

**ОТВЕТ CD4⁺ Т-КЛЕТОК НА ПРЕЗЕНТАЦИЮ АНТИГЕНОВ
HELICOBACTER PYLORI В УСЛОВИЯХ IN VITRO У ПАЦИЕНТОВ С *H.*
PYLORI-ИНФЕКЦИЕЙ И ГАСТРИТОМ С ЭРОЗИЕЙ СЛИЗИСТОЙ
ЖЕЛУДКА И БЕЗ НЕЕ**

Талаев В. Ю. ¹,

Куркова Е. В. ¹,

Светлова М. В. ¹,

Бабайкина О. Н. ¹,

Неумоина Н. В. ¹,

Перфилова К. М. ¹

¹ ФБУН Нижегородский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. академика И.Н. Блохиной Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия

**IN VITRO CD4⁺ T CELL RESPONSE TO *HELICOBACTER PYLORI*
ANTIGENS PRESENTATION IN PATIENTS WITH *H. PYLORI*
INFECTION AND GASTRITIS WITH AND WITHOUT GASTRIC
MUCOSA EROSION**

Talayev V. Yu. ^a,

Kurkova E. V. ^a,

Svetlova M. V. ^a,

Babaykina O. N. ^a,

Neumoina N. V. ^a,

Perfilova K. M. ^a

^a Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Russian Federal Consumer Rights Protection and Human Health Control Service.

Резюме

Введение. *H. pylori* - широко распространенный микроорганизм, который способен длительно персистировать на слизистой желудка и может вызывать гастрит, язвенную болезнь и злокачественные новообразования желудка. Предполагается, что клинические проявления инфекции зависят от вирулентности возбудителя и ответа организма хозяина, однако особенности иммунного ответа на *H. pylori* при разных морфологических формах поражения желудка недостаточно изучены. **Цель исследования:** обнаружить антигенспецифические CD4⁺ Т-клетки в крови пациентов с *H. pylori*-инфекцией и оценить характер активационного ответа Т-клеток на антигены *H. pylori* у инфицированных пациентов с эрозивным и неэрозивным гастритом.

Материалы и методы. Из крови пациентов с *H. pylori*-инфекцией и неинфицированных доноров выделяли моноциты и лимфоциты. Моноциты инкубировали с *H. pylori* или без него. Затем моноциты отмывали от не поглощенных бактерий, засеивали с сингенными лимфоцитами, культивировали и оценивали реакцию CD4⁺ Т-клеток на антигены по экспрессии активационных маркеров OX40, CD69 и CD25 с помощью лазерной проточной цитофлюориметрии. **Результаты.** Показано, что кровь пациентов с *H. pylori*-ассоциированным неэрозивным гастритом содержит специфичные к антигенам возбудителя CD4⁺ Т-лимфоциты, которые легко выявляются по антиген-индуцированной экспрессии активационного маркера OX40. При *H. pylori*-ассоциированном эрозивном гастрите CD4⁺ Т-клетки при стимуляции антигеном не усиливали экспрессию OX40 и снижали экспрессию CD69. Оценка экспрессии CD25 вместе с CD69 или с OX40, а также анализ совместной экспрессии этих молекул в группах больших и малых лимфоцитов позволили обнаружить антиген-индуцированные изменения фенотипа CD4⁺ Т-клеток больных с эрозивным гастритом. С нашей точки зрения, наиболее надежным проявлением активации Т-хелперов этих больных является индуцированный антигеном рост количества CD25^{low}CD69^{low} клеток в группах

больших и малых CD4⁺ Т-лимфоцитов. Более выраженным было индуцированное антигеном увеличение количества CD25^{hi}CD69^{-low} и CD25^{hi}CD69^{hi} больших лимфоцитов (лимфобластов). Однако, такие клетки с высоким уровнем экспрессии CD25 могут быть как активированными Т-хелперами, так и индуцибельными регуляторными Т-клетками. **Заключение.** Кровь пациентов с *H. pylori*-ассоциированным гастритом содержит специфичные к антигенам возбудителя CD4⁺ Т-лимфоциты, которые можно выявить в модели презентации антигенов возбудителя *in vitro*, однако характер реакции Т-клеток на антигены в этой модели различается при разных морфологических формах поражения желудка.

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, эрозивный гастрит, язвенная болезнь, иммунный ответ, Т-клетки, активация.

Abstract

Introduction. *H. pylori* is a widespread microbe able to long-term persist on gastric mucosa and may cause gastritis, peptic ulcers, and malignant neoplasms of the stomach. It is assumed that the clinical manifestations of the infection depend on pathogen virulence and host response, but the characteristics of the immune response to *H. pylori* in various morphological forms of gastric lesions have not been sufficiently studied. **The aim of the study** was to identify peripheral blood antigen-specific CD4⁺ T cells during *H. pylori* infection and to evaluate the T cell activation response to *H. pylori* antigens in infected patients with erosive and non-erosive gastritis. **Materials and methods.** Peripheral blood monocytes and lymphocytes were isolated from study subjects. The monocytes were incubated with or without *H. pylori*. Next, lymphocytes were stimulated with syngeneic monocytes, and the CD4⁺ T cell response to antigens was assessed by expression of activation markers OX40, CD69, and CD25. **Results.** Antigen-specific CD4⁺ T cells were easily detected in the blood of patients with non-erosive gastritis by identifying antigen-induced expression of the activation marker OX40. In *H. pylori*-associated erosive gastritis, stimulation of CD4⁺ T cells with antigens did not increase OX40 expression and decreased CD69 expression. Evaluation of CD25 expression in combination with CD69 or OX40, as well as analyzing co-expression of these molecules in groups of large and small lymphocytes, allowed to identify antigen-induced changes in the CD4⁺ T cell phenotype in patients with erosive gastritis. Hence, antigen-induced increase in the number of CD25^{low}CD69^{low} cells within both large and small CD4⁺ T lymphocytes most reliably mirrors T-helper activation in these patients. The antigen-induced increase in the number of CD25^{hi}CD69^{-/low} and CD25^{hi}CD69^{hi} large lymphocytes was more pronounced. However, such cells with high CD25 expression levels can be either due to activated T helpers or inducible regulatory T cells. **Conclusion.** Using an in vitro antigen presentation model, CD4⁺ T cells specific to *H. pylori* antigens were detected in peripheral blood samples from patients with *H.*

pylori-associated gastritis. The characteristics of antigen-specific T-cell response in this model varied across different morphological forms of gastric lesions.

Keywords: *Helicobacter pylori*, erosive gastritis, peptic ulcer, immune response, T cells, activation.

1 Введение

H. pylori – широко распространенный микроорганизм, способный длительное время персистировать на слизистой желудка и вызывать гастрит и язвенную болезнь [16], а у некоторых пациентов приводить к развитию аденокарциномы желудка или лимфомы лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой [4, 6, 9, 19]. При заражении хеликобактером желудочный эпителий отвечает на инфекцию быстрой продукцией провоспалительных цитокинов и хемокинов, в слизистой развивается воспаление, а в ходе иммунного ответа накапливаются антигенспецифические лимфоциты, однако иммунный ответ часто оказывается недостаточно эффективным для устранения возбудителя, и *H. pylori*-инфекция без этиотропного лечения может длиться многие годы [11, 13, 17, 18]. Низкую эффективность иммунного ответа на *H. pylori* связывают со способностью микроорганизма уклоняться от действия защитных факторов хозяина [13, 15,], ослаблять иммунные реакции за счет прямого действия на лимфоциты, а также индуцировать генерацию регуляторных Т-клеток (Treg), подавляющих иммунный ответ [5, 6, 26]. Определенную способность сдерживать размножение хеликобактера при экспериментальном заражении лабораторных животных демонстрируют провоспалительные антиген-специфические Т-хелперные клетки, однако они же играют важную роль в развитии признаков гастрита [12, 21]. У людей при *H. pylori*-ассоциированном гастрите наблюдается инфильтрация слизистой оболочки активированными Т-клетками [25], провоспалительными Т-хелперами первого типа (Th1), Th17 [10] и противовоспалительными Treg [5, 6, 26]. Мы показали, что при *H. pylori*-ассоциированном гастрите и язвенной болезни в крови увеличивается содержание провоспалительных Т-хелперов, несущих хемокиновый рецептор CCR6 [3, 24], и эти клетки накапливаются в инфицированной слизистой желудка [24], где усиленно продуцируется лиганд рецептора CCR6 – хемокин CCL20 [27, 28]. Также было показано, что кровь пациентов с *H. pylori*-ассоциированным гастритом содержит CD4⁺ Т-клетки,

30 реагирующие активацией на антигены *H. pylori*, причем CD4⁺CCR6⁺ Т-клетки
31 содержат большее количество антиген-специфических лимфоцитов по
32 сравнению с CD4⁺CCR6⁻ Т-клетками [2]. Целью данной работы являлось
33 сравнение реакции CD4⁺ Т-лимфоцитов крови пациентов с *H. pylori*-
34 ассоциированным эрозивным и неэрозивным гастритом, а также
35 неинфицированных доноров в модели презентации антигенов *H. pylori* in vitro.

