

Р.М. ХАИТОВ, А.А. ЯРИЛИН, Б.В. ПИНЕГИН

ИММУНОЛОГИЯ

АТЛАС

600 ЦВЕТНЫХ
ИЛЛЮСТРАЦИЙ



ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»

Р.М. ХАИТОВ, А.А. ЯРИЛИН, Б.В. ПИНЕГИН

ИММУНОЛОГИЯ

АТЛАС



Москва
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»
2011

УДК 612.017(084.42)
ББК 28.707.4я61+52.54я61
И53

Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В.
И53 Иммунология : атлас. — М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. — 624 с. : ил.

В атласе, не имеющем аналогов в отечественной литературе, отражены все современные знания по иммунологии. Содержит 600 цветных схем-иллюстраций с подробным описанием. В трех больших разделах атласа — «Врожденный иммунитет», «Адаптивный иммунитет», «Клиническая иммунология и аллергология» — описаны молекулярные и клеточные основы строения и функционирования иммунной системы, реакции врожденного и адаптивного иммунитета. Рассмотрены механизмы, лежащие в основе патологии иммунной системы, обусловленной как ослаблением (иммунодефициты), так и неадекватным усилением (гиперчувствительность, аутоиммунные процессы) иммунологических процессов.

Атлас адресован широкому кругу читателей — студентам медицинских вузов и биологических факультетов университетов, аспирантам-иммунологам, научным сотрудникам и врачам, которые в своей клинической или лабораторной практике решают задачи, связанные с диагностикой и лечением иммунопатологии и аллергических заболеваний.

ISBN 978-5-9704-1858-1

УДК 612.017(084.42)
ББК 28.707.4я61+52.54я61

Права на данное издание принадлежат ООО Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа». Воспроизведение и распространение в каком бы то ни было виде части или целого издания не могут быть осуществлены без письменного разрешения ООО Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа».

**Хаитов Рахим Мусаевич
Ярилин Александр Александрович
Пинегин Борис Владимирович**

ИММУНОЛОГИЯ

Атлас

Подписано в печать 28.07.10. Бумага офсетная. Печать офсетная.
Формат 84×108 $\frac{1}{16}$. Объем 39 п.л. Тираж 2000 экз. Заказ № 3570.

Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа».
119021, Москва, ул. Россолимо, 4,
тел.: (495) 921-39-07, факс: (499) 246-39-47,
e-mail: info@geotar.ru, <http://www.geotar.ru>

Отпечатано в полном соответствии с качеством предоставленных
издательством материалов в ОАО «Тверской ордена Трудового Красного
Знамени полиграфкомбинат детской литературы им. 50-летия СССР».
170040. г. Тверь, проспект 50 лет Октября, 46.



- © Хаитов Р.М., Ярилин А.А., Пинегин Б.В., 2010
- © ООО Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», 2010
- © ООО Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», оформление, 2010

ISBN 978-5-9704-1858-1

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	4
Глава 1. Врождённый иммунитет	5
1.1. Общие положения о врождённом иммунитете	5
1.2. Фагоцитоз	12
1.3. Клетки врождённого иммунитета	26
1.4. Рецепторный аппарат клеток врождённого иммунитета	99
1.5. Провоспалительные цитокины	113
1.6. Гуморальные факторы врождённого иммунитета	160
Глава 2. Адаптивный иммунитет	173
2.1. Антигенраспознающие молекулы и их лиганды	173
2.2. Клеточные основы адаптивного иммунитета	225
2.3. Иммунный ответ	288
Глава 3. Клиническая иммунология и аллергология	457
3.1. Иммунодефициты	457
3.2. Аутоиммунные заболевания	531
3.3. Гиперчувствительность и связанная с ней патология	592
3.4. Лимфопролиферативные заболевания	620
Послесловие	623
Рекомендуемая литература	624
Список сокращений	624

ПРЕДИСЛОВИЕ

Современная иммунология сложна и наполнена фактами, трудными для восприятия малоподготовленными и начинающими специалистами. Именно поэтому лучшие учебники и руководства по иммунологии, вышедшие в последние десятилетия, обильно иллюстрированы. Таким образом родилась идея создания атласа, в котором рисунки служили бы основой содержания, а текст лишь комментировал их.

Необходимо отметить, что в 2006 г. под редакцией А.А. Воробьева, А.С. Быкова и А.В. Караулова был выпущен атлас «Иммунология и аллергология», составленный качественно и профессионально. Однако его авторы сосредоточили своё внимание преимущественно на клинических аспектах данной науки, выделив лишь наиболее важные проблемы фундаментальной иммунологии.

При составлении данного атласа была поставлена иная задача: отразить современные теоретические воззрения на природу иммунологических явлений и процессов, используя их как основу, описать патологию иммунитета и отметить другие практически значимые вопросы в этой области.

При выборе между популярностью изложения и полнотой отражения существующих фактов предпочтение было отдано второму, вследствие чего в атласе иногда используются весьма сложные модели.

Основное беспокойство доставляла невозможность в полном объёме охватить необъятный свод современных иммунологических знаний. Эта проблема решалась путём отбора наиболее значимой их части, в чём уже содержался неизбежный элемент субъективизма. Вторая трудность состояла в очень быстром темпе развития науки, в частности современной иммунологии. Очевидно, что отражается лишь срез знаний на короткий временной про-

межуток. Уже через год часть фактов и приводимых трактовок может устареть, и появятся новые научные данные, настоятельно требующие отражения в атласе. В связи с чем рассматривается возможность периодического переиздания книги с внесением в неё экстренных поправок.

Структура атласа проста и вполне соответствует общепринятому делению иммунологии на разделы. Две первые главы посвящены фундаментальной иммунологии и двум типам иммунитета — врождённому и адаптивному. Третья глава — патологии иммунитета и другим аспектам клинической иммунологии. Для удобства главы разделены на разделы, которым предпосланы короткие тексты, отражающие основное научное содержание рубрики. Подписи под рисунками не ограничиваются техническим комментарием и, как правило, поясняют научный аспект иллюстрируемого явления.

В атласе использовался хорошо отработанный язык компьютерной графики, к которому прекрасно адаптированы современные читатели научной литературы. В ряде случаев (всегда оговоренных) цитировались рисунки других авторов, иногда с некоторыми модификациями. Неоценимую помощь в подготовке рисунков к печати оказала А.Ю. Закурдаева.

Активную роль в подготовке издания сыграли научные редакторы атласа — В.М. Манько и М.В. Пашенков, советы которых были для авторов поистине бесценны.

Подготовка атласа была достаточно длительным процессом, в течение которого отношение к поставленным задачам в определённой степени изменялось: повышалась требовательность к написанию собственных текстов. Вероятно, атлас не является примером совершенства, но хочется верить, что при последующих переизданиях книги удастся к нему приблизиться.

Глава 1. ВРОЖДЁННЫЙ ИММУНИТЕТ

1.1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ О ВРОЖДЁННОМ ИММУНИТЕТЕ

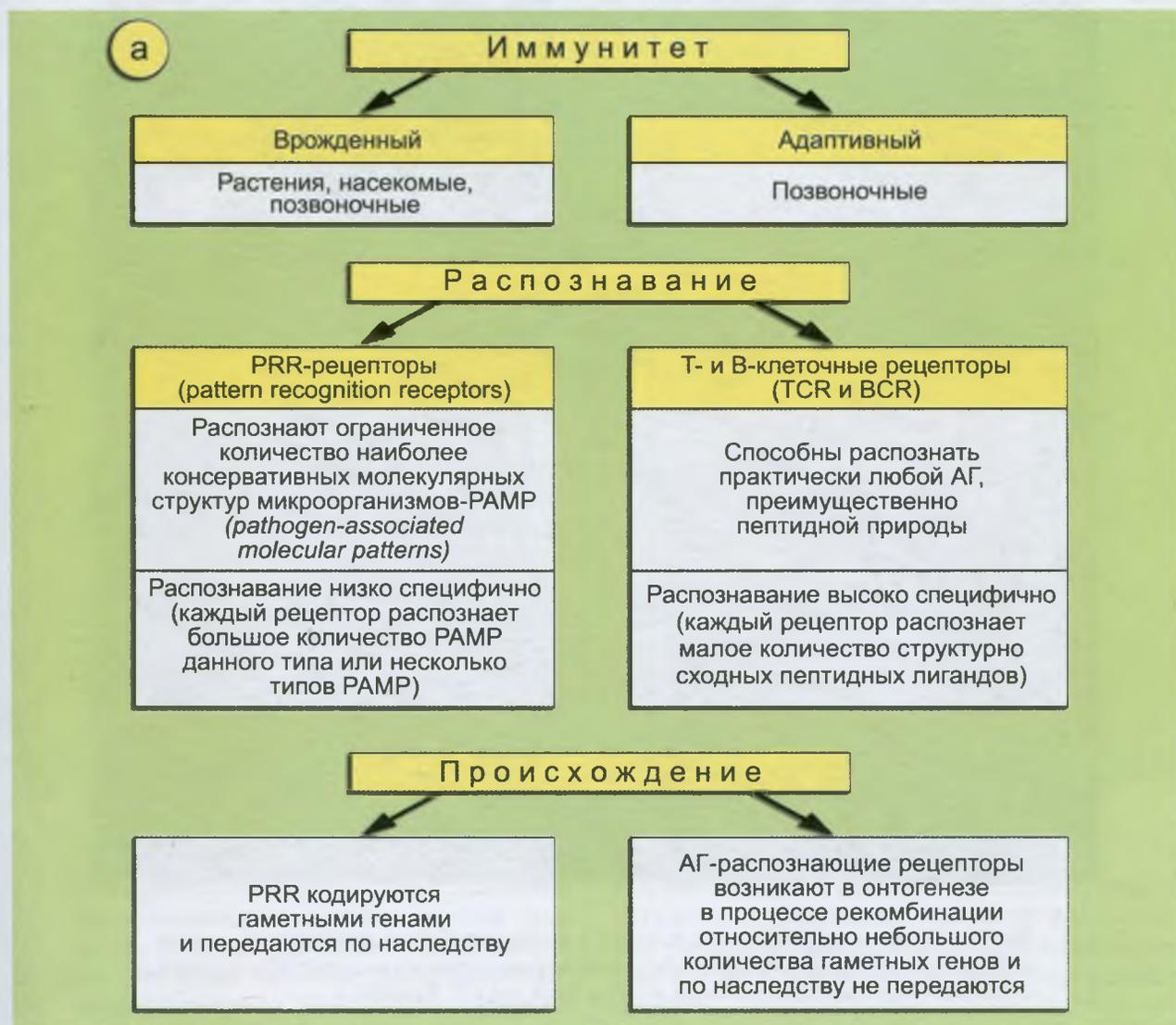


Рис. 1, а. Виды иммунитета по происхождению

Иммунитет подразделяют на врождённый и адаптивный.

Клетки врождённого иммунитета узнают чужеродный материал с помощью паттерн-распознающих малоспецифичных рецепторов (*pattern recognition receptors*, PRR), так как один рецептор может распознавать несколько разных консервативных молекулярных структур микро-

организмов — PAMP (*pathogen-associated molecular patterns*) (Medzhitov R., Janeway C.A., 1997). Клетки адаптивного иммунитета характеризуются наличием Т (TCR)- или В (BCR)-клеточных рецепторов, различающих только одну антигенную детерминанту либо небольшое количество структурно сходных детерминант, в отличие от PRR обладающих высокой специфичностью.

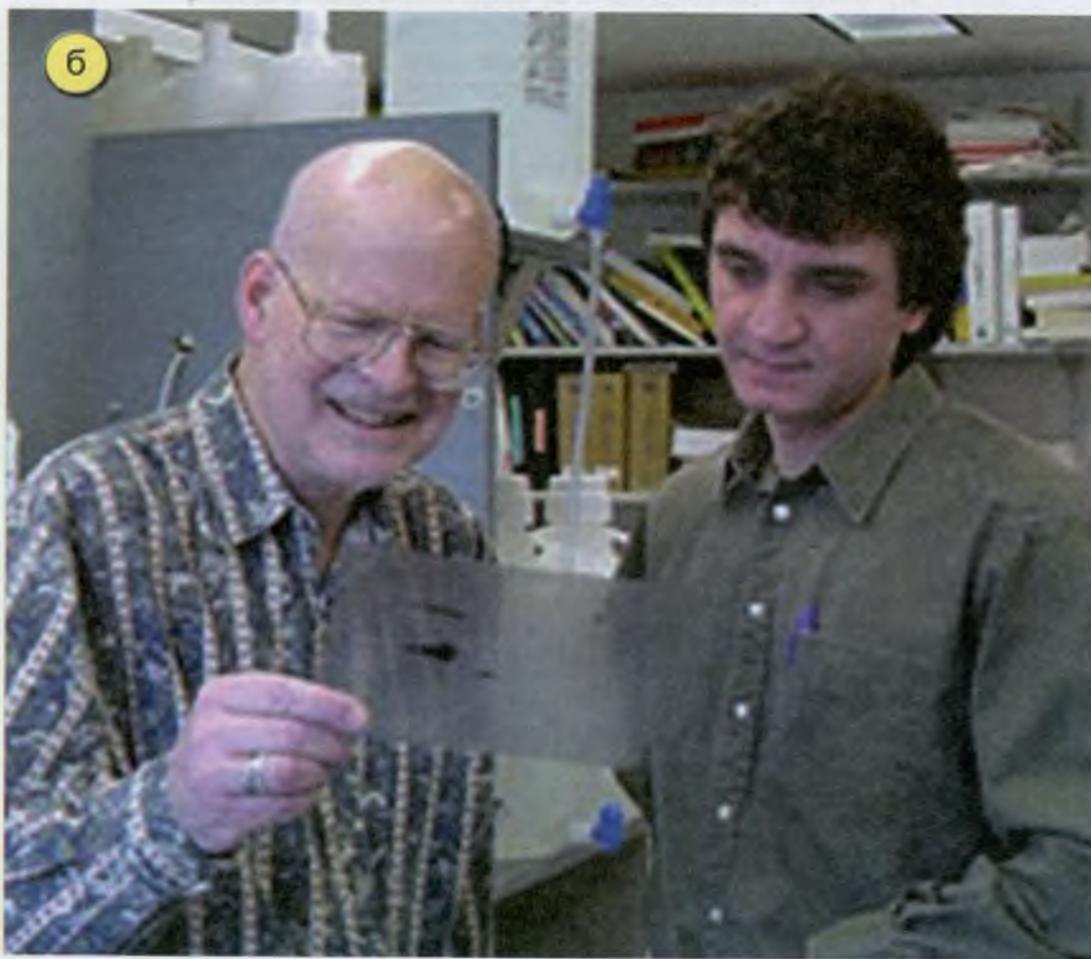


Рис. 1, б. Профессор С.А. Janeway Jr (слева) и профессор R. Medzhitov (справа) — одни из основоположников современного учения о врождённом иммунитете (фото предоставлено проф. С.А. Недоспасовым и д-ром биол. наук Д. Купраш)

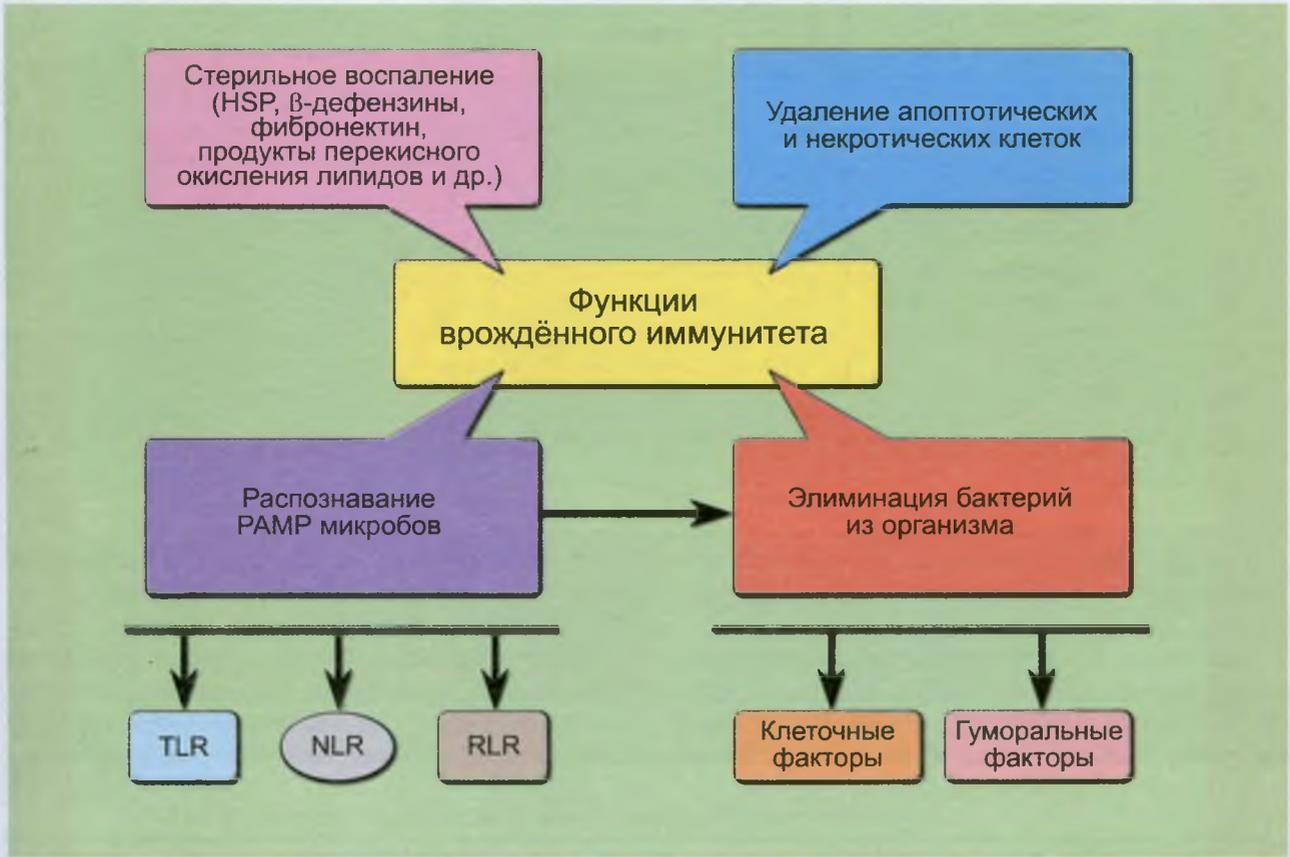


Рис. 2. Функции врождённого иммунитета

При микробной инвазии факторы врождённого иммунитета являются первым барьером на пути возбудителя, который распознаётся в основном с помощью трёх видов клеточных рецепторов PRR: TLR (*TOLL-like receptors*), NLR (*NOD-like receptors*) и RLR (*RIG-like receptors*). В первые часы развития инфекционного процесса элиминация микроорганизма осуществляется с помощью клеточных и гуморальных факторов врождённого иммунитета. При их исходно высокой функциональной активности возбудитель может быть уничтожен на месте

входных ворот без развития адаптивного иммунного ответа. Врождённый иммунитет играет главную роль в удалении апоптотических и некротических клеток и реконструировании повреждённых органов.

В условиях развития патологического процесса при отсутствии патогенных бактерий гуморальные и клеточные факторы врождённого иммунитета могут разрушать органы и ткани организма (тиреоидит Хасимото, ревматоидный артрит, сахарный диабет 1 типа и др.).



Рис. 3. Клетки иммунной системы

Клетки иммунной системы условно подразделяют на клетки врождённого и адаптивного иммунитета.

Главным их различием является специфичность распознавания: низкая у первых и высокая у вторых. Существует и третья группа клеток — промежуточная, несущая черты обеих групп. Наличие

этой группы показывает единство происхождения и способов защиты организма от чужеродных веществ антигенной природы.

Некоторые исследователи относят к клеткам врождённого иммунитета также эпителиоциты и клетки эндотелия, так как они способны представлять антиген (АГ) и вырабатывать многие цитокины.

ЗАТЕКСТОВОЕ ПРИМЕЧАНИЕ

Факторы адаптивного (приобретённого) иммунитета (антитела) специфически направляют неспецифические факторы врождённого иммунитета — фагоцитоз и комплемент — на элиминацию возбудителя (Зильбер Л.А., 1958). Это положение было сформулировано в 50-х годах прошлого века, когда АТ были единственными известными защитными факторами адаптивного иммунитета и им придавалась ведущая роль в защите организма от бактерий. Сейчас известно, что АТ играют существенную роль в защите только от внеклеточных бактерий. В защите же от внутриклеточных бактерий, патогенных простейших и вирусов главную роль играют клеточные факторы адаптивного иммунитета, к которым, прежде всего, относятся CD3⁺CD4⁺ и CD3⁺CD8⁺ клетки. На ранних этапах инфекционного процесса NKT- и NK-клетки в АГ-неспецифической манере начинают синтезировать IFN_γ, который активирует практически все клетки врождённого и адаптивного иммунитета. Но этот синтез IFN_γ непродолжительный и не интенсивный. При развитии адаптивного иммунитета на смену NKT- и NK-клеткам приходят АГ-специфические CD3⁺CD8⁺- и CD3⁺CD4⁺-клетки, которые в АГ-специфической манере осуществляют мощный и продолжительный синтез IFN_γ. Последний в неспецифической манере совместно с рядом других цитокинов и, прежде всего, TNF_α осуществляет активацию всех клеток иммунной системы. Таким образом, несмотря на существенное расширение наших знаний и открытие новых, важных участников в защите организма от инфекции, сущность положения о взаимодействии факторов врождённого и адаптивного иммунитета, сформулированного Л.А. Зильбером, справедлива и в наше время.



Рис. 4. Основные защитные механизмы врождённого иммунитета

На рисунке представлены основные клеточные и гуморальные факторы врождённого иммунитета, осуществляющие удаление бактерий из организма, участвующие в элиминации конкретных возбудителей.

Этот процесс можно разделить на две фазы: немедленного и раннего индуцибельного ответа. В основе немедленного ответа лежат опсонизация возбудителя комплементом и естественными анти-

телами в месте входных ворот (чаще всего слизистые оболочки или кожа) и их фагоцитоз резидентными макрофагами (МФ) и незрелыми дендритными клетками (ДК). Эти клетки активируются и синтезируют комплекс провоспалительных цитокинов и хемокинов, которые стимулируют клетки врождённого иммунитета, вызывают их приток в очаг воспаления. В этом заключается сущность раннего индуцибельного ответа.

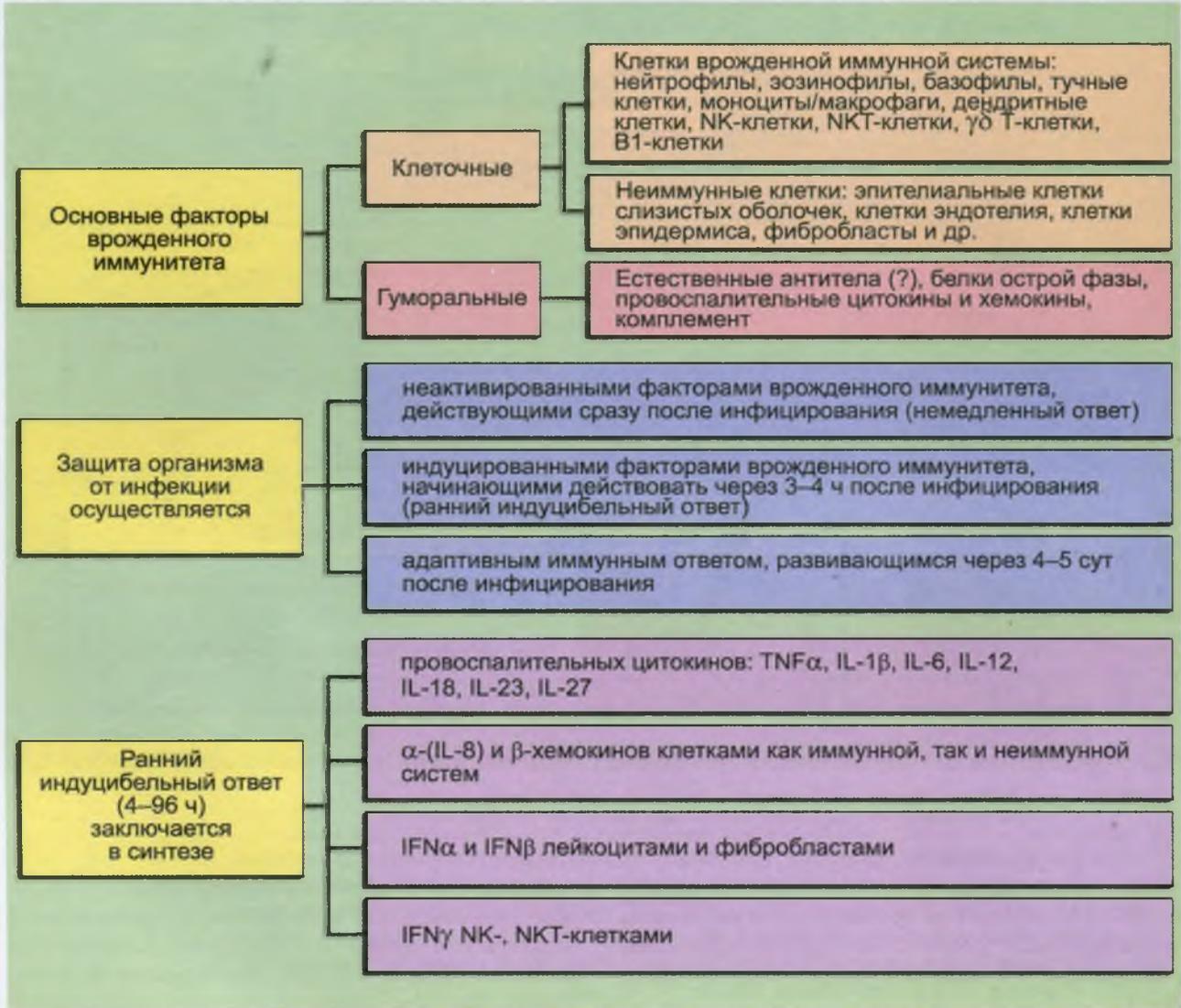


Рис. 5. Факторы защиты от внеклеточных и внутриклеточных патогенов

Условно по их локализации все микроорганизмы можно разделить на внеклеточные и внутриклеточные. Главная роль в защите от внеклеточных микроорганизмов принадлежит опсонизирующим

факторам (комplementу и IgG) и фагоцитам (НФ и моноцитам), в защите от внутриклеточных бактерий — МФ, NK-клеткам и вооружающим их цитокинам, которые синтезируют Т-лимфоциты.

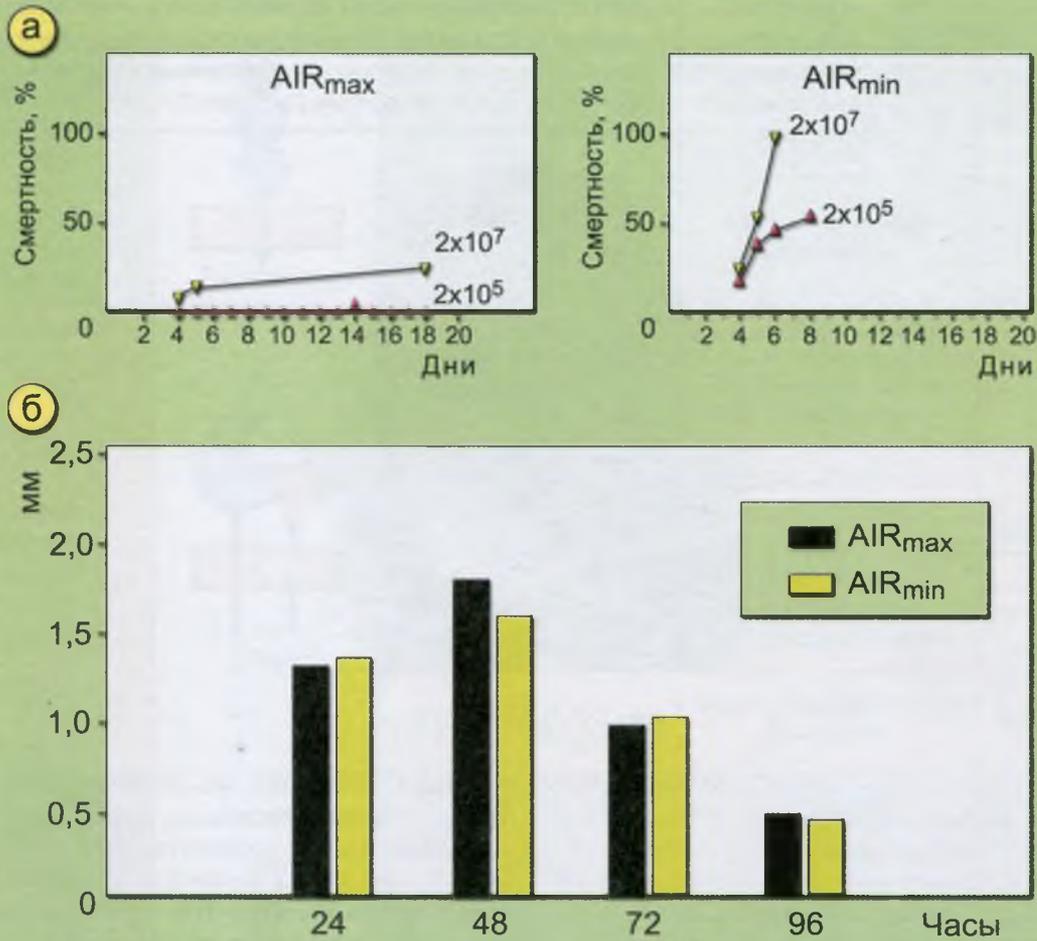


Рис. 6. Роль воспалительных реакций в защите организма от инфекции

а. С помощью селективного скрещивания созданы две линии мышей AIR_{max} и AIR_{min} (*acute inflammatory responses*), существенно отличающиеся по силе воспалительного ответа, определяемого по скорости развития и числу лейкоцитов (различие в 7–10 раз), мигрирующих в патологический очаг (Araujo L.M.M. и др., 1998). При заражении 1 DCL (2×10^7) *S. typhimurium* мышей линии AIR_{min} практически все погибли. У мышей линии AIR_{max} гибель от этой дозы составила примерно 25%. Такая же чёткая разница в резистентности была получена при заражении мышей дозой 2×10^5 .

б. Оказалось, что у мышей линий AIR_{max} и AIR_{min}, противоположно реагирующих по развитию воспалительного ответа, при иммунизации интенсивность развития гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) к АГ *S. typhimurium* примерно одинаковая. Практически аналогичной является и интенсивность гуморального иммунного ответа к этому АГ (на рис. не представлено). Этот опыт косвенно свидетельствует о том, что на первых этапах формирования инфекционного процесса факторы врождённого иммунитета играют ведущую роль в элиминации возбудителя.

1.2. ФАГОЦИТОЗ

ЗАТЕКСТОВОЕ ПРИМЕЧАНИЕ

«Нужно было обладать изумительным даром научного воображения и предвидения, чтобы из наблюдений над реакцией личинок морской звезды на введённый в них шип розы построить теорию, объясняющую интимные механизмы невосприимчивости человека к заразным болезням» (Зильбер Л.А., 1958).



Рис. 7. И.И. Мечников

И.И. Мечников (1845–1916 гг.), великий русский учёный, лауреат Нобелевской премии, является создателем фагоцитарной теории иммунитета.

Он доказал, что поглощение лейкоцитами бактерий, т.е. процесс фагоцитоза, носит защитный характер и является важной составной частью противомикробного иммунитета. Мечников впервые

выдвинул положение, что воспаление является защитной реакцией организма, а фагоцитоз — важная составная реакция воспалительного процесса. Сам термин «фагоцитоз» принадлежит Мечникову, который описал клетки — НФ и МФ, участвующие в фагоцитозе, и основные стадии фагоцитарного процесса: хемотаксис, поглощение, переваривание.

ЗАТЕКСТОВОЕ ПРИМЕЧАНИЕ

Фагоцитоз — это комплекс клеточных событий, в основе которых лежит распознавание, поглощение и элиминация из организма корпускулярных частиц диаметром более 0,5 мкм. Различают следующие стадии фагоцитоза:

- миграция лейкоцитов в воспалительный очаг (хемотаксис);
- прикрепление микроорганизмов к лейкоцитам;
- поглощение микроорганизма и образование фагосомы;
- дегрануляция и образование фаголизосомы;
- образование активных форм кислорода (АФК) и азота (кислородный взрыв);
- гибель микроорганизма в фаголизосоме;
- деградация микроорганизмов гидролазами фаголизосомы;
- восстановление цитоплазматической мембраны фагоцита (экзоцитоз).

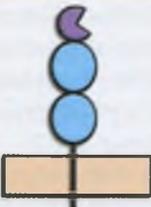
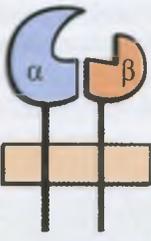
Группа	Строение	Наименование	Распределение в тканях	Лиганд
Селектины	 <p>P-селектин</p>	P-селектин (CD62P, PADGE M)	Активированный эндотелий и тромбоциты	Сиалил-Люис ^x
Связывают углеводы. Иницируют взаимодействие лейкоцит-эндотелий		E-селектин (CB62E, ELAM-1)	Активированный эндотелий	Сиалил-Люис ^x
Интегрины	 <p>LFA-1</p>	$\alpha_L\beta_2$ (LFA-1; CD11a/CD18)	Моноциты/макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки, Т-лимфоциты	ICAMs
Связываются с молекулами клеточной адгезии		$\alpha_M\beta_2$ (CR3, MAC-1, CD11b/CD18)	Моноциты/макрофаги, нейтрофилы	ICAM-1, iC3b, фибронектин
		$\alpha_X\beta_2$ (CR4, P150.95; CD11c/CD18)	Макрофаги, нейтрофилы, дендритные клетки	iC3b
		$\alpha_5\beta_1$ (VLA-5, CD49 α /CD29)	Моноциты/макрофаги, НК-клетки	Фибронектин
Суперсемья иммуноглобулинов	 <p>ICAM</p>	ICAM-1 (CD54)	Активированный эндотелий, активированные макрофаги и дендритные клетки	LFA-1, MAC-1
Участвуют в клеточной адгезии. Лиганды для интегринов		ICAM-2 (CD102)	Покоящийся и активированный эндотелий, активированные макрофаги и дендритные клетки	LFA-1
		VCAM-1 (CD106)	Активированный эндотелий	VLA-4
		PECAM (CD31)	Активированные лейкоциты, эндотелий	CD31

Рис. 8. Поверхностные молекулы клеток, участвующие в фагоцитозе (частично по Janeway С.А. и др., «Immunobiology», 2005, 6 ed.)

В миграции фагоцитов в очаг воспаления принимают участие три группы молекул адгезии: селектины, интегрины и рецепторы из суперсемьи иммуноглобулинов. Первая группа этих молекул — селектины (CD62P, CD62E) — экспрессируются в небольших количествах на клетках эндотелия. Эта экспрессия резко возрастает под влиянием провоспалительных цитокинов. Лигандом для селектинов является АГ сиалил-Льюис^x (CD15s), конститутивно экспрессируемый на лейкоцитах. Интегрины являются гетеродимерами и включают четыре вида поверхностных молекул лейкоцитов. У интегринов LFA-1, MAC-1 и P150.95 общей является $\beta 2$ -цепь и различными — α -цепи, обозначаемые как αL , αM и αX соответственно. По CD-номенклатуре, они обозначаются как CD11a/CD18, CD11b/CD18, CD11c/CD18. Наибольшее значение во взаимодействии с эндотелием имеет интегрин LFA-1 (*leukocyte function antigen-1*), для которого

лигандом является ICAM-1 (*intercellular adhesion molecule-1*) эндотелия. Рецепторы CD11b/CD18 (CR3) и CD11c/CD18 (CR4) играют ведущую роль в процессе прилипания и поглощения микроорганизмов, являясь рецепторами для бактерий, опсонизированных комплементом. Интегрин $\alpha_6\beta_1$ (VLA-5, *very late antigen*) появляется на лейкоцитах в поздние сроки после активации. Суперсемья иммуноглобулинов включает молекулы ICAM, которые экспрессируются на клетках эндотелия, и лигандами для них являются LFA-1 и MAC-1. VCAM-1 (CD106 — *vascular cell-adhesion molecule-1*) экспрессируется на активированном эндотелии и служит для процессов миграции Т-лимфоцитов, которые синтезируют интегрины VLA-4. Молекула PECAM (CD31) экспрессируется как на лейкоцитах, так и на эндотелии и служит для прохождения лейкоцитов через эпителиальный барьер с помощью гомофильного взаимодействия.

