, опухолевое микроокружение, гемопоэтическая стволовая клетка

Для цитирования: Быкова М.В., Актанова А.А., Скачков И.П. и др. Оценка экспрессии молекул CD44 и PD-L1 при сокультивировании опухолевых и гемопоэтических стволовых клеток. Онкогематология 2025;20(1):122–7.

DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2025-20-1-122-127>

Evaluation of CD44 and PD-L1 expression during co-cultivation of tumor and hematopoietic stem cells

M. V. Bykova¹, A. A. Aktanova^{1,2}, I. P. Skachkov^{1,2}, V. V. Denisova³, E. A. Pashkina^{1,2}¹Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology; 14 Yadrintsevskaya St., Novosibirsk 630099, Russia;²Novosibirsk State Medical University; 52 Krasny Prospekt, Novosibirsk 630091, Russia;³Clinic of Immunopathology, Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology; 6 Zalesskogo St., Novosibirsk 630047, Russia**Contacts:** Maria Vladimirovna Bykova maria18021997@mail.ru

Background. CD44 molecule is overexpressed on tumor-associated cells, including stem cells, in the tumor microenvironment, which in most cases is a poor prognostic marker for the tumor progression. In addition, the PD-L1 molecule positively correlates with CD44, which is associated with resistance to antitumor therapy, so these markers are perspective targets for both diagnostics and therapy of oncological diseases.

Aim. To determine the expression of checkpoint molecules and CD44 during co-cultivation of tumor and hematopoietic stem cells under various conditions.

Materials and methods. CD34⁺ hematopoietic stem cells ($n = 10$) and tumor lines 1301, K562 and SK-mel37 were used for this study. Samples labeled with monoclonal antibodies to CD44, PD-L1 and PD-1 were analyzed by flow cytometry.

Results. The expression of molecules was different with co-culturing of hematopoietic stem cells with several types of tumors, so the number of CD34⁺CD44⁺ cells was 3 times lower in the group with SK-mel37 compared to leukemia 1301 and K562 (the median was 7.1; 22.4 and 22.7, respectively). In addition, the expression of the PD-L1 molecule on SK-mel37 was significantly higher than on other tumor cells ($p < 0.05$).

Conclusion. It is necessary to study the patterns of change not only in the expression of these molecules, but also in co-expression depending on the type and conditions of cells interaction with each other.

Keywords: CD44⁺, immune checkpoint, cancer stem cell, tumor microenvironment, hematopoietic stem cell

For citation: Bykova M.V., Aktanova A.A., Skachkov I.P. et al. Evaluation of CD44 and PD-L1 expression during co-cultivation of tumor and hematopoietic stem cells. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2025;20(1):122–7. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.17650/1818-8346-2025-20-1-122-127>

Введение

CD44 представляет собой трансмембранный гликопротеин, в большом количестве экспрессируемый на поверхности как стволовых, так и зрелых клеток, включая клетки иммунной системы [1]. Данная молекула является рецептором к гиалуроновой кислоте, но также может взаимодействовать с различными лигандами, такими как остеопонтин, коллагены, фибронектин, ламинин, хондроитин сульфат, матриксные металлопротеиназы и другие элементы внеклеточного матрикса [2]. В норме функции CD44 включают участие в построении межклеточных контактов, дифференцировке кроветворных клеток, передаче сигналов, опосредующих апоптоз, а также в процессах клеточной адгезии и миграции посредством активации тирозинкиназ [3, 4]. Для гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) и их предшественников роль CD44 выражается в регуляции гемопоэза посредством поддержания контакта данных клеток с их нишей, представленной стромальными клетками костного мозга и внеклеточным матриксом [5].

Тем не менее накапливается все больше данных об участии CD44 в развитии патологических процессов, в частности онкологии. Известно, что CD44 регулирует инвазивные и пролиферативные свойства опухолевых клеток, а также процессы ангиогенеза [4]. Более того, для множества типов опухолей, как солидных, так и гемобластозов, характерна гиперэкспрессия CD44. Показано, что при оценке тканей рака молочной железы повышенная экспрессия обнаружена в 46 % (65 из 141) случаев [6–8].