36 **2 Материалы и методы**

37 Исследование проведено в соответствии с положениями Хельсинкской
38 декларации Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы
39 проведения научных медицинских исследований с участием человека в
40 качестве испытуемого» и одобрено локальным этическим комитетом ФБУН
41 ННИИЭМ им. академика И.Н. Блохиной (протокол №. 1 от 12.02.2020). Все
42 обследованные дали информированное согласие на участие в исследовании.

43 Были обследованы взрослые больные с подтвержденной *H. pylori*-
44 инфекцией и диагнозом гастрит без эрозий слизистой оболочки желудка (n=16,
45 возраст – 42,1±2,4 года, мужчин – 50%) и с наличием эрозий слизистой (n=14,
46 возраст – 49,71±4,7 года, мужчин – 71,4%), а также взрослые доноры группы
47 сравнения без *H. pylori*-инфекции (n=12, возраст – 41,2±5,1 года, мужчин –
48 50%). Критериями исключения были прием гормональных препаратов,
49 антибиотиков, иммуностимуляторов или вакцин в течение последнего месяца,
50 диагноз аутоиммунных заболеваний. Наличие *H. pylori* у больных
51 подтверждали уреазным тестом и обнаружением ДНК возбудителя
52 полимеразной цепной реакцией (ПЦР). Отсутствие *H. pylori* у доноров группы
53 сравнения устанавливали по отсутствию антигенов *H. pylori* в кале и антител
54 к возбудителю в сыворотке крови. Для поиска антигенов использовали «H&R
55 *H. pylori*. One Step *H. pylori* Antigen Test Device» (Vegal Farmaceutica S.L.,
56 Испания). Поиск антител проводили с помощью иммуноферментных тест-
57 систем «ИФА-Хеликобактер-IgG», «ИФА-Хеликобактер-IgA» и «ИФА-
58 Хеликобактер CagA-антитела» (АО ЭКОлаб, Россия).

59 Для оценки антиген-специфических реакций лимфоцитов *in vitro*
 60 использовали суспензии *H. pylori*, которые ранее были любезно
 61 предоставлены заведующим лабораторией А.В. Матвейчевым и хранились
 62 при температуре минус 70°C в эмбриональной телячьей сыворотке (FCS) с
 63 10% диметилсульфоксида (DMSO). Перед использованием, бактерии
 64 размораживались, отмывались центрифугированием и ресуспендировались в
 65 среде RPMI-1640 (Gibco, Великобритания). Содержание *H. pylori* в суспензиях
 66 контролировалось с помощью ПЦР в реальном времени при сравнении с
 67 разведениями заранее изготовленного стандартного образца *H. pylori*, как это
 68 было описано ранее [2]. Морфологическую сохранность бактерий оценивали
 69 микроскопией мазков, окрашенных по Граму.

70 Мононуклеарные клетки периферической крови (PBMC) выделяли
 71 центрифугированием над слоем Диаколл-1077 (Диа-М, Россия), дважды
 72 отмывали, и ресуспендировали в полной питательной среде (ППС)
 73 следующего состава: RPMI-1640 (Gibco, Великобритания) с 10% FCS (РАА
 74 Laboratories, Австрия). PBMC высевали в 48-луночные планшеты (Costar,
 75 США) по $2 \cdot 10^6$ клеток на лунку и инкубировали в течение 2 часов при +37°C
 76 и 5% CO₂. Не прикрепившиеся лимфоциты собирали, подсчитывали и
 77 пересевали в свежие лунки. По разнице количества PBMC до адгезии и не
 78 прикрепившихся лимфоцитов после адгезии рассчитывали количество
 79 прикрепившихся моноцитов. Использовали лунки, содержащие от $4 \cdot 10^5$ до
 80 $6 \cdot 10^5$ прикрепившихся клеток. Моноциты культивировали без
 81 микроорганизмов или с *H. pylori* в концентрации 10^7 бактерий/мл при +37°C и
 82 5% CO₂ в течение 20 часов. Затем из лунок отбирали среду с бактериями и
 83 лунки осторожно промывали теплой ППС. Затем в каждую лунку вносили
 84 лимфоциты того же пациента по 10^6 клеток в 0,5 мл ППС. Также засевали
 85 контрольную лунку лимфоцитов без моноцитов. Клетки инкубировали 72
 86 часа, собирали, отмывали в PBS с 0,09 % NaN₃ и окрашивали различными
 87 сочетаниями следующих флюоресцентно-меченных моноклональных

88 антител: анти-CD4, меченные флюоресцеинизотиоционатом (FITC) (Сорбент,
 89 Россия или Elabscience, КНР); анти-CD8, меченные фикоэритрином (PE)
 90 (Сорбент, Россия); анти-OX40 (CD134), меченные аллофикоцианином (APC)
 91 (Elabscience, КНР); анти-CD69, меченные APC (BioLegend, США); анти-
 92 CD25, меченные PerCP Cy5.5 (BioLegend, США или Elabscience, КНР); анти-
 93 CCR6 (CD196), меченные PE (Elabscience, КНР). После 20-минутного
 94 окрашивания при +4°C в темноте клетки отмывали, фиксировали в 1 %
 95 растворе параформальдегида на PBS и анализировали на проточном
 96 цитофлюориметре FACS Calibur, подсчитывая долю OX40⁺, CD25⁺ и/или CD69⁺
 97 клеток в гейтах клеток с фенотипами: CD4⁺ (Т-хелперы), CD4⁺CCR6⁺ (Т-
 98 хелперы с повышенной способностью к миграции в желудок) и CD4⁺CCR6⁻ и,
 99 в отдельных экспериментах - в гейте CD8⁺ клеток. Также оценивали
 100 распределение на клетках пар молекул OX40/CD25 и CD69/CD25 и уровень их
 101 экспрессии.

102 Статистический анализ проводили с помощью программного
 103 обеспечения Excel (Microsoft) и Prism 8.0 (GraphPad). Сравнение нескольких
 104 независимых выборок проводили в тесте Краскела-Уоллиса, и, в случае
 105 отклонения гипотезы о равенстве выборок, сравнение групп проводили с
 106 использованием теста Манна-Уитни. Для сравнения нескольких зависимых
 107 выборок использовался тест Фридмана, а апостериорные анализы
 108 проводились в ранговом тесте Вилкоксона для сопоставленных пар.