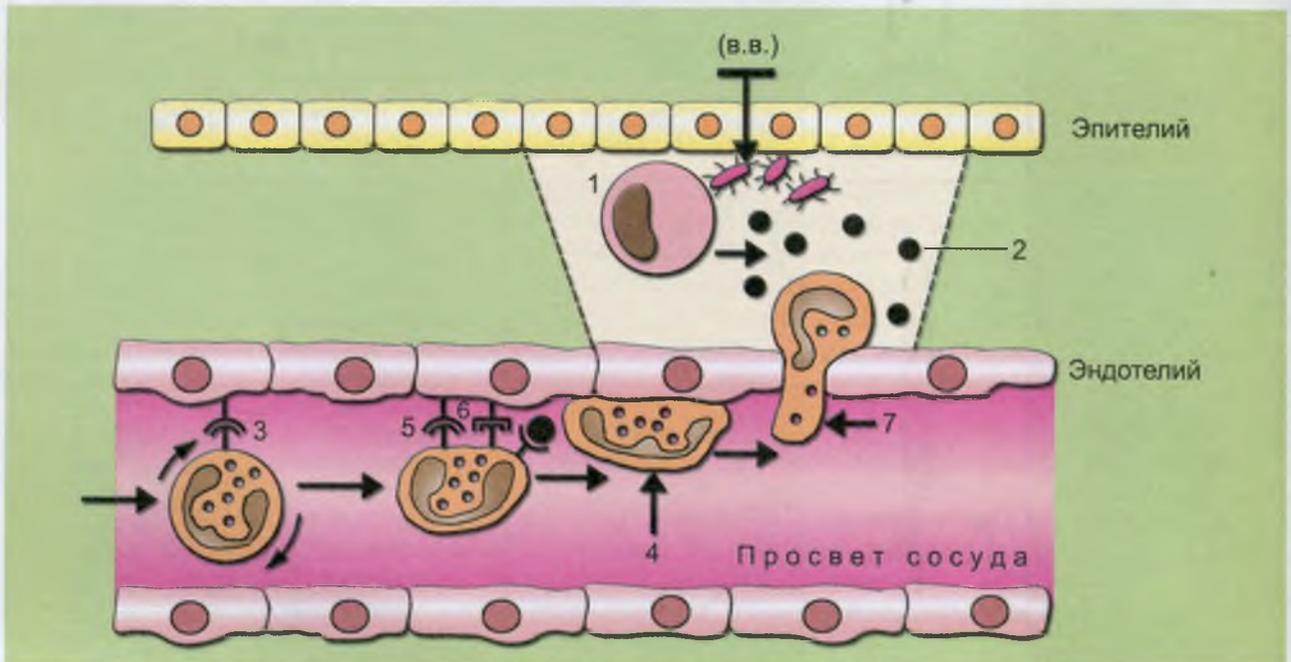


Рис. 9. Хемотаксис

В месте входных ворот инфекции МФ и незрелые ДК (рис. 9, 1) захватывают микроорганизмы, активируются и синтезируют провоспалительные цитокины и хемоаттрактанты — хемокины (2), наиболее сильным хемоаттрактантом для нейтрофилов являются IL-8, а также продукты расщепления компонента C3а и C5а и продукт разрушения бактерий — формилпептиды. В воспалительном очаге создаётся градиент хемоаттрактантов, который становится причиной направленного движения лейкоцитов — хемотаксиса. В движении различают качение (роллинг), распластывание и диапедез. Роллинг (3) — это обратимое присоединение лейкоцита к эндотелию, осуществляемое благодаря связыванию сиалил-Люис^x (CD15s) гликопротеина лейкоцита с E-селектином (CD62E) эндотелия. Распластывание (4)

или прочное прикрепление происходит посредством тесного контакта интегринов лейкоцитов (5) LFA-1 (CD11a/CD18) или MAC-1 (CD11b/CD18) с глобулинподобными молекулами ICAM-2 (CD102) и ICAM-1 (CD54) на поверхности эндотелия (6). Следующая стадия, диапедез (7), осуществляется путём гомофильного взаимодействия молекул PECAM (CD31) лейкоцитов и эндотелия (на рис. 9 не показаны), а также благодаря выделению лейкоцитами металлопротеаз, расщепляющих перемычки между клетками эндотелия. Лейкоцит «протискивается» между эндотелиальными клетками и оказывается в воспалительном очаге. Первыми приходят НФ. Несколько позже приходят моноциты, для которых главным хемоаттрактантом является хемокин MCP-1, синтезируемый МФ (Bagorda A. и др., 2006).

ЗАТЕКСТОВОЕ ПРИМЕЧАНИЕ

В 1912 г. английские учёные Дуглас и Райт обнаружили, что добавление сыворотки крови или плазмы резко усиливает поглощение бактерий лейкоцитами. Этот феномен получил название **опсонизации**. Опсонизирующими факторами в крови являются комплемент и естественные IgG-антитела. На лейкоцитах с иммуноглобулинами взаимодействует Fc-рецептор, с комплементом — интегрины.

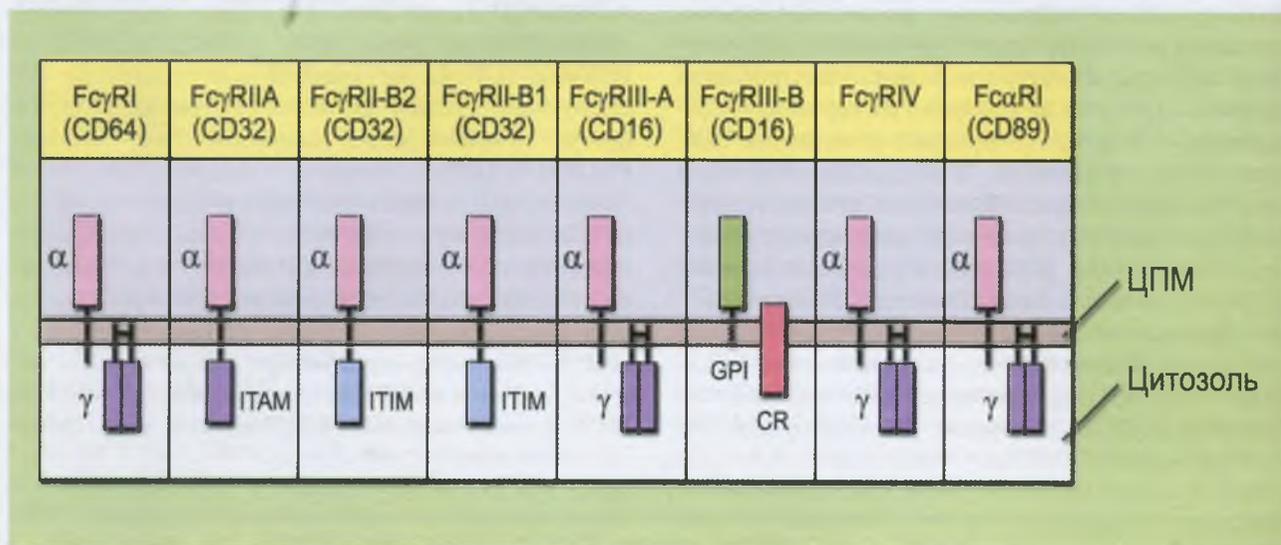


Рис. 10. Строение Fc-рецептора

Fc-рецептор (FcR) представляет собой семью мембранных рецепторов клеток иммунной системы, главной функцией которой является распознавание Fc-фрагмента IgG и IgA, находящихся в мономерном состоянии и в составе иммунного комплекса. Fc_γRI является высокоаффинным рецептором ($10^8 M^{-1}$) и выявляется на МФ, эозинофилах, ДК. Состоит из двух цепей: распознающей Fc-фрагмент IgG α-цепи (72 kDa) и сигнальной γ-цепи (9 kDa), содержащей активационный ITAM-мотив (*immunoreceptor tyrosine-based activation motif*). Аналогичным образом построены Fc_γRIIA, Fc_γRIV, FcαRI. Fc_γRIIA является низкоаффинным рецептором ($5 \times 10^5 M^{-1}$). Выявляется на МФ, НК-клетках, эозинофилах, тучных клетках. Fc_γRIV является относительно высокоаффинным ($2,9 \times 10^7 M^{-1}$). Можно обнаружить на НФ, МФ, интерстициальных ДК, клетках Купфера. Fc_γRII делится на три типа: Fc_γRIIA, Fc_γRII-B1 и Fc_γRII-B2. Все эти три рецептора состоят из одной α-цепи, имеющей низкую

аффинность ($2 \times 10^6 M^{-1}$). Fc_γRIIA во внутриклеточной части содержит активационный ITAM-мотив, идентичный ITAM-мотиву γ-цепи Fc_γRI. Рецепторы Fc_γRII-B1 и Fc_γRII-B2 во внутриклеточной части несут ингибиционный мотив ITIM (*immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif*). Fc_γRII-B1 и Fc_γRII-B2 несколько различаются по строению ITIM-мотивов. Взаимодействие ITAM- и ITIM-мотивов определяет степень активации клетки. Особняком от всех FcR стоит Fc_γRIII-B. Этот рецептор состоит только из одной α-цепи, закоренной в цитоплазматической мембране (ЦПМ) глюкозилфосфатидилинозитола (GPI). Неясно, как проводится сигнал от этого рецептора. Предполагают, что в этом ему помогает рецептор комплемента (CR), с которым он в мембране находится в тесном контакте (частично по Janeway С.А. и др., «Immunobiology», 2005, 6 ed.; а также Ravetch J.V., Bolland S., 2001; Monteiro R.C., Van de Winkel G.J., 2003; Nimmerjahn F, Ravetch J.V., 2005).

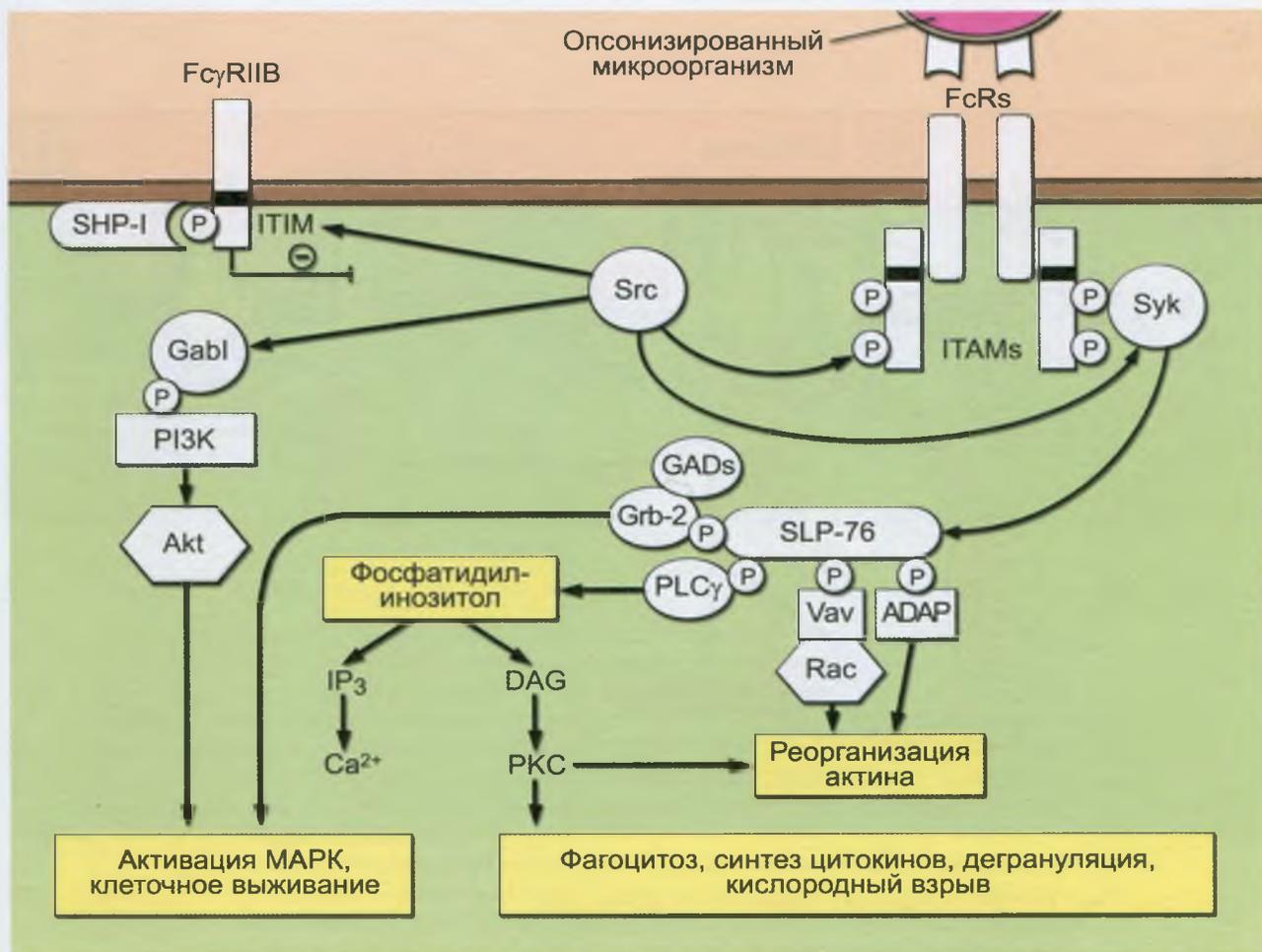


Рис. 11. Сигнальные пути, идущие от Fc-рецептора

При кросс-связывании FcR лигандом (в нашем случае — опсонизированным микроорганизмом) ITAM-мотив γ -цепи или α -цепи Fc γ RIIA фосфорилируется Src-киназами, что ведёт к взаимодействию SH2-доменов Syk-киназ с ITAM-мотивом FcR, его активации и фосфорилированию Src-киназами. Активированная Syk-киназа фосфорилирует адапторный белок SLP-76, вовлекая в сигнальный процесс белок Vav из семейства GEF (*GTP-ase exchange factor*). Он активирует GTP-азу Rac и адапторный белок ADAP, что вызывает реорганизацию актина, необходимую для образования фагоцитарной чаши и поглощения микроорганизма. С помощью адаптора SLP-76 фосфорилируется фосфолипаза C (PLC γ), которая расщепляет фосфатидилинозитол на инозитолтрифосфат (активатор

тор Ca²⁺) и диацилглицерол (DAG) — активатор протеинкиназы C (PKC). Эти события определяют процессы поглощения, дегрануляции и кислородного взрыва. Src-киназы через адапторный белок Gab1 фосфорилируют фосфоинозитид-3-киназу (PI3K), активируя белок Akt, киназу MAP и клеточное выживание — ингибирование апоптоза (Berton G. и др., 2005).

Src-киназы могут инициировать ингибиторный путь. В покоящейся клетке фосфатазы SHP-1 или SHIP-1 (на рис. отсутствует) находятся в ассоциации с ITIM-мотивом. Фосфорилирование ITIM-мотива приводит к активации фосфатаз. Последние дефосфорилируют активированные ферменты и адапторные белки и прерывают развитие сигнального пути.

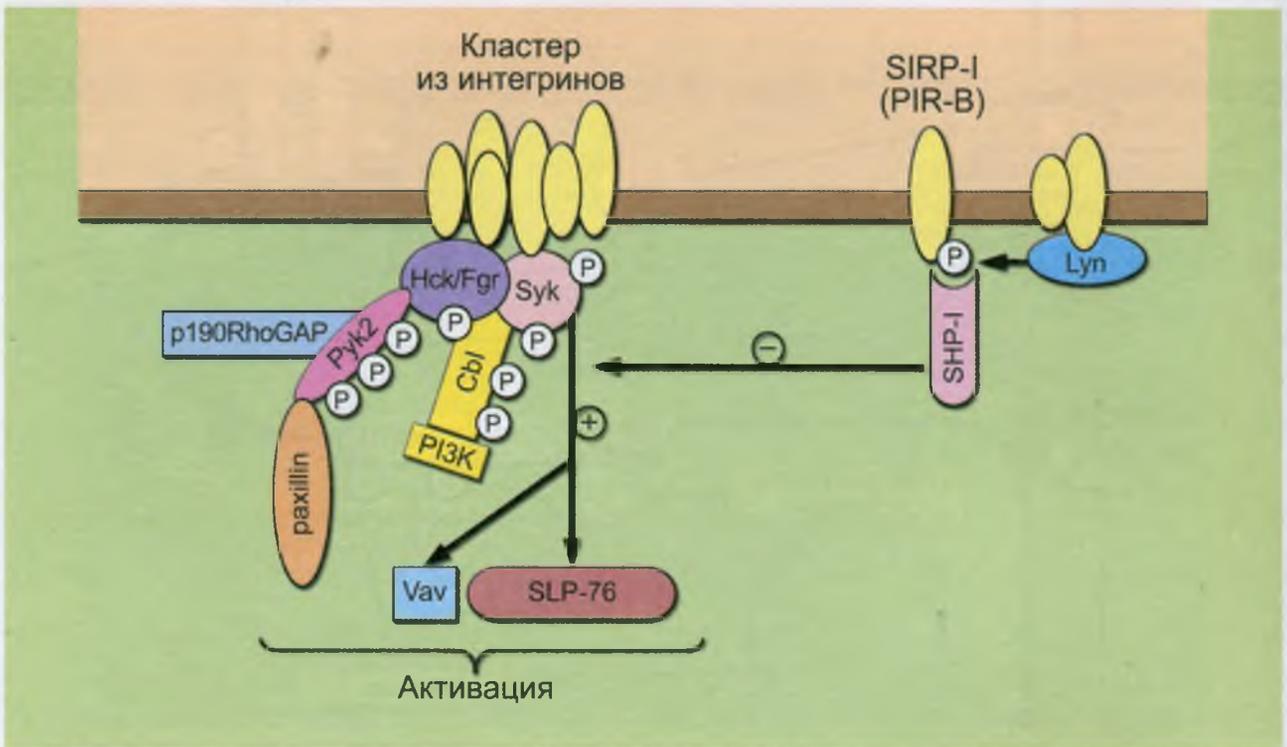


Рис. 12. Сигнальные пути, идущие от β_2 -интегринов

Образование кластеров из молекул интегринов ведет к активации Src-киназ (Hck/Fgr), которые фосфорилируют тирозиновые остатки ITAM-домена адапторных белков DAP12 или FcR, локализованных рядом с интегринными (на рис. эти адапторные белки не показаны). На ITAM-домене создается участок для причаливания тирозинкиназы Syk, которая фосфорилируется Src-киназами. Эта киназа фосфорилирует адапторный белок Gbl, ферменты фосфоинозитид-3-киназу (PI3K) и киназу Puk2, белок паксиллин и мессенджер p190RhoGAP. Все эти молекулы осуществляют реорганизацию цитоскелета (образование и смыкание псевдоподий, образование фагоцитарной чаши). Дополнительный сигналинг осуществляется с помощью адапторного

белка SLP-76 и молекулы Vav, вовлекаемых в процесс активации фагоцита киназой Syk. Мутации практически по всем перечисленным белкам в той или иной степени подавляют фагоцитоз. Отсутствие киназы Src ухудшает полимеризацию актина под фагоцитарной чашей, но не отменяет полностью фагоцитоз. Такой же эффект имеет дефект киназы Puk2. Отсутствие же киназы Syk полностью отменяет фагоцитоз. Процесс активации сопряжен с процессом ингибции, который осуществляется киназой Lyn. Фосфорилируя тирозин в ITIM-мотиве поверхностной молекулы SIRP-1 α (PIR-B), она ведет к активации фосфатазы SHP-1, которая прерывает активационный путь путём дефосфорилирования сигнальных молекул (Berton G. et al., 2005).

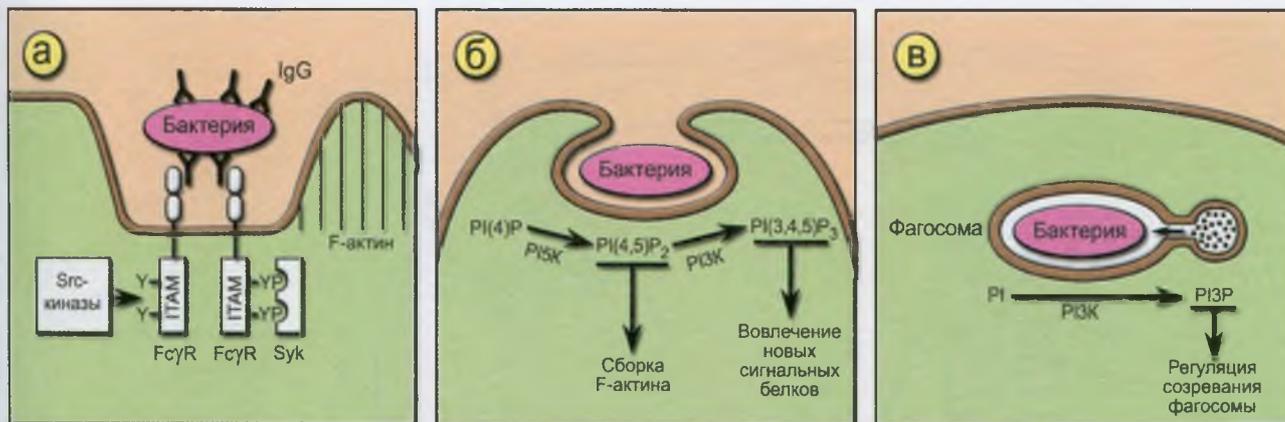


Рис. 13. Поглощение IgG-опсонизированных бактерий

а. Fc-фрагмент IgG-антитела, опсонизировавшего бактерию, взаимодействует с внеклеточным доменом Fcγ-рецептора нейтрофила. Этот процесс активирует Src-киназы (Lyn, Hck), которые фосфорилируют тирозин внутриклеточного ITAM-домена. Фосфорилированный ITAM-мотив создаёт участки (*docking sites*) для присоединения тирозинкиназы Syk, активируя этот фермент, а также ряд сигнальных молекул и способствуя образованию «выпячиваний» ЦПМ (фагоцитарная чашка). Эвагинация ЦПМ, её смыкание и образование фагосомы зависят от локальной полимеризации актина.

б. Полимеризация актина зависит от небольших белков гуанозинтрифосфатаз (ГТФ-аз) из Rho-семьи: Cdc42 и Rac (на рис. не показаны) и фосфатидилинозитол-4,5-дифосфата [PI(4,5)P₂]. Без участия белков Cdc42 и Rac FcγR-опосредованного фагоцитоза не происходит. Cdc42 локализуется в месте прикрепления бактерии, в результате чего формируется пальцеподобный выступ, богатый F-актином. Присоединение Rac к внутренней поверхности ЦПМ приводит к интернализации бактерии и образованию фагосомы. PI(4,5)P₂ — высокоактивный фосфолипид, отвечающий за сборку актина и накапливающийся в фагоцитарной чашке. PI(4,5)P₂ формируется при фосфорилировании PI(4)P фосфатидилинозитол-5-киназой (PI5K). В результате мутации по этому ферменту не происходит поглощения микроорганизмов, опосредованного FcγR. PI(4,5)P₂ фосфорилируется киназой PI3K с образованием нового активного фосфолипида PI(3,4,5)P₃, от которого зависит вовлечение в процесс фагоцитоза новых сигнальных белков. Исчезновение PI(4,5)P₂ из фагосомы происходит также посредством его гидролиза фосфолипазой С с формированием диацилглицерола и инозитолтрифосфата, осуществляющих активацию фагоцита.

в. Созревание фагосомы НФ и МФ происходит по-разному. Фагосома МФ последовательно сливается с ранними и поздними эндосомами и, окончательно, с лизосомами с образованием фаголизосом. Движение везикул зависит от ГТФ-аз Rab5 и Rab7 (на рис. не показаны). При созревании из фагосомы исчезает PI(3,4,5)P₃ и появляется PI3P в результате фосфорилирования фосфатидилинозитола (PI) киназой PI3K. Этот фосфолипид является высокоактивным, и от него зависит слияние везикул с фагосомой. У НФ в отличие от МФ нет типичных лизосом, и фаголизосома у них формируется в результате слияния азурофильных и специфических гранул с фагосомой (Minakami R., Simimoto H., 2006).

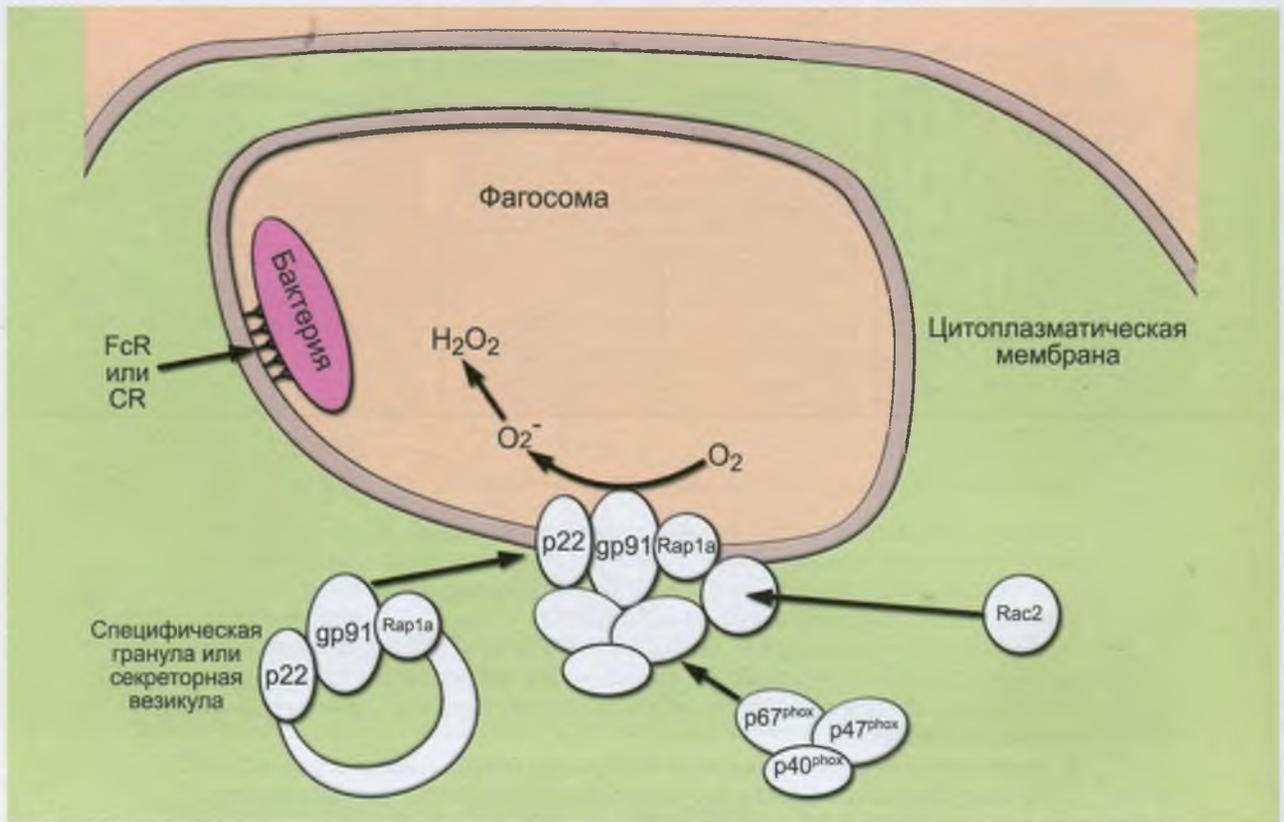


Рис. 14. Сборка NADPH-оксидазы

Активная NADPH-оксидаза состоит минимум из 7 субъединиц. В покоящихся фагоцитах 85% цитохрома b558 (комплекс p22 и gp91) и ГТФ-аза Rap1a находятся в цитозоле в составе мембран специфических гранул и секреторных везикул. При дегрануляции цитохром b558 и Rap1a оказываются в составе мембраны фаголизосомы. В покоящихся фагоцитах комплекс p40/p47/p67 находится в цитозоле. При активации клетки эта структура транслоцируется в мембрану фаголизосомы и взаимодействует с цитохромом b558, благодаря этому происходят конформационные изменения цитохрома

b558, что позволяет ему связываться с NADP. В результате вышеописанных процессов начинает функционировать фермент NADPH-оксидаза. Критическим моментом в инициации работы NADPH-оксидазы является присоединение небольшого GTP-азного белка Rac-2 из семейства Rho. В покоящейся клетке Rac находится в неактивном состоянии в комплексе с ингибитором GDI (на рис. не показан). При активации клетки происходит фосфорилирование ингибитора, и Rac-2 транслоцируется к структуре NADPH-оксидазы (Sheppard F.R. и др., 2005).

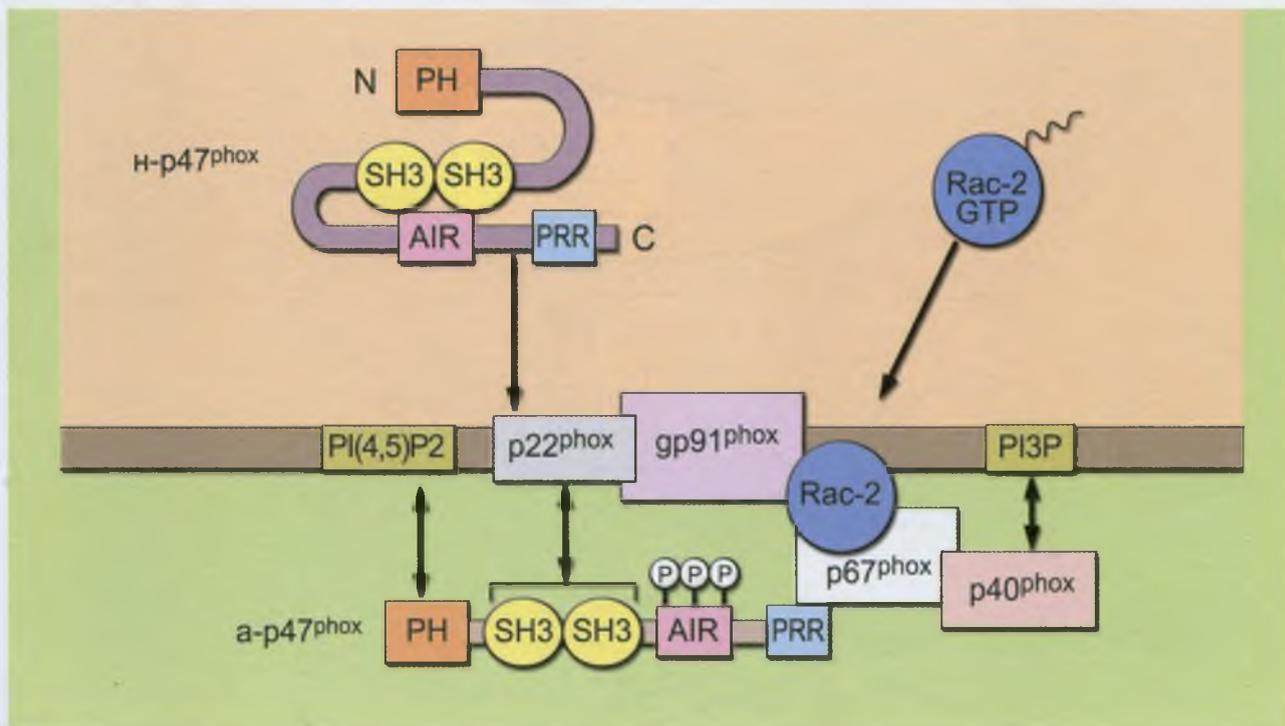


Рис. 15. Схема сборки цитозольных компонентов NADPH-оксидазы (Minakami R., Simimoto H., 2006)

Компонент $p47^{phox}$ содержит два расположенных друг за другом SH3- (от англ. *Src-homology*) домена, ответственных за взаимодействие с другими белками. В покое НФ $p47^{phox}$ находится в неактивном (н- $p47^{phox}$) состоянии, так как SH3-домены блокированы внутримолекулярным взаимодействием с С-концевым AIR-доменом (*autoinhibitory region*). Компонент $p47^{phox}$ содержит также PH-домен, обладающий сродством к фосфоинозидам, и PRR-домен (*proline-rich region*). При активации клетки в процессе фагоцитоза протеинкиназа С фосфорилирует три сериновых остатка в AIR-области, и SH3-домены освобождаются от её ингибирующего действия. Компонент $p47^{phox}$ движется к флавоцитохрому b558 и связывается с его α -цепью ($p22^{phox}$) с помощью SH3-доменов. PH-домен соединяется с фосфатидинозитолом-4,5-дифосфатом [PI(4,5)P₂],

локализованным рядом с $p22^{phox}$ в мембране фагосомы. При движении к мембране фагосомы $p47^{phox}$ увлекает за собой компонент $p67^{phox}$, который самостоятельно, без $p47^{phox}$, внедриться в мембрану не может. Этот процесс осуществляется благодаря взаимодействию С-концевого PRR-домена $p47^{phox}$ и С-концевого SH3-домена $p67^{phox}$. Адапторный белок $p40^{phox}$ связан с $p67^{phox}$ конститутивно, $p40^{phox}$ имеет PH-домен и с его помощью присоединяется к фосфатидинозитолу-3-трифосфату (PI3P) в мембране фагосомы. Фосфоинозитиды образуются в результате деятельности фосфатидинозитол-киназы. Они проникают в мембрану фагосомы и создают сайты для присоединения цитозольных компонентов. Данная схема приводится как пример активации одной из хорошо изученных систем лейкоцита (Minakami R., Simimoto H., 2006).

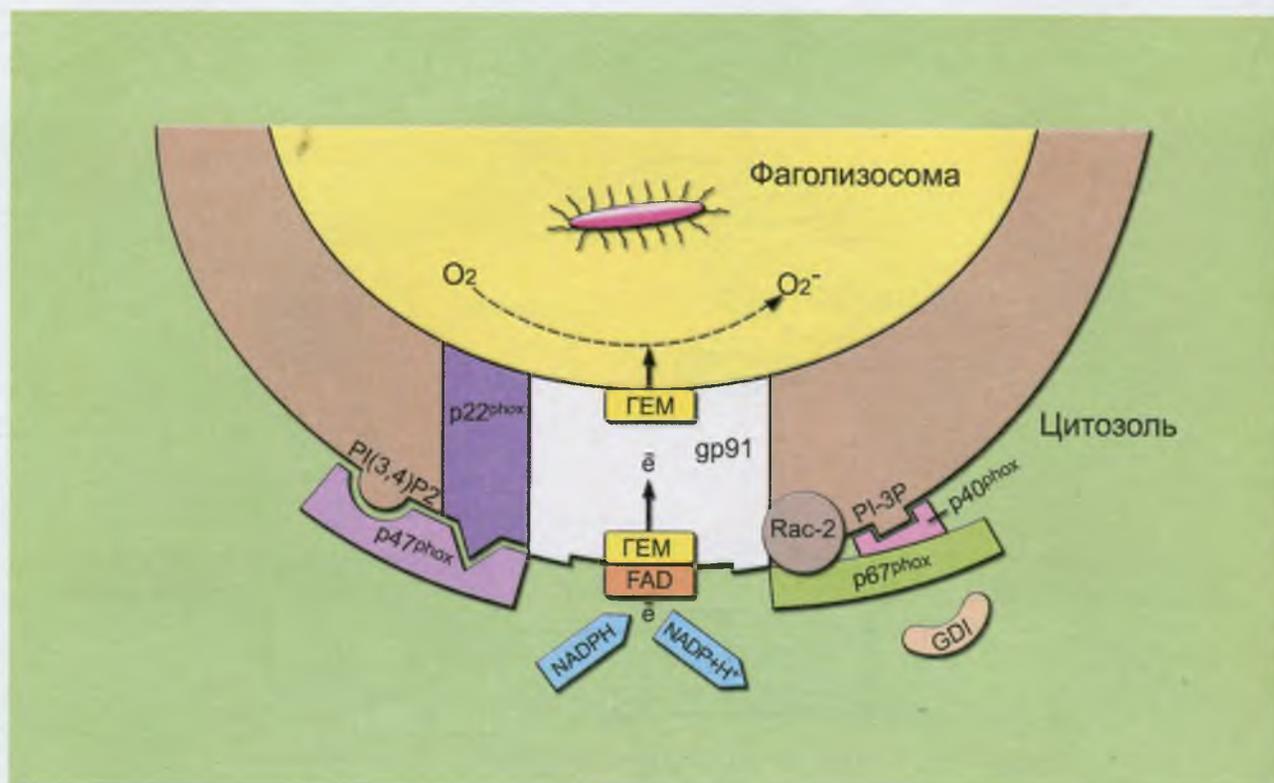


Рис. 16. Компоненты NADPH-оксидазы в сборке

NADPH-оксидаза состоит из мембранных компонентов; гетеродимера флавоцитохрома b558, содержащего p22^{phox} (α -субъединица), gp91^{phox} (β -субъединица), белок gp1A (на рис. не показан) и цитозольные компоненты: p47^{phox}, p67^{phox}, p40^{phox} и GTP-аза Rac-2. В таком составе главный компонент NADPH-оксидазы gp91^{phox} может взаимодействовать с окисленной формой NADPH (никотинамид динуклеотид фосфат), получившей электрон (e^-), образовавшийся в процессе глико-

лиза. Для этого у gp91^{phox} существуют простетическая группа FAD (флавинадениндинуклеотид) и две молекулы гема. FAD получает e^- от NADPH и передаёт его «наружной», направленной к цитозолю, а затем и «внутренней», обращённой к содержимому фаголизосомы, молекуле гема. Внутренняя молекула переносит электрон на молекулярный кислород. Происходит образование супероксид-аниона (O_2^-) — родоначальника активных форм кислорода (АФК) (Segal A.W., 2005).