Интересно, что CD44 также принимает участие в поддержании так называемой стволовости опухолевых клеток, поскольку нокаут гена *CD44* вызывал дифференцировку клеток, снижение экспрессии генов, связанных со стволовостью, метастазированием и онкогенезом [9, 10]. Примечательно и то, что CD44 является одним из ключевых маркеров раковых стволовых клеток (РСК) наравне с CD133, CD24, ALDH, EpCAM [11]. РСК тесно взаимодействуют с клетками микроокружения опухоли, модулируя их активность и поддерживая ключевые опухолевые процессы, такие как рост, метастазирование и уклонение от иммунной

системы [12]. Кроме того, данные множества исследований демонстрируют роль РСК в повышении резистентности к химио- и радиотерапии за счет высокого потенциала к самообновлению и онкогенности [13]. РСК составляют часть опухолевого микроокружения, которое также состоит из дифференцированных раково-ассоциированных клеток, внеклеточного матрикса: мезенхимальных стволовых клеток, фибробластов, эндотелиальных клеток, клеток иммунной системы и коммитированных предшественников [12, 14]. Посредством создания специфического микроокружения опухолевая ниша может поддерживать перепрограммирование здоровых клеток в клетки, поддерживающие опухолевый рост [15].

Как известно, гемопоэтические коммитированные предшественники дают начало различным типам клеток в процессе гемопоэза, но в контексте опухолевого роста они могут являться частью микроокружения, при этом наличие их в тканях опухоли является прогностически неблагоприятным маркером для течения заболевания. В условиях тесного взаимодействия с гетерогенными компонентами опухолевого микроокружения формируется возможность взаимного влияния клеток. Так, опухоль запускает дифференцировку трансформированных гемопоэтических коммитированных предшественников и изменение профиля экспрессии ими различных молекул и маркеров [16]. Гемопоэтические коммитированные предшественники, в свою очередь, способствуют пролиферации опухолевых клеток, экспрессии молекул PD-L1 на опухоли и секреции цитокинов, таких как IL-6, IL-8 и CCL2 [14]. Комбинация всех этих факторов создает протумогенный гуморальный фон, ухудшая течение заболевания и супрессируя противоопухолевый иммунный ответ.

Один из ключевых механизмов, позволяющих опухоли ускользать от иммунного ответа, — индукция иммунной супрессии, опосредованная связыванием иммунной контрольной точки PD-1 с его лигандом PD-L1. Белок программируемой клеточной смерти PD-1 экспрессируется главным образом на активированных Т- и В-лимфоцитах, естественных киллерах, а также моноцитах и является ингибитором как врожденных,

так и адаптивных иммунных реакций [17–19]. Экспрессия PD-L1 характерна для опухолевых клеток, а также клеток опухолевого микроокружения, таких как макрофаги, дендритные клетки, Т-лимфоциты и фибробласты [20, 21].

Связывание PD-1/PD-L1 способствует запуску и поддержанию иммунной толерантности в опухолевом микроокружении. С другой стороны, взаимодействие PD-1/PD-L1 участвует в прогрессии опухоли путем индукции эпителиально-мезенхимального перехода, приобретения опухолевыми клетками стволовых свойств, индукции пролиферации опухолевых клеток [22]. Кроме того, результаты многочисленных исследований указывают на корреляцию уровня экспрессии PD-L1 с клиническим исходом при онкопатологии. Так, гиперэкспрессия PD-L1 связана с плохим клиническим исходом для некоторых типов рака (рак желудка, гепатоцеллюлярная карцинома, рак пищевода, поджелудочной железы, яичника, мочевого пузыря) [23]. Таким образом, ось PD-1/PD-L1 играет важнейшую роль в прогрессировании опухоли и ускользании от иммунного надзора.

В опухолевом микроокружении обнаруживаются CD34⁺ ГСК, экспрессирующие PD-1 в небольшом количестве [24]. Более того, межклеточное взаимодействие CD34⁺ с опухолевыми клетками увеличивает экспрессию PD-L1 на последних, что указывает на возможную роль опухоль-ассоциированных CD34⁺ в поддержании опухолевой злокачественности и их участие в иммуносупрессии [14].

Интересно, что результаты недавних исследований демонстрируют положительную корреляцию молекулы PD-L1 с CD44 при некоторых типах рака, например раке легкого и молочной железы [25]. Таким образом, изучение оси PD-1/PD-L1 и маркера CD44 в рамках взаимодействия CD34⁺-клеток и опухоли представляет значительный интерес в контексте разработки эффективных подходов к противоопухолевой терапии.