109 **3 Результаты**

110 Ранее нами было показано, что кровь пациентов с *H. pylori*-
 111 ассоциированным гастритом содержит CD4⁺ Т-лимфоциты, реагирующие на
 112 презентацию антигенов хеликобактера *in vitro*. Для выявления антиген-
 113 специфической реакции моноциты инкубировали с *H. pylori*, затем
 114 стимулировали ими сингенные лимфоциты и наблюдали усиление
 115 пролиферации лимфоцитов и увеличение количества CD4⁺ Т-клеток,
 116 экспрессирующих молекулу OX-40, по сравнению с контрольными

117 культурами двух типов: лимфоциты без моноцитов и лимфоциты с
118 моноцитами без *H. pylori* [2]. Известно, что OX40 появляется на поверхности
119 Т-клеток после активации антигеном [7] и может нести в Т-клетку ко-
120 стимулирующий сигнал при взаимодействии со своим лигандом CD252 на
121 антигенпрезентирующей клетке [8]. На основании этого, прирост экспрессии
122 OX40 под действием моноцитов, нагруженных *H. pylori*, расценивался нами
123 как проявление активационной реакции антиген-специфических Т-клеток на
124 антигены хеликобактера, которые были поглощены моноцитами и затем
125 представлены на молекулах главного комплекса гистосовместимости Т-
126 лимфоцитам. В этой работе мы использовали ту же модель презентации
127 антигенов *H. pylori*, с помощью которой сравнивали реакцию на антигены
128 CD4⁺ Т-клеток крови пациентов с *H. pylori*-ассоциированным эрозивным и
129 неэрозивным гастритом, а также неинфицированных доноров, не имеющих
130 антител к *H. pylori* в крови и антигенов *H. pylori* в кале.

131 В культурах клеток инфицированных пациентов с неэрозивным
132 хроническим гастритом презентация антигенов *H. pylori* индуцировала
133 достоверное усиление экспрессии маркера активации OX40 на CD4⁺ Т-
134 лимфоцитах (рис. 1), причем антиген-зависимый рост количества OX40⁺ клеток
135 в субпопуляции CD4⁺CCR6⁺ лимфоцитов был больше, чем в субпопуляции
136 CD4⁺CCR6⁻ лимфоцитов ($p=0,0012$ в тесте Уилкоксона).

137 В культурах клеток больных с наличием *H. pylori* и эрозивным гастритом,
138 так же как и в культурах клеток здоровых неинфицированных доноров, не было
139 выявлено достоверного индуцированного антигеном прироста доли OX40⁺
140 клеток ни среди CD4⁺CCR6⁺ лимфоцитов, ни среди CD4⁺CCR6⁻ лимфоцитов
141 (рис. 1). При этом, как у больных с эрозивным гастритом, так и у здоровых
142 доноров, был обнаружен высокий уровень экспрессии OX40 на CD4⁺
143 лимфоцитах в смешанных культурах с моноцитами без антигенов *H. pylori*,
144 который достоверно превышал соответствующие показатели в группе с
145 неэрозивным гастритом ($p=0,001$ при сравнении CD4⁺CCR6⁺ субпопуляций в

146 группах неэрозивного гастрита и здоровых доноров; $p=0,04$ – при сравнении
 147 $CD4^+CCR6^-$ субпопуляций в тех же группах обследованных; $p<0,0001$ при
 148 сравнении $CD4^+CCR6^+$ субпопуляций в группах эрозивного и неэрозивного
 149 гастрита; $p=0,0005$ – при сравнении $CD4^+CCR6^-$ субпопуляций в тех же группах
 150 пациентов).

151 Оценка экспрессии CD69 – другой молекулы, связанной с активацией, в
 152 культурах клеток пациентов с *H. pylori*-ассоциированным неэрозивным
 153 гастритом выявила лишь недостоверную тенденцию к антиген-
 154 индуцированному росту доли $CD69^+$ клеток среди $CD4^+CCR6^+$ и $CD4^+CCR6^-$
 155 лимфоцитов и не выявила влияния антигенов на экспрессию CD69 *in vitro* у
 156 неинфицированных доноров (рис. 2). В культурах клеток пациентов с
 157 эрозивным гастритом наблюдалось достоверное снижение доли $CD69^+$ клеток
 158 среди $CD4^+CCR6^+$ лимфоцитов в культурах с моноцитами, нагруженными *H.*
 159 *pylori*, по сравнению с необычайно сильной экспрессией CD69 на тех же
 160 клетках в культурах с моноцитами без антигенов возбудителя (рис. 2). В
 161 субпопуляции $CD4^+CCR6^-$ лимфоцитов пациентов с эрозивным гастритом
 162 презентация антигенов *H. pylori* не вызывала изменения количества $CD69^+$
 163 клеток.

164 Таким образом, оценка экспрессии отдельных активационных маркеров
 165 показала, что кровь пациентов с *H. pylori*-инфекцией и хроническим гастритом
 166 без эрозий слизистых содержит $CD4^+$ Т-клетки, реагирующие активацией на
 167 антигены *H. pylori*. Реакция этих клеток на антигены возбудителя *in vitro*
 168 проявлялась экспрессией активационного маркера OX40. В группе
 169 неинфицированных доноров не наблюдалось достоверного антиген-
 170 индуцированного усиления экспрессии маркеров активации Т-лимфоцитов. В
 171 группе *H. pylori*-инфицированных пациентов с эрозивным гастритом мы не
 172 зарегистрировали антиген-индуцированного роста экспрессии OX40 на $CD4^+$
 173 лимфоцитах и обнаружили подавление экспрессии CD69 на $CD4^+CCR6^+$ Т-
 174 клетках. Отсутствие прироста экспрессии OX40 и подавление экспрессии

175 CD69 у инфицированных пациентов с эрозивным гастритом оказалось для нас
 176 неожиданным, и мы провели дополнительные исследования с использованием
 177 культур клеток этих пациентов, чтобы точнее установить характер реакции их
 178 лимфоцитов на антигены возбудителя. Для этого мы ввели в набор
 179 анализируемых активационных маркеров молекулу CD25 и оценили
 180 экспрессию этой молекулы на Т-клетках культур отдельно от других маркеров
 181 активации и вместе с OX40 и CD69, а также оценили уровни экспрессии этих
 182 молекул на CD4⁺ лимфоцитах в культурах клеток пациентов с *H. pylori*-
 183 инфекцией и эрозивным гастритом.

184 Оценка наличия CD25 на субпопуляциях CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов
 185 крови больных с эрозивным гастритом не выявила достоверных изменений
 186 количества CD25⁺ клеток под действием моноцитов, нагруженных антигенами
 187 *H. pylori* (рис. 3).

188 Оценка совместной экспрессии CD25 и CD69 позволила обнаружить
 189 антиген-индуцированные изменения фенотипа CD4⁺ Т-клеток больных с
 190 эрозивным гастритом, которые могут отражать события активации Т-клеток
 191 антигеном возбудителя: презентация антигенов *H. pylori* лимфоцитам
 192 индуцировала значительный рост доли CD25⁺CD69⁺ клеток среди CD4⁺ Т-
 193 лимфоцитов (рис. 4). В субпопуляции CD8⁺ клеток индуцированного
 194 антигеном прироста количества CD25⁺CD69⁺ клеток не обнаружено.

195 Для более подробного анализа экспрессии CD25 и CD69 проводили
 196 гейтирование CD4⁺ клеток, разделение их на малые лимфоциты и большие
 197 лимфоциты (лимфобласты) и определение уровня экспрессии активационных
 198 маркеров в этих субгруппах клеток. При этом предполагалось, что
 199 «продуктивная» активация, ведущая к пролиферации и созреванию,
 200 сопровождается увеличением размера Т-лимфоцитов вскоре после активации,
 201 и группа лимфобластов динамично обогащается недавно активированными
 202 клетками. Полученные результаты соответствовали этому положению: CD4⁺
 203 лимфобласты активированных культур содержали большую, чем малые

204 лимфоциты, долю клеток, несущих наборы активационных маркеров
 205 CD25^{hi}CD69^{-low} и CD25^{hi}CD69^{hi}. Сравнение активированных и контрольных
 206 культур показало, что активация антигенами *H. pylori* значительно
 207 увеличивает доли клеток с фенотипами CD25^{hi}CD69^{-low}, CD25^{hi}CD69^{hi} и
 208 CD25^{low}CD69^{low} среди CD4⁺ лимфобластов (рис. 4). Также, стимуляция
 209 культур клеток антигенами возбудителя увеличивала количество
 210 CD25^{low}CD69^{low} в группе малых CD4⁺ лимфоцитов (рис. 4).