ЗАТЕКСТОВОЕ ПРИМЕЧАНИЕ

Способность нейтрофилов больных с хронической грануломатозной болезнью убивать в фагосоме поглощённые каталазо-отрицательные бактерии *Str. pyogenes*, *E. coli* и *Ps. aeruginosa* находится в пределах нормы. Так, H_2O_2 -образующие штаммы *Str. pyogenes* убиваются нейтрофилами больных хронической грануломатозной болезнью; штаммы, не образующие H_2O_2 , остаются живыми. Вероятно, бактериальная перекись водорода используется здоровыми компонентами NADPH-оксидазы для синтеза следующих компонентов активных форм кислорода.

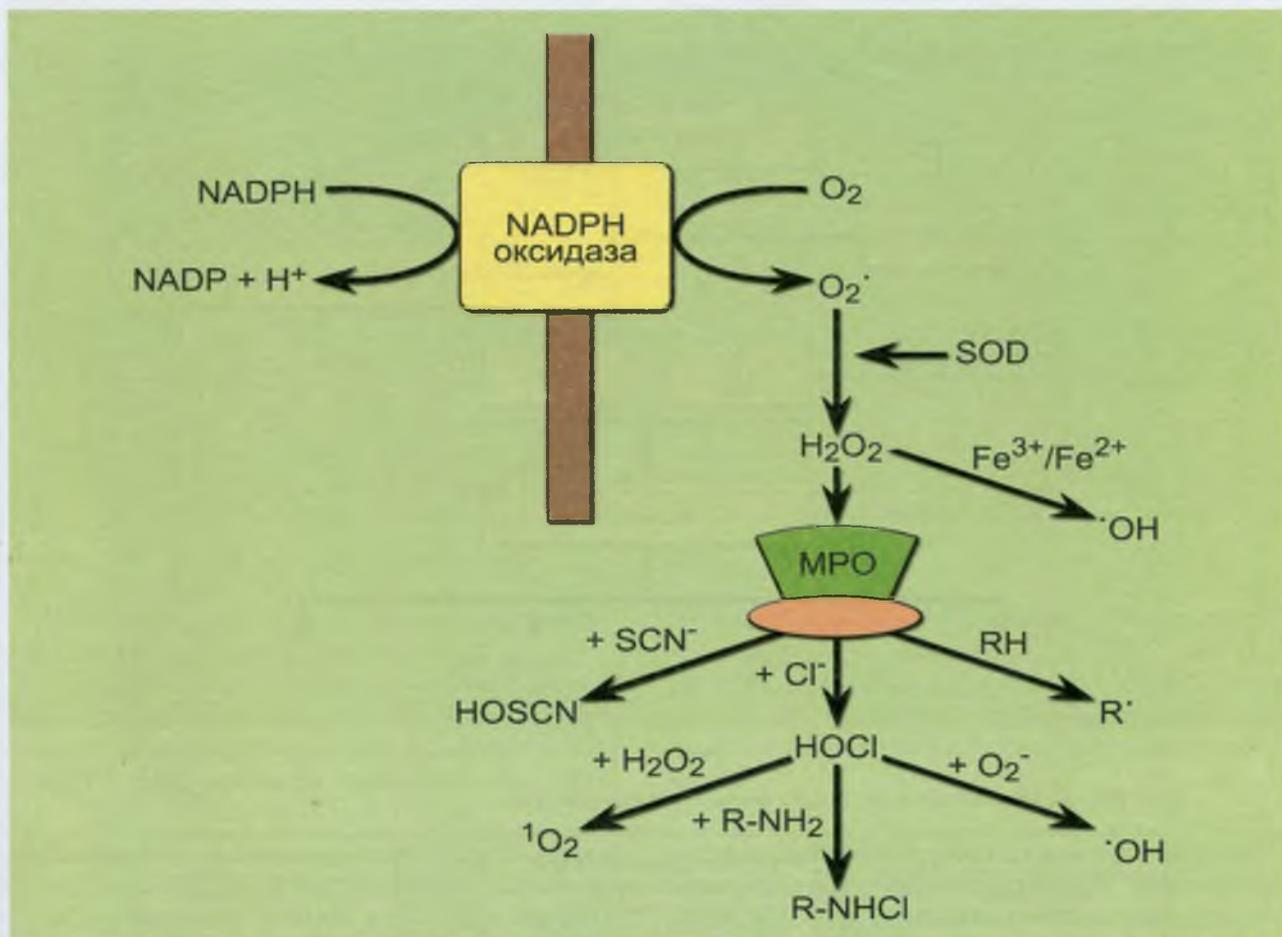


Рис. 17. Образование активных форм кислорода фагоцитами («кислородный взрыв»)

Как было показано на предыдущем рисунке, первичным продуктом кислородного взрыва является супероксидный анион $O_2^{\cdot-}$, который образуется при переносе NADPH-оксидазой электрона на кислород. Супероксидный анион обладает слабым бактерицидным эффектом и является недолговечным. В результате реакции, катализируемой ферментом супероксиддисмутазой (СОД), из двух молекул супероксидного аниона формируется перекись водорода, обладающая сильным микробицидным эффектом. При окислении хлоридов перекисью водорода в присутствии миелопероксидазы (МПО) образуется мощный цитотоксический агент — ги-

похлорная кислота $HOCl$, при её окислении супероксидным радикалом — гидроксильный радикал OH , при окислении гипохлорит-иона перекисью водорода формируется синглетный кислород 1O_2 , который является источником образования другого бактерицидного вещества — озона O_3 (на рис. не показан). При взаимодействии гипохлорной кислоты с аминогруппой формируется микробицидное производное монохлорамина — $R-NHCl$. Все эти АФК образуются в фаголизосоме, и НФ являются наиболее активными их продуцентами. К АФК наиболее чувствительны внеклеточные возбудители (Klebanoff S.J., 2005).

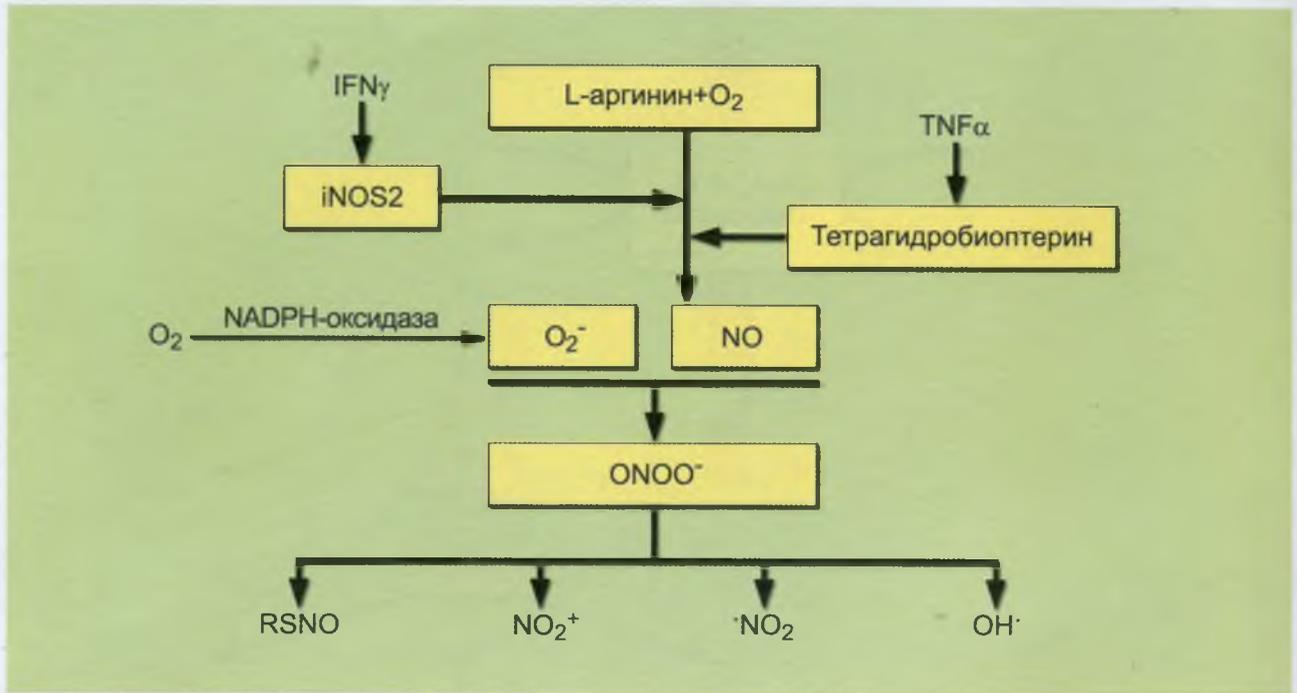


Рис. 18. Образование активных форм азота фагоцитами

Активные формы азота образуются при окислении аргинина. Эта реакция катализируется ферментом индуцибельной NO-синтазой 2 (iNOS), присутствующей преимущественно в клетках моноцитарно-макрофагального ряда. Мощным индуктором iNOS является $IFN\gamma$, который, как известно, обладает способностью повышать микробицидную активность МФ.

Другим активатором iNOS2 является тетрагидробиоптерин, синтез которого, в свою очередь, активируется $TNF\alpha$. В результате окисления аргинина создаётся мощный бактерицидный агент — оксид азота NO, к которому чувствительны такие внутриклеточные патогены, как микобактерия туберкулёза, патогенные грибы и простейшие, оболочечные вирусы. NO обладает туморицидным эф-

фектом. Оксид азота реагирует с супероксидным радикалом, формирующимся в результате ферментативной активности NADPH-оксидазы с образованием другого мощного агента, участвующего в элиминации микроорганизмов, пероксинитрита $ONOO^-$, который окисляет сульфгидрильные группы белковых и небелковых продуктов, снижая их биологические функции. Пероксинитрит даёт начало ряду других активных форм азота и кислорода, обладающих микробицидными свойствами. Основные продуценты активных форм азота — МФ/МФ. Они также являются главными «бойцами» с внутриклеточными патогенами. Некоторыми авторами показана способность НФ к образованию некоторого количества оксида азота. Однако роль его в бактерицидном эффекте НФ не доказана.

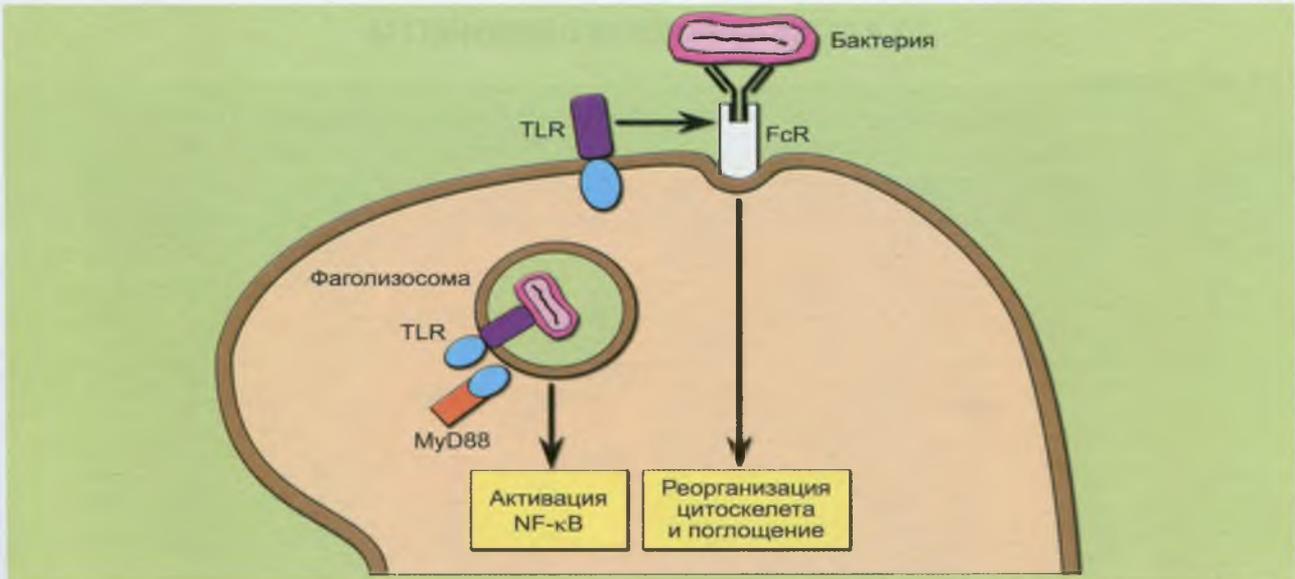


Рис. 19. Двойное распознавание в процессе фагоцитоза

В процессе фагоцитоза происходит двойное распознавание микроорганизма.

Первое осуществляется чаще всего интегринами или Fc-рецепторами по отношению к опсонизированному микроорганизму. Это приводит к ряду событий, заключающихся в реорганизации цито-

скелета, поглощению бактерии и образовании фагосомы, в состав которой входит рецептор TLR, распознающий PAMP бактерий и инициирующий активацию транскрипционного фактора NF-κB с последующим синтезом провоспалительных цитокинов.



Рис. 20. Применение проточной цитометрии для оценки функций фагоцитов (по Van Eeden S.F., 1999)

1.3. КЛЕТКИ ВРОЖДЁННОГО ИММУНИТЕТА

1.3.1. НЕЙТРОФИЛЫ

Группа	Название	Лиганд	Функция
	CD13	?	-
	CD14	LPS	Связывание комплекса LPS+LBP, фагоцитоз грам-отрицательных бактерий
	CD15	?	-
Рецепторы адгезии	CD15s (Sialyl-Lewis)	Селектины (CD62)	Взаимодействие с эндотелием
	CD11a/CD18 (LFA-1)	ICAM-1	Взаимодействие с эндотелием
	CD31 (PECAM)	CD31	Взаимодействие с эндотелием
	VCAM	VLA-4	Межклеточное взаимодействие
Рецепторы комплемента	CD35 (CR1)	Компоненты комплемента	Фагоцитоз частиц, опсонизированных комплементом
	CD11b/CD18 (CR3)		
	CD11c/CD18 (CR4)		
Рецепторы Ig	CD16 (FcγRIII)	IgG и gA	Фагоцитоз частиц, опсонизированных Ig
	CD32 (FcγRII)		
	CD89 (FcαR)		
	FcγRIV у мышей		
SR	Дектин-1	β-глюканы	Фагоцитоз грибов
Рецепторы хемокинов и других агентов	C3a R	C3a	Хемотаксис, активация и созревание нейтрофилов
	C5a R	C5a	
	fMLP R	f MLP	
	CXCR1,2	CXCL8 (IL-8)	
	CXCR 2	CXCL7	
	CXCR 4	CXCL12	
Рецепторы цитокинов	IFNα/βR; IL-1R, IL-4R, IL-6R, IL-10R, IL-13R, IL-17R, IL-18R, TNFαR, TGFβR	Соответствующие цитокины	Действие на различные функции клетки
TLR	1, 2, 4, 6, 8	Различные PAMP	---
	TREM-1	-	Активационный рецептор
	TRAILR	-	Апоптоз
	PAR-2	Тканевые пептиды	Повышение экспрессии интегринов

Рис. 21. Рецепторы нейтрофилов

В таблице представлены основные рецепторы НФ, от которых зависят фагоцитоз, активация клетки и синтез клеткой биологически активных соединений.

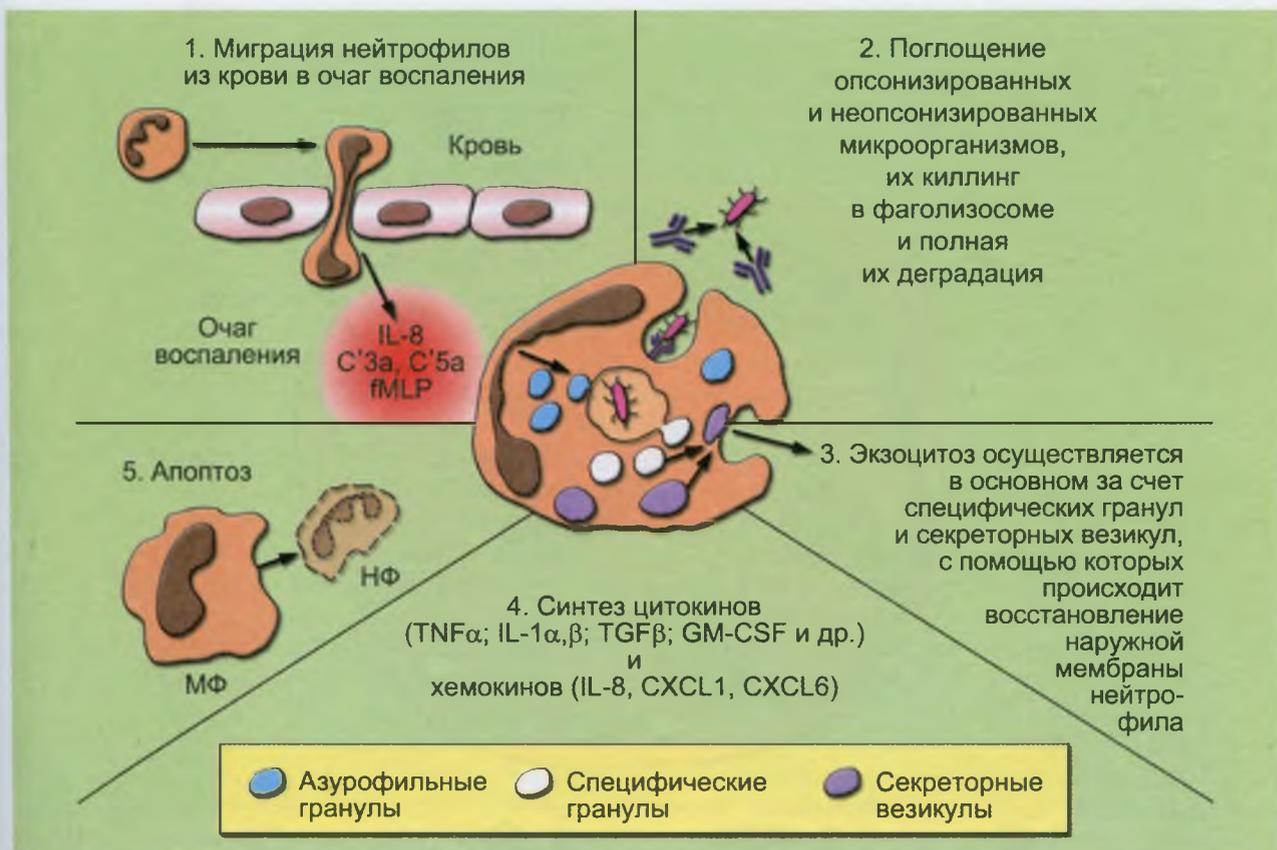


Рис. 22. Основные процессы, происходящие в нейтрофилах при их активации и фагоцитозе

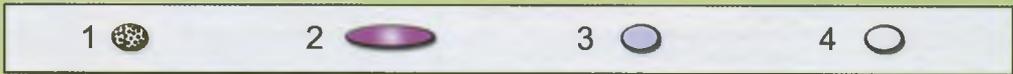
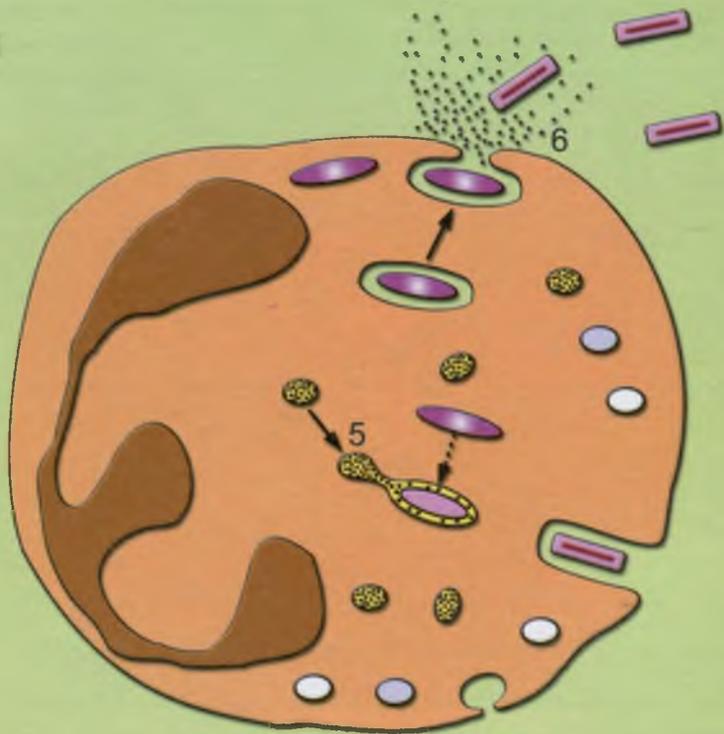
На рисунке отражены участие НФ в фагоцитозе (миграция, поглощение, дегрануляция, внутриклеточный киллинг, деградация, экзоцитоз и апоптоз) и основные процессы, происходящие в НФ при их активации (хемокинами, цитокинами и микробными веществами, в частности PAMP): дегрануляция, образование АФК и синтез цитокинов и хемоки-

нов. Апоптоз НФ и их фагоцитоз МФ можно рассматривать как важную составную часть воспалительного процесса, так как своевременное их удаление препятствует деструктивному действию их ферментов и различных субстанций на окружающие клетки и ткани (Teilgaard-Monch К. и др., 2006).

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

Нейтрофилы являются наибольшей популяцией лейкоцитов крови, составляя 60–70% общего их числа. НФ формируются в костном мозге, являясь основным продуктом миелоидного кроветворения. Они покидают костный мозг на предпоследней стадии развития — палочкоядерной форме, или на последней — сегментоядерной. Зрелый нейтрофил циркулирует 8–10 ч и поступает в ткани. Общая продолжительность жизни нейтрофила — 2–3 дня.

а



б

Антимикробные вещества гранул нейтрофилов

Азурофильные гранулы
Миелопероксидаза
Дефензины
Нейтральные протеазы: эластаза, катепсин G, протеаза 3
Азуроцидин
Белок, повышающий проницаемость бактерий
Лизоцим

Специфические гранулы
Лактоферрин
Лизоцим
Фосфолипаза A2
Белок, повышающий проницаемость бактерий
Кателицидин
Липокартин
Белок NGAL

Рис. 23. Гранулы и основные антимикробные вещества нейтрофилов

а. В цитоплазме НФ содержатся азурофильные, или первичные (1), специфические, или вторичные (2), желатинозные (3) гранулы и секреторные везикулы (4). При деградации (5) азурофильные гранулы первыми сливаются с фагосомами, затем — специфические. Мембрана специфических и желатинозных гранул, содержащая флавоцитохром b558 (gp91^{phox}, p22^{phox} и Rap1a), является главным поставщиком этого фермента в фаголизосому, где происходит интенсивное образование АФК. Мембраны этих гранул и секреторных везикул НФ, содержащие рецептор FcγRIII (CD16), рецепторы комплемента и интегрины CD35, CD11b/CD18, CD11c/CD18, молекулы CD15 и CD14, участвуют в восстановлении ЦПМ клетки, утраченной в процессе фагоцитоза (6).

б. Азурофильные гранулы содержат большое количество микробицидных веществ: МПО; группу сериновых нейтральных протеаз (катепсин G, протеазу 3, эластазу, азуроцидин); антимикробные низкомолекулярные катионные пептиды — α-дефензины четырёх типов (HNRP1-4), белок, повышающий проницаемость бактерий — ВР1, лизоцим (треть всего лизоцима в клетке). Помимо участия в образовании АФК, МПО обладает и прямым бактерицидным действием. Важная роль во внутриклеточной гибели бактерий принадлежит нейтральным протеазам. Установлено, что фагоциты мышей, дефектные по этим ферментам, неспособны убивать поглощённый стафилококк, несмотря на нормальное образование АФК. α-дефензины — это катионные белки с молекулярной массой 4 кДа, обладающие широким спектром антимикробного эффекта. Более подробно дефензины будут освещены в следующем рисунке. С помощью проточной цитометрии азурофильные гранулы можно выявить по маркерам CD63 и CD66β. Их маркером может служить также МПО, находящаяся только в азурофильных гранулах.

Специфические гранулы содержат ненасыщенный лактоферрин, лизоцим (2/3 от всего лизоцима в клетке), фосфолипазу А2, ВР1, кателицидин hCap-18, липокартин, белок NGAL и др. Все указанные вещества обладают антимикробным действием. Лизоцим разрушает β-гликозидные связи в пептидогликане клеточной стенки бактерий, существенно усиливая литический эффект антител и комплемента. Лактоферрин, перехватывая Fe³⁺, подавляет размножение микроорганизмов, может оказывать и прямой бактерицидный, антигрибковый и противовирусный эффект. В специфических гранулах НФ находятся фосфолипаза А2 и белок ВР1, оказывающие преимущественный антимикробный эффект на грамположительные и грамотрицательные бактерии, разрушая их клеточную стенку. Катионный белок hCAP-18/LL-37 с молекулярной массой 3–5 кДа является единственным

представителем бактерицидных белков кателицидинов, выявленным у человека. Человеческий кателицидин синтезируется в виде неактивного предшественника массой 18 kDa (hCAP-18) (*human cationic antimicrobial peptide*), от которого под влиянием протеиназ первичных гранул в фаголизосоме отщепляется пептид LL-37 с широким спектром микробицидного действия.

В специфических гранулах имеется белок липокартин, обладающий бактерицидным эффектом. NGAL-белки, массой 25 kDa, присутствующие в матриксе специфических гранул, обладают бактериостатической активностью. С помощью проточной цитометрии специфические гранулы можно выявить по маркеру CD66β.

Желатинозные гранулы (3) иногда относят к специфическим, содержащим желатинозу, а не лактоферрин.



Рис. 24. Эффекты дефензинов в процессе воспаления и фагоцитоза

а. Главными источниками α -дефензинов I–IV типов являются НФ и МН/МФ, дефензинов V–VI типов — клетки Пеннета кишечника; β -дефензинов — эндотелиоциты и кератиноциты.

б. α - и β -дефензины являются многофункциональными агентами, играющими важную роль в процессе фагоцитоза и воспаления. Первый эффект — это способность убивать бактерии, грибы, оболочечные вирусы. Он может происходить внутриклеточно (в фаголизосоме) и внеклеточно. В результате экзоцитоза довольно большие концентрации дефензинов могут накапливаться в воспалительном очаге. Дефензины индуцируют синтез IL-8 и сами являются хемоаттрактантами. Они оказывают ряд неспецифических эффектов: стимулируют ангиогенез, заживление ран, индуцируют апоптоз и ингибируют синтез TNF α , что важно на заключительных этапах воспаления. Вместе с тем дефензины стимулируют дифференцировку ДК (Levy O., 2004).

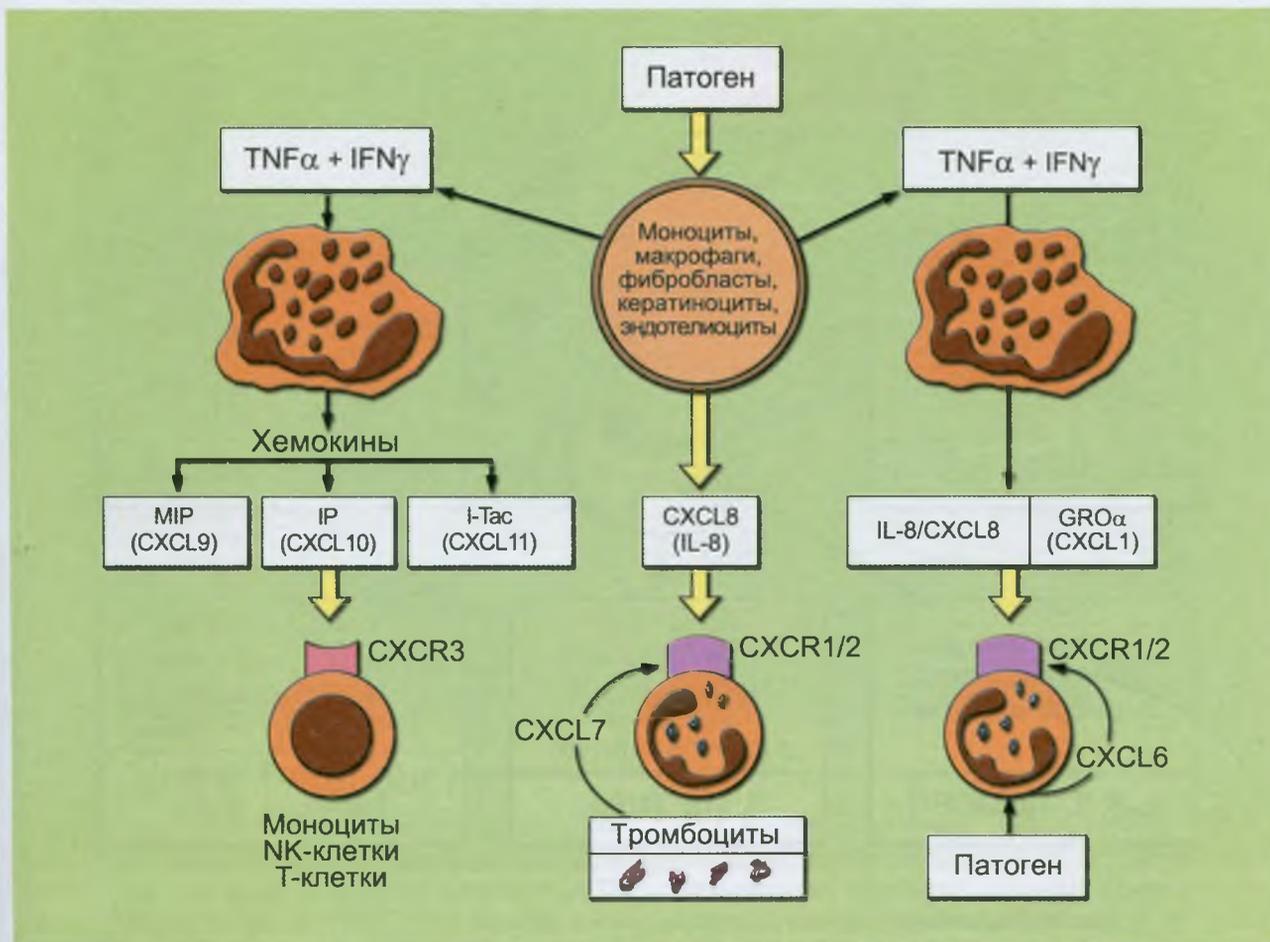


Рис. 25. Хемокины и нейтрофилы

Главным хемоаттрактантом для НФ является хемокин CXCL8 (IL-8), синтезируемый в воспалительном очаге МН, МФ, фибробластами, эндотелиоцитами, кератиноцитами и др. НФ экспрессируют рецепторы к IL-8 — CXCR1 и CXCR2, взаимодействие которых с IL-8 активирует нейтрофил и вызывает его миграцию в воспалительный очаг. Аналогичный процесс вызывает хемокин CXCL7 (РВР, β-TG, NAP-2), секретируемый тромбоцитами. НФ приобретают способность образовывать ряд хемокинов под воздействием цитокинов, синтезируемых МН, МФ и др. в воспалительном очаге.

Наиболее мощным индуктором является комплекс TNFα + IFNγ, вызывающий формирование ряда СХС-хемокинов. Прежде всего, НФ синтезируют IL-8 и GRO-α (CXCL1), для которых рецептором является CXCR1/2, экспрессируемый не только на НФ, но и на покоеющихся Т-клетках (на рис. не показано).

Вторая группа хемокинов, синтезируемых НФ под влиянием комплекса TNFα + IFNγ — это хемокины CXCL9-11, для которых рецептором является CXCR3, экспрессируемый на NK-клетках, моноцитах, Th1-клетках.

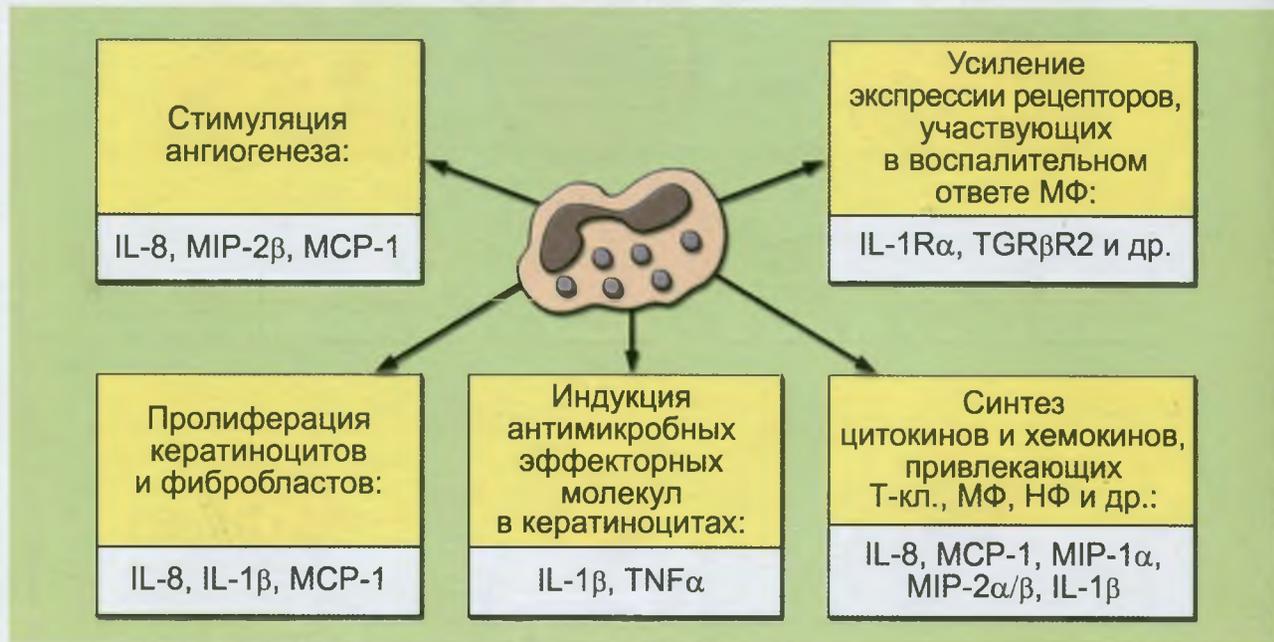


Рис. 26. Участие нейтрофилов в асептическом воспалении

При асептическом воспалении в НФ увеличивается синтез хемокинов и цитокинов, стимулирующих ангиогенез и пролиферацию кератиноцитов и фибробластов, повышающих антимикробную защиту, а также привлекающих в очаг воспаления

Т-клетки, моноциты, НФ. Происходит повышение экспрессии рецепторов, участвующих в воспалительном ответе нейтрофилов. В целом, миграция нейтрофилов в воспалительный очаг способствует ускорению заживления раны.

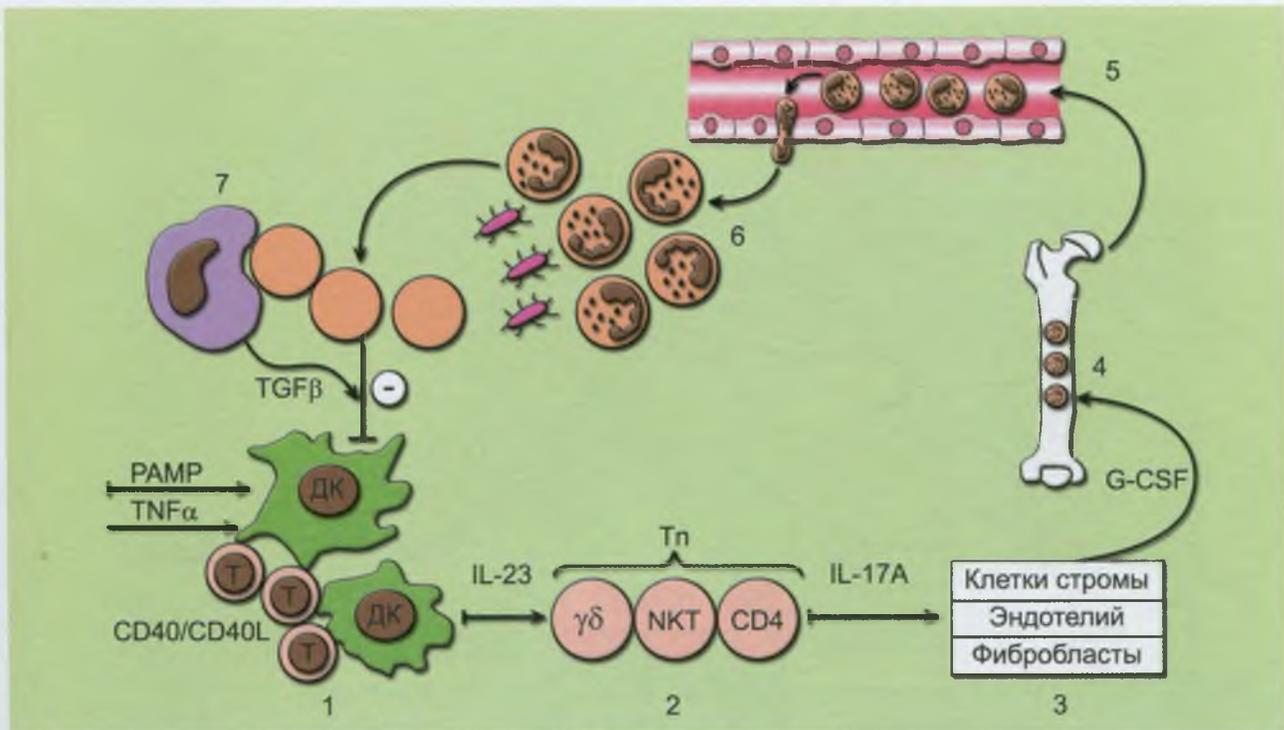


Рис. 27. Роль IL-17A в регуляции гранулопоэза

Регуляция гранулопоэза осуществляется с помощью взаимодействия цитокинов IL-23, IL-17A и G-CSF, причём в этом взаимодействии IL-17A играет центральную роль.