Цель исследования — определить количество ГСК и опухолевых клеток, экспрессирующих CD44 и чекпоинт-молекулы при их сокультивировании в условиях межклеточного контакта и его исключения.

Материалы и методы

Исследовали сепарированные CD34⁺ ГСК доноров, полученные из клиники иммунопатологии НИИФКИ ($n = 10$; средний возраст $38,1 \pm 3,4$ года). В качестве опухолевых линий использовали: клеточную линию 1301 Т-лимфобластный лейкоз (Европейская коллекция аутентифицированных клеточных культур, Sigma Aldrich, Merck KGaA, Германия); K562 эритро-миелолейкоз (Европейская коллекция аутентифицированных клеточных культур, Sigma Aldrich, Merck KGaA, Германия); SK-mel37, предоставленную лабораторией молекулярной иммунологии НИИФКИ (Новосибирск, Россия).

Подготовка CD34⁺-клеток для культуральных работ

До проведения экспериментальных работ сепарированные CD34⁺ ГСК хранили в морозильной камере при температуре -150°C . Для культуральных работ CD34⁺ ГСК подготавливали следующим образом: проводили разморозку в условиях водяной бани при температуре 37°C в течение 1 мин до неполного оттаивания, после чего дважды отмывали в ледяном фосфатно-солевом буфере (AppliChem GmbH, Дармштадт, Германия) с 1 % этилендиаминтетрауксусной кислоты.

Подсчет цитозов проводили в камере Горяева с учетом жизнеспособности клеток, оцениваемой с помощью 0,04 % раствора трипанового синего («Биолот», Россия). Для идентификации CD34⁺-клеток среди опухолевых клеток в случае ко-культуры в планшете ГСК предварительно окрашивали CFSE-красителем (Invitrogen, Юджин, Орегон, США) в течение 15 мин в темноте при температуре 37°C .

Культивирование опухолевых клеток

Первичные опухолевые линии культивировали стандартно согласно установленным протоколам с использованием полной культуральной среды RPMI-1640 с 10 % фетальной бычьей сывороткой (HyClone, США). Культуры поддерживали в диапазоне 100000–1000000 клеток/мл при 5 % CO₂, 37°C в течение 10 дней.

Оценка чекпоинт-молекул PD-1, PD-L1 и молекулы CD44

Анализ экспрессии чекпоинт-молекул проводили в условиях ко-культуры, а также исключения межклеточного контакта с использованием 12-луночных трансвелл с диаметром вставок 6,5 мм и размером пор 0,4 мкм (Corning Incorporated, Costar, Аризона, США). В качестве релевантной культуральной среды использовали среду RPMI-1640 («Биолот», Россия) с добавлением 10 % человеческого альбумина (Октафарма Фармацевтика Продуктионсгес м. б. х., Австрия). Помимо этого, в качестве дополнительного контроля использовали специализированную культуральную среду для пролиферации ГСК Stemline II Hematopoietic Stem Cell Expansion Medium (STEM) (Sigma Aldrich Co. LLC, США). Клетки культивировали в соотношении 1:10 (опухоль:CD34⁺ ГСК). Время инкубирования в условиях ко-культуры и трансвеллах составило 72 ч. Экспрессию молекул оценивали с помощью моноклональных антител, окрашенных флуорохромами: PD-1 (APC/Cy7 — Biolegend, США, клон NAT105), PD-L1 (PerCP-Cy5.5 — Biolegend, США, клон 29E.2A3), CD44 (BV 785™ — Biolegend, США, клон BJ18). Клетки окрашивали в течение 20 мин в темноте при комнатной температуре, а затем отмывали с использованием фосфатно-солевого буфера PBS, содержащего 0,5 % FCS (HyClone, Чикаго, США).

Данные анализировали на проточном цитофлуориметре LongCyte™ (Challenbio, Китай), модель C3140, с использованием программного обеспечения

ModelFlower. Статистический анализ проводили с помощью GraphPad Prism 9.0.0 (GraphPad Software, США). В качестве статистических методов использовали тест Фридмана. Данные представлены в виде медианы с интерквартильным размахом (25–75-й перцентили). Результаты считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

При оценке экспрессии молекулы CD44 на ГСК мы продемонстрировали, что абсолютное количество клеток, экспрессирующих CD44, статистически значимо снижалось в ко-культуре с SK-mel37 по сравнению с ко-культурами других опухолевых линий и контролем до посадки (нативный контроль) и STEM, а также с трансвеллой с SK-mel37 (рис. 1). Статистически значимых различий между контрольными группами не получено.