211 Определение одновременной экспрессии молекул CD25 и OX40 на
 212 клетках субгрупп CD4⁺ Т-лимфоцитов не позволила нам обнаружить
 213 статистически значимых признаков антиген-специфической активации в
 214 культурах клеток пациентов с эрозивным гастритом (рис. 5), но учет степени
 215 экспрессии CD25 совместно с экспрессией OX40 выявил индуцированные
 216 антигеном изменения фенотипа клеток. Стимуляция антигенами
 217 хеликобактера приводила к росту доли CD25^{hi}OX40⁻ клеток в субпопуляции с
 218 фенотипом CD4⁺CCR6⁻ (рис. 5).

219 **4 Обсуждение**

220 Эксперименты с презентацией антигенов *H. pylori* *in vitro* показали, что
 221 кровь пациентов с *H. pylori*-ассоциированным неэрозивным гастритом
 222 содержит специфичные к антигенам возбудителя CD4⁺ Т-лимфоциты, которые
 223 легко выявляются по антиген-индуцированной экспрессии активационного
 224 маркера OX40. При *H. pylori*-ассоциированном эрозивном гастрите CD4⁺ Т-
 225 клетки при стимуляции антигеном не экспрессировали OX40 и снижали
 226 экспрессию молекулы CD69. Известно, что CD69 экспрессируется на Т-
 227 клетках после активации и исчезает на большинстве клеток при их
 228 возвращении в состояние покоя. Это обстоятельство позволяет использовать
 229 CD69 в качестве маркера активации [7, 20, 23]. При этом следует учитывать
 230 склонность этого маркера экспрессироваться под действием
 231 костимулирующих факторов без распознавания антигена (так называемая,
 232 активация клеток-свидетелей – activation of bystander cells) [7]. Также

233 необходимо помнить о стойкой экспрессии CD69 на резидентных Т-клетках
234 памяти, которые не рециркулируют с кровью и постоянно находятся в
235 различных периферических тканях. По-видимому, временная задержка Т-
236 клеток после активации и стойкая фиксация резидентных Т-клеток памяти в
237 тканях является важной функцией CD69, которая выполняется за счет
238 взаимодействия с рецептором хемоаттрактанта сфингозин-1-фосфата и
239 подавления хемотаксиса клеток к кровеносным сосудам [1, 22, 23]. Возможно,
240 подавление экспрессии CD69 под действием антигенов *H. pylori* у части
241 инфицированных пациентов может приводить к уменьшению численности
242 резидентных Т-клеток в слизистой желудка и является одним из механизмов
243 уклонения *H. pylori* от иммунного ответа.

244 Оценка экспрессии CD25 вместе с CD69 и CD25 вместе с OX40, а также
245 отдельный анализ этих фенотипов в группах больших и малых лимфоцитов
246 позволили обнаружить антиген-индуцированные изменения фенотипа CD4⁺ Т-
247 клеток больных с эрозивным гастритом, которые могут отражать события
248 активации Т-клеток антигеном возбудителя. К наиболее бесспорным, с нашей
249 точки зрения, активационным проявлениям относится небольшой, но
250 достоверный индуцированный антигеном рост количества CD25^{low}CD69^{low}
251 клеток в группах как больших, так и малых CD4⁺ Т-лимфоцитов. Более
252 выраженными были увеличения количества CD4⁺ клеток с высоким уровнем
253 экспрессии CD25. Однако, такие клетки с фенотипами CD25^{hi}CD69^{-low},
254 CD25^{hi}CD69^{hi} и CD25^{hi}OX40⁻ могут быть как активированными Т-хелперами,
255 так и индуцибельными Treg, и для точной идентификации субпопуляционной
256 принадлежности этих клеток необходима дополнительная оценка наличия
257 ядерного фактора транскрипции FoxP3 или уровня экспрессии α-цепи
258 рецептора интерлейкина-7 CD127 [7].

259 Таким образом, характер реакции Т-клеток на антигены *H. pylori* in vitro
260 оказался различным при разных морфологических формах *H. pylori*-
261 ассоциированного гастрита, хотя причины этих различий не ясны. Возможно,

262 они связаны с пропорцией участвующих в иммунном ответе Т-лимфоцитов
263 хелперов и Treg, способных подавлять активацию Т-хелперов *in vivo* и *in vitro*.
264 Гипотетические факторы, влияющие на вовлечение этих субпопуляций, могут
265 быть первичными, в том числе, генетически детерминированными, или
266 вторичными, возникающими при формировании той или иной формы
267 заболевания. К последним могут относиться вещества с иммунорегуляторным
268 потенциалом, которые могут выделяться при эрозивных повреждениях
269 слизистой желудка, например, аутоантигены и паттерны, ассоциированные с
270 повреждением ткани, или цитокины, вырабатываемые при репарации этих
271 повреждений. Эти вещества прямо или опосредованно могут действовать на
272 лимфоциты при их рекрутировании в иммунный ответ на *H. pylori* в
273 лимфоидных органах, дренирующих тонкий кишечник. Следует подчеркнуть,
274 что это лишь предположения, которые требуют тщательной и сложной
275 проверки.

276 Каковы бы ни были механизмы, лежащие в основе различий антиген-
277 специфической реактивности CD4⁺ Т-клеток при разных формах
278 хеликобактериоза, полученные результаты укладываются в следующую
279 гипотетическую схему соотношения иммунного ответа и морфологических
280 проявлений *H. pylori*-ассоциированного гастрита:

281 1) Для неэрозивного гастрита характерен иммунный ответ с
282 вовлечением большого количества CCR6⁺ антиген-специфических
283 провоспалительных Т-хелперов, которые легко обнаружить по антиген-
284 индуцированной экспрессии активационного маркера OX40. Можно
285 предположить, что такой характер иммунного ответа ведет к частичному
286 контролю над инфекцией, но, в качестве побочного эффекта, вызывает
287 иммунное воспаление слизистой желудка, которое вносит существенный
288 вклад в формирование клинической картины гастрита.

289 2) Сложность выявления антиген-специфических клеток при *H. pylori*-
290 инфекции с эрозивным гастритом может быть связана с малым количеством

291 вовлеченных в иммунный ответ Т-клеток и/или с изменением их свойств,
292 например, нарушением экспрессии молекул, ассоциированных с активацией.
293 Можно предположить, что такая реакция организма на *H. pylori* ведет к
294 ослаблению иммунного контроля над инфицированием. Результатом этого
295 может быть рост бактериальной нагрузки на поверхности эпителия желудка,
296 развитие прямых токсических и опосредованных эффектов, связанных с
297 гиперпродукцией гастрина и соляной кислоты, что, в конечном итоге, может
298 вести к формированию эрозивно-язвенных повреждений слизистой.

299 Для проверки этих предположений в дальнейшем представляется
300 целесообразным исследовать взаимосвязь бактериальной нагрузки и
301 показателей масштаба клеточного иммунного ответа, например, количества
302 антиген-специфических клеток в крови и в слизистой.