1. Главным источником IL-23 являются МФ и ДК, которые синтезируют этот цитокин под влиянием PAMP — агонистов рецепторов TLR, цитокина TNF α и CD40/CD40L-взаимодействия. IL-23 — гетеродимер, состоящий из уникальной цепи p19, соединённой дисульфидной связью с p40, идентичной цепи p40 IL-12.

2. IL-23 взаимодействует с нейтрофил-регуляторными T-клетками (Tn), 60% которых составляют $\gamma\delta$ T-клетки, 25% — NKT-клетки и 15% — CD4⁺T-клетки (Th17-клетки). Взаимодействие IL-23/IL-23R ведёт к фосфорилированию транскрипционных факторов STAT1, STAT4 и STAT5 (на рис. не показано). Следствием этого взаимодействия является синтез Tn-клетками IL-17A, гомодимерного гликопротеина из 155 аминокислот.

3. IL-17A является индуктором синтеза G-CSF — белка, состоящего из 174 аминокислот. Этот цитокин образуется клетками стромы костного мозга, эндотелия, фибробластами и др. G-CSF связывается со специфическим для него рецептором (G-CSFR), который экспрессируется на всех предшественниках нейтрофилов в костном мозге и в наибольшем количестве — на зрелых НФ.

4–6. Взаимодействие G-CSF с его рецептором приводит к пролиферации, дифференцировке и миграции нейтрофилов из костного мозга в кровяное русло. При инфицировании НФ из кровяного русла мигрируют в поражённые ткани, поглощают микроорганизмы и далее подвергаются апоптозу и фагоцитозу МФ (7). Фагоцитоз апоптотических нейтрофилов способствует развитию сильного противовоспалительного эффекта, который частично опосредуется TGF β . Это приводит к ингибированию синтеза МФ и ДК IL-23, что в свою очередь вызывает прекращение синтеза IL-17A и G-CSF (Ley K. и др., 2006).

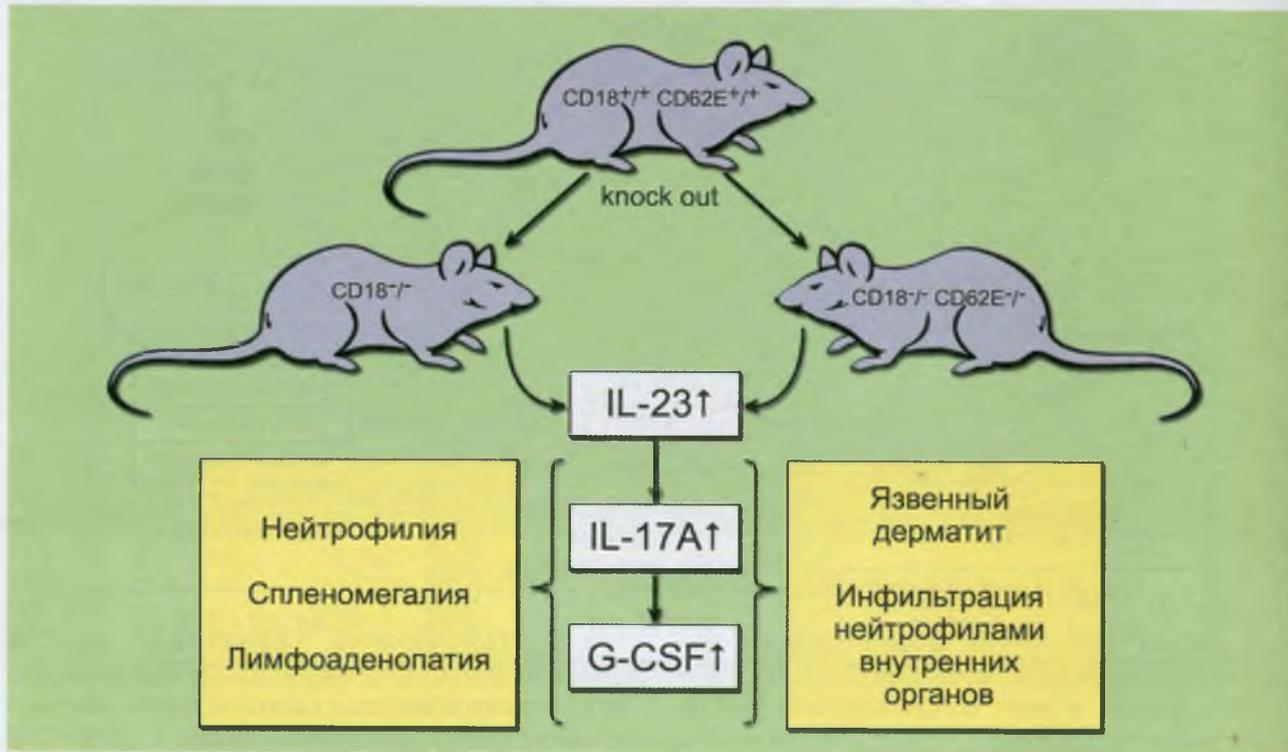


Рис. 28. Роль β 2-интегрина в развитии аутоиммунитета

Нокаут генов, ответственных за миграцию нейтрофилов, препятствует их проникновению в ткани, что компенсируется активацией IL-23–IL-17A–G–CSF.

Это в свою очередь приводит к нейтрофилии: инфильтрации кожи и внутренних органов НФ

и развитию ряда аутоиммунных поражений. Особенно выраженные нарушения вызывает двойной нокаут (*knock out*) $CD18^{-/-} CD62^{-/-}$. Уровень IL-17A по сравнению с нормой возрастает в 55 раз со всеми показанными на рисунке последствиями. Такие мыши погибают в возрасте 10–30 нед.

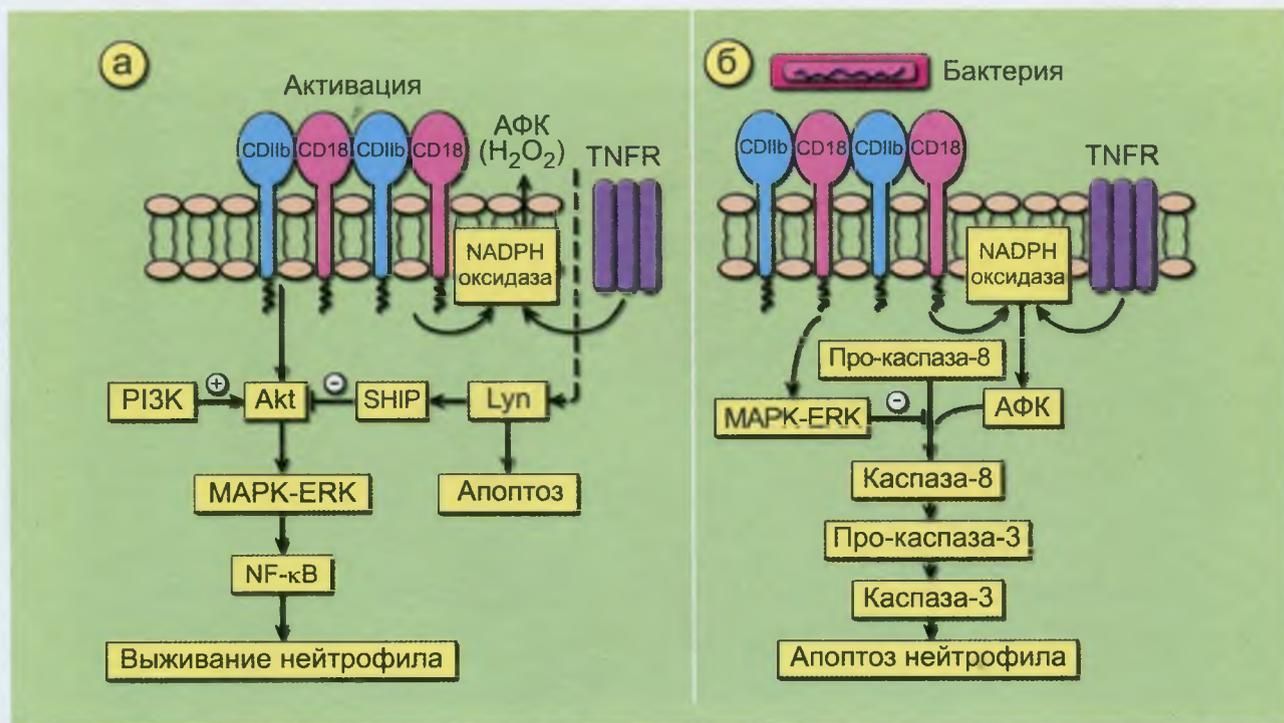


Рис. 29. Роль $\beta 2$ -интегрина в апоптозе нейтрофилов

а. Задержка апоптоза нейтрофила зависит от серин-треониновой киназы Akt, которая активируется при кросс-связывании интегрина MAC-1 (CD11b/CD18) его лигандами: фрагментом комплемента iC3b, фибриногеном, ICAM-1 и др. (на рис. не показаны). Киназа Akt также стимулируется фосфатидилинозитид-3-киназой (PI3K). В результате этого происходит выживание НФ, а также активация не только ферментов пути MAPK-ERK, но и транскрипционных факторов NF- κ B и AP-1. Только одно кросс-связывание MAC-1 способствует выживанию клетки. Однако если к этому процессу добавляется сигнал, идущий от FasR (на рис. не показан) или TNFR, то активность Akt подавляется. Происходит стимуляция мембранной NADPH-оксидазы и образование АФК, в частности перекиси водорода, которая освобождается экстрацеллюлярно. Перекись водорода — аутокринный и паракринный регулятор — диффундирует внутрь клетки, активирует проапоптотическую киназу Lyn Src-семейства, которая в свою очередь активирует фосфатазу SHIP. Эта фосфатаза гидролизует все активационные мессенджеры. Развивается апоптоз нейтрофила.

б. При фагоцитозе бактерий, опсонизированном комплементом, активируется фермент NADPH-оксидазы и происходит повышенное образование перекиси водорода, которая поступает в цитозоль клетки, изменяет там окислительно-восстановительный потенциал и запускает тем самым каспазный каскад. Независимо от митохондрий активируется каспаза-8 и, соответственно, каспаза-3. Происходит апоптоз нейтрофила. Таким образом, кросс-связывание интегрина MAC-1 вызывает как активацию каспаз и апоптоз нейтрофила, так и активацию ферментов MAPK-ERK-пути, ведущую к выживанию клетки. Путь активации каспаз является доминирующим, но в присутствии GM-CSF превалирует MAPK-ERK-путь (Mayadas T.N., Gullere X., 2005).

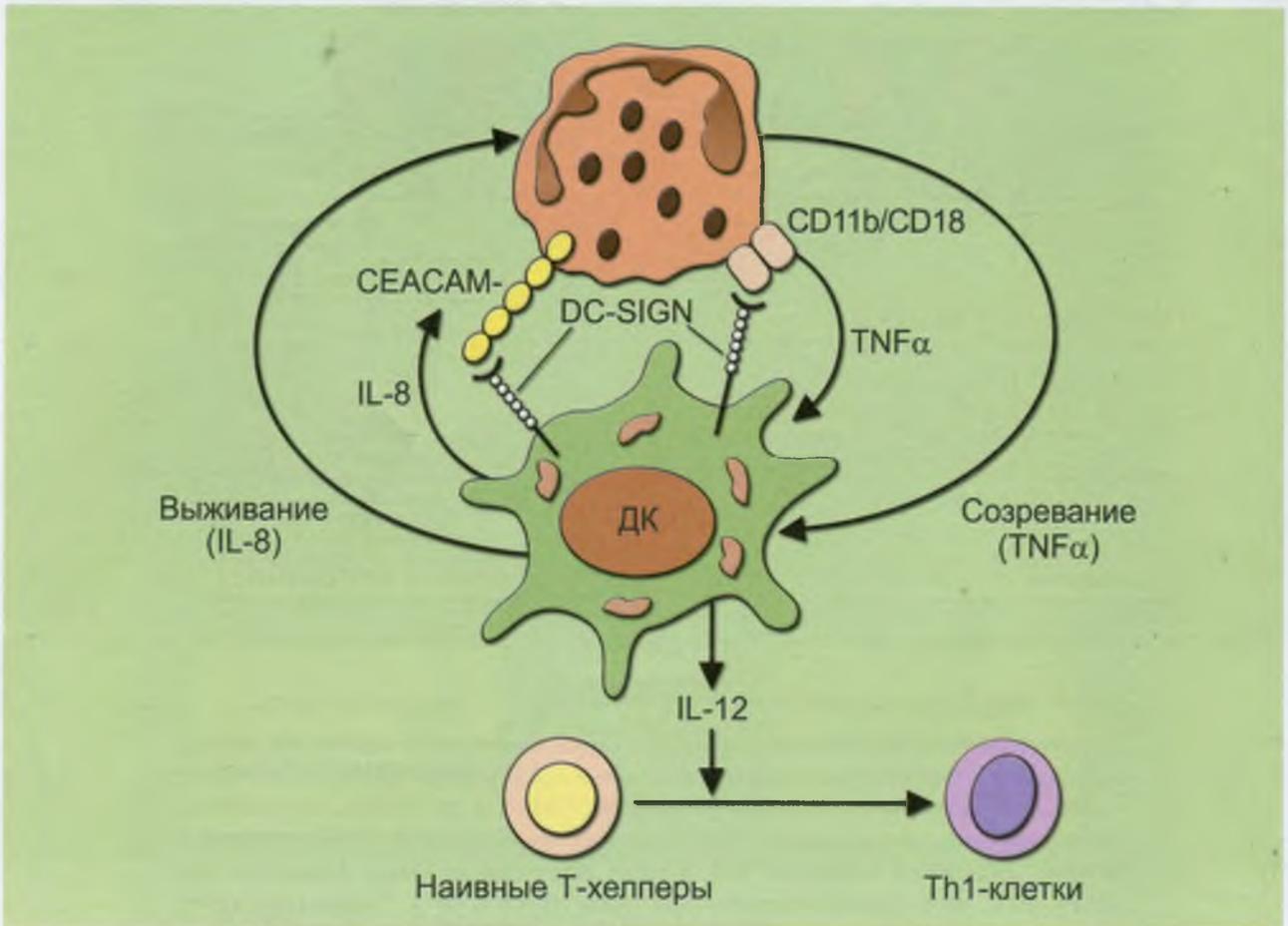


Рис. 30. Взаимодействие нейтрофилов с дендритными клетками

В нормальном организме ДК и НФ находятся в различных отделах организма. Однако при внедрении патогена они локализуются в очаге воспаления. Доказано наличие физического контакта между НФ и ДК. Два рецептора на НФ — интегрин CD11b/CD18 (MAC-1) и CEACAM1 (*carcinoembryonic antigen-related cellular adhesion molecule*) распознают лектиноподобный рецептор С-типа (DC-SIGN) ДК. Это взаимодействие важно для созревания ДК и выживания НФ. Для формирова-

ния ДК необходим также TNFα, синтезируемый НФ. На ДК усиливается экспрессия молекул МНС II класса, CD86, CD40, повышается синтез ДК IL-12, способствующего дифференцировке Th1-клеток. В свою очередь ДК активно продуцируют IL-8, необходимый для активации нейтрофила и его выживания.

По мере созревания связь ДК с НФ ослабевает, и начинают действовать проапоптотические сигналы.

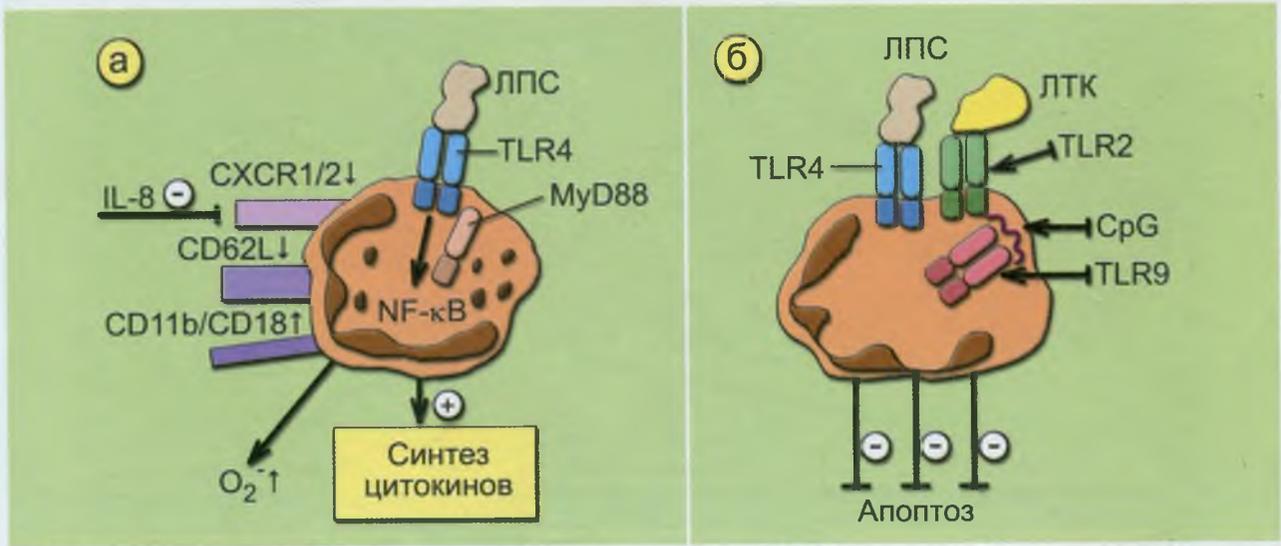


Рис. 31. Роль TLR в жизни нейтрофилов

а. Взаимодействие TLR НФ с бактериальными паттернами лучше всего исследовано на модели высокоочищенного, освобождённого от липопротеинов (лигандов TLR2) липополисахарида (ЛПС) энтеробактерий — лиганда для TLR4. Взаимодействие ЛПС с TLR4 приводит в основном к активации нейтрофила. Наблюдается также «кислородный взрыв» с образованием АФК: супероксида аниона, перекиси водорода и так далее, играющих важную роль в киллинге бактерий. Происходит синтез цитокинов: IL-1 β , TNF α и др. Усиливается экспрессия главного интегринового рецептора CD11b/CD18, от которого зависит поглощение опсонизированных бактерий. В то же время происходит снижение экспрессии хемокиновых рецепторов — CXCR1 и CXCR2, главных рецепторов IL-8, и, соответственно, сильно снижается чувствительность нейтрофила к IL-8. Уменьшается также экспрессия CD62E, осуществляющего первый этап миграции НФ. Смысл этого, вероятно, заключается в снижении вероятности миграции НФ из воспалительного очага.

б. Большинство бактериальных лигандов TLR являются ингибиторами апоптоза: ЛПС — лиганд для TLR4, метилированные последовательности бактериальных олигонуклеотидов (CpG) — лиганды для внутриклеточных TLR9, липотейхоевые кислоты (ЛТК) — лиганды для TLR2.

1.3.2. ЭОЗИНОФИЛЫ

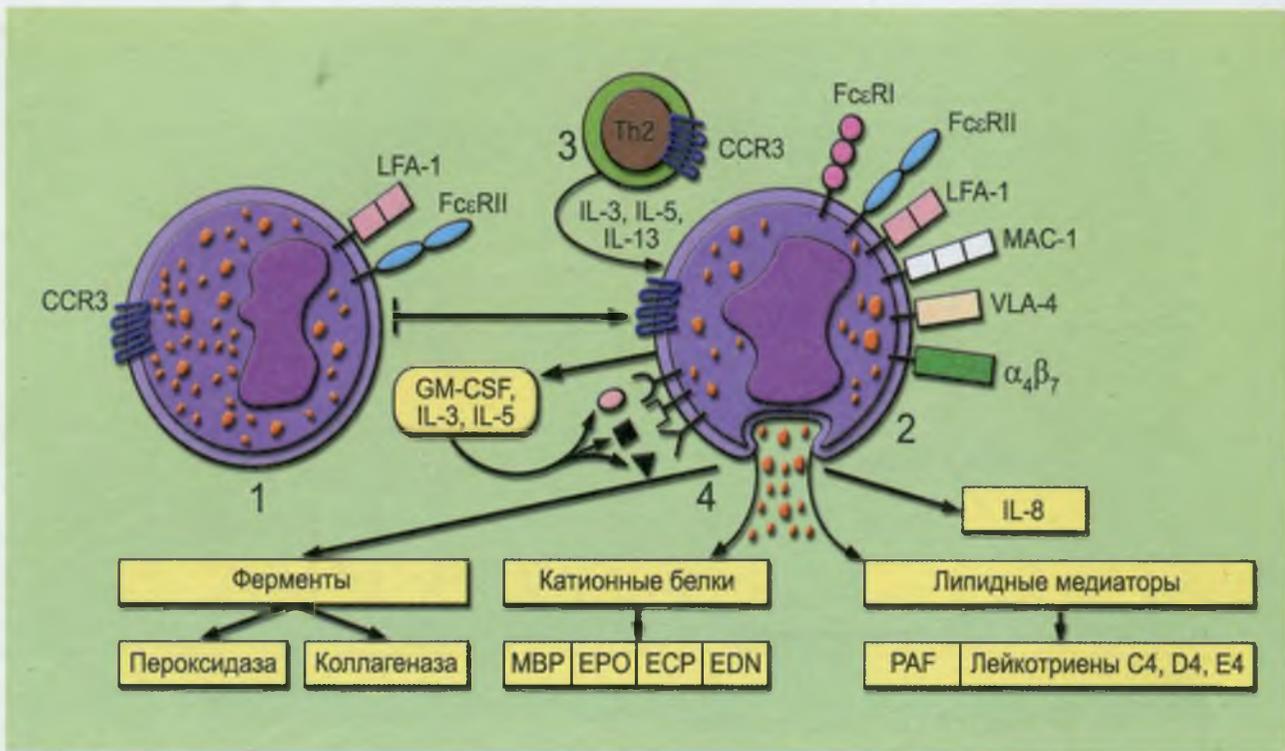


Рис. 32. Основные свойства эозинофилов

Зрелый эозинофил (1), 12–15 мкм в диаметре, имеет характерное двудольчатое ядро, развитый аппарат Гольджи и два типа гранул: мелкие, содержащие арилсульфатазу и кислую фосфатазу, и большие, имеющие в своей структуре аргинин-богатые катионные белки. Эозинофилы (ЭО) могут находиться в двух состояниях: неактивированном (1) и активированном (2). Главную роль в активации играют цитокины IL-3, IL-5 и IL-13, синтезируемые Th2-клетками (3). Неактивированные ЭО характеризуются наличием низкоаффинного рецептора FcεRII (CD23), интегрина LFA-1, хемокинового рецептора CCR3 и др. На активированных ЭО экспрессируются высокоаффинный рецептор FcεRI, интегрин α₄β₇, MAC-1 и VLA, увеличивается экспрессия LFA-1. Активированные ЭО продуцируют

цитокины GM-CSF, IL-3 и IL-5, которые аутокринно их стимулируют. При дегрануляции (4) происходит выброс катионных белков — MBP (*major basic protein*), ECP (*eosinophil cationic protein*), EPO, EDN (*eosinophil-derived neurotoxin*), липидных медиаторов — тромбоцитактивирующего фактора — PAF (*platelet-activating factor*) и лейкотриенов C4, D4 и E4, ферментов — эозинофильной пероксидазы и коллагеназы. Белки MBP, ECP и EDN являются токсичными для паразитов и клеток млекопитающих. ECP и EDN обладают противовирусной активностью. Лейкотриены вызывают сокращение гладкой мускулатуры, секрецию слизи, повышают проницаемость сосудов. PAF усиливает синтез липидных медиаторов, активирует тромбоциты, НФ и ЭО, ускоряет миграцию лейкоцитов (Hogan S.P., 2007).

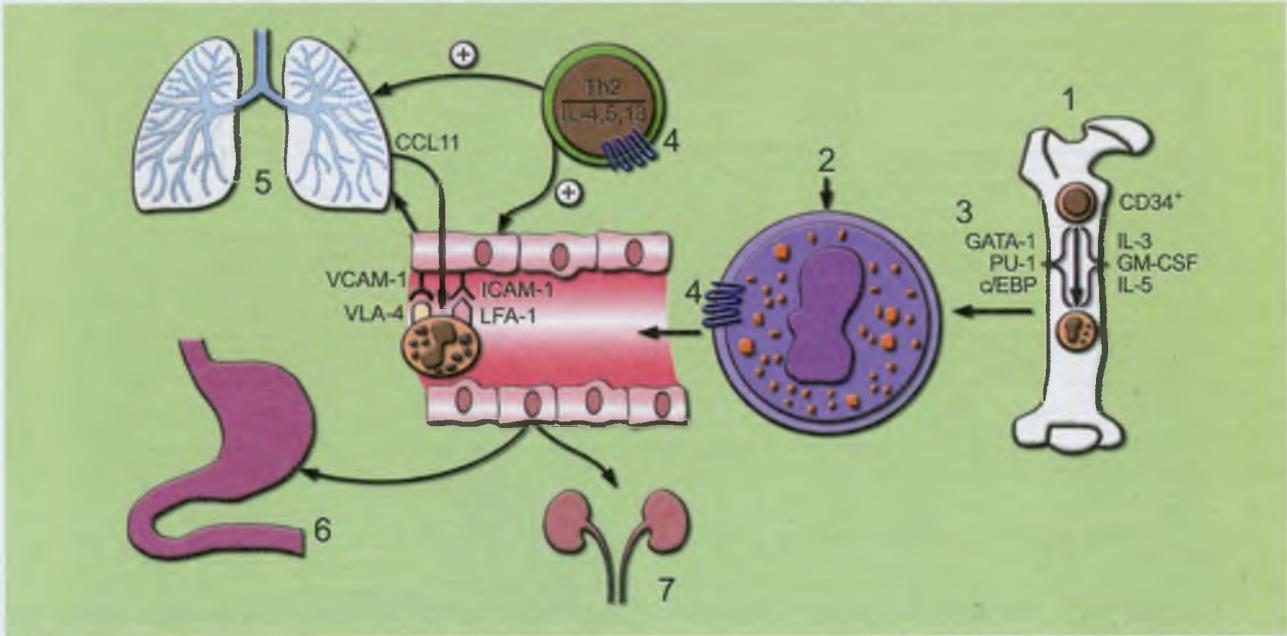


Рис. 33. Миграция эозинофилов

ЭО (2) происходят из $CD34^+$ предшественников костного мозга (1), где они созревают примерно в течение 5 дней. Направление дифференцировки клеток-предшественников в сторону ЭО определяют, по крайней мере, три транскрипционных фактора — GATA-1, PU-1 и C/EBP (3). Созревание ЭО происходит под влиянием аутокринных и паракринных цитокинов IL-3, IL-5 и GM-CSF. Особую роль играет IL-5, обеспечивающий рост, дифференциацию и мобилизацию ЭО для их миграции из костного мозга в кровеносное русло, где они циркулируют 18–24 ч. Миграция из кровеносного русла осуществляется благодаря связыванию $\beta 1$ -интегрина VLA-4 (*very late activation antigen*) и интегрина $\alpha 4\beta 7$ (взаимодействие $\alpha 4\beta 7$ с MAdCAM-1 на рис. не показано) с рецепторами эндотелиальных клеток VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule*) и MAdCAM-1 (*mucosal addressin cell adhesion molecule*) соответственно, а также, как и у НФ, за счёт взаимодействия LFA-1-ICAM-1. Важную роль в этом процессе играют цитокины IL-4, IL-5 и IL-13, син-

тезируемые Th2-клетками: повышают экспрессию VCAM-1 на эндотелии сосудов и синтез эпителиальными клетками бронхов и фибробластами хемокинов, эотаксинов — CCL11, CCL24 и CCL26.

Эотаксины играют главную роль в направленной миграции ЭО в лёгкие (5), желудочно-кишечный (6) и урогенитальный (7) тракты, где они располагаются в соединительной ткани под эпителиальным слоем и, вероятно, участвуют в защите слизистых оболочек от микроорганизмов. Направленная миграция обусловлена экспрессией на зрелых эозинофилах специфического для эотаксина рецептора CCR3 (4), построенного аналогично рецептору для IL-8 CXCR1 и также связанного с G-белком. Этот рецептор объединяет и другие CC-хемокины (CCL5, CCL7, CCL13), индуцирующие хемотаксис ЭО. Важно отметить, что рецептор CCR3 экспрессируется и на Th2-клетках, которые под влиянием эотаксинов мигрируют в одни и те же с эозинофилами участки (Afshar K. и др., 2007).

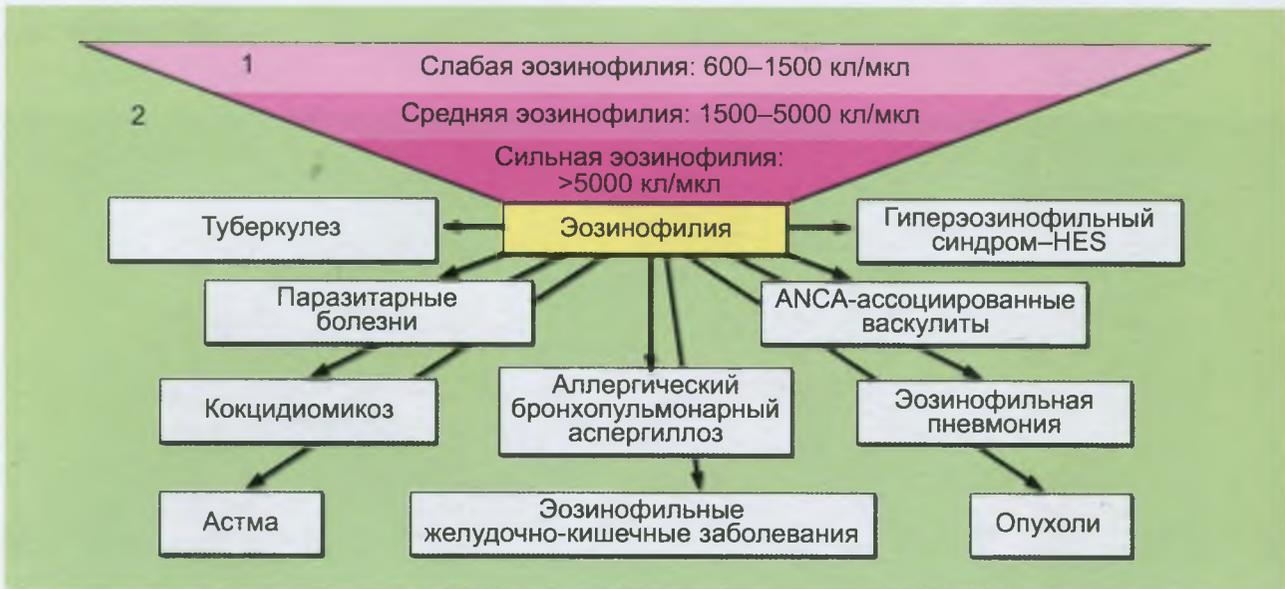


Рис. 34. Заболевания, связанные с эозинофилами

ЭО составляет 1–5% циркулирующих лейкоцитов. На верхней половине графика (1) представлены типы эозинофилии, на нижней (2) — заболевания, при которых наблюдается эозинофилия: грибковые инфекции, гельминтозы, туберкулёз, васкулиты (синдром Черджа–Стросс и гранулёматоз Вегенера), различные виды эозинофильных пневмоний (например, синдром Лофлера), бронхиальная астма. При гельминтозах, как правило, наблюдается сильный уровень эозинофилии. Считается, что ЭО играют защитную роль при глистных инвазиях. В экспериментальных моделях *in vivo* можно наблюдать прилипание ЭО к личинкам глист, сенсibilизированных IgE-антителами и фрагментом комплемента iC_{3b}, что вызывает их гибель. Однако взрослые гельминты к цитотоксическим белкам ЭО не чувствительны. ЭО участвуют в патогенезе бронхиальной астмы, при которой наблюдаются средний уровень эозинофилии и инфильтрация лёгких эозинофилами. В биологических жидкостях больных астмой выявляется высокий уровень катионных белков гранул ЭО, особенно МВР. Особняком от этих заболеваний стоит идиопатический гиперэозинофильный синдром (HES), который характеризуется наличием в течение 6 мес необъяснимой эозинофилии

(>1500 кл/мкл) и органических поражений, связанных с ЭО. Этот синдром связан с микроделецией в хромосоме 4q12, ведущей к слиянию двух соседних генов и образованию фьюжн-гена — F/P⁺, кодирующего конститутивную тирозинкиназу, направляющую дифференцировку клеток-предшественников в ЭО. Синдром HES при наличии указанной мутации диагностируется как хроническая эозинофильная лейкемия. К гиперэозинофильным синдромам относится эозинофильный фибропластический эндокардит, характеризующийся стойкой эозинофилией в течение не менее 6 мес и поражением эндокарда левого желудочка вследствие разрастания фиброзной ткани. Причиной поражения миокарда являются белки, выделяющиеся при дегрануляции эозинофилов. Помимо гельминтозов, инфильтрация эозинофилами желудочно-кишечного тракта наблюдается при эозинофильном эзофагите, гастронтерите, колите, воспалительных заболеваниях кишечника, гастроэзофагальном рефлюксе. Ведущую роль в миграции ЭО в желудочно-кишечный тракт играет эотаксин, который увеличивает экспрессию как интегринов на лейкоцитах, так и молекул адгезии на эндотелии сосудов. Многие опухоли инфильтрируются эозинофилами. Значение этого феномена неизвестно.

1.3.3. БАЗОФИЛЫ

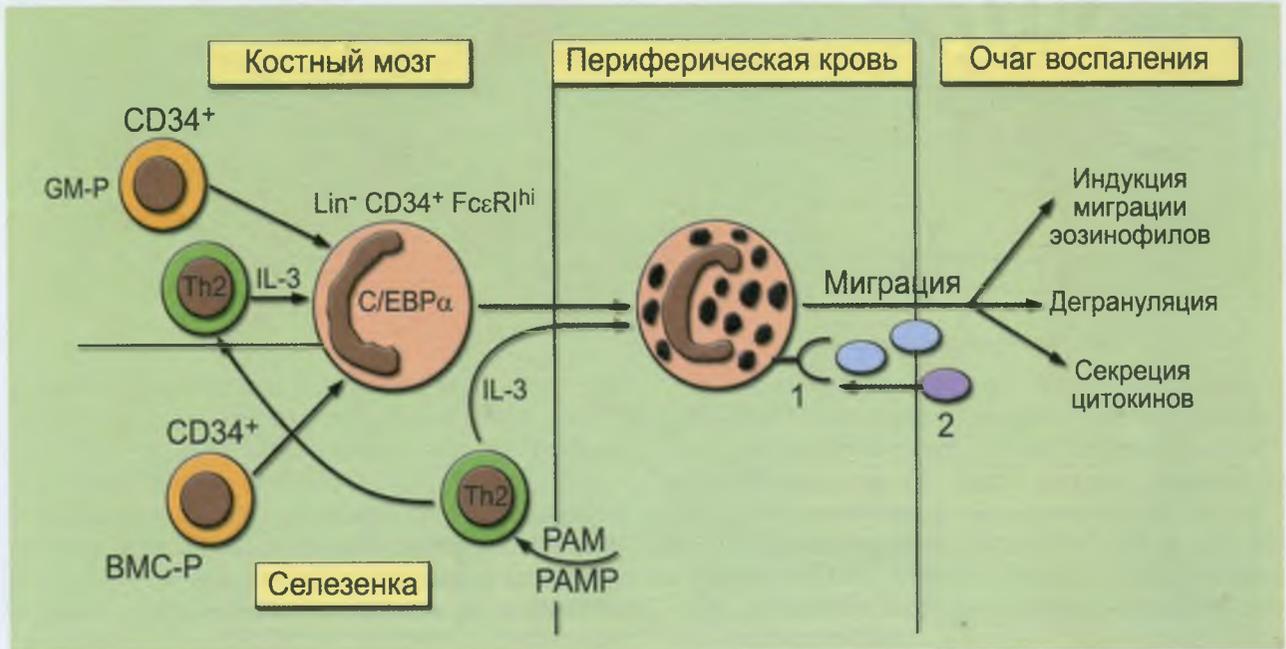


Рис. 35. Онтогенез базофилов

Предшественники базофилов с фенотипом Lin⁻ CD34⁺ FcεRI^{hi} c-kit происходят из гранулоцитарно-макрофагальных предшественников костного мозга (GM-P) и из предшественников базофилов/тучных клеток (BMC-P) селезенки. Их дифференцировка в зрелые базофилы определяется транскрипционным фактором C/EBPα и цитокином IL-3, продуцируемым Th2-клетками. При активации PAM (*parasite-associated molecules*) или PAMP часть этих клеток мигрирует в костный мозг. Синтезируя IL-3, Th2-клетки способствуют увеличению образования в костном мозге базофилов из предшественников. В конечном итоге в кровяное русло поступают только зрелые формы базофилов. Существует другая точка зрения на роль IL-3 в развитии базофилов. Обнаружено, что у мышей IL-3^{-/-}

в крови и костном мозге содержится нормальное количество базофилов. Однако у таких мышей резко нарушено повышение количества базофилов в ответ на инвазию гельминтами, PAM, PAMP. Таким образом, главная роль IL-3 заключается в увеличении количества базофилов при микробной или паразитарной инвазии, что и отражено на средней части рисунка. Базофилы экспрессируют хемокиновые рецепторы (1) — CCR1, CCR2, CCR3, CXCR1, CXCR3, CXCR4 и под влиянием хемокинов (2) — эотаксин (CCL11), RANTES (CCL5), SDF-1 (CXCL12) — они мигрируют через эндотелиальный барьер в очаг воспаления, где происходит секреция цитокинов и дегрануляция. Кроме того, базофилы привлекают в очаг аллергического воспаления ЭО и НФ (Wedermeier J. и др., 2000; Min B., Paul W.E., 2008).