При оценке экспрессии молекулы PD-L1 не обнаружено статистически значимых различий для всех экспериментальных групп ко-культуры с ГСК по сравнению с группами только с опухолевыми клетками. Интересно, что количество клеток SK-mel37, экспрессирующих PD-L1, было значительно выше по сравнению с 1301 и K562. Аналогичный результат наблюдался в случае инкубации опухоли SK-mel37 в трансвеллах, а также ко-культурах с ГСК при сравнении с K562

и 1301 в одноименных группах. Однако различий между ко-культурой SK-mel37 и трансвеллой не наблюдалось (рис. 2).

Таким образом, ни межклеточный контакт с CD34⁺ ГСК, ни гуморальный обмен в условиях трансвелл не оказывали влияния на экспрессию PD-L1 на данных опухолевых линиях. Тем не менее в недавних исследованиях показано увеличение экспрессии чекпойнт-молекул на опухолевых клетках в условиях ко-культуры со стволовыми CD34⁺-клетками. Например, клеточные линии T98G и U87, соответствующие глиобластоме, увеличивали экспрессию PD-L1 в ко-культуре с CD34⁺-клетками [14]. В нашем исследовании SK-mel37, соответствующая меланоме, также имела повышенные уровни экспрессии PD-L1. Таким образом, вероятно, экспрессия PD-L1 на опухоли при их взаимодействии с CD34⁺ ГСК может варьировать в зависимости от типа опухоли, но при этом иметь схожие паттерны экспрессии PD-L1, если опухоли имеют подобный профиль опухоль-ассоциированных антигенов в случае глиобластомы и меланомы.

Относительное количество клеток, экспрессирующих PD-1, было выше в ко-культуре с 1301 по сравнению с трансвеллами с 1301 и ко-культурой SK-mel37. При этом уровень экспрессии PD-1 на CD34⁺ ГСК в группе ко-культуры 1301 ГСК составил 7,65 %, в то время как в остальных случаях он находился

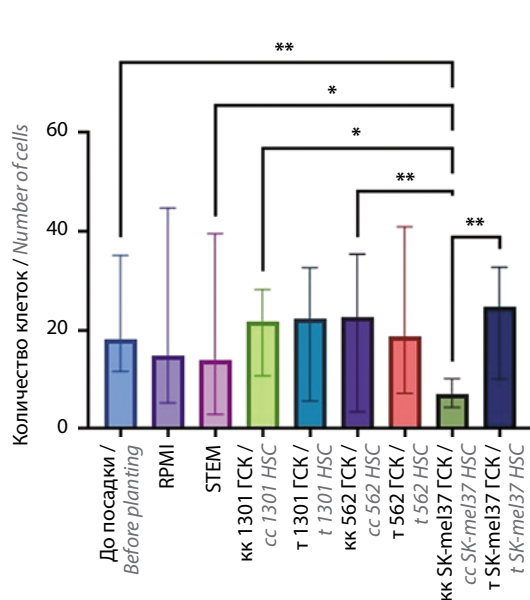


Рис. 1. Абсолютное количество CD34⁺CD44⁺ гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) при сокультурации с опухолевыми линиями 1301, K562 и SK-mel37 в условиях ко-культуры (кк) и в трансвеллах (т) в течение 72 ч. Критерий Фридмана, данные представлены в виде медианы с интерквартильным размахом (25–75-й перцентили). * – статистически значимые различия ($p < 0,05$); ** – статистически значимые различия ($p < 0,005$)

Fig. 1. Absolute amount of CD34⁺CD44⁺ hematopoietic stem cells (HSC) during co-cultivation with tumor lines 1301, K562 and SK-mel37 in co-culture conditions (cc) and in transwells (t) for 72 hours. Friedman test, data are presented as median with interquartile range (25–75th percentiles). * – statistically significant differences ($p < 0.05$); ** – statistically significant differences ($p < 0.005$)