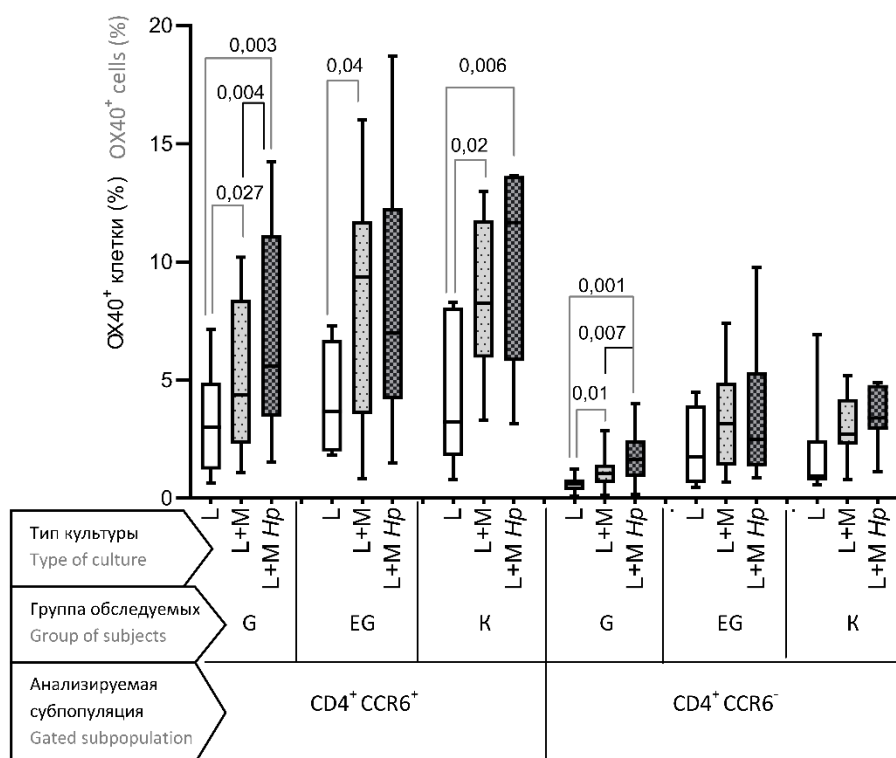
303 **5 Заключение**

304 Показано, что кровь *H. pylori*-инфицированных пациентов содержит
305 специфичные к антигенам возбудителя CD4⁺ Т-лимфоциты, которые можно
306 выявить в модели презентации антигенов возбудителя *in vitro*, однако характер
307 реакции Т-клеток на антигены в этой модели зависит от морфологических
308 форм поражений желудка, инфицированного хеликобактером. При не
309 осложненном эрозиями *H. pylori*-ассоциированном гастрите антиген-
310 специфические CD4⁺ Т-клетки выявляются простым определением прироста
311 количества клеток, экспрессирующих активационный маркер OX40. При
312 эрозивном гастрите реакция CD4⁺ Т-клеток на антигены хеликобактера менее
313 выражена, и для ее выявления требуется оценка сочетанной экспрессии
314 активационных маркеров с определением уровня экспрессии этих маркеров в
315 различных субгруппах клеток.

РИСУНКИ

Рисунок 1. Доля OX40⁺ клеток среди CD4⁺CCR6⁺ и CD4⁺CCR6⁻ Т-клеток в культурах лимфоцитов (L) и в смешанных культурах лимфоцитов с моноцитами, не нагруженными (L+M) и нагруженными антигенами *H. pylori* (L+M Hp)

Figure 1. The proportion of OX40⁺ cells among CD4⁺CCR6⁺ and CD4⁺CCR6⁻ T cells in lymphocyte cultures (L) and in mixed cultures of lymphocytes with monocytes not loaded (L+M) and loaded with *H. pylori* antigens (L+M Hp)

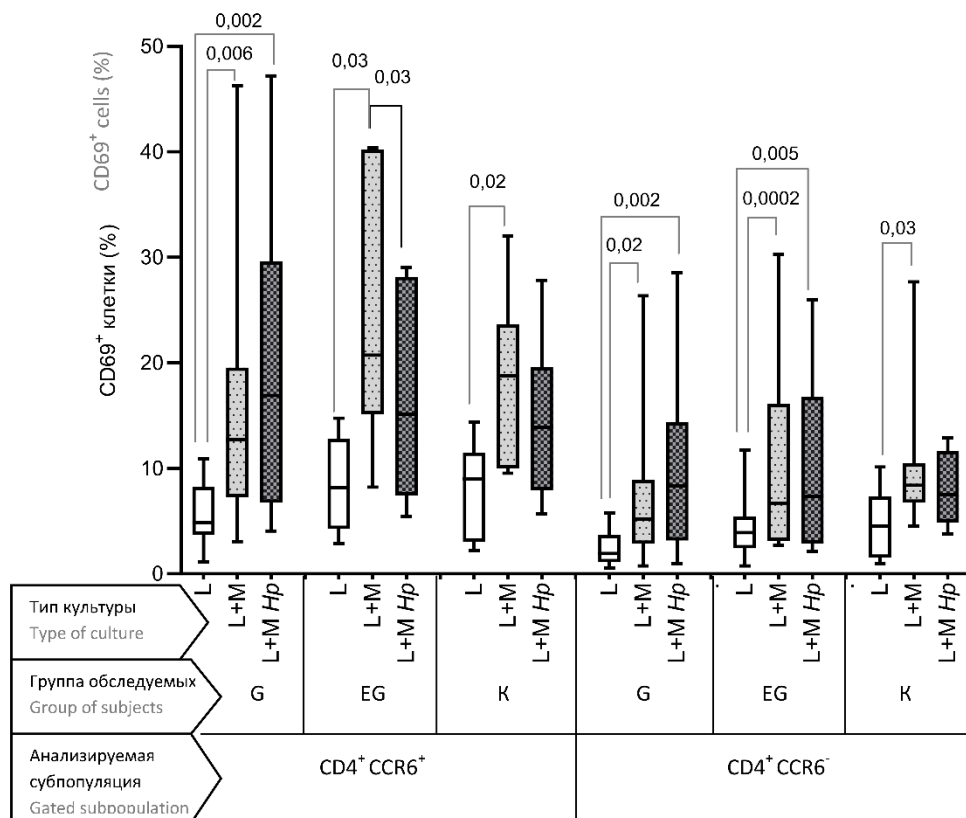


Примечание. Группы обследованных: инфицированные *H. pylori* пациенты с неэрозивным гастритом (G; n=16); инфицированные *H. pylori* пациенты с эрозивным гастритом (EG; n=14), контрольная группа не инфицированных доноров (K; n=12). Здесь и далее данные представлены в виде коробчатой диаграммы (медиана, квантили, минимальное и максимальное значение) и указаны значения p в ранговом тесте согласованных пар Уилкоксона (при условии p<0,05).

Note. The groups of subjects examined were: *H. pylori*-infected patients with nonerosive gastritis (G); *H. pylori*-infected patients with erosive gastritis (EG), and a control group of uninfected donors (K). In this and all subsequent figures, the data are presented as boxplots (median, quantiles, minimum and maximum values), and Wilcoxon paired-samples test p-values are also shown (assuming $p < 0.05$).

Рисунок 2. Доля $CD69^+$ клеток среди $CD4^+CCR6^+$ и $CD4^+CCR6^-$ Т-клеток в культурах лимфоцитов (L) и в смешанных культурах лимфоцитов с моноцитами, не нагруженными (L+M) и нагруженными антигенами *H. pylori* (L+M Hp)

Figure 2. The proportion of $CD69^+$ cells among $CD4^+CCR6^+$ and $CD4^+CCR6^-$ T cells in lymphocyte cultures (L) and in mixed cultures of lymphocytes with monocytes not loaded (L+M) and loaded with *H. pylori* antigens (L+M Hp)



Примечание. Группы обследованных и их обозначения те же, что на рис. 1. Здесь и далее обозначение типов культур аналогично рис. 1.

Note. The groups of subjects examined and their designations are the same as in Fig. 1. In this and all subsequent figures, the types of cell cultures are designated in the same way as in Fig. 1.

Рисунок 3. Доля CD25⁺ клеток в субгруппах Т-лимфоцитов пациентов с эрозивным гастритом и *H. pylori*-инфекцией (n=9)

Figure 3. The proportion of CD25⁺ cells in T-lymphocyte subgroups in patients with erosive gastritis and *H. pylori* infection (n=9)