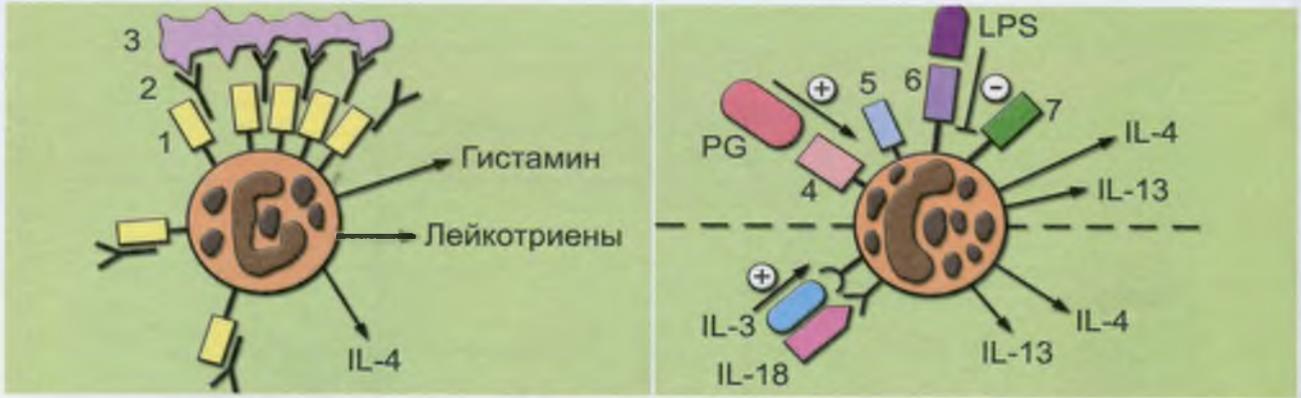


Рис. 36. Активация базофилов

На левой части рисунка представлен IgE-зависимый путь активации базофилов. Базофилы, ТК и активированные ЭО экспрессируют высокоаффинный рецептор FcεRI (1), который без участия АГ связывается с Fc-фрагментом молекулы IgE (2). Кросс-связывание поливалентным АГ (3) молекул IgE вызывает быструю дегрануляцию с освобождением медиаторов типа гистамина, лейкотриенов и других, синтез и секрецию цитокинов. Одним из главных цитокинов, продуцируемых базофилами, является IL-4, который выделяется клеткой уже через 10 мин после её активации. Это говорит о том, что определённая часть IL-4 находится в клетке в преформированном состоянии. Однако значительная часть этого цитокина синте-

зируется клеткой *de novo*. В целом активированные базофилы секретируют значительно большее количество IL-4, чем Т-клетки.

На правой части рисунка представлен IgE-независимый путь активации базофила. Существует несколько вариантов этого пути. Первый этап заключается в индукции образования IL-4 фактором созревания базофилов цитокином IL-3. При совместном действии IL-3 и IL-18 происходит синтез как IL-4, так и IL-13. Второй этап — индуцируется секреция IL-4 и IL-13 при взаимодействии TLR2 (4) с пептидогликаном (PG) клеточной стенки бактерий. Помимо TLR2, базофилы экспрессируют TLR1 (5), TLR4 (6), TLR6 (7). В связи с отсутствием экспрессии CD14 базофилы не чувствительны к ЛПС.

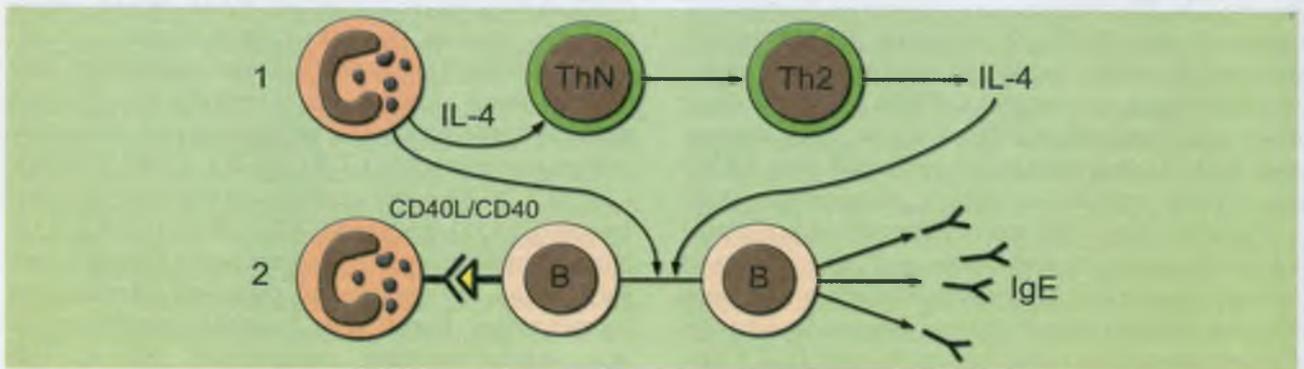


Рис. 37. Межклеточное взаимодействие

1. На ранних этапах развития иммунного ответа базофилы являются главными индукторами образования Th2-клеток.

2. Активированные базофилы экспрессируют CD40L. Взаимодействие CD40L базофилов с CD40 В-клеток в сочетании с секрецией IL-4 индуцирует в В-клетках переключение генов на синтез IgE. Ингибция этого взаимодействия с помощью анти-CD40L-антител отменяет синтез IgE В-клетками.

1.3.4. ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ

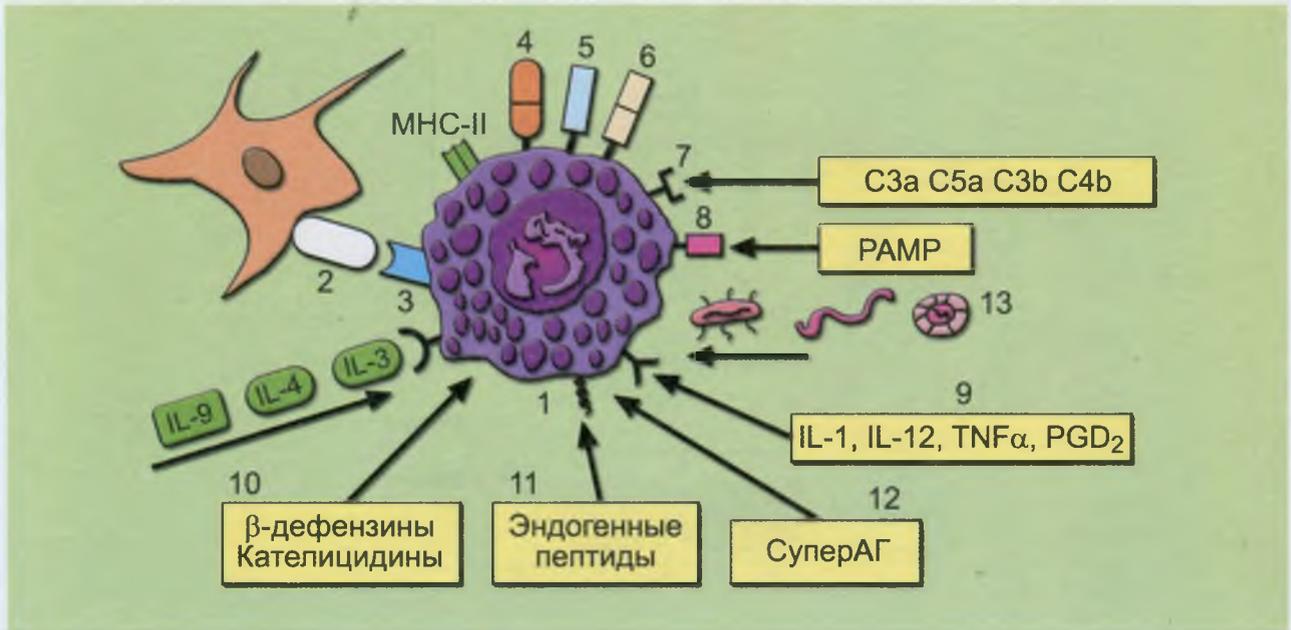


Рис. 38. Характеристика тучных клеток

Тучные клетки — ТК (1), большие гранулярные клетки, происходят из $CD34^+$ гемопоэтических предшественников костного мозга. В отличие от лейкоцитов, ТК не циркулируют, а заканчивают свою дифференцировку в васкуляризованных тканях, где они преимущественно и локализуются. Главным фактором для выживания и дифференцировки ТК является мембранно-связанный цитокин SCF (*stem-cell factor*) (2), присутствующий на стромальных клетках. Этот цитокин является лигандом для рецептора ТК *c-kit* (3), входящим в комплекс рецепторных тирозинкиназ III, рецепторов ростовых факторов. В выживании и дифференцировке ТК важную роль также играют IL-3, IL-4, IL-9. Главной характерной чертой ТК, базофилов и активированных ЭО является экспрессия высокоаффинного Fc-рецептора для IgE FcεR1 (4) с коэффи-

циентом диссоциации 10^{10} M^{-1} и среднеаффинного FcεR2 — CD23 (5). IgE связывается также с FcγRII и FcγRIII (6) ТК и галектином-3, экспрессируемым на некоторых популяциях ТК. Активаторами ТК являются продукты расщепления комплемента, взаимодействующие с соответствующими рецепторами ТК (7): C3aR, C5aR, CR3, CR4; PAMP (пептидогликаны, ds- и ss-ПНК, CpG ДНК, ЛПС, флагеллин), взаимодействующие с TLR (8): TLR2, TL3, TLR4/CD14, TLR5, TLR7 и TLR9; цитокины и воспалительные медиаторы (9); β-дефензины, кателицидины (10) и многочисленные эндогенные пептиды (фактор роста нервов, субстанция P1, нейропептиды (11)) и другие, действующие через соответствующие рецепторы, в частности через белок G суперантигены (12). Активаторами ТК являются также бактерии, вирусы и паразиты (13).

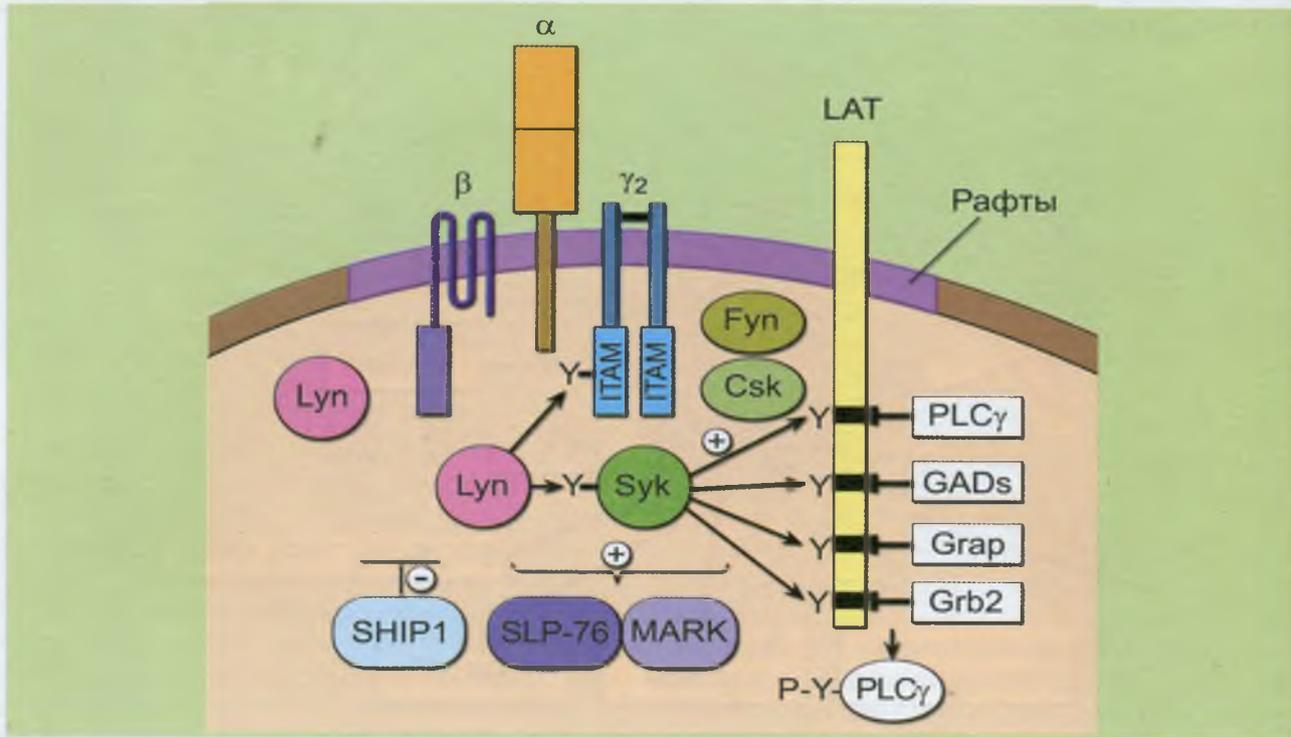


Рис. 39. FcεR тучных клеток

FcεR1 состоит из α-, β- и двух γ-цепей, связанных между собой. α-цепь взаимодействует с Fc-фрагментом IgE; γ-цепь, содержащая в цитоплазматическом участке ITAM-мотив, проводит активационный сигнал в клетку; β-цепь контролирует сборку и экспрессию рецептора. Единичные нуклеотидные замены в цитоплазматическом домене β-цепи могут вести к повышенной экспрессии FcεR1 и склонности таких индивидуумов к аллергическим реакциям. Повышенный уровень IgE способствует повышению экспрессии FcεR1, так как рецептор FcεR1, занятый молекулой IgE, не подвергается интернализации. При агрегации, вызванной АГ, рецепторы FcεR1 перемещаются в липидные рафты, куда поступает также ряд сигнальных молекул, участвующих в активации ТК. При этом главным начальным моментом является фосфорилирование киназой Lyn тирозиновых остатков ITAM-мотива и киназы Syk. В свою очередь киназа Syk фосфорилирует 4 тирозиновых остатка цитоплазматического участка регуляторного адапторного белка LAT (*linker for activation of T cells*). Первый

тирозинный остаток создаёт «докинг» — участок для SH2-домена фосфолипазы PLC-γ, три остальных — для SH2-доменов адапторных белков Gads, Grap и Grb2. Результатом этого является фосфорилирование PLC-γ, расщепляющей фосфолипиды с образованием вторичных мессенджеров, что приводит к дегрануляции ТК и секреции цитокинов. Одновременно с этим происходит фосфорилирование адапторного белка SLP-76 и протеинкиназ MAPK, способствуя выживанию клетки. Агрегация FcεR1 в LAT^{-/-} ТК снижает фосфорилирование SLP-76, PLC-γ, мобилизацию Ca²⁺ и в конечном итоге — дегрануляцию и секрецию цитокинов. Протеинкиназы Fyn и Csk, присутствующие на рисунке, участвуют в регуляции сигнала, передаваемого от киназы Lyn. Ограничение процесса дегрануляции осуществляется с помощью фосфатазы SHIP1. При повышении концентрации АГ усиливается активация клетки и фосфорилирование этой фосфатазы, которая дефосфорилирует сигнальные молекулы и тем самым прекращает активационный процесс.

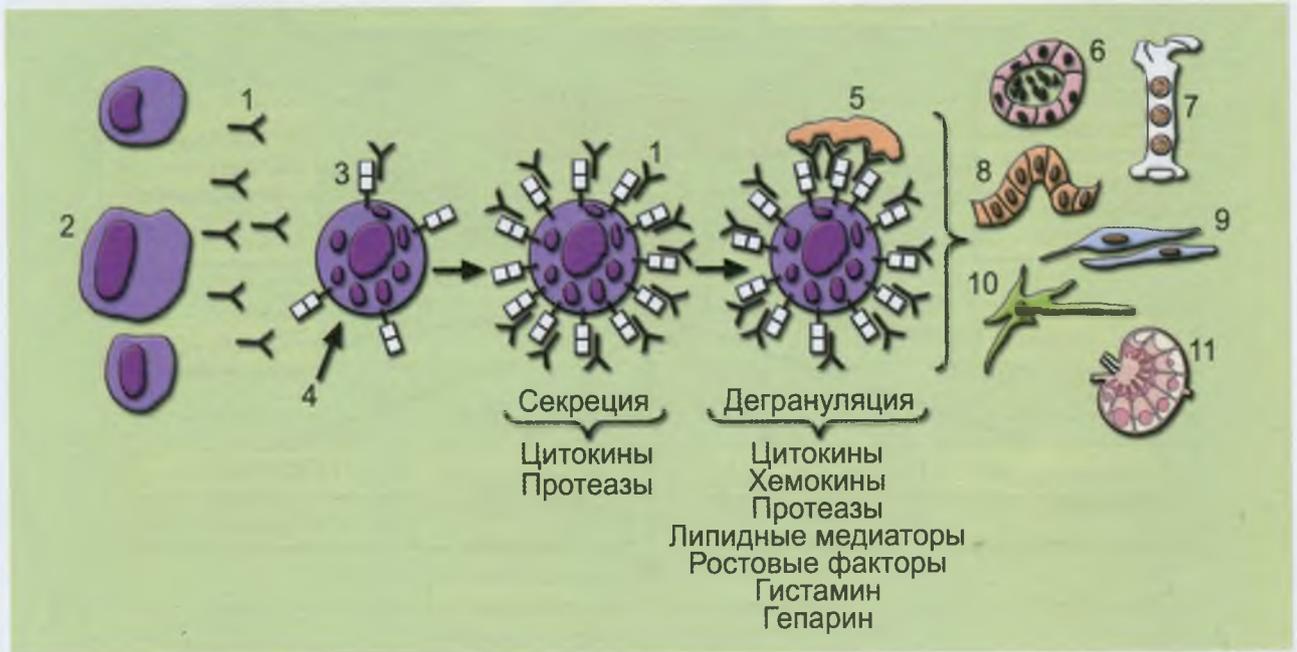


Рис. 40. Биологически активные вещества тучных клеток

IgE (1), синтезируемый плазматическими клетками (2), при взаимодействии с рецептором FcεR1 (3) ТК (4) существенно увеличивает его экспрессию. При этом может происходить низкого уровня агрегация FcεR1, сопровождающаяся секрецией цитокинов и протеаз.

При кросс-связывании FcεR1 поливалентным антигеном/аллергеном (5) повышается уровень агрегации этого рецептора, ведущий к дегрануляции ТК. При этом освобождаются преформированные биологически активные вещества, находящиеся в гранулах (гистамин, серотонин у мышей, триптаза, карбоксипептидаза А и чимазы (*chymases*), гепарин и другие протеогликаны) или *de novo* син-

тезированные липидные медиаторы (лейкотриены C4 и простагландин D2), тромбоцит-активирующий фактор (PAF), цитокины и ростовые факторы (IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IL-16, TNFα, bFGF, VPF/VEGF, TGFβ), хемокины (MIP-1 и MCP-1), участвующие в воспалении, во врождённом и адаптивном иммунном ответе, гемопоэзе, повреждении и восстановлении (*remodeling*) органов и тканей. Эти биологически активные вещества оказывают разнонаправленное влияние на эндотелий сосудов (6), гемопоэтические клетки (7), эпителий слизистых оболочек (8), мышечную ткань (9), нервную систему (10), лимфоидную ткань (11).



Рис. 41. Функции тучных клеток

Комплекс ферментов, липидных медиаторов, ростовых факторов, цитокинов и хемокинов, освобождающихся при дегрануляции ТК, оказывает как положительное, так и отрицательное воздействие на организм: играет ведущую роль в развитии воспаления, увеличивая проницаемость сосудов, вызывая развитие отёка, индуцируя инфильтрацию слизистых оболочек лейкоцитами, при бронхиальной астме — преимущественно эозинофилами. Вещества, выделяемые ТК, вызывают развитие острого или хронического воспаления, лежащего в основе всех аллергических заболеваний. В частности, при бронхиальной астме (на схеме не показана) продукты ТК являются главной причиной гиперре-

активности бронхов к холинергическим стимуляторам, пролиферации бронхиального эпителия и повышенной продукции слизи кубовидными клетками бронхов. В то же время ТК посредством выделения IL-10 в эксперименте существенно подавляют развитие в коже контактной гиперчувствительности. ТК оказывают положительное влияние при врождённом и адаптивном иммунитете, повышая устойчивость к бактериям и паразитам, осуществляя АГ-презентирующие функции. На ранних этапах инфекции ТК являются основным источником как преформированного, так и вновь синтезированного TNF α , что необходимо для быстрого и адекватного ответа лимфоидной ткани.

1.3.5. МОНОЦИТЫ/МАКРОФАГИ

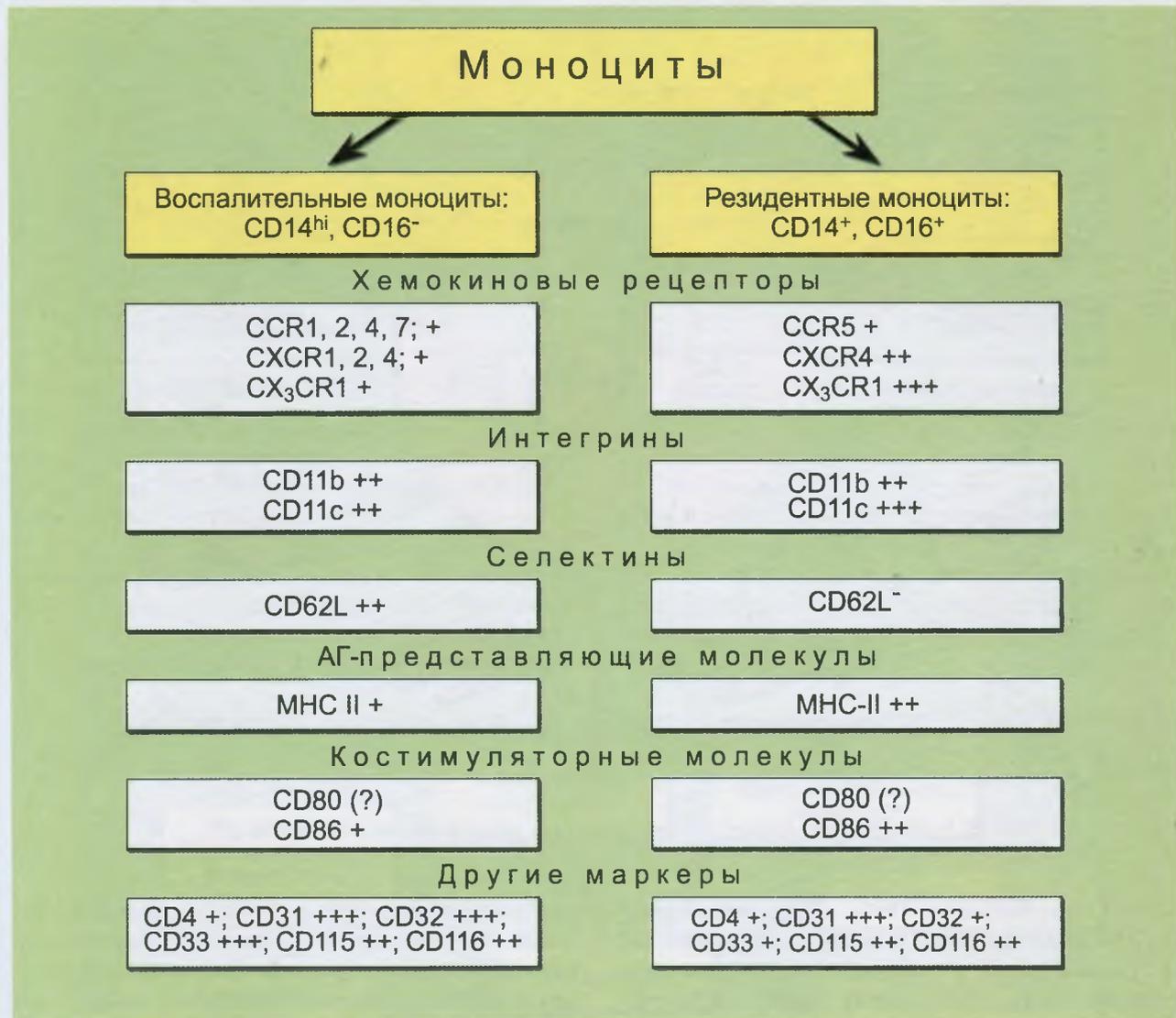


Рис. 42. Основные рецепторы моноцитов

Моноциты периферической крови подразделяются на воспалительные (CD14^{hi}CD16⁻) и резидентные (CD14⁺CD16⁺). Предполагают, что часть клеток первой субпопуляции мигрирует из крови в воспалительный очаг, где созревает в МФ. Другая часть этих клеток перемещается в регионарный лимфатический узел, где, вероятно, превращается

в ДК. Клетки второй субпопуляции довольно длительное время циркулируют в крови и затем мигрируют в селезёнку, лёгкие, печень, мозг и другие органы, где, по всей видимости, становятся резидентными ДК или МФ. Эти данные получены при переносе аналогичных субпопуляций моноцитов у мышей.

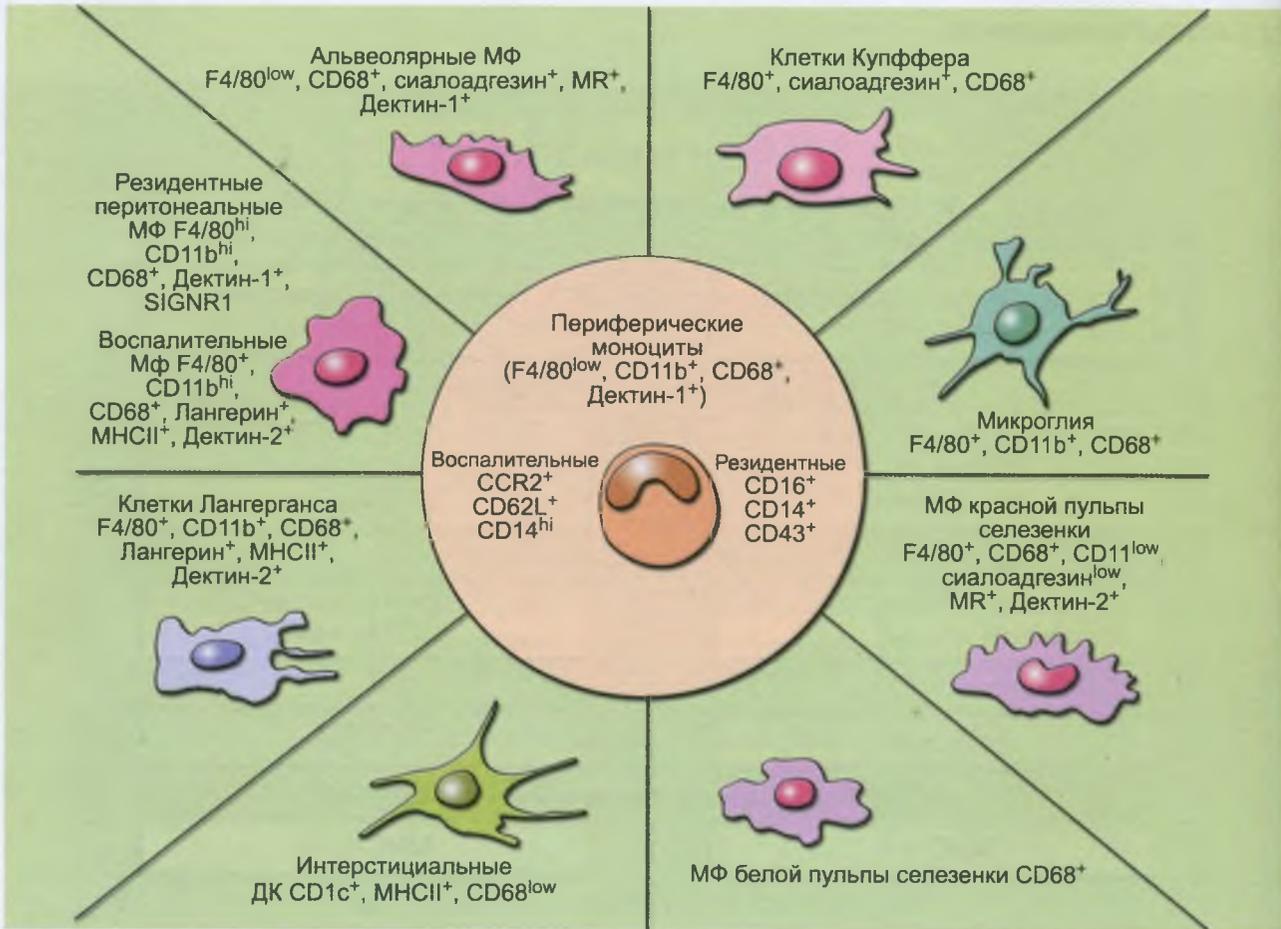


Рис. 43. Гетерогенность клеток, берущих начало от моноцитов (частично — по Taylor P.R. et al., 2005)

Тканевые макрофаги (МФ) и дендритные клетки (ДК) происходят от МН периферической крови. МФ локализуются в определённых участках лимфоидной ткани: медуллярных тяжах лимфатических узлов, красной и белой пульпы селезёнки. Клетки — производные МН — присутствуют практически во всех нелимфоидных органах: клетки Купффера в печени, микроглия нервной системы, альвеолярные МФ, клетки Лангерганса кожи, МФ слизистых оболочек и серозных полостей, остеокласты, интерстициальной ткани сердца, поджелудочной железы, почек (на рис. не показаны). МФ способствуют поддержанию гомеостаза, очищая организм от стареющих и апоптотических клеток, восстанавливая ткани после инфекции и травмы. МФ слизистых оболочек играют ведущую роль в защите организма. Для этого они снабжены набором

распознающих рецепторов, кислородозависимыми и кислородонезависимыми механизмами киллинга микроорганизмов. Существенное значение в защите организма от инфекции имеют альвеолярные МФ и МФ слизистых оболочек кишечника. Первые «работают» в относительно бедной опсонинами среде, поэтому они экспрессируют большое количество паттерн-распознающих рецепторов, включая скавенджер-рецепторы, маннозные рецепторы, β -глюканспецифические рецепторы, дектин-1 и др. (Более подробно о всех рецепторах данной иллюстрации см. на следующем рис.). При микробной инвазии в паразитарный очаг дополнительно мигрирует большое количество воспалительных МН, которые в зависимости от цитокинового окружения могут дифференцироваться в различные клеточные линии.

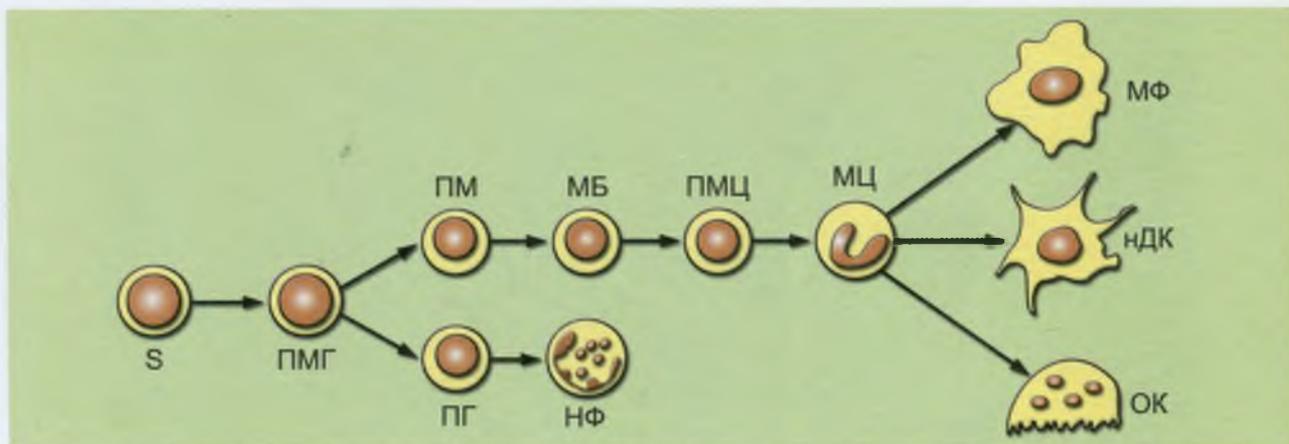


Рис. 44. Основные этапы развития макрофагов

МФ, так же как ДК и остеокласты (ОК), происходят из стволовой клетки костного мозга (S-клетки), которая даёт начало предшественникам моноцитов и гранулоцитов (ПМГ).

Под воздействием дифференцировочных стимулов (M-CSF для МН и G-CSF для гранулоцитов) ПМГ дифференцируется в предшественников моноцитов (ПМ) или нейтрофилов (ПН). Через стадии монобластов (МБ) и про-моноцитов (ПМЦ)

ПМ дифференцируется в моноцит (МН), который поступает в циркуляцию.

Моноциты составляют 5–10% периферических лейкоцитов. Они мигрируют в различные органы и ткани, где дифференцируются в МФ, незрелые ДК (нДК) и ОК. Сеть из МФ и ДК, расположенная под слизистой оболочкой различных органов и кожей, является первой линией обороны от микроорганизмов.

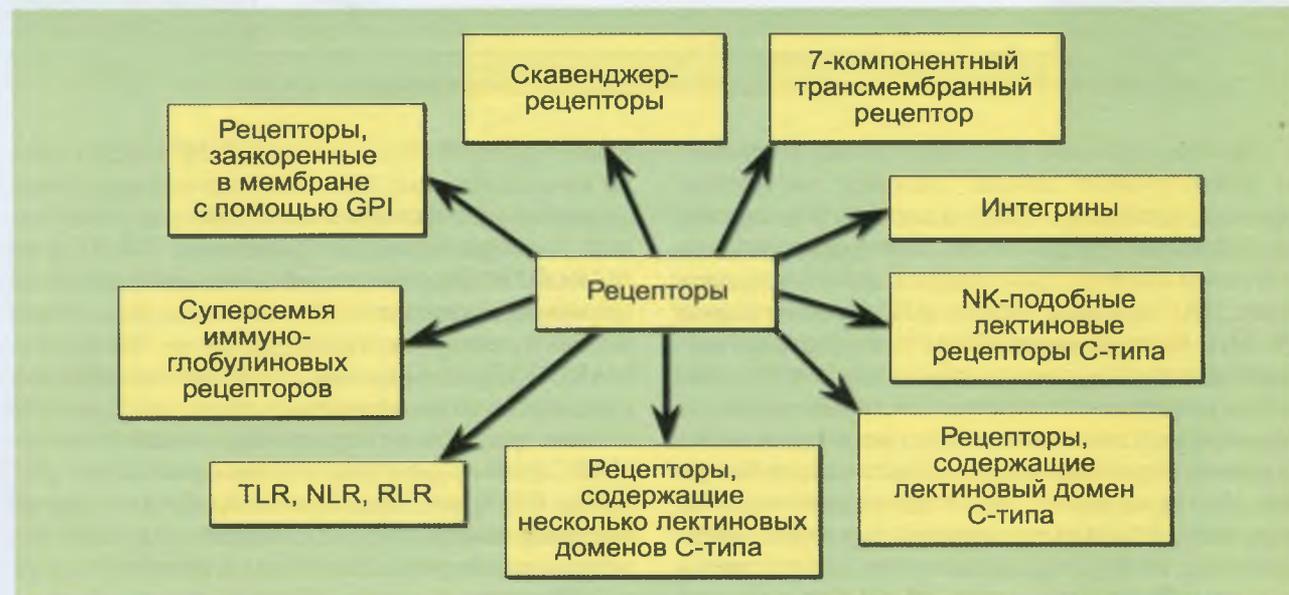


Рис. 45. Основные группы рецепторов макрофагов, распознающих чужеродные вещества

Более подробная информация о некоторых группах рецепторов представлена в последующих рисунках, исходные материалы для которых взяты из обзора R. Taylor et al., 2005.