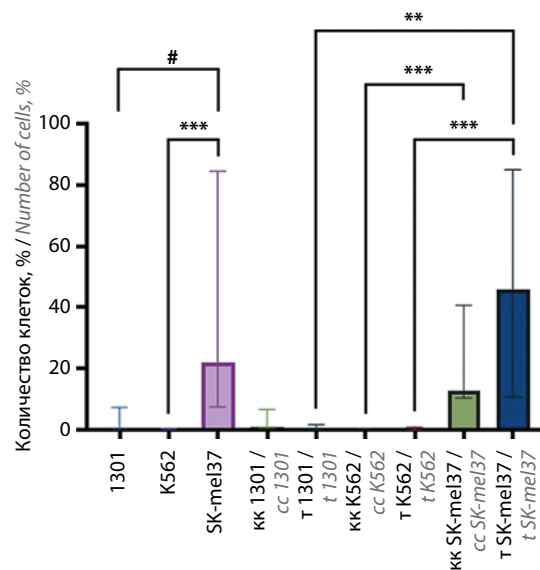


Рис. 2. Относительное количество опухолевых клеток линий 1301, K562 и SK-mel37, экспрессирующих PD-L1 при сокультурации с CD34⁺ гемопоэтическими стволовыми клетками в условиях ко-культуры (кк) и в трансвеллах (т) в течение 72 ч. Критерий Фридмана, данные представлены в виде медианы с интерквартильным размахом (25–75-й перцентили). ** – статистически значимые различия ($p < 0,05$); *** – статистически значимые различия ($p < 0,005$); # – тенденция ($p = 0,06$)

Fig. 2. Relative number of tumor cells of 1301, K562 and SK-mel37 lines expressing PD-L1 during co-cultivation with CD34⁺ hematopoietic stem cells in co-culture conditions (cc) and in transwells (t) for 72 hours. Friedman test, data are presented as median with interquartile range (25–75th percentiles). ** – statistically significant differences ($p < 0.05$); *** – statistically significant differences ($p < 0.005$); # – trend ($p = 0.06$)

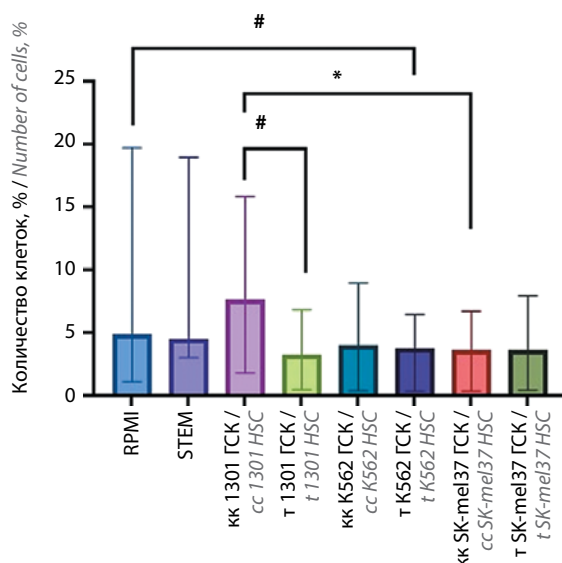


Рис. 3. Относительное количество гемопоэтических стволовых клеток (ГСК), экспрессирующих PD-1, при сокультурации с опухолевыми линиями 1301, K562 и SK-mel37 в условиях ко-культуры (кк) и в трансвеллах (т) в течение 72 ч. Критерий Фридмана, данные представлены в виде медианы с интерквартильным размахом (25–75-й перцентили). * – статистически значимые различия ($p < 0,05$); # – тенденция ($p = 0,06$)

Fig. 3. Relative number of hematopoietic stem cells (HSC) expressing PD-1 during co-cultivation with tumor lines 1301, K562 and SK-mel37 under co-culture conditions (cc) and in transwells (t) for 72 hours. One-way ANOVA analysis, Friedman test, data are presented as median with interquartile range (25–75th percentiles). * – statistically significant differences ($p < 0.05$); # – trend ($p = 0.06$)

в пределах 5 % (рис. 3). Это свидетельствует о возможной необходимости межклеточного контакта CD34⁺ ГСК с 1301 для регуляции экспрессии PD-1 на CD34⁺-клетках.

Известно, что существует положительная корреляция между экспрессией молекул PD-L1 на опухоли и CD44 при некоторых типах опухолей, таких как аденокарцинома легкого, рак молочной железы [25, 26]. Однако данные наших исследований демонстрируют обратную ситуацию: при повышенном количестве опухолевых клеток меланомы SK-mel37, экспрессирующих молекулу PD-L1, мы наблюдали снижение экспрессии CD44 на ГСК, являющихся предшественниками, в том числе иммунных клеток. Таким образом, вероятно, данная положительная связь этих молекул характерна не для всех типов опухолей либо она имеет большее значение с более дифференцированными клетками крови.