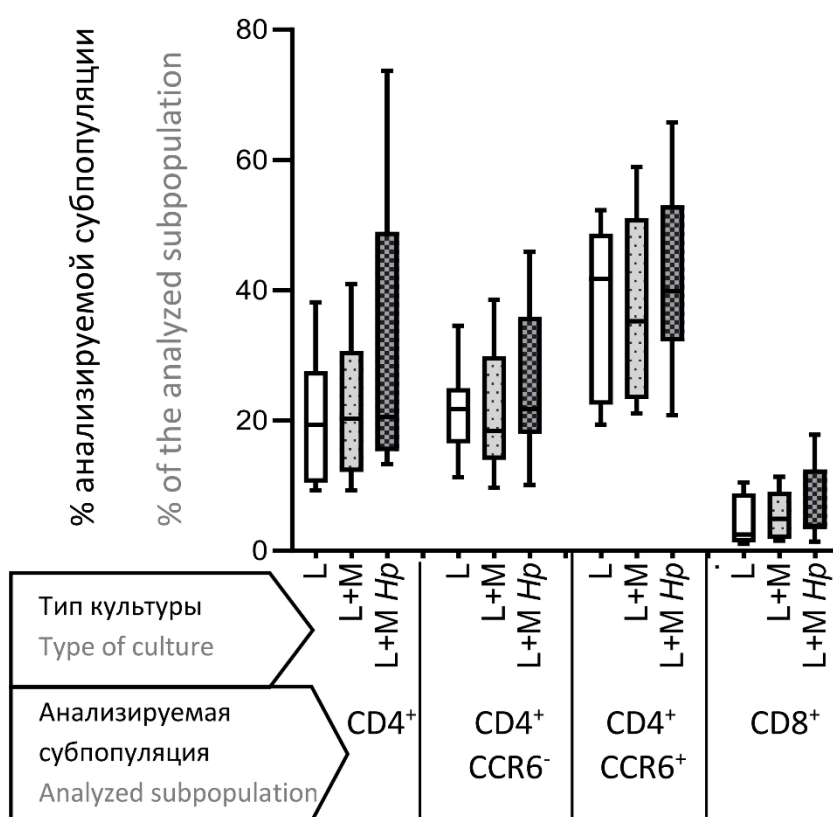


Рисунок 4. Доля $CD25^+CD69^+$ клеток среди $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитов (левая диаграмма) и доли клеток с фенотипами $CD25^{hi}CD69^{-/low}$, $CD25^{hi}CD69^{hi}$ и $CD25^{low}CD69^{low}$ среди $CD4^+$ малых лимфоцитов (МЛ) и $CD4^+$ лимфобластов (ЛБ) (правая диаграмма) в культурах клеток крови больных с *H. pylori*-инфекцией и эрозивным гастритом (n=9)

Figure 4. The proportion of $CD69^+CD25^+$ cells among $CD4^+$ and $CD8^+$ T cells (left diagram) and the proportion of cells with the phenotypes $CD25^{hi}CD69^{-/low}$, $CD25^{hi}CD69^{hi}$ and $CD25^{low}CD69^{low}$ among $CD4^+$ small lymphocytes (SL) and $CD4^+$ large lymphocytes (LL) (right diagram) in blood cell cultures of patients with *H. pylori* infection and erosive gastritis (n=9)

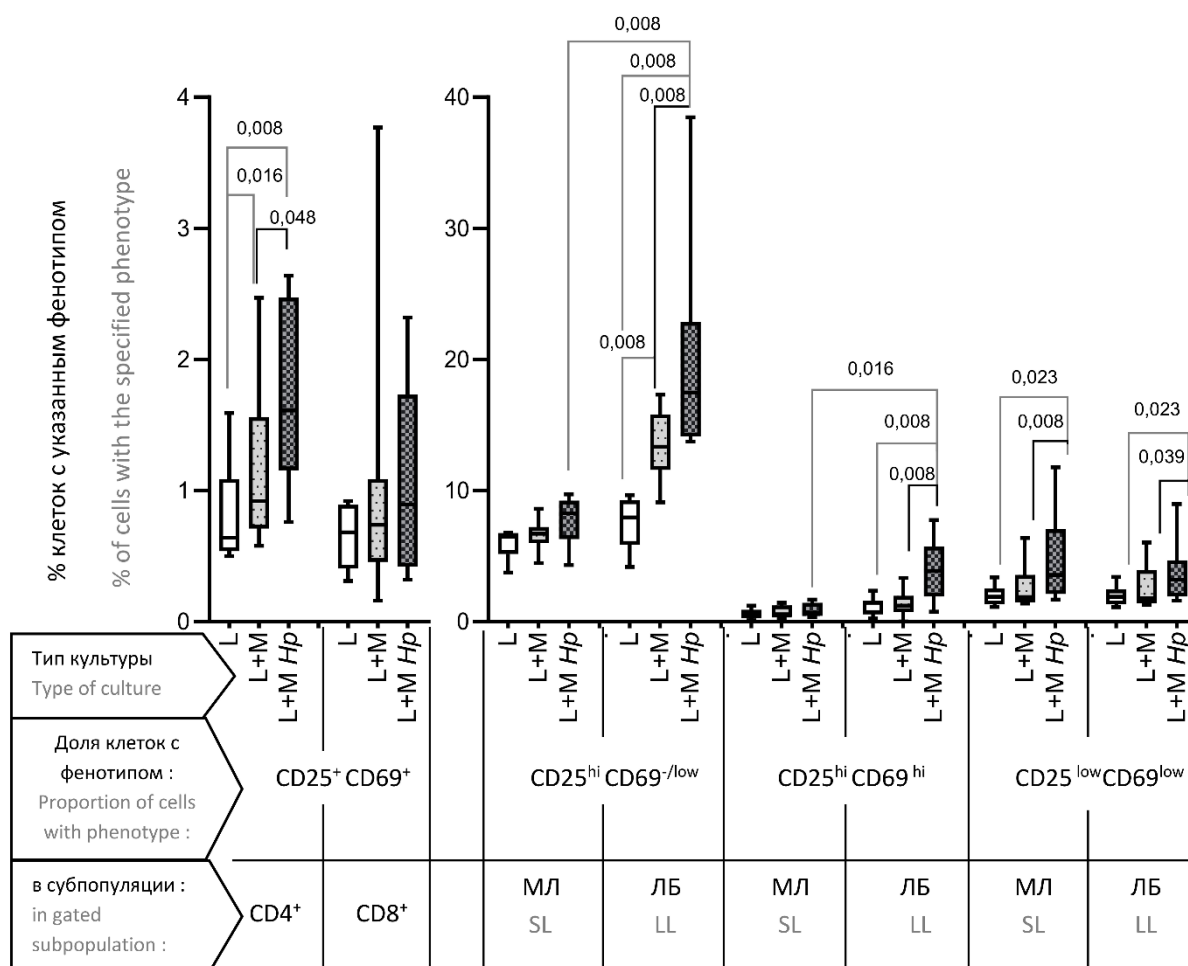
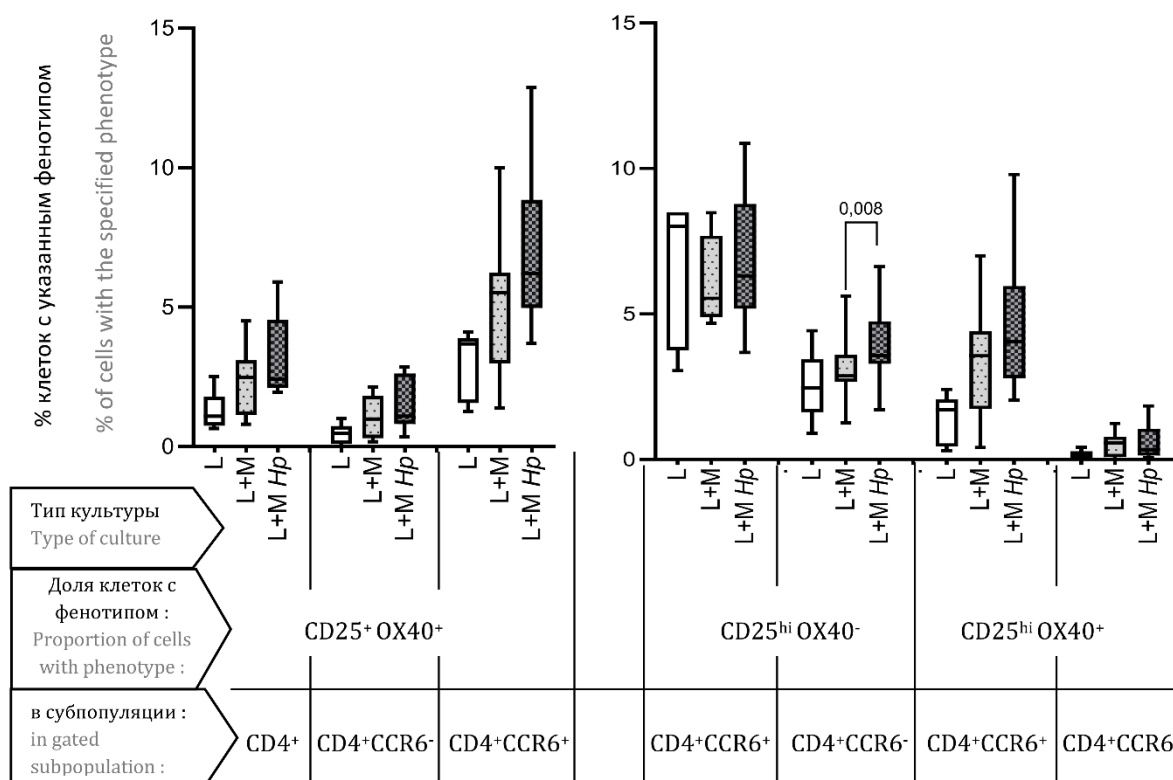