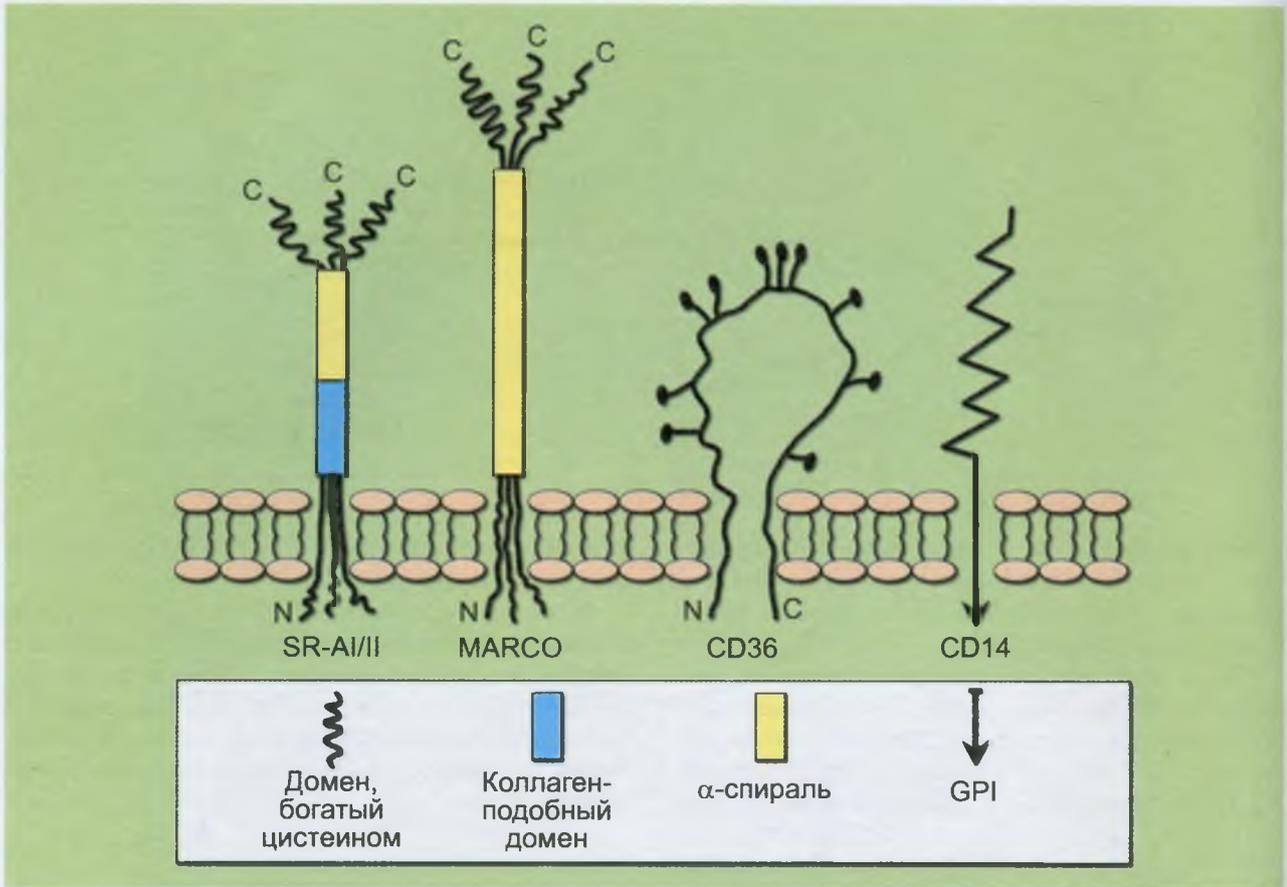


Рис. 46. Сканвенджер-рецепторы и рецепторы, родственные им функционально

Трансмембранные рецепторы SR-AI/II состоят из внеклеточного домена, богатого цистеином, коллагенподобного домена и домена, состоящего из α -спирали. Эти рецепторы экспрессируются на МФ, в том числе на альвеолярных, небольшом проценте ДК, за исключением МН. Первоначально SR-AI/II были обнаружены как рецепторы для модифицированных липопротеинов низкой плотности и различных полиионов, включая липид А. Затем было установлено, что эти рецепторы также участвуют в распознавании и поглощении бактерий. Опыты на мышах, нокаутированных по этому рецептору, показали его значимость в защите организма от инфекций, вызываемых *Listeria monocytogenes* и *Staphylococcus aureus*. MARCO (*macrophage receptor with collagenous structure*) является рецептором МФ и ДК, родственным SR-A. Внеклеточный домен этого рецептора, так же как и SR-AI/II, богат цистеином и распознаёт различные лиганды.

Рецептор MARCO экспрессируется конститутивно на альвеолярных МФ, МФ маргинальной зоны селезёнки и на части тканевых МФ. Альвеолярные МФ, экспрессирующие рецепторы SR-AI/II и MARCO, играют важную роль в защите лёгких от патогенов и аллергенов. В частности, после аэрозольного введения овальбумина у SR-I/II- и MARCO-дефицитных мышей значительно быстрее развивается эозинофильное воспаление бронхолегочного тракта, чем у нормальных мышей. Рецептор MARCO также участвует в прилипанию МФ к субстрату. CD36 имеет форму дугообразной молекулы, ассоциированной с липидными рафтами. CD36 является рецептором к фосфатидилсерину и участвует в фагоцитозе апоптотических клеток. В этом процессе задействовано большое количество других рецепторов, в том числе CD14, рецептор для витронектина, рецепторы для комплемента (CR3 и CR4) и др. (на рис. не показаны).

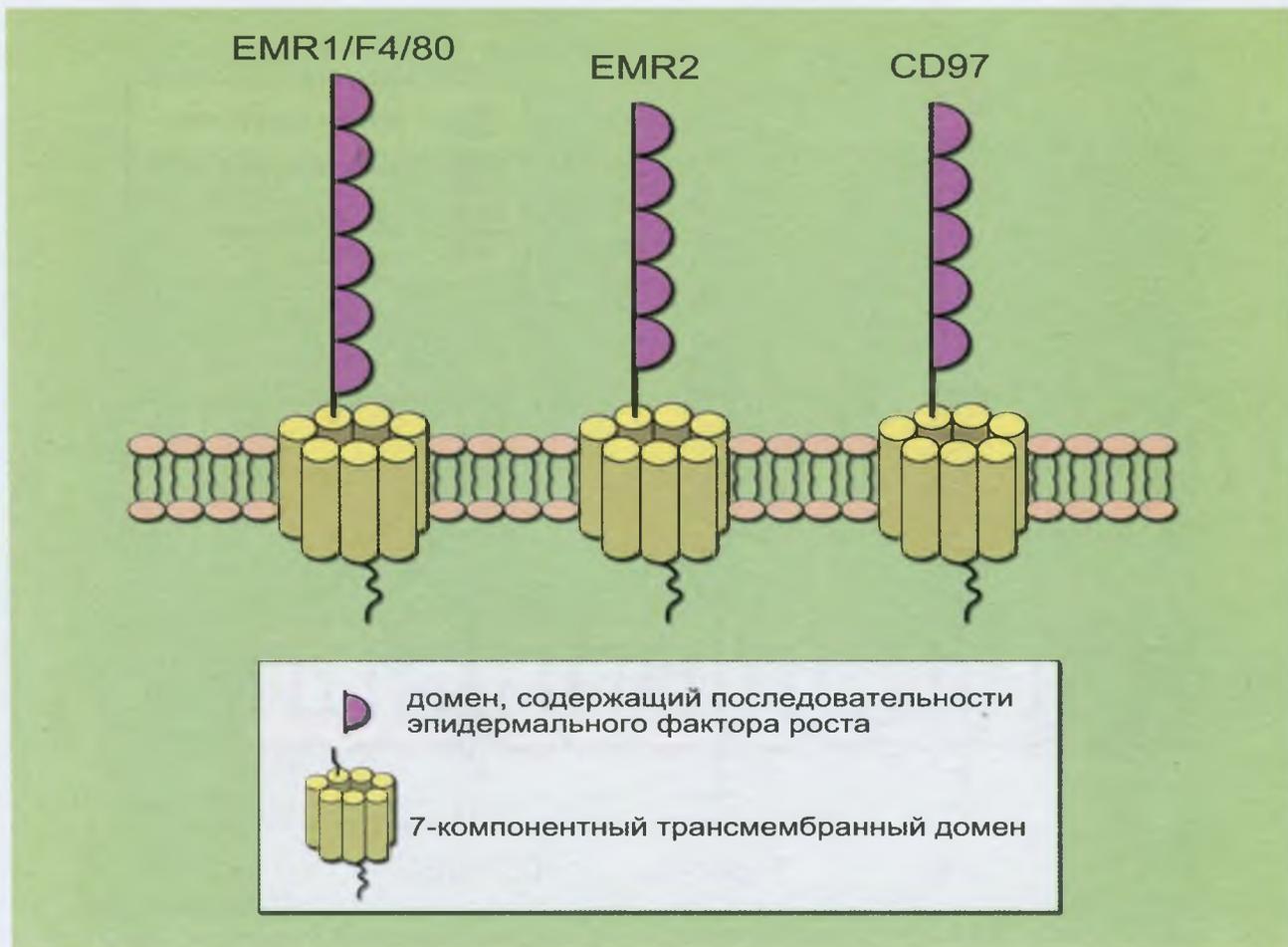


Рис. 47. Семья 7-компонентных трансмембранных рецепторов (ТМ-7)

Семья 7-компонентных трансмембранных рецепторов (ТМ-7) состоит из рецепторов EMR1, 2, 3, 4 (последние два на рис. не показаны) и CD97. Эти рецепторы содержат большой внеклеточный домен, содержащий несколько последовательностей, идентичных эпидермальному фактору роста (EGF). Этот домен связан с мембранным доменом, состоящим из семи идентичных фрагментов, проводящих сигнал. ТМ-7 передаёт разнообразную информацию, идущую от микроорганизмов и их АГ, пептидов, липидов, ионов и пр. Одним из основных представителей ТМ-7 является EMR1 (*EGF-modulate-containing mucin-like hormone receptor*). EMR1 обладает шестью EGF-подобными фрагментами во внеклеточном домене. Этот рецептор экспрессируется с высокой плотностью на моноцитах и макрофагальных линиях. EMR-1 имеет около 70% гомологии с мышинным ре-

цептором F4/80, считающимся специфическим маркером тканевых МФ. Функциональная роль F4/80 неизвестна. EMR2 содержит пять, EMR3 и EMR4 содержат по два EGF-подобных домена. EMR2, родственник ему CD97 и EMR3 экспрессируются на НФ и МФ, EMR4 — преимущественно на МФ. Этот рецептор играет ключевую роль в миграции МН и нейтрофилов в воспалительный очаг. При ревматоидном артрите синовиальные МФ экспрессируют высокие уровни CD97. При рассеянном склерозе микроглия, инфильтрирующие МФ и Т-клетки также экспрессируют повышенные количества CD97. Важно отметить, что при рассеянном склерозе на эндотелии сосудов экспрессируется молекула CD55, являющаяся лигандом для CD97. Это может быть одной из причин повышенной миграции МН и МФ в воспалительный очаг при рассеянном склерозе.

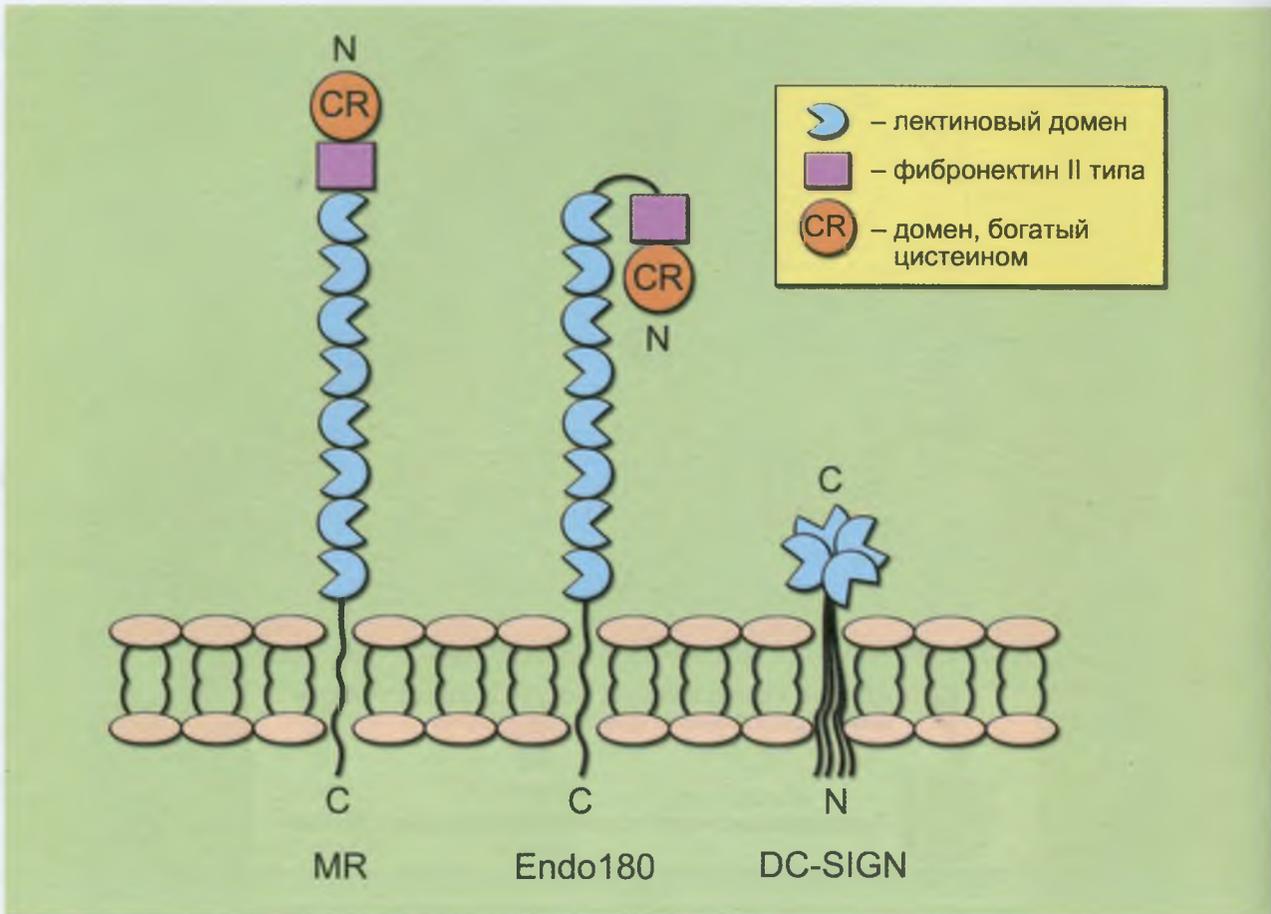


Рис. 48. Рецепторы, содержащие один или несколько лектиновых доменов С-типа

Рецепторы этой группы содержат лектино-подобный домен С-типа, распознающий углеводы. В группу входит рецептор DC-SIGN, содержащий одну лектиновую группу, и рецепторы MR (маннозный рецептор) и Endo180, содержащие по восемь лектиновых групп. DC-SIGN является мембранной молекулой II типа. Этот рецептор экспрессируется на альвеолярных МФ и МФ плаценты, а также на зрелых и незрелых ДК практически во всех органах. Лигандами для DC-SIGN являются молекулы ICAM-2 и ICAM-3, и этот рецептор принимает участие в миграции ДК. DC-SIGN также взаимодействует с рядом бактерий, грибов, простейших, вирусов и гельминтов. Участвует в интернализации АГ ДК и представлении АГ Т-клеткам. MR (CD206)

был идентифицирован как рецептор, удаляющий лизосомальные гидролазы из кровотока. Он экспрессируется практически на всех типах МФ, а также на эндотелии, гладких мышечных клетках и др. MR с высокой аффинностью Ca^{2+} -зависимым образом связывается с маннозой, фукозой, N-ацетилглюкозамином. Вероятно, главной физиологической функцией MR в норме является очищение организма от гликопротеинов. Кроме этого MR участвует в интернализации и представлении АГ. Endo180 экспрессируется на фибробластах, эндотелии и МФ. Подобно MR Endo180 связывается с маннозой, фукозой и N-ацетилглюкозамином. Фибронектиновый домен взаимодействует с коллагеном и транспортирует его в лизосомы.

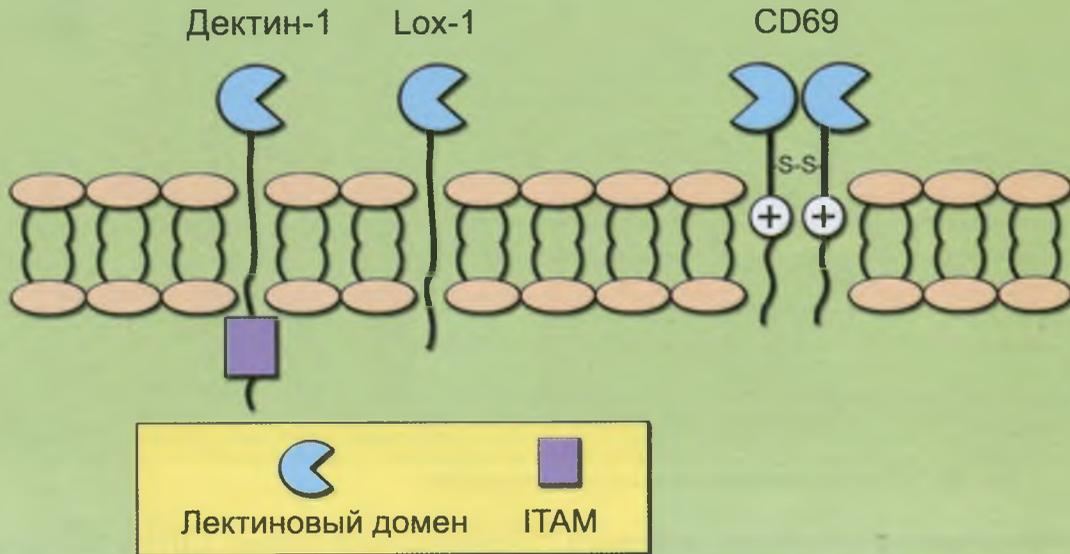


Рис. 49. NK-подобные лектиновые рецепторы С-типа (NKCL)

Семья NK-подобных лектиновых рецепторов С-типа (NKCL) является трансмембранными рецепторами II типа, состоящими из лектинового (углеводсвязывающего) домена, мембранной и цитоплазматической частей. Эта семья включает рецепторы CD69, Lox-1, Дектин-1, NKRP1, Ly49 (у мышей), NKG2D, CD94 (последние 4 рецептора на рис. не представлены). Ряд рецепторов семьи NKCL экспрессируется только на NK-клетках и определённых субпопуляциях Т-клеток (Ly49 и NKG2). Сигналы, идущие от Ly49, NKG2 и NKRP1, индуцируют цитотоксичность. Для МФ более характерной является экспрессия Дектин-1, Lox-1 и CD69. Дектин-1 экспрессируется преимущественно на НФ и МФ. Он распознает углеводы [β -глюканы растительного, бактериального, грибкового происхождения (*Candida albicans*) и простейших (*Pneumocytis carinii*)]. Дектин-1 посылает в ядро клетки стимулирующий сигнал, ведущий к фагоцитозу, «кислородному взрыву», синтезу цито-

кинов и антимикробных пептидов. Этот рецептор также кооперирует с TLR2. Lox-1, помимо МФ, экспрессируется на фибробластах, гладких мышечных клетках, эндотелии, тромбоцитах, он не имеет сигнального мотива в цитоплазматической части. Lox-1 распознает модифицированные липиды, стареющие и апоптотические клетки, белки теплового шока, бактерии. Несмотря на отсутствие сигнального мотива, Lox-1 инициирует эндоцитоз липидов и фагоцитоз, синтез цитокинов и образование АФК. CD69 (на рис. не показан) впервые был идентифицирован как активационный маркер лимфоцитов. CD69 экспрессируется также на МФ, НФ, моноцитах под влиянием цитокинов и микробных агентов. Этот рецептор является гомодимером, связанным дисульфидными мостиками, с типичной структурой молекул семьи NKCL. Активация МФ через CD69 ведёт к повышению уровня Ca^{2+} в цитоплазме, синтезу NO, развитию цитотоксичности, синтезу цитокинов.

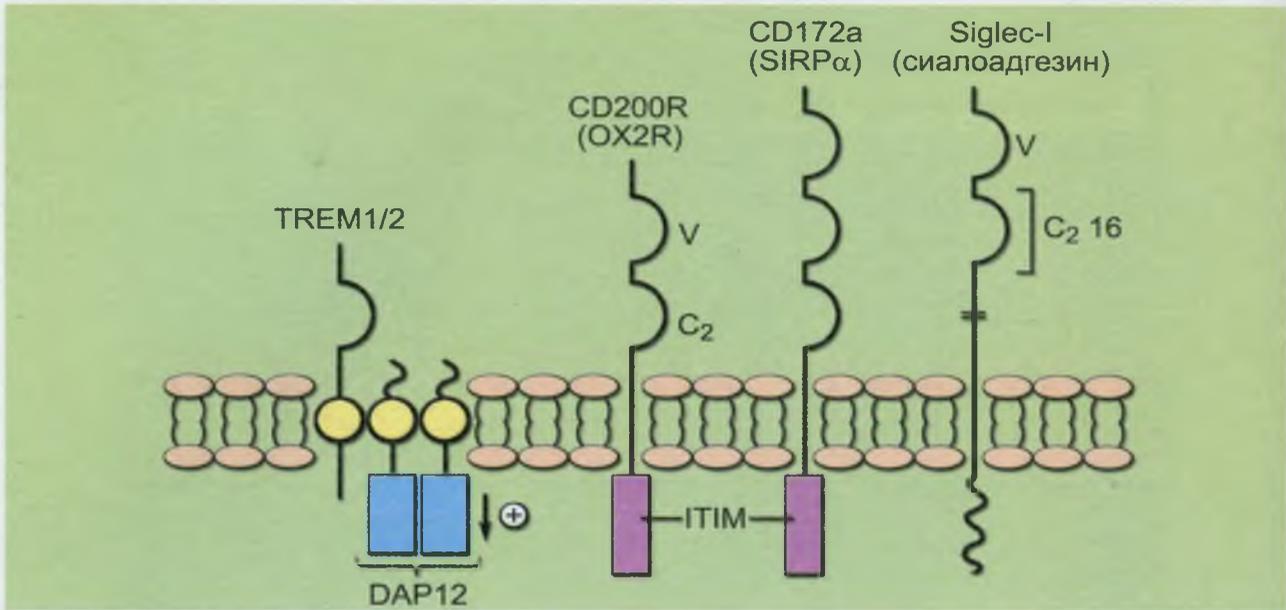


Рис. 50. Суперсемья иммуноглобулиновых рецепторов

К суперсемье иммуноглобулиновых рецепторов относят FcR (представлены в разделе «Нейтрофилы»), TREM, CD200R, CD172a, Siglec. Семья TREM (*triggering receptors expressed by myeloid cells*) состоит из двух рецепторов, содержащих один внеклеточный иммуноглобулиноподобный домен. Внутри ЦПМ TREM1/2 электростатически взаимодействует с адапторной молекулой DAP12, передающей стимулирующий сигнал. TREM1 экспрессируется на моноцитах/макрофагах и НФ. Активация этого рецептора ведёт к синтезу IL-8, хемоаттрактантов MCP1, CCL2, MCP3, MIP1- α , а также к дегрануляции НФ. TREM2 экспрессируется на ДК, остеокластах, микроглии и олигодендроцитах. Мутации в адапторе DAP12 этого рецептора способствуют развитию редкого заболевания — болезни Насу–Накола, которая характеризуется развитием цист в мозге и деменцией. CD200R содержит два иммуноглобулиноподобных внеклеточных домена. Цитоплазматический участок содержит ITIM-мотив, который ассоциируется с фосфатазой SHIP, приводя к ингибиторному сигналу. Лигандом CD200R является молекула CD200. Мыши, дефектные по CD200, дают при иммунизации повышенное формирование экспериментального аллергического энцефаломиелита. По всей видимости, взаимодействие CD200–CD200R играет роль в предотвращении развития аллергических и аутоиммунных пора-

жений нервной системы. CD172a (SIRP α) содержит три внеклеточных иммуноглобулиновых домена. Внутриклеточный участок содержит ITIM-домен. Лигандом для этого рецептора является CD47, экспрессируемый на большинстве клеток миелоидного происхождения. Взаимодействие CD172a и CD47 подавляет Fc γ -опосредованный фагоцитоз. Семья Siglec включает Siglec-1 (сиалоадгезин), Siglec-3 (CD33) и Siglec-5, осуществляющие распознавание сиаловых кислот. Эти рецепторы содержат V- и C2-домены молекулы иммуноглобулина. Siglec-1 содержит 17 доменов: один V-типа и 16 доменов C2-типа. Высокий уровень этой молекулы экспрессируется на МФ лимфоидных органов, особенно селезёнки. Молекулы CD33 и другие родственные соединения, продуцируемые на МФ, имеют два иммуноглобулиноподобных домена (на рис. не показаны). CD33 содержит в цитоплазматической части ингибиторный ITIM-мотив. Поскольку он расположен рядом с Fc γ RI, то может подавлять активацию МФ, опосредуемую через этот рецептор. На моноцитах/макрофагах экспрессируются иммуноглобулиноподобные рецепторы ILT/LIR/MIR (на рис. не представлены), родственные рецепторам NK-клеток (KIR) и распознающие МНС II класса. Часть этих рецепторов содержит ITIM-мотивы, другие — ITAM, т.е. эти рецепторы могут передавать как ингибиторный, так и стимулирующий сигнал.

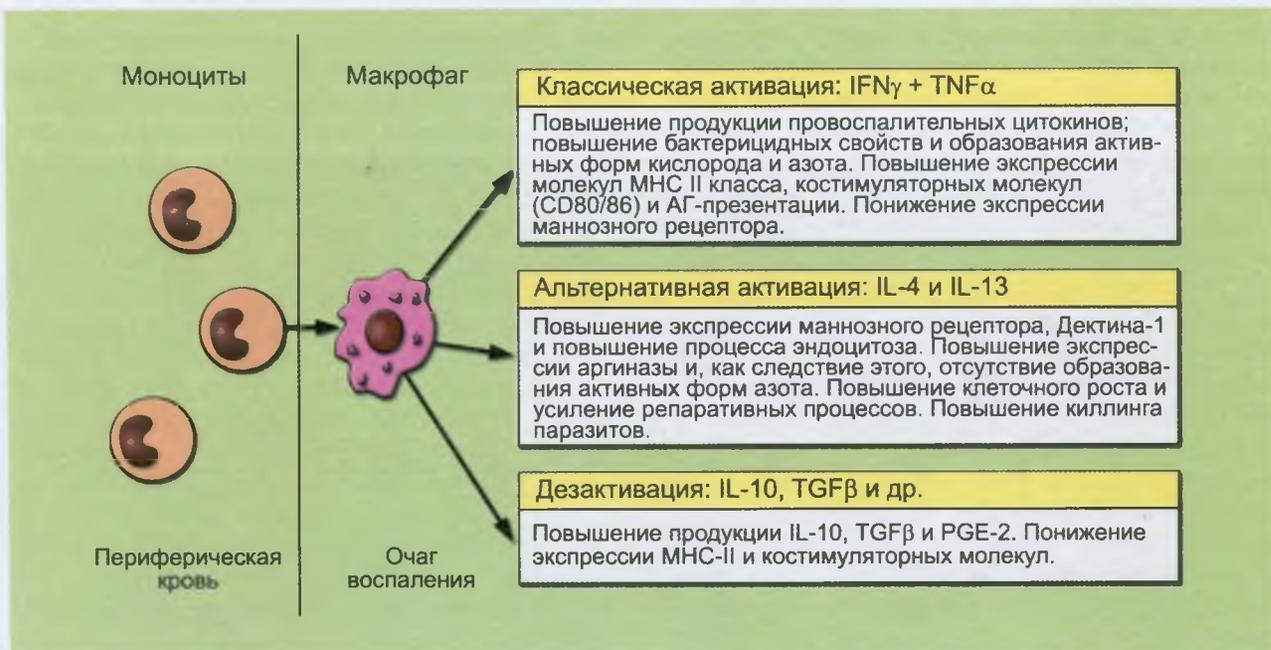


Рис. 51. Различные типы активации макрофагов

Моноциты/макрофаги, мигрировавшие из крови в очаг воспаления (Gordon S., Taylor P.R., 2005), могут подвергаться классической активации, опосредованной $IFN\gamma$ и $TNF\alpha$ альтернативной активации, опосредованной IL-4/IL-13, и дезактивации, опосредованной IL-10, $TGF\beta$. Все эти типы активации МФ могут развиваться в воспалительном очаге как одновременно, так и последовательно. В классическом виде этот процесс запускается $IFN\gamma$ и TNF , индуцируемыми микроорганизмами и PAMP, и направлен на элиминацию патогена. Эта активация усиливается провоспалительными цитокинами, синтез которых МФ начинается в первые часы после микробной инвазии. Образование IL-1 β , $TNF\alpha$, $IFN\gamma$ и других провоспалительных цитокинов необходимо также для активации антигенпрезентации и развития адаптивного иммунного ответа. Одновременно с этими событиями синтезируются противовоспалительные цитокины IL-4/IL-13 ТК, базофилами и позднее Th2-клетками. Эти цитокины понижают синтез $IFN\gamma$. Благодаря активации аргиназы, которая конкурирует с индуцибельной NO-синтазой, подавляется

образование активных форм азота. Таким образом, противовоспалительный эффект IL-4/IL-13 связан с активацией другой группы генов по сравнению с микробной или $IFN\gamma$ -активацией, что и явилось основанием назвать этот тип активации альтернативным. В частности, IL-4/IL-13 повышают экспрессию на МФ лектиноподобных рецепторов типа маннозного рецептора и Дектина-1, в результате чего усиливается эндоцитоз. Процессы, вызываемые IL-10, называются дезактивацией. Если противовоспалительный эффект IL-4/IL-13 является умеренным, то IL-10 вызывает полное ингибирование эффекта провоспалительных цитокинов. МФ являются не только важным источником IL-10, но и его мишенью. IL-10 изменяет морфологию МФ, делая их округлыми, подавляет экспрессию МНС II класса и образование активных форм кислорода и азота. Одновременно с этим блокирует экспрессию маннозного рецептора и эндоцитоз. Спектр генов, активируемых IL-4/IL-13 и IL-10, является различным. Эффект дезактивации может также вызвать $TGF\beta$ и взаимодействие CD172-CD47 и CD200R-CD200.

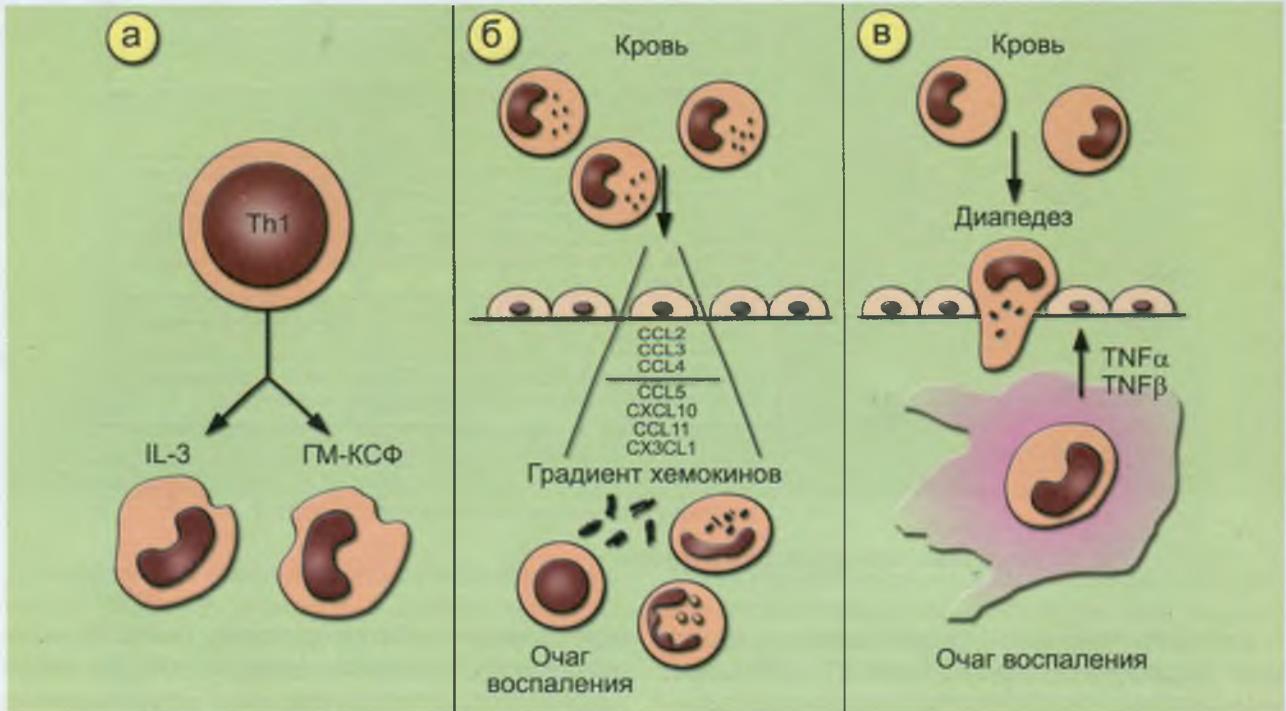


Рис. 52. Начальные этапы фагоцитоза бактерий моноцитами/макрофагами

а. GM-CSF и IL-3 синтезируются активированными Th1-клетками. Они индуцируют созревание МН в костном мозге и их миграцию в кровяное русло, обуславливая лейкоцитоз при развитии инфекционного процесса.

б. В месте входных ворот инфекции развивается очаг воспаления. МН/МФ, активированные микроорганизмами, синтезируют хемокины CCL2 (MCP-1), CCL3 (MIP-1 α), CCL4 (MIP-1 β), которые стимулируют моноциты периферической крови и направляют их миграцию в очаг воспаления. Процесс взаимодействия МН с эндотелием идентичен таковому для НФ. В воспалительном очаге под влиянием провоспалительных цитокинов активируются клетки эндотелия сосудов, фибробласты, кератиноциты и другие, которые участвуют в образовании ряда хемокинов CCL5 (Rantes), CXCL10 (IP-10), CCL11 (Eotaxin), CX3CL1 (фракталкин) и пр., являющиеся хемоаттрактантами для МН.

в. Основную роль в процессе пересечения МН/МФ эндотелиального барьера играют TNF α и TNF β , синтезируемые в воспалительном очаге как активированными МФ, так и Th1-клетками. Эти цитокины повышают экспрессию молекул адгезии как на клетках эндотелия, так и на МН/МФ.

Внутриклеточный киллинг поглощённых бактерий в МФ, также как и НФ, происходит в фагосомах. Но процессы созревания фагосомы у НФ и МФ имеют различия. После образования состав фагосомы не отличается существенно от состава окружающей среды и, следовательно, не обладает бактерицидностью. Но сразу после образования начинается её взаимодействие с эндосомами. Важную роль в этом процессе принимает многочисленная семья малых GTP-аз семейства Rab, которые направляют движение, прилипание и слияние везикул в клетке. Белки Rab находятся в двух состояниях: неактивном и активном. В неактивном состоянии белки Rab связаны с GDP и находятся в цитоплазме в комплексе с ингибиторным белком RabGDI (*GDP-dissociation inhibitor*). При активации клетки в процессе фагоцитоза белки Rab освобождаются от ингибитора и взаимодействуют с фактором GEF (*guanine nucleotide-exchange factor*), который заменяет GDP на GTP и переводит эти белки в активное состояние. После интернализации корпускулы в мембрану фагосомы внедряется белок VPS-34 (фосфоинозитид 3-киназа — PI3K), образующий фосфатидил-инозитол-3-фосфат — PI3P. Белок VPS-34 является сайтом для прикрепления к мембране Rab5-GDF. На поверхности фагосомы образуется комплекс из VSP-34 и Rab CDF. Этот комплекс привлекает к фагосоме фактор GEF, который активирует Rab5, превращая GDF в GTF. Этот процесс происходит сразу после интернализации (условно 0 мин), т.е. после смыкания псевдоподий. Сразу после интернализации в мембрану фагосомы также внедряется p47 GTP-аза, которая участвует в киллинге ряда внутриклеточных возбудителей. Образование активированной GTP-азы Rab5 делает фагосому способной к взаимодействию с двумя видами ранних Rab5⁺-эндосом: сортирующими и рециркулирующими. Сначала происходит её взаимодействие с сортирующими (*sorting*), а затем с рециркулирующими (*recycling*) эндосомами, с которыми она обменивается поглощённым материалом. Сортирующие эндосомы имеют тубулярно-вези-

кулярную форму и характеризуются наличием трансферриновых рецепторов (TIR) и антигена EEA1 (*early endosome antigen*). Содержимое этих эндосом является слабокислым (pH ~ 6,0) и содержит мало протеаз. Иными словами, деградации захваченного лиганда на этих этапах фагоцитоза не происходит. В мембране фагосомы в результате деятельности PI3K накапливается в большом количестве мессенджер PI3P. Уже через 1–2 мин после смыкания псевдоподий мембрана фагосомы содержит его большое количество. Этот мессенджер способен связываться с доменами, содержащимися в ряде белков созревания фагосом: EEA1, рабенозине-5, адапторном белке Hzs, нексинах. Накопление в фагосоме PI3P служит сигналом для следующего этапа созревания фагосомы. На 10-й минуте в мембрану фагосомы из цитозоля привлекается Rab7. Это происходит в результате образования комплекса Rab5, эффекторной молекулы рабенозина-5 и мессенджера PI3P. Этот комплекс привлекает в фагосому Rab7, что делает возможным её взаимодействие с Rab7⁺-поздними эндосомами. Поздние эндосомы имеют мультивезикулярную структуру, являются более кислыми (pH ~ 5,5), чем ранние эндосомы, и содержат протеолитические ферменты. Помимо Rab7 они характеризуются наличием Rab9, маннозо-6-фосфатного рецептора белков LAMPs (*lysosomal-associated membrane proteins*) и лизобифосфатидиловой кислоты. Образуется поздняя фагосома, характеризующаяся наличием ряда маркёров поздних эндосом, более кислым содержимым и, следовательно, определёнными микробицидными свойствами. На 40-й минуте фагосома приобретает новый маркёр LAMP1 (CD107a) и сливается с Rab7⁺-лизосомами. Лизосомы характеризуются более кислым pH (<5,5), высоко активными протеазами (с маркёрным белком катепсином D) и липазами, наличием белков семейства LAMPs. Лизосомы МФ в известной степени похожи на азурофильные гранулы нейтрофилов, но не являются идентичными им. Возникает образование фаголизосомы, где и происходит деградация поглощённой корпускулы.