Заключение

Изменение экспрессии молекул CD44 на ГСК регулируется различными факторами. Опухоли могут оказывать противоположные эффекты, зависящие от их типа, условий межклеточного взаимодействия и окружающей среды. Маркеры CD44, PD-1 и PD-L1 являются перспективными мишенями в противоопухолевой терапии, поэтому необходимо изучение более сложных механизмов сигналинга коэкспрессии этих молекул на ключевых клетках микроокружения опухоли.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Naor D., Sionov R.V., Ish-Shalom D. CD44: structure, function, and association with the malignant process. *Adv Cancer Res* 1997;71:241–319. DOI: 10.1016/s0065230x(08)60101-3
- Goodison S., Urquidí V., Tarin D. CD44 cell adhesion molecules. *Mol Pathol* 1999;52(4):189–96. DOI: 10.1136/mp.52.4.189
- Jordan A.R., Racine R.R., Hennig M.J., Lokeshwar V.B. The Role of CD44 in disease pathophysiology and targeted treatment. *Front Immunol* 2015;6:182. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00182
- Götte M., Yip G.W. Heparanase, hyaluronan, and CD44 in cancers: a breast carcinoma perspective. *Cancer Res* 2006;66(21):10233–7. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-1464
- Cao H., Heazlewood S.Y., Williams B. et al. The role of CD44 in fetal and adult hematopoietic stem cell regulation. *Haematologica* 2016;101(1):26–37. DOI: 10.3324/haematol.2015.135921
- Montgomery N., Hill A., McFarlane S. et al. CD44 enhances invasion of basal-like breast cancer cells by upregulating serine protease and collagen-degrading enzymatic expression and activity. *Breast Cancer Res* 2012;14(3):R84. DOI: 10.1186/bcr3199
- Makrydimas G., Zagorianakou N., Zagorianakou P., Agnantis N.J. CD44 family and gynaecological cancer. *In Vivo* 2003;17(6):633–40.
- Zhang S., Wu C.C., Fecteau J.F. et al. Targeting chronic lymphocytic leukemia cells with a humanized monoclonal antibody specific for CD44. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110(15):6127–32. DOI: 10.1073/pnas.1221841110
- Zöller M. CD44, hyaluronan, the hematopoietic stem cell, and leukemia-initiating cells. *Front Immunol* 2015;6:235. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00235
- Pham P.V., Phan N.L., Nguyen N.T. et al. Differentiation of breast cancer stem cells by knockdown of CD44: promising differentiation therapy. *J Transl Med* 2011;9:209. DOI: 10.1186/1479-5876-9-209
- Ким Я.С., Кайдина А.М., Чанг Ю.Х. и др. Молекулярные маркеры раковых стволовых клеток, верифицированные *in vivo*. Биомедицинская химия 2016;62(3):228–38. DOI: 10.18097/PBMC20166203228
- Kim Ya.S., Kaidina A.M., Chiang J.H. et al. Molecular markers of cancer stem cells verified *in vivo*. *Biomeditsinskaya khimiya = Biomed Khim* 2016;62(3):228–38. (In Russ.). DOI: 10.18097/PBMC20166203228
- Hanahan D., Coussens L.M. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment. *Cancer Cell* 2012;21(3):309–22. DOI: 10.1016/j.ccr.2012.02.022
- Prieto-Vila M., Takahashi R.U., Usuba W. et al. Drug resistance driven by cancer stem cells and their niche. *Int J Mol Sci* 2017;18(12):2574. DOI: 10.3390/ijms18122574
- Lu I.N., Dobersalske C., Rauschenbach L. et al. Tumor-associated hematopoietic stem and progenitor cells positively linked to glioblastoma progression. *Nat Commun* 2021;12(1):3895. DOI: 10.1038/s41467-021-23995-z
- Hendrix M.J., Seftor E.A., Seftor R.E. et al. Reprogramming metastatic tumour cells with embryonic microenvironments. *Nat Rev Cancer* 2007;7(4):246–55. DOI: 10.1038/nrc2108
- Zhao H., Ming T., Tang S. et al. Wnt signaling in colorectal cancer: pathogenic role and therapeutic target. *Mol Cancer* 2022;21(1):144. DOI: 10.1186/s12943-022-01616-7