Рисунок 5. Доля $OX40^+CD25^+$ клеток (левая диаграмма) и доли клеток с фенотипами $CD25^{hi}OX40^-$ и $CD25^{hi}OX40^+$ (правая диаграмма) среди $CD4^+CCR6^+$ и $CD4^+CCR6^-$ Т-лимфоцитов в культурах клеток крови больных с *H. pylori*-инфекцией и эрозивным гастритом (n=9)

Figure 5. Proportions of $OX40^+CD25^+$ cells (left diagram) and cells with the $CD25^{hi}OX40^-$ and $CD25^{hi}OX40^+$ phenotypes (right diagram) among $CD4^+CCR6^+$ and $CD4^+CCR6^-$ T lymphocytes in blood cell cultures of patients with *H. pylori* infection and erosive gastritis (n=9)



ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ_МЕТАДААННЫЕ

Блок 1. Информация об авторе ответственном за переписку

Талаев Владимир Юрьевич, д.м.н., профессор, заведующий лабораторией клеточной иммунологии;

Адрес: ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора, 603950, БОКС 145, г. Нижний Новгород, ул. М. Ямская, д. 71;

Телефон: 8 (831) 469-79-48

E-mail: talaev@inbox.ru

Talayev Vladimir Yurevich, DSc (Medicine), Professor, Head of the Laboratory of Cellular Immunology ;

Address: Academician I.N. Blokhina NNSRIEM of Rospotrebnadzor, 603950, BOX 145, M. Yamskaya str. 71, Nizhny Novgorod, Russia;

Telephone: 8 (831) 469-79-48

E-mail: talaev@inbox.ru

Блок 2. Информация об авторах

Куркова Е.В., к.б.н., с.н.с. лаборатории клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора

Kurkova E.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Светлова М.В., к.б.н., с.н.с. лаборатории клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора

Svetlova M.V., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Бабайкина О.Н., к.м.н., с.н.с. лаборатории клеточной иммунологии ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора

Babaykina O.N., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Cellular Immunology, Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Неумоина Н.В., к.м.н., главный врач Клиники инфекционных болезней ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора

Neumoina N.V., PhD (Medicine), Head Physician, Infectious Diseases Clinic, I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Перфилова К.М., к.м.н., зам. главного врача Клиники инфекционных болезней ФБУН ННИИЭМ им.академика И.Н.Блохиной Роспотребнадзора

Perfilova K.M., PhD (Medicine), Deputy Head Physician, Infectious Diseases Clinic, I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russian Federation

Блок 3. Метаданные статьи

ОТВЕТ CD4⁺ Т-КЛЕТОК НА ПРЕЗЕНТАЦИЮ АНТИГЕНОВ *HELICOBACTER PYLORI* В УСЛОВИЯХ IN VITRO У ПАЦИЕНТОВ С *H. PYLORI*-ИНФЕКЦИЕЙ И ГАСТРИТОМ С ЭРОЗИЕЙ СЛИЗИСТОЙ ЖЕЛУДКА И БЕЗ НЕЕ

IN VITRO CD4⁺ T CELL RESPONSE TO PRESENTATION OF *HELICOBACTER PYLORI* ANTIGENS IN PATIENTS WITH *H. PYLORI* INFECTION AND GASTRITIS WITH AND WITHOUT EROSION OF THE GASTRIC MUCOSA

Сокращенное название статьи для верхнего колонтитула:

ОТВЕТ Т-КЛЕТОК НА *H. PYLORI*
T-CELL RESPONSE TO *H. PYLORI*

Ключевые слова: *Helicobacter pylori*, эрозивный гастрит, язвенная болезнь, иммунный ответ, Т-клетки, активация.

Keywords: *Helicobacter pylori*, erosive gastritis, peptic ulcer, immune response, T cells, activation.

Оригинальные статьи.

Количество страниц текста – 11,

количество таблиц – 0,

количество рисунков – 5.

15.01.2026

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи и/или ее doi.
1	Талаев В.Ю., Бабайкина О.Н., Светлова М.В., Заиченко И.Е., Куркова Е.В. Тканевые резидентные CD8 ⁺ Т-клетки иммунологической памяти и их роль в иммунном ответе на инфекцию и вакцинацию // Инфекция и иммунитет. 2025. Т. 15, №3. С. 415-430.	Talayev V.Y., Babaykina O.N., Svetlova M.V., Zaichenko I.Y., Kurkova E.V. Tissue-resident memory CD8 ⁺ T cells and their role in the immune response to infection and vaccination. Russian Journal of Infection and Immunity, 2025, vol. 15, no. 3, pp 415-430.	[doi: 10.15789/2220-7619-TRM-17842]

2	Талаев В.Ю., Заиченко И.Е., Светлова М.В., Воронина Е.В., Бабайкина О.Н., Неумоина Н.В., Перфилова К.М. Антигенспецифические Т-лимфоциты в группах CD4 ⁺ клеток, различающихся по экспрессии CCR6, у лиц, инфицированных и неинфицированных <i>Helicobacter pylori</i> // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, №6. С. 1087-1096.	Talayev V.Y., Zaichenko I.Y., Svetlova M.V., Voronina E.V., Babaykina O.N., Neumoina N.V., Perfilova K.M. Expression of CCR6 on <i>Helicobacter pylori</i> -specific circulating CD4 ⁺ T cells. Russian Journal of Infection and Immunity, 2024, vol. 14, no. 6, pp 1087-1096.	[doi: 10.15789/2220-7619-HPC-17641]
3	Талаев В.Ю., Светлова М.В., Заиченко И.Е., Воронина Е.В., Бабайкина О.Н., Неумоина Н.В., Перфилова К.М., Уткин О.В., Филатова Е.Н. Цитокиновый профиль CCR6 ⁺ Т-хелперов, выделенных из крови пациентов с язвенной болезнью, ассоциированной с <i>H. pylori</i> -инфекцией	Talayev V.Yu., Svetlova M.V., Zaichenko I.E., Voronina E.V., Babaykina O.N., Neumoina N.V., Perfilova K.M., Utkin O.V., Filatova E.N. Cytokine	[doi: 10.17691/stm2020.12.3.04]

	// Современные технологии в медицине. 2020. Т. 12, № 3. С. 33-40.	profile of CCR6 ⁺ T-helpers isolated from the blood of patients with peptic ulcer associated with <i>Helicobacter pylori</i> infection. <i>Sovremennye tehnologii v medicine</i> , 2020, vol. 12, no. 3, pp. 33–40.	
4	Amieva M., Peek R.M. Pathobiology of <i>Helicobacter pylori</i> -Induced Gastric Cancer. <i>Gastroenterology</i> , 2016, vol. 150, no. 1, pp. 64–78.	-	[doi: 10.1053/j.gastro.2015.09.004]
5	Cheng H.H., Tseng G.Y., Yang H.B., Wang H.J., Lin H.J., Wang W.C. Increased numbers of Foxp3-positive regulatory T cells in gastritis, peptic ulcer and gastric adenocarcinoma. <i>World J. Gastroenterol.</i> , 2012, vol.18, no. 1, pp. 34–43.	-	[doi: 10.3748/wjg.v18.i1.34]