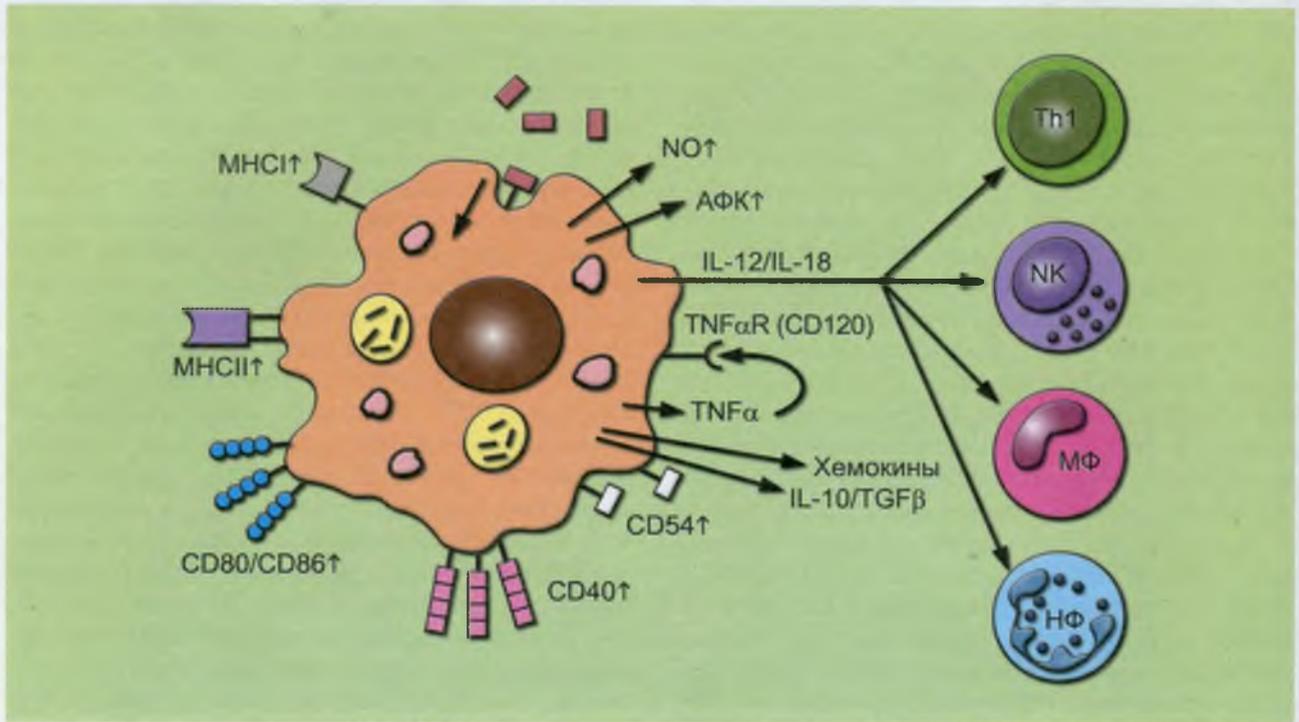


Рис. 53. Активированный макрофаг

В процессе фагоцитоза происходит активация МФ. Это проявляется в ряде клеточных событий, ведущих к повышению двух важных функций МФ: бактерицидной и антигенпрезентирующей способности. При активации МФ происходит «кислородный взрыв», в результате которого образуются активные формы кислорода и азота (NO), обладающие антимикробной активностью. Резко усиливается экспрессия молекул МНС I и II класса и ко-стимулирующих молекул (CD40, CD54, CD80/86), в результате чего существенно повышается способность МФ представлять АГ Т- и В-клеткам. Активированные МФ синтезируют ряд провоспа-

лительных ($TNF\alpha$, $IL-1\beta$, $IL-6$, $IL-12$, $IL-18$, $GM-CSF$ и др.) и противовоспалительных ($IL-10$, $TGF\beta$) цитокинов, а также ряд хемокинов (см. предыдущий рис.), $IL-12$ направляет дифференцировку наивных Т-хелперов по Th1-пути, повышает также функциональную активность NK-клеток, НФ и МФ. $TNF\alpha$, синтезируемый МФ, может аутокринно взаимодействовать с $TNFR$, экспрессируемым на той же клетке, повышая функциональную активность МФ. Важным свойством $TNF\alpha$ является его способность повышать образование NO, что приводит к дальнейшему повышению бактерицидных свойств МФ.

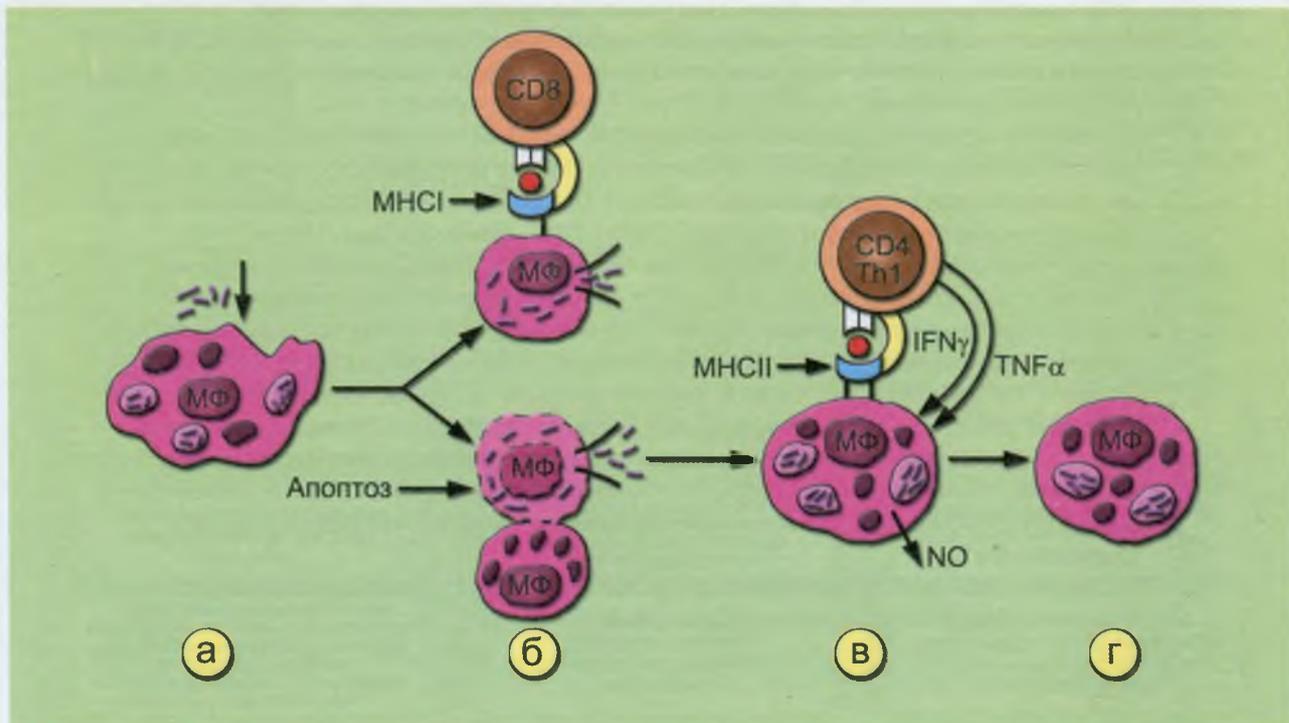


Рис. 54. Киллинг макрофагами *M. tuberculosis*

а. Основными рецепторами, с помощью которых *M. tuberculosis* проникает в МФ, являются маннозный рецептор и интегрин CD11b/CD18. Как и многие внутриклеточные микроорганизмы, *M. tuberculosis* не погибает в интактных МФ. Эти бактерии подавляют образование активных форм азота и созревание фагосом. Созревание фагосом, содержащих *M. tuberculosis*, останавливается на ранней стадии. В фагосоме сохраняется рН 6,4. В её мембрану после интернализации *M. tuberculosis* внедряется белок Rab5, необходимый для слияния с эндосомами. Такая фагосома в принципе способна сливаться с другими эндосомами. Рециркуляция трансферрина между ранними эндосомами и фагосомами свидетельствует о нормальном функционировании эндосомального аппарата. Но главного события в созревании фагосомы – её слияния с лизосомами – не происходит. Этот процесс блокируется веществами *M. tuberculosis*: липоарабиноманнаном, димикололатом трегалозы и сульфолипидами. Кроме того, *M. tuberculosis* синтезирует фосфатазу SapM. Предполагается, что эта фосфатаза дефосфорилирует мессенджер PI3P, создающий в мембране фагосомы сайты для прикрепления ряда белков, участвующих в её созревании (см. рис. 53). Важную роль в подавлении слияния играет и характер расположения *M. tuberculosis* в фагосоме. Оказывается, что наиболее сильная ингибция слияния наблюдается при плотном прикреплении бактерии к мембране фагосомы. Всё это ведёт к тому, что *M. tuberculosis* в фагосоме размножаются, разрушают её и выходят в цитозоль клетки.

б. В цитозоле клетки микобактерии продолжают размножаться. Устанавливается хроническое инфицирование клетки. Инфицированная клетка может подвергнуться лизису в результате взаимодействия с антиген-специфическими $CD8^+$ Т-киллерами, распознающими антигены микобактерий в комплексе с молекулой МНС I класса. Микобактерии оказываются вне клетки и могут фагоцитироваться новыми макрофагами. Хронически инфицированная клетка может подвергнуться апоптозу, и микобактерии также могут оказаться вне клетки. Апоптотические макрофаги подвергаются фагоцитозу новыми макрофагами.

в. Наиболее успешным фагоцитоз микобактерий будет в случае захвата микобактерий активированными макрофагами. Оптимальная активация макрофагов достигается при их взаимодействии с антиген-специфическими $CD4^+$ Th1-клетками. Главную роль в активации макрофагов играют три фактора: CD40-CD40L-взаимодействие, $IFN\gamma$ и $TNF\alpha$, синтезируемые Th1-клетками. МФ, активированные $IFN\gamma$, преодолевают негативное влияние микобактериальных АГ на процесс созревания, и происходит слияние фагосомы и поздних эндосом/лизосом. Это ведёт к быстрому закислению фаголизосомы и процессированию незрелых гидролаз, вызывающих гибель *M. tuberculosis*. В работах Russell et al. (2007) показано, что лизосомы, извлечённые из активированных МФ, вызывают *in vitro* гибель *M. tuberculosis*. За этот процесс ответственны пептиды, образующиеся из убиквитина под влиянием лизосомальных гидролаз катепсина В или L (данные Russell et al. на рис. не представлены). Оксид азота, образующийся в МФ под влиянием $IFN\gamma$ и $TNF\alpha$, усиливает киллинг *M. tuberculosis* под влиянием содержимого фаголизосомы.

г. Под влиянием комплекса токсических веществ, образующихся в фаголизоме активированных МФ, происходит гибель *M. tuberculosis*.

1.3.6. ДЕНДРИТНЫЕ КЛЕТКИ

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

Дендритные клетки (ДК) — это специализированные антигенпрезентирующие лейкоциты, способные активировать как наивные Т-клетки, так и Т-клетки памяти и не выполняющие значимых эффекторных функций. В 1970-е гг. американские учёные Штайман, Кон и соавт. открыли и охарактеризовали ДК в лимфоидных тканях. Своё название ДК получили по типичной отростчатой морфологии (*dendron* — дерево). Для ДК характерно отсутствие или низкая экспрессия основных линейных маркеров Т-клеток (CD3), В-клеток (CD19 и CD20), МН (CD14), НК-клеток (CD16/CD56). Имеется небольшая субпопуляция миелоидных ДК, экспрессирующих слабо CD56. Некоторые авторы причисляют к ДК также CD14⁺CD16⁺ моноциты крови.

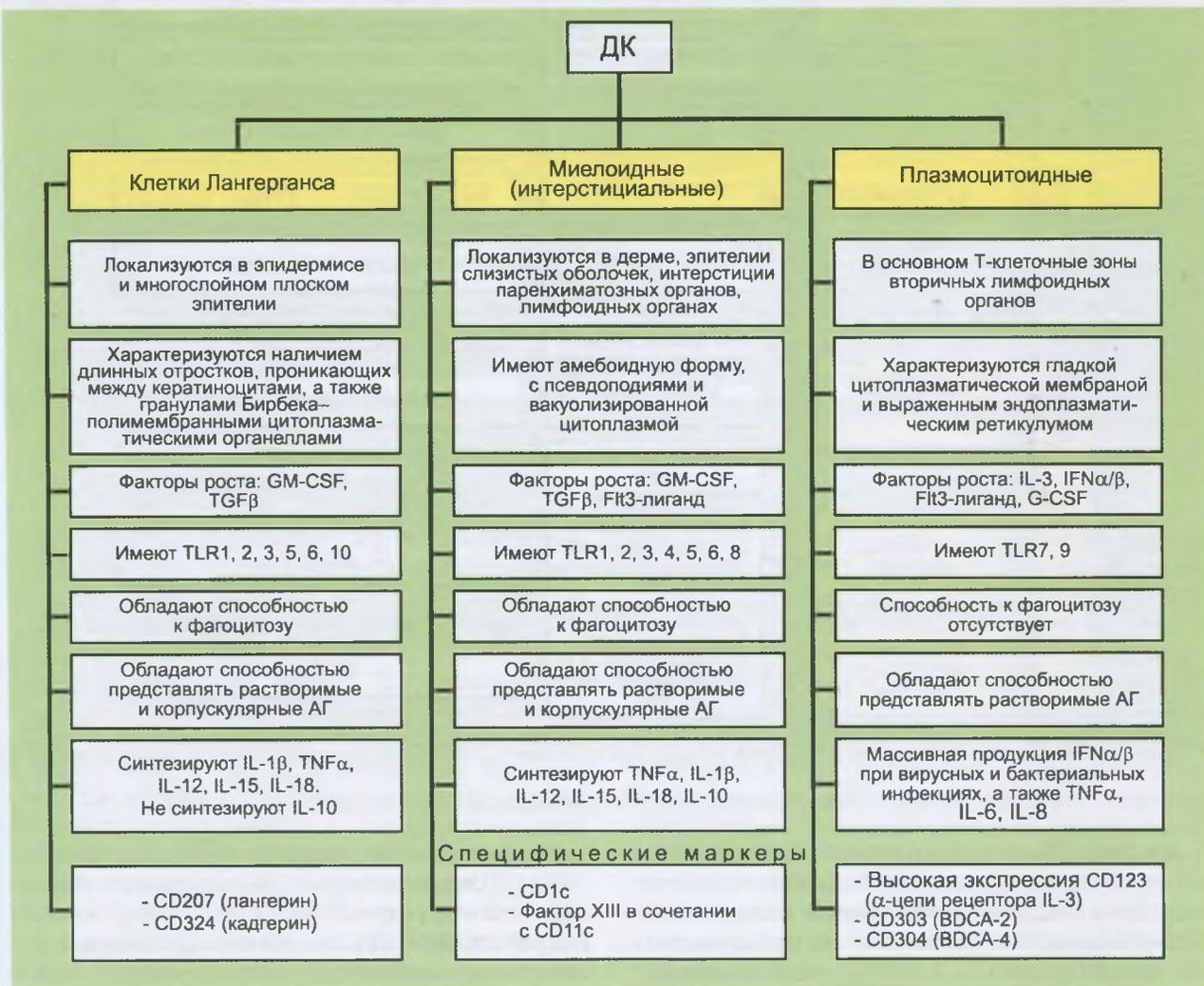


Рис. 55. Основные субпопуляции дендритных клеток

На рисунке представлены свойства трёх основных субпопуляций ДК: клетки Лангерганса, миелоидные и плазмоцитоидные.

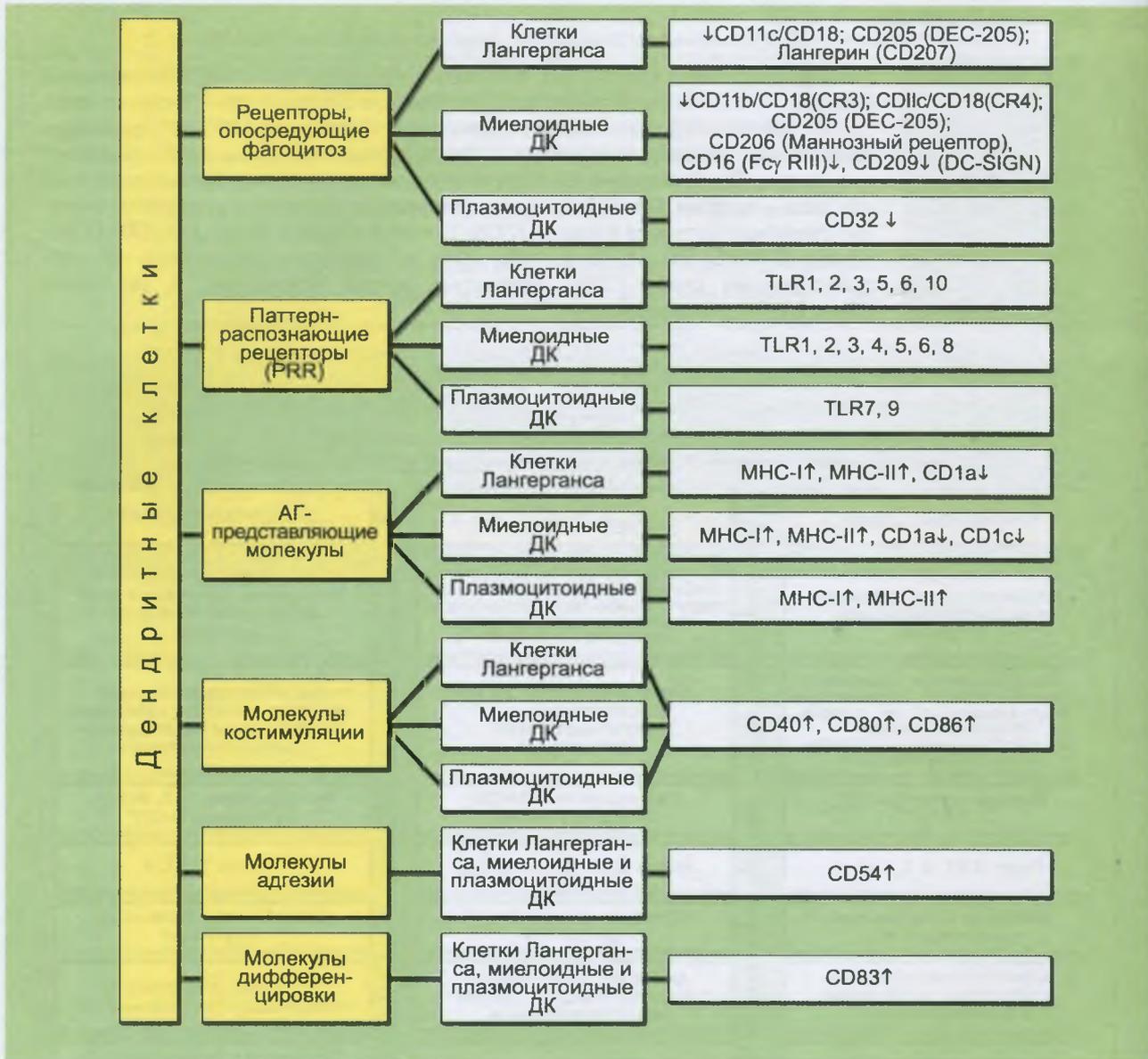


Рис. 56. Наиболее важные поверхностные молекулы дендритных клеток

Все типы ДК характеризуются наличием рецепторов, опосредующих фагоцитоз. При созревании этих рецепторов существенно понижается их экспрессия и способность ДК к фагоцитозу. На плазмоцитоидных клетках рецепторы, опосредующие фагоцитоз, представлены в незначительном количестве, и считается, что эти клетки практически не способны к фагоцитозу. Миелоидные ДК распознают все основные бактериальные PAMP (с помощью TLR1, 2, 4, 5, 6), двухцепочечную вирусную РНК (с помощью TLR3)

и одноцепочечную вирусную РНК (с помощью TLR8). Плазмоцитоидные ДК определяют одноцепочечную вирусную РНК (TLR7) и CpG-мотивы микробной ДНК (TLR9). На всех ДК экспрессируются АГ-презентирующие молекулы: MHC I и MHC II класса. На всех ДК экспрессируются костимулирующие молекулы (CD40, CD80, CD86) и молекулы адгезии (CD54 и E-кадгерин на клетках Лангерганса). Показателем созревания ДК является экспрессия на их наружной мембране молекулы CD83.



Рис. 57. Главные отличия зрелых дендритных клеток от незрелых (на примере миелоидных дендритных клеток)

Незрелые ДК располагаются в основном в наиболее вероятных участках микробной инвазии (кожа и слизистые оболочки). Небольшое количество их может находиться в периферических лимфоидных органах, вероятно, на случай прорыва инфекции через первичные барьеры. Дифференцировка незрелых ДК в зрелые индуцируется в воспалительном очаге под влиянием веществ микробной (ЛПС, пептидогликан и др.) и немикробной природы. После созревания в воспалительном очаге зрелые ДК мигрируют в основном в Т-зоны регионарных лимфатических узлов. В связи с различием в функциональной активности только незрелые ДК способны к фагоцитозу и пиноцитозу, поэтому они экспрессируют рецепторы для фагоцитоза: CR3 и FcγRIII. По мере созревания происходит снижение экспрессии этих рецепторов, активности фагоцитоза и пиноцитоза. Незрелые ДК постоянно пропускают через себя в виде вакуолей большие количества внеклеточной жидкости. Благодаря этому ДК захватывает аутоантигены, которые образуются в

результате естественного обновления тканей. Незрелые клетки слабо экспрессируют молекулы костимуляции, адгезии и антигенпрезентирующие молекулы. Они практически не содержат иммунопротеасом. Именно поэтому незрелые ДК обладают слабой способностью представлять АГ и активировать Т-клетки. При созревании происходит появление в цитоплазме иммунопротеасом — комплекса протеолитических ферментов, «нарезающих» из белка пептиды для представления на молекулах МНС I класса. Усиливается также эндолизосомальный процессинг АГ для представления на молекулах МНС II класса. Одновременно с этим возрастает экспрессия молекул костимуляции и адгезии, а также поверхностная экспрессия антигенпрезентирующих молекул МНС I и II класса. Зрелая ДК может активировать наивные Т-хелперы по Th1- или Th2-пути. Незрелые ДК при взаимодействии с наивными CD4⁺ Т-клетками индуцируют в последних свойства супрессоров; происходит образование регуляторных клеток — T-reg (CD4⁺CD25^{high}).

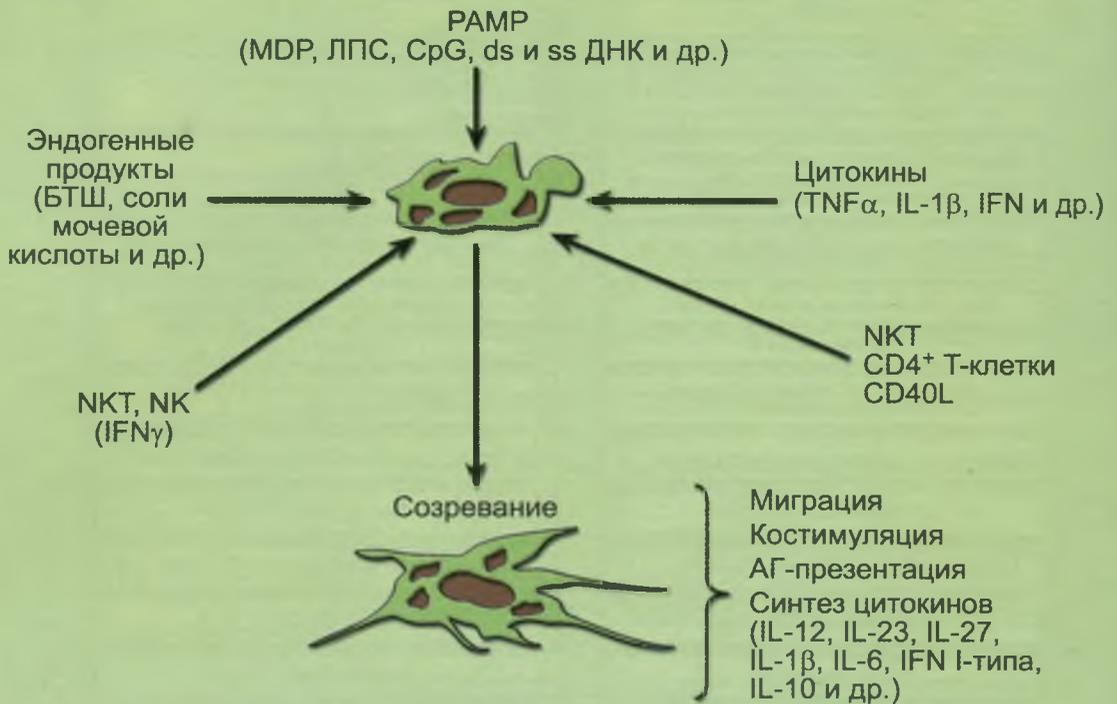


Рис. 58. Активаторы дендритных клеток

В ответ на ряд микробных и немикробных стимулов созревают ДК, находящиеся в покое в периферических тканях. Этот процесс обеспечивается изменением экспрессии нескольких тысяч генов, регулирующих основные функции ДК: поглощение АГ, миграцию, костимуляцию, презентацию АГ и синтез цитокинов. Главными активаторами ДК являются патоген-ассоциированные молекулярные паттерны (PAMP), а также продукты тканевого разрушения при асептическом воспалении (например, белки теплового шока — БТШ). ДК экспрессируют рецепторы для провоспалительных цитокинов: TNF α , IL-1 β , IFN α/β . Эти цитокины начинают синтезироваться в первые часы инфекции (ранний индуцибельный ответ), и они тоже являются сигналами для созревания ДК. На ДК конститутивно экспрессируется рецептор для IFN γ (CD119). IFN γ начинает продуцироваться NK- и NKT-клетками и усиливает созревание ДК. Мощным индуктором для созревания ДК является взаимодействие CD40-CD40L (CD40-лиганд), осуществляющееся при помощи конститутивного рецептора ДК —

CD40 — и индуцибельного рецептора CD4⁺ Т-клеток — CD40L (CD154). Этот комплекс (на рис. не показано) стимулирует синтез цитокинов, индуцированный PAMP, усиливает экспрессию антиген-презентирующих и костимулирующих молекул. Одним из важнейших цитокинов, синтезируемых ДК, является IL-12 — индуктор Th1-дифференцировки. PAMP, проникшие в цитозоль, распознаются внутриклеточными NOD-рецепторами, что продолжает стимулировать синтез IL-12 и других цитокинов. IL-12, образующийся в виде гетеродимера p70, индуцируется только такими PAMP, которые взаимодействуют с TLR3 и TLR4. Агонисты TLR2, TNF α или IL-1 β не стимулируют образование IL-12p70. Агонисты рецепторов TLR3 и TLR4 активизируют также продукцию IFN α/β , играющих ведущую роль в противовирусной защите. Самым ранним цитокином, синтезируемым ДК, является TNF α , достигающий пика активности через 3 ч после стимуляции. Скорость синтеза других провоспалительных цитокинов (IL-12, IL-6, IL-23, IL-10) находится в диапазоне между 6 и 18 ч.

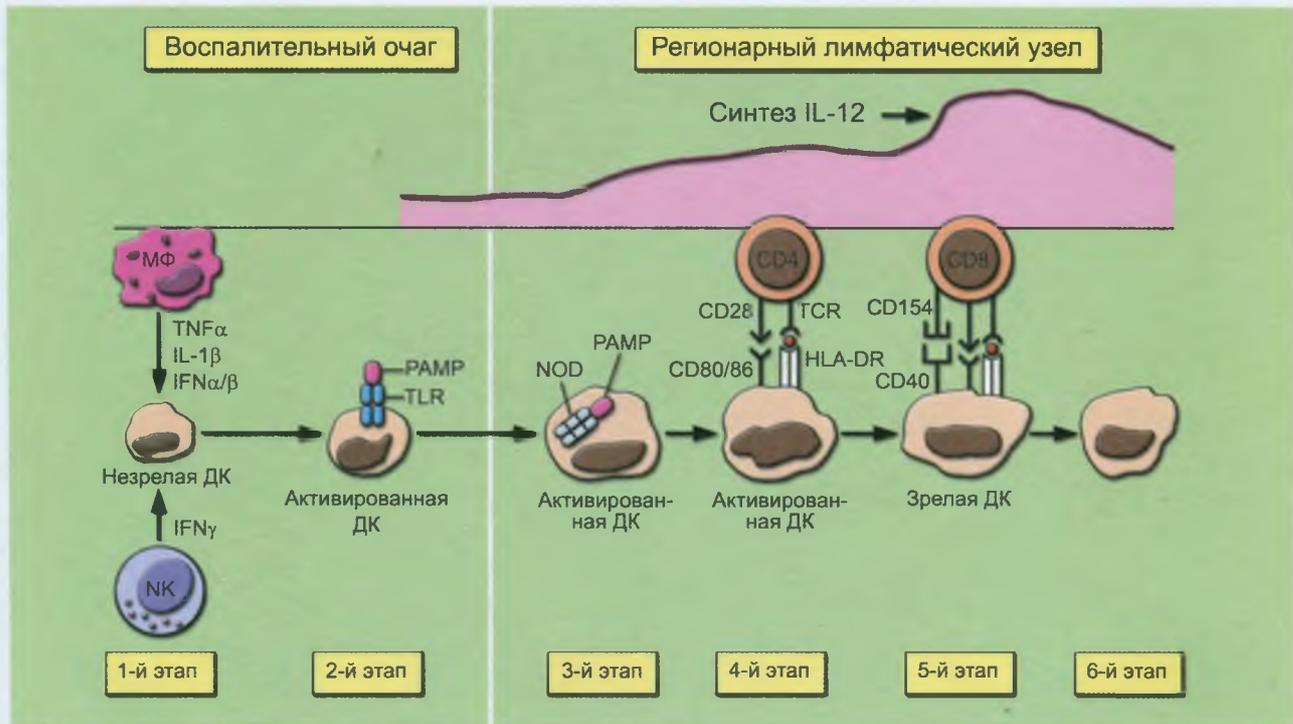


Рис. 59. Этапы индукции синтеза IL-12p70 миелоидными дендритными клетками и клетками Лангерганса

Продолжительность этого процесса составляет 2–3 сут. IFN γ , синтезируемый NK-клетками, и провоспалительные цитокины, образованные МФ, активируют незрелые ДК (1-й этап) и повышают их чувствительность к действию микробных агонистов (PAMP) TLR-рецепторов (2-й этап). Есть данные, что IFN γ ускоряет синтез IL-12, если он взаимодействует с клетками раньше, чем TLR-агонист. Между PRR возможен синергизм в индукции IL-12: между TLR2 и TLR9, между NOD1 и TLR3, TLR4 и TLR9. Активированная ДК мигрирует в лимфатический узел, где продолжается её созревание. В ДК происходит расщепление поглощённых PAMP и образование лигандов NOD-рецепторов. Это взаимодействие увеличивает синтез IL-12, а также экспрессию активационных поверхностных рецепторов клетки (3-й этап). ДК, прибывшие в Т-зоны регионарных лимфатических узлов, являются недостаточно зрелыми: они могут активировать только наивные CD4⁺ Т-хелперы, но не CD8⁺ Т-клетки, которые имеют более высокий активационный порог. Окончательное созревание ДК осуществляется при взаимодействии с Т-хелперами, которое происходит во время следующих этапов. Сначала Т-хелпер

распознает пептид в комплексе с молекулами МНС, а костимулирующие молекулы ДК (CD80/CD86) распознают конститутивный рецептор Т-клеток (CD28) (4-й этап). Это приводит к экспрессии на Т-хелпере молекулы CD40L (CD154), которая взаимодействует с конститутивной молекулой ДК CD40 (5-й этап). Это соединение CD40-CD40L является решающим в индукции синтеза IL-12 и костимулирующих молекул. Их экспрессия достигает уровня, способного активировать наивные CD8⁺ Т-клетки. Взаимодействие CD40-CD40L позволяет ДК избежать апоптоза. На поздних этапах стимуляции часть ДК становятся «истощёнными»: они прекращают синтезировать цитокины и не реагируют на различные стимулы (6-й этап). Феномен «истощения» объясняется ошибками в сигнальном пути, идущем от адаптора MyD88, и активацией негативных регуляторов, в частности фосфатазы SHIP и фермента H2O, участвующего в терминации сигналов от TLR. Таким образом, для оптимальной продукции IL-12 необходимы:

- активация ДК IFN γ ;
- взаимодействие PAMP с TLR-рецепторами на ДК;
- взаимодействие CD40 на ДК с CD40L на Т-клетках.

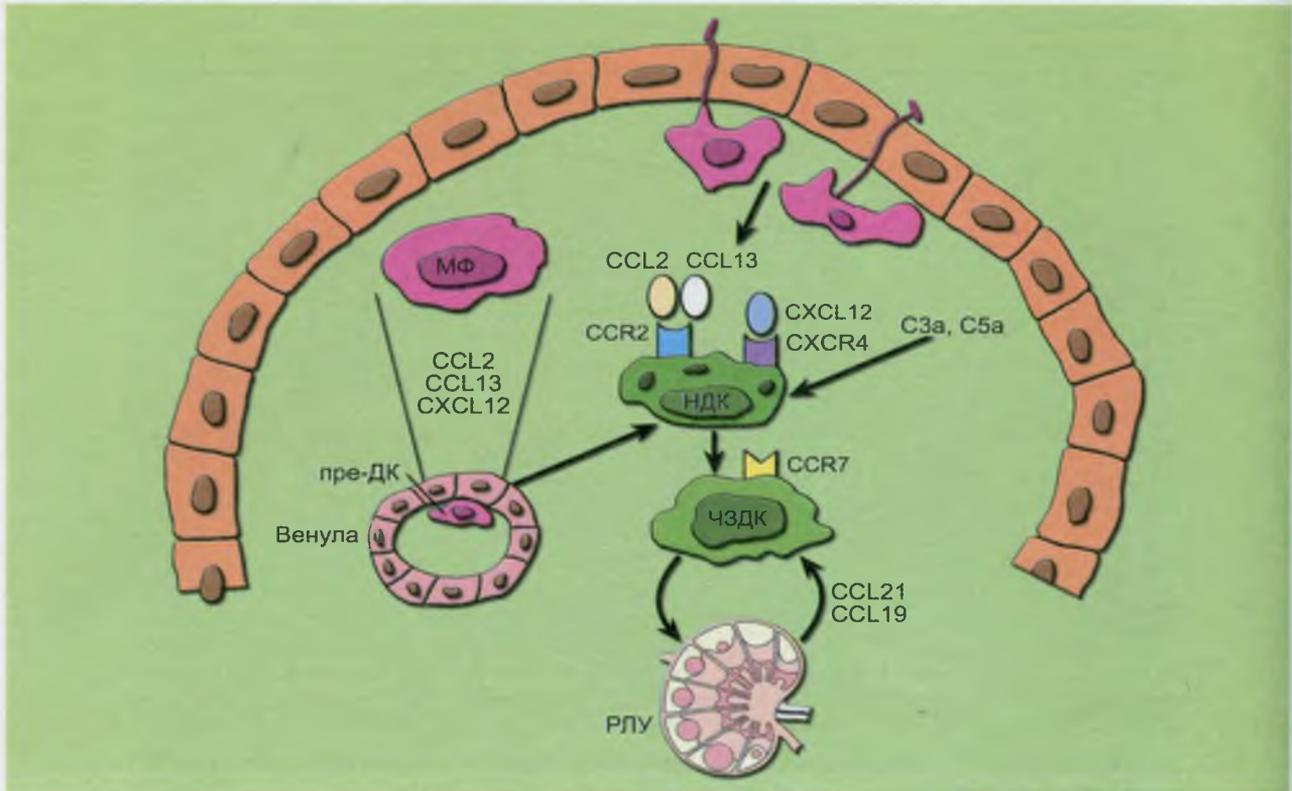


Рис. 60. Процесс миграции дендритных клеток

В воспалительном очаге, в основном МФ, синтезируются провоспалительные хемокины CCL2, CCL13, CXCL12 и ряд других, которые являются мощными хемоаттрактантами для ДК. Для них на ДК экспрессируются рецепторы CCR2 и CXCR4. Хемокины CCL2, CCL13, CXCL12 привлекают из кровяного русла предшественников ДК (пре-ДК), а также моноциты, и обеспечивают их прочную адгезию к эндотелию венул. Это необходимо для миграции пре-ДК в воспалительный очаг. Кроме того, провоспалительные хемокины притягивают незрелые ДК из окружающих тканей. В патологической области под влиянием PAMP и провоспалительных цитокинов пре-ДК созревают в незрелые ДК (НДК). НДК далее дифференцируются в частично зрелые ДК (ЧЗДК): на них исчезают рецепторы к провоспалительным хемокинам (CCR2, CXCR4) и повышается экспрессия рецептора CCR7. Последний является рецептором для конституционального хемокина CCL21, экспрессирующегося эндотелием афферентных лимфатических сосудов. Под действием CCL21 ЧЗДК мигрируют в просвет лимфа-

тических сосудов и далее пассивно с током лимфы доставляются в регионарный лимфатический узел (РЛУ). Строма Т-клеточных зон РЛУ тоже вырабатывает CCL21; кроме того, зрелые ДК в Т-клеточных зонах синтезируют CCL19 — ещё один лиганд для CCR7. Благодаря этим двум хемокинам вновь прибывающие ЧЗДК удерживаются в Т-клеточных зонах РЛУ, где происходит встреча ЧЗДК с наивными Т-хелперами. Эта встреча облегчается тем, что наивные Т-клетки сами экспрессируют CCR7 и мигрируют в те же участки, что и ДК. С другой стороны, зрелые ДК начинают синтезировать CCL19, что дополнительно привлекает новые наивные Т-клетки.