17. Greenwald R.J., Freeman G.J., Sharpe A.H. The B7 family revisited. *Annu Rev Immunol* 2005;23:515–48. DOI: 10.1146/annurev.immunol.23.021704.115611
18. Dermani F.K., Samadi P., Rahmani G. et al. PD-1/PD-L1 immune checkpoint: potential target for cancer therapy. *J Cell Physiol* 2019;234(2):1313–25. DOI: 10.1002/jcp.27172
19. Ahmadzadeh M., Johnson L.A., Heemskerk B. et al. Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood* 2009;114(8):1537–44. DOI: 10.1182/blood-2008-12-195792
20. Shi Y. Regulatory mechanisms of PD-L1 expression in cancer cells. *Cancer Immunol Immunother* 2018;67(10):1481–9. DOI: 10.1007/s00262-018-2226-9
21. Cha J.H., Chan L.C., Li C.W. et al. Mechanisms controlling PD-L1 expression in cancer. *Mol Cell* 2019;76(3):359–370. DOI: 10.1016/j.molcel.2019.09.030
22. Han Y., Liu D., Li L. PD-1/PD-L1 pathway: current researches in cancer. *Am J Cancer Res* 2020;10(3):727–42.
23. Wang X., Teng F., Kong L., Yu J. PD-L1 expression in human cancers and its association with clinical outcomes. *Onco Targets Ther* 2016;9:5023–39. DOI: 10.2147/OTTS105862
24. Wang B., Bai J., Tian B. et al. Genetically engineered hematopoietic stem cells deliver TGF- β inhibitor to enhance bone metastases immunotherapy. *Adv Sci (Weinh)* 2022;9(28):e2201451. DOI: 10.1002/advs.202201451
25. Kong T., Ahn R., Yang K. et al. CD44 promotes PD-L1 expression and its tumor-intrinsic function in breast and lung cancers. *Cancer Res* 2020;80(3):444–57. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-19-1108
26. Zhang C., Wang H., Wang X. et al. CD44, a marker of cancer stem cells, is positively correlated with PD-L1 expression and immune cells infiltration in lung adenocarcinoma. *Cancer Cell Int* 2020;20(1):583. DOI: 10.1186/s12935-020-01671-4

Вклад авторов

М.В. Быкова: анализ литературы, подготовка статьи, получение экспериментальных данных, интерпретация результатов;
А.А. Актанова: разработка дизайна исследования, получение экспериментальных данных, редактирование статьи, интерпретация результатов;
И.П. Скачков: анализ литературы, подготовка статьи, статистическая обработка данных, интерпретация результатов;
В.В. Денисова: предоставление материалов исследования, консультирование, интерпретация результатов;
Е.А. Пашкина: планирование, разработка дизайна исследования, анализ данных, интерпретация результатов.

Authors' contributions

M.V. Bykova: literature analysis, article writing, obtaining experimental data, data interpretation;
A.A. Aktanova: research design development, obtaining experimental data, article editing, data interpretation;
I.P. Skachkov: literature analysis, article writing, statistical analysis, data interpretation;
V.V. Denisova: provision of research materials, consulting, data interpretation;
E.A. Pashkina: planning, research design development, data analysis, data interpretation.

ORCID авторов / ORCID of authors

М.В. Быкова / M.V. Bykova: <https://orcid.org/0009-0008-0298-2382>
А.А. Актанова / A.A. Aktanova: <https://orcid.org/0000-0002-2075-8551>
И.П. Скачков / I.P. Skachkov: <https://orcid.org/0009-0000-0530-3818>
Е.А. Пашкина / E.A. Pashkina: <https://orcid.org/0000-0002-4912-5512>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено при финансовой поддержке Российского научного фонда совместно с Правительством Новосибирской области, проект № 23-25-10099.

Funding. The study was conducted with financial support from the Russian Science Foundation together with the Government of the Novosibirsk region, project No. 23-25-10099.

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФГБНУ «НИИ фундаментальной и клинической иммунологии» (протокол № 145 от 19.04.2024).

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the local ethics committee of Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology (protocol No. 145 dated 19.04.2024).

All patients gave written informed consent to participate in the study.