6	Cook K.W., Letley D.P., Ingram R.J., Staples E., Skjoldmose H., Atherton J.C., Robinson K. CCL20/CCR6-mediated migration of regulatory T cells to the Helicobacter pylori-infected human gastric mucosa. Gut, 2014, vol. 63, no.10, pp. 1550-1559.	-	[doi: 10.1136/gutjnl-2013-306253]
7	Cossarizza A, Chang HD, Radbruch A, Abrignani S, Addo R, <i>et all</i> (193 authors). 2021. Guidelines for the use of flow cytometry and cell sorting in immunological studies (third edition). Eur. J. Immunol., vol. 51, pp. 2708-3145.	-	[10.1002/eji.202170126]
8	Croft M., So T., Duan W., Soroosh P. The significance of OX40 and OX40L to T-cell biology and immune disease // Immunol. Rev., 2009, vol. 229, no. 1, pp. 173-191.	-	[doi: 10.1111/j.1600-065X.2009.00766.x]
9	Danesh J. Helicobacter pylori infection and gastric cancer: systematic review of the epidemiological	-	[doi: 10.1046/j.1365-2036.1999.00546.x]

	studies. <i>Aliment. Pharmacol. Ther.</i> , 1999, vol. 13, pp. 851-856.		
10	D'Elios M.M, Czinn S.J. Immunity, inflammation, and vaccines for <i>Helicobacter pylori</i> . <i>Helicobacter</i> , 2014; vol. 19, (s1), pp.19-26.	-	[doi: 10.1111/hel.12156]
11	Graham D.Y., Opekun A.R., Osato M.S., El-Zimaity H.M., Lee C.K., Yamaoka Y., Qureshi W.A., Cadoz M., Monath T.P. Challenge model for <i>Helicobacter pylori</i> infection in human volunteers. <i>Gut</i> , 2004, vol. 53, no. 9, pp. 1235–1243.	-	[doi: 10.1136/gut.2003.037499]
12	Gray B.M., Fontaine C.A., Poe S.A., Eaton K.A. Complex T cell interactions contribute to <i>Helicobacter pylori</i> gastritis in mice. <i>Infect. Immun.</i> , 2013, vol. 81, no. 3, pp. 740–752.	-	[doi: 10.1128/IAI.01269-12]
13	Kronsteiner B., Bassaganya-Riera J., Philipson C., Viladomiu M., Carbo A., Abedi V., Hontecillas R. Systems-wide analyses of mucosal immune responses	-	[doi: 10.1080/19490976.2015.1116673]

	to <i>Helicobacter pylori</i> at the interface between pathogenicity and symbiosis. <i>Gut microbes</i> , 2016, vol. 7, pp. 3–21.		
14	Kusters J.G., van Vliet A.H., Kuipers E.J. Pathogenesis of <i>Helicobacter pylori</i> Infection. <i>Clin. Microbiol. Rev.</i> , 2006, vol. 19, no. 3, pp. 449–490.	-	[doi: 10.1128/CMR.00054-05]
15	Lina T.T., Alzahrani S., Gonzalez J., Pinchuk I.V., Beswick E.J., Reyes V.E. Immune evasion strategies used by <i>Helicobacter pylori</i> . <i>World J. Gastroenterol.</i> , 2014, vol. 20, pp. 12753-12766.	-	[doi: 10.3748/wjg.v20.i36.12753]
16	Marshall B.J., Warren J.R. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. <i>Lancet</i> , 1984, vol. 1, pp. 1311-1315.	-	[doi: 10.1016/s0140-6736(84)91816-6]
17	Moyat M., Velin D. Immune responses to <i>Helicobacter pylori</i> infection. <i>World J. Gastroenterol.</i> , 2014, vol. 20, pp. 5583–5593.	-	[doi: 10.3748/wjg.v20.i19.5583]

18	Nurgalieva Z.Z., Conner M.E., Opekun A.R., Zheng C.Q., Elliott S.N., Ernst P.B., Osato M., Estes M.K., Graham D.Y. B-cell and T-cell immune responses to experimental <i>Helicobacter pylori</i> infection in humans. <i>Infect. Immun.</i> , 2005, vol. 73, no.5, pp. 2999–3006.	-	[doi: 10.1128/IAI.73.5.2999-3006.2005]
19	Permin H., Andersen L.P. Inflammation, immunity, and vaccines for <i>Helicobacter</i> infection. <i>Helicobacter</i> , 2005, vol. 10, no. 1, pp. 21-25.	-	[doi: 10.1111/j.1523-5378.2005.00337.x]
20	Reddy M., Eirikis E., Davis C., Davis H.M., Prabhakar U. Comparative analysis of lymphocyte activation marker expression and cytokine secretion profile in stimulated human peripheral blood mononuclear cell cultures: an in vitro model to monitor cellular immune function. <i>J. Immunol. Methods</i> , 2004, vol. 293, no. 1-2, pp. 127–142.	-	[doi:10.1016/j.jim.2004.07.006]
21.	Roth K., Kapadia S., Martin S., Lorenz R. Cellular immune responses are essential for the development of	-	https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10415051/

	Helicobacter felis-associated gastric pathology. J. Immunol., 1999, vol. 163, no. 3, pp. 1490–1497.		
22.	Sathaliyawala T., Kubota M., Yudanin N., Turner D., Camp P., Thome J.J., Bickham K.L., Lerner H., Goldstein M., Sykes M., Kato T., Farber D.L. Distribution and compartmentalization of human circulating and tissue-resident memory T cell subsets. Immunity, 2013, vol. 38, no. 1, pp. 187-197.	-	[doi: 10.1016/j.immuni.2012.09.020]
23.	Simms P.E., Ellis T.M. Utility of flow cytometric detection of CD69 expression as a rapid method for determining poly- and oligoclonal lymphocyte activation. Clin. Diagn. Lab. Immunol., 1996, vol. 3, no. 3, pp. 301-304.	-	[doi: 10.1128/cdli.3.3.301-304.1996]
24.	Talayev V., Svetlova M., Zaichenko I., Voronina E., Babaykina O., Neumoina N., Perfilova K. CCR6 ⁺ T helper cells and regulatory T cells in the blood and	-	[doi: 10.1111/hel.13097]

	gastric mucosa during <i>Helicobacter pylori</i> infection. <i>Helicobacter</i> , 2024, vol. 29, no. 3, e13097.		
25.	Wu Y.-Y., Chen J.H., Kao J.T., Liu K.C., Lai C.H., Wang Y.M., Hsieh C.T., Tzen J.T., Hsu P.N. Expression of CD25(high) regulatory T cells and PD-1 in gastric infiltrating CD4(+) T lymphocytes in patients with <i>Helicobacter pylori</i> infection. <i>Clin. Vaccine Immunol.</i> , 2011, vol. 18, no. 7, pp. 1198-1201.	-	[doi: 10.1128/CVI.00422-10]
26.	Wu Y.-Y., Hsieh C.-T., Tsay G.J., Kao J.-T., Chiu Y.-M., Shieh D.-C., Lee Y.-J. Recruitment of CCR6+ Foxp3+ regulatory gastric infiltrating lymphocytes in <i>Helicobacter pylori</i> gastritis. <i>Helicobacter</i> , 2019, vol. 24, no. 1, e12550.	-	[doi: 10.1111/hel.12550]
27.	Wu Y.-Y., Tsai H.-F., Lin W.-C., Hsu P.-I., Shun C.-T., Wu M.-S., Hsu P.-N. Upregulation of CCL20 and recruitment of CCR6+ gastric infiltrating lymphocytes	-	[doi: 10.1128/IAI.01660-06]

	in <i>Helicobacter pylori</i> gastritis. <i>Infect. Immun.</i> , 2007, vol. 75, no. 9, pp. 4357–4363.		
28.	Yoshida A., Isomoto H., Hisatsune J., Nakayama M., Nakashima Y., Matsushima K., Mizuta Y., Hayashi T., Yamaoka Y., Azuma T., Moss J., Hirayama T., Kohno S. Enhanced expression of CCL20 in human <i>Helicobacter pylori</i> -associated gastritis. <i>Clin. Immunol.</i> , 2009, vol. 130, no. 3, pp. 290–297.	-	[doi: 10.1016/j.clim.2008.09.016]