В воспалительном очаге источником ДК могут быть и местные ДК. Они в большом количестве находятся под эпителием желудочно-кишечного, урогенитального трактов, дыхательных путей. В слизистой оболочке тонкого кишечника отростки ДК проникают через эпителий в его просвет и захватывают АГ. Это может быть источником постоянного иммунного ответа, протекающего в естественных условиях в организме.

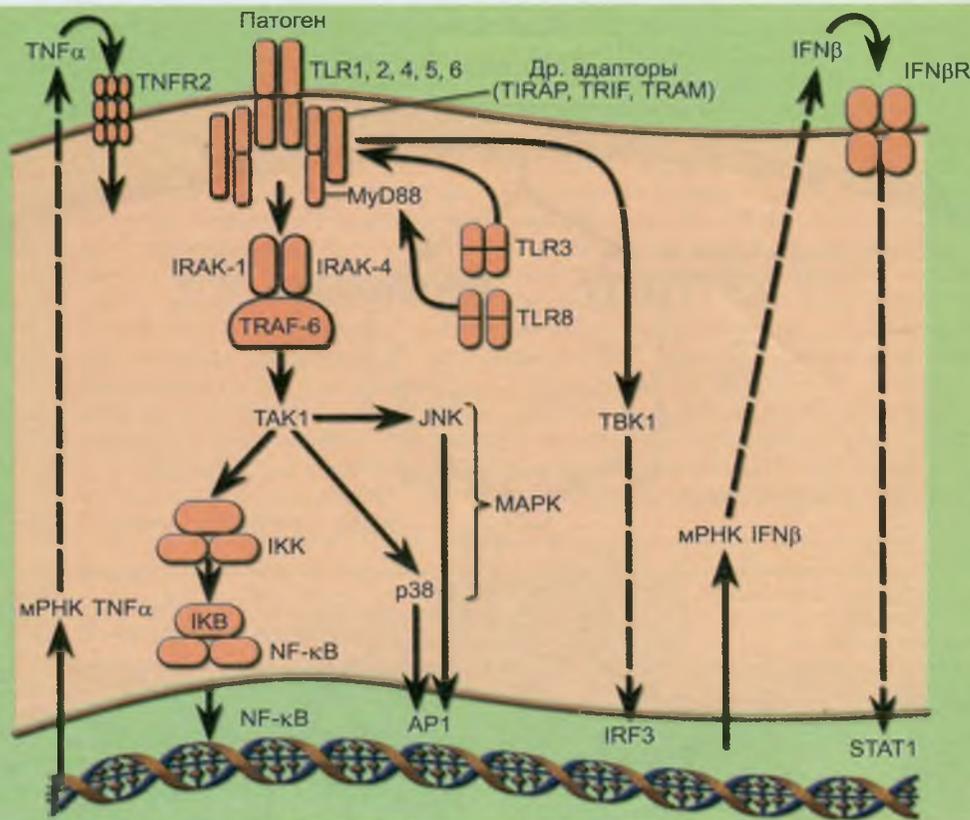


Рис. 61. Сигнальные пути миелоидных дендритных клеток

Незрелые миелоидные клетки экспрессируют мембранные TLR1, 2, 4, 5, 6, внутриклеточные TLR3, 8, NOD1 и NOD2 (NOD рецепторы не показаны). Мембранный TLR4 использует 4 адапторных белка: MyD88, TIRAP, TRAM и TRIF. Сигналы, идущие от MyD88, активируют последовательно киназы IRAK-1 и IRAK-4, которые образуют комплекс с адаптором TRAF-6. Последний активирует киназу TAK1, которая активирует 2 группы мишеней:

- комплекс IKK, который вызывает активацию транскрипционного фактора NF-κB;
- комплекс митоген-активируемых протеинкиназ (MAPK), состоящий из киназ JNK, ERK, p38 и приводящий к активации транскрипционного фактора AP-1.

NF-κB инициирует транскрипцию генов провоспалительных цитокинов, в том числе и TNFα, который действует аутокринно через TNFR2, вызывая экспрессию ещё ряда генов. Активация NF-κB и AP1 препятствует апоптозу ДК. Передача сигнала от адаптора TRIF стимулирует киназу TBK1 и транскрипционный фактор IRF3. Последний индуцирует синтез

IFN I типа. В этом случае также вовлекается аутокринный механизм. Секретируемый IFNβ связывается с IFNβR на тех же клетках, что приводит к активации транскрипционного фактора STAT1, вызывающего экспрессию большого спектра интерферон-индуцибельных генов. Мембранные рецепторы TLR1, 2, 4, 5, 6 незрелых миелоидных ДК распознают практически все бактериальные PAMP, за исключением ДНК: ЛПС, пептидогликан, тейхоевые кислоты, липопротеины и др. Внутриклеточный рецептор миелоидных ДК TLR3 различает двухцепочечную вирусную РНК. В отличие от остальных TLR, TLR3 в качестве адаптора использует только TRIF, что способствует активации основной противовирусной защиты — синтезу IFN I типа. Другой внутриклеточный рецептор незрелых миелоидных ДК — TLR8 — распознаёт одноцепочечную вирусную РНК. Однако в отличие от TLR3, TLR8 использует MyD88/TIRAP-сигнальный путь, вызывая активацию NF-κB. Недавно показано, что компоненты MyD88/TIRAP-пути могут активировать транскрипционный фактор IRF7, индуцирующий синтез IFN I типа.

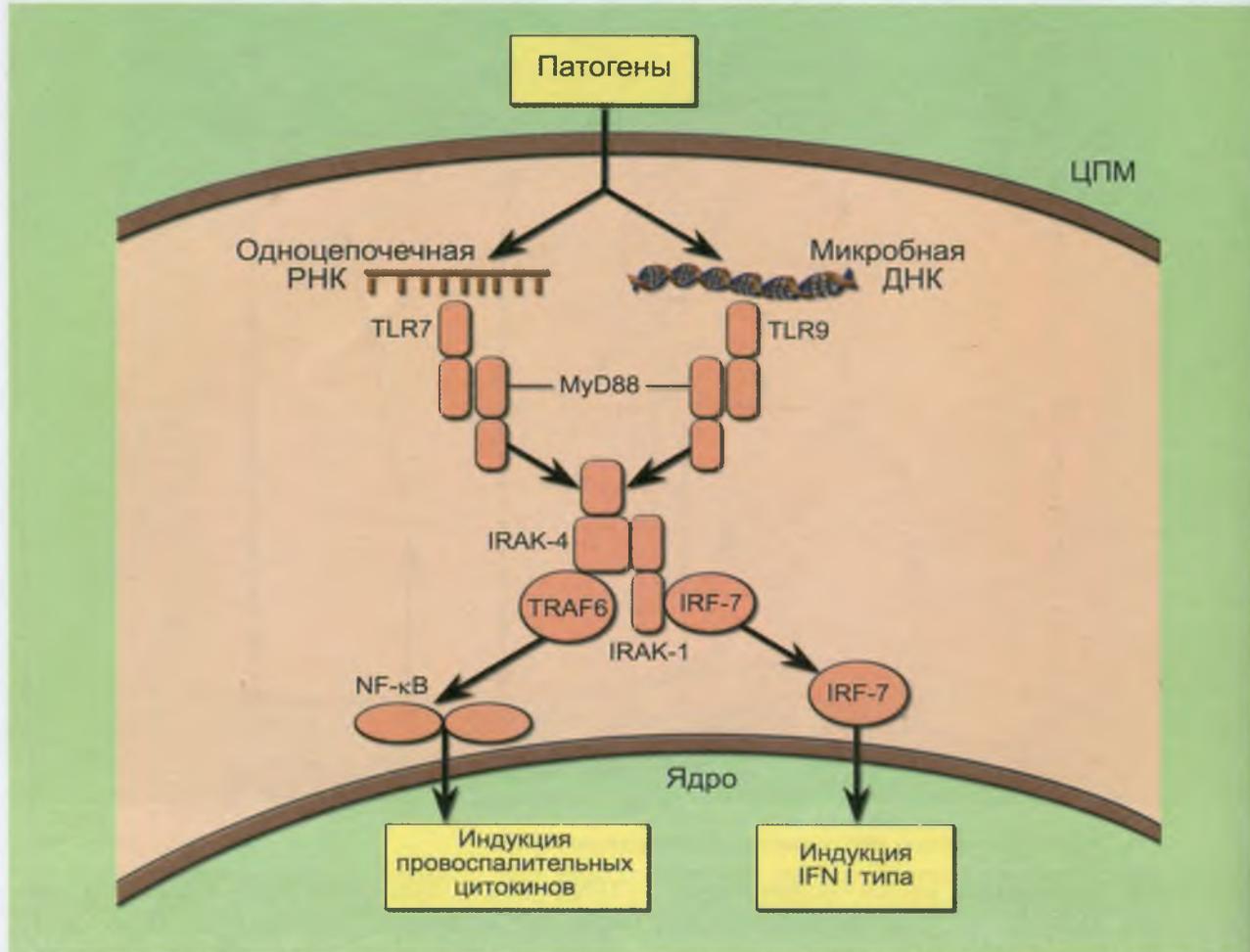


Рис. 62. Сигнальные пути плазматоидных дендритных клеток

Плазматоидные ДК экспрессируют TLR7 и TLR9 и следовые количества TLR1 и TLR6. Именно поэтому эти клетки специализируются на распознавании микробной ДНК через TLR9 и одноцепочечной РНК через TLR7. TLR7 и TLR9 для передачи сигнала используют адаптор MyD88, который в других клетках не участвует в образовании интерферонов. Главные компоненты MyD88-зависимого пути — протеинкиназы IRAK-1 и IRAK-4 — вызывают активацию транскрипционного фактора IRF7. Этот фактор сходен с IRF3, конституционально экспрессируется плазматоидными ДК. Транскрипционный фактор IRF7 вызывает индукцию синтеза IFN I типа. Наиболее мощными активато-

рами сигнального пути, идущего через TLR9, и, соответственно, индукторами синтеза IFN I типа являются последовательности «неметилированный цитозин—гуанин» (CpG).

По своей способности вырабатывать IFN I типа плазматоидные ДК на несколько порядков превосходят клетки другого типа. Это ставит плазматоидные ДК на особое место во врождённой иммунной системе и обуславливает их второе название — «естественные интерферонпродуцирующие клетки». Благодаря массивной выработке IFN I типа плазматоидные ДК обеспечивают системную защиту при ряде вирусных и бактериальных инфекций.

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

ДК выполняют две важные функции: фагоцитоз, процессирование и презентацию АГ. Если первая функция может выполняться и НФ, и МФ, причём значительно более успешно, то вторая функция является прерогативой ДК, особенно в отношении наивных Т-клеток. Поэтому, с точки зрения человеческой логики, процессирование и презентация АГ является более важной функцией ДК. Может быть, вследствие этого фагосомально-лизосомальная система ДК организована так, чтобы не ликвидировать, а существенно ограничить процессирование, т.е. деградацию АГ. Это достигается несколькими путями. Первый путь – это количество и качество гидролаз в эндосомах/лизосомах ДК. Хотя эти клетки содержат основные группы катепсинов, эндопептидаз, липаз и пр., их ферментативная активность значительно ниже, чем у МФ. Эти ферменты представлены в ДК в значительно меньшем количестве. Кроме того, в лизосомах ДК имеется несколько членов семьи цистатинов, ингибиторов протеаз. Второй путь заключается в препятствии acidификации фагосом. Acidификация является необходимым процессом для активации кислых гидролаз. Важную роль в поддержании определённого pH в клетке играют две системы: NADPH-оксидаза и V-ATP-аза. Первая система способствует алкализации, вторая – acidификации. В ДК NADPH-оксидаза находится в мембранах лизосом и появляется в составе фаголизосом сразу после слияния гранул. Одновременно в мембрану фаголизомы внедряется V-ATP-аза. Следствием слаженной работы NADPH-оксидазы и V-ATP является сохранение постоянства pH фаголизомы 7,0–7,5 в течение нескольких часов.

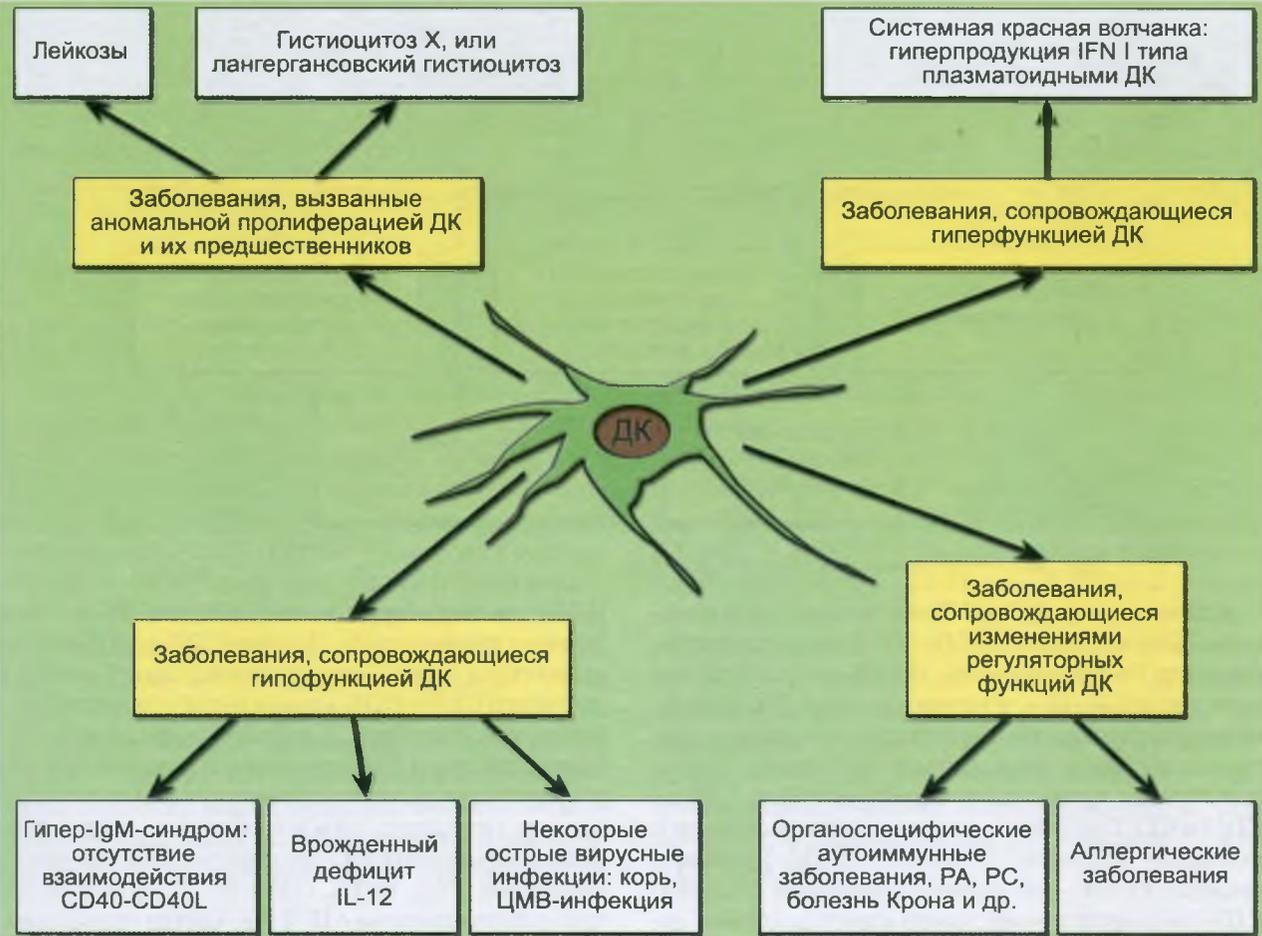


Рис. 63. Заболевания, связанные с нарушением дифференцировки и функционирования дендритных клеток

1.3.7. НК-КЛЕТКИ

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

Cantor, Wigzell и Playfair (1974–1977 гг.) описали новую группу эффекторных клеток, названных НК-клетками (*natural killer*). НК-клетки являются большими гранулярными лимфоцитами, не экспрессирующими линейных маркеров Т- и В-клеток (CD3, CD19). Они составляют от 10% до 15% лимфоцитов периферической крови. Большинство НК-клеток содержит в цитоплазме азурофильные гранулы, где депонированы цитотоксические белки перфорин, гранзимы и гранулизин.

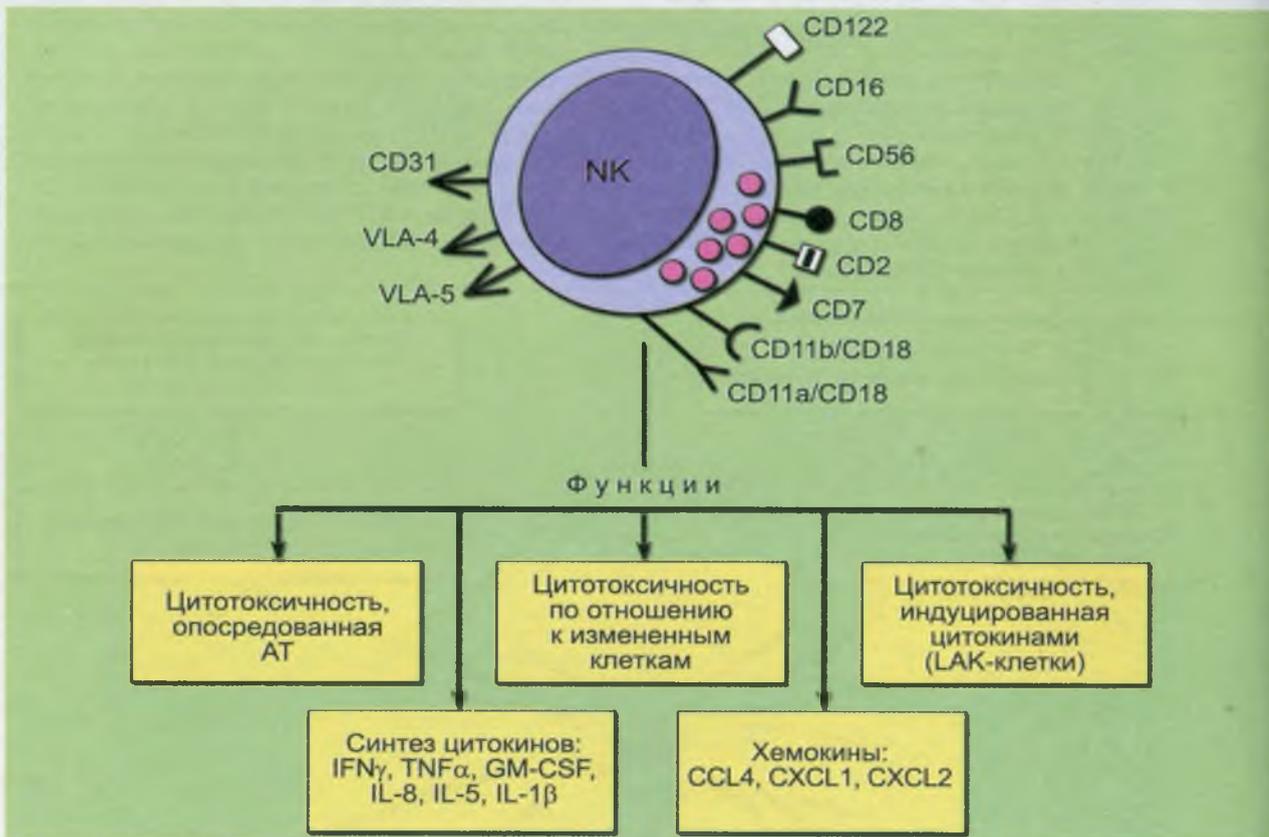


Рис. 64. Общая характеристика НК-клеток

Главными маркерами НК-клеток являются молекулы CD56 и CD16 (FcγRIII). CD16 является рецептором для Fc-фрагмента IgG. На НК-клетках имеется рецептор для IL-15 — ростового фактора НК-клеток, молекулы адгезии, обеспечивающие их контакт с другими клетками и межклеточным матриксом: VLA-5 способствует прилипанию к фибронектину; CD11a/CD18 и CD11b/CD18 обеспечивают присоединение к молекулам эндотелия ICAM-1 и ICAM-2 соответственно; VLA-4 — к молекуле эндотелия VCAM-I; CD31, молекула гомофильного взаимодействия, ответственна за диапедез НК-клеток через эпителий; CD2, рецептор для эритроцитов барана, является молекулой адгезии, которая взаимодействует с LFA-3

(CD58) и инициирует взаимодействие НК-клеток с другими лимфоцитами. Помимо CD2, на НК-клетках выявляются и некоторые другие маркеры Т-клеток, в частности CD7 и CD8, а также ингибиторные и активационные маркеры. Главными функциями НК-клеток являются распознавание и элиминация клеток, инфицированных микроорганизмами, изменённых в результате злокачественного роста, либо опсонизированных IgG-антителами, а также синтез цитокинов IFNγ, TNFα, GM-CSF, IL-8, IL-5. *In vitro* при культивировании с IL-2 НК-клетки приобретают высокий уровень цитолитической активности по отношению к широкому спектру мишеней, превращаясь в так называемые LAK-клетки.

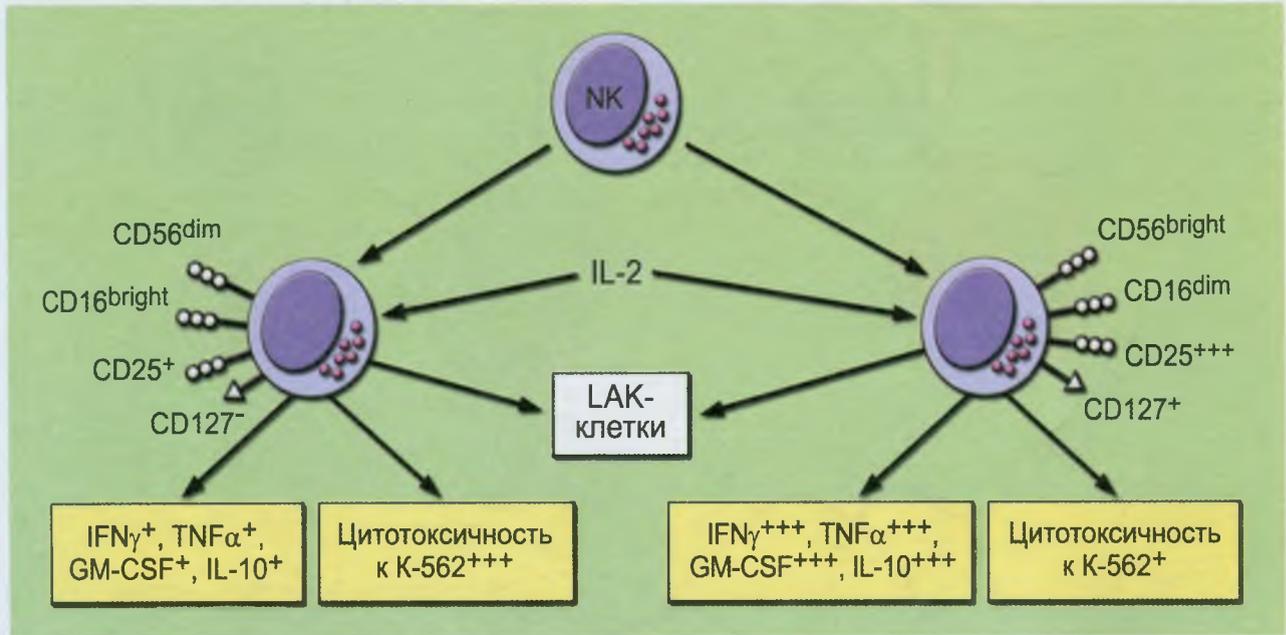


Рис. 65. Субпопуляции NK-клеток

По интенсивности экспрессии гомофильной адгезивной молекулы CD56 из семейства молекул адгезии клеток нервной системы (N-CAM) из суперсемейства иммуноглобулинов NK-клетки периферической крови человека делятся на основную и минорную субпопуляции. Основная субпопуляция составляет 90% NK-клеток крови, экспрессирует низкий уровень CD56 (CD56^{dim}), высокий уровень CD16 (CD16^{bright}) и низкие уровни α-цепи рецептора для IL-2 (CD25⁺). Минорная субпопуляция (10%) NK-клеток экспрессирует высокий уровень CD56 (CD56^{bright}), низкий уровень CD16 (CD16^{dim}) и высокие уровни CD25 (CD25⁺⁺⁺). Находясь в меньшинстве в периферической крови, CD56^{bright} NK-клетки преобладают в печени, слизистой оболочке матки, децидуальной оболочке и лимфатических узлах. Важным различием двух субпопуляций NK-клеток является экспрессия α-цепи

рецептора IL-7 (CD127). В отличие от CD56^{dim}, CD56^{bright} NK-клетки экспрессируют высокие количества CD127. Субпопуляции NK-клеток также различаются по функциональной активности. По сравнению с CD56^{dim} CD56^{bright} NK-клетки способны синтезировать большие количества цитокинов IFN_γ, TNF_α, GM-CSF и IL-10. В отличие от CD56^{dim} CD56^{bright} NK-клетки мало эффективны в цитотоксическом тесте по отношению к клеткам миелобластоидной линии K-562, лишённым молекул MHC I класса. После активации IL-2 NK-клетки обеих субпопуляций приобретают примерно одинаковую повышенную цитотоксичность, направленную к довольно широкому кругу клеток-мишеней. Это так называемые LAK-клетки (лимфокин-активированные киллеры), основную часть которых составляют NK-клетки, а также γδ T- и αβ CD8⁺ T-клетки.

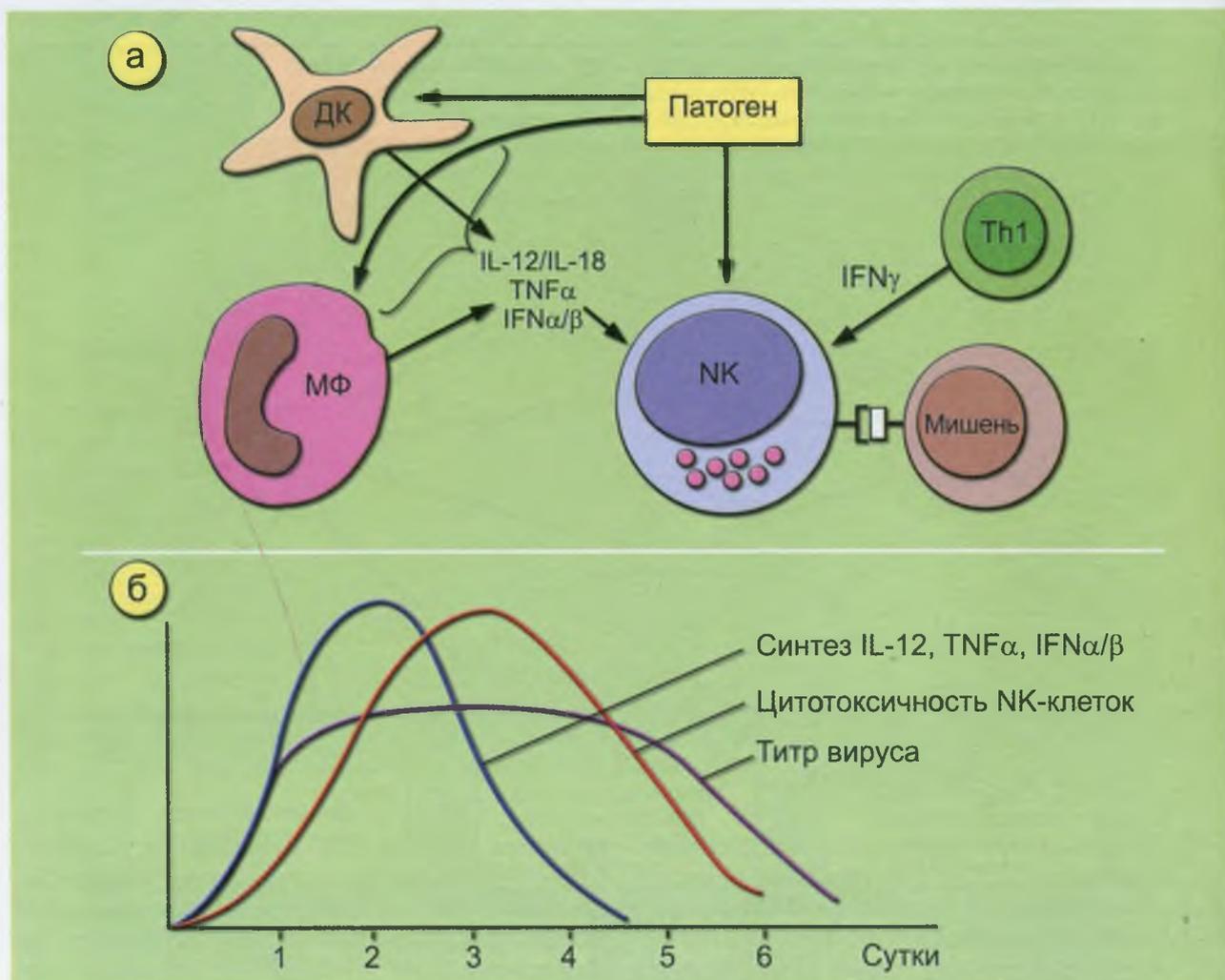


Рис. 66. Активация NK-клеток

а. NK-клетки способны убивать клетки-мишени без какой-либо предшествующей активации. Однако ряд факторов могут дополнительно стимулировать NK-клетки, резко усиливая их цитотоксичность. Прежде всего, активация может осуществляться при прямом воздействии патогена или его продуктов. Активация NK-клеток может происходить при контакте с клетками-мишенями, которыми являются трансформированные клетки хозяина или клетки, инфицированные микроорганизмами. Однако самыми мощными активаторами NK-клеток являются цитокины, продуцируемые МФ и ДК: $TNF\alpha$, $IFN\alpha/\beta$ и особенно $IL-12/IL-18$. Под влиянием $IL-12$ цитотоксичность NK-клеток увеличивается почти в 100 раз. При развитии адаптивного иммунного ответа мощными активаторами NK-клеток становятся Th1-клетки. Эти клетки синтезируют большие количества $IFN\gamma$, являющегося сильным активатором всех клеток врождённого иммунитета, в том числе и NK-клеток.

б. Иллюстрация зависимости цитотоксичности NK-клеток и титра вируса от продукции $IL-12$, $IFN\alpha/\beta$ и $TNF\alpha$. Первыми синтезируются провоспалительные цитокины, которые резко повышают цитотоксичность NK-клеток, следствием чего является резкое падение титра вируса.

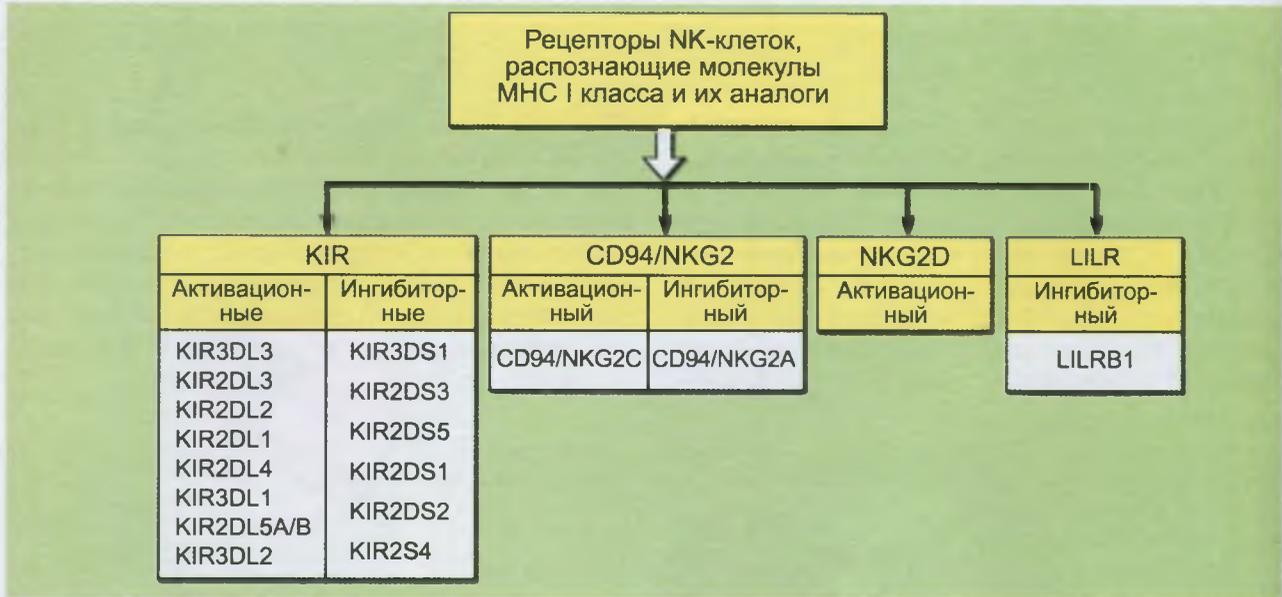


Рис. 68. Рецепторы NK-клеток, распознающие лиганды MHC I класса

К рецепторам этого типа относится большое семейство иммуноглобулиноподобных рецепторов KIR (*killer cell immunoglobulin like receptor*), включающее активационные и ингибиторные рецепторы; семейство лектиноподобных гетеродимерных рецепторов CD94/NKG2, также содержащих как активационные, так и ингибиторные рецепторы;

уникальный лектиноподобный активационный гомодимерный рецептор NKG2D и семейство ингибиторных белков LILR. Большинство рецепторов данной группы экспрессируется не только у NK-клеток, но и у других клеток, обладающих цитотоксическими свойствами (CD8⁺ Т-киллеры, NKT⁺ и $\gamma\delta$ Т-клетки).

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

В аутологичной среде NK-клетки лизируют только те клетки, которые потеряли или экспрессируют небольшие количества MHC I класса. В аллогенной среде NK-клетки могут лизировать не «свои» клетки. Иными словами, NK-клетки могут лизировать такие аллогенные клетки, которые не содержат аллелей MHC молекул, распознаваемых ингибиторными KIR-рецепторами. Поэтому аллогенные NK-клетки могут использоваться для эффективной терапии острых лейкозиев при гаплоидентичной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Главная задача при этой трансплантации – избежать реакции: как «трансплантат против хозяина», так и «хозяин против трансплантата». Эту реакцию можно частично предотвратить путём существенного уменьшения Т-клеток в трансплантате, а также с помощью иммуносупрессивной терапии. Аллогенные клетки в трансплантате не должны экспрессировать KIR-рецепторы, взаимодействующие с любым аллелем MHC I класса, присутствующие на клетках реципиента. Киллинг аллогенных клеток будет зависеть от плотности активационных рецепторов на поверхности NK-клеток и от экспрессии их лиганд у клеток-мишеней. Первая успешная гаплоидентичная трансплантация гематопозитическими стволовыми клетками при острой миелоидной лейкозиев была проведена Velardi F. et al. (2002). Наибольший успех был при таких комбинациях клеток, когда донорские KIR-рецепторы не распознавали аллели HLA-I реципиента. По всей видимости, за лизис опухолевых клеток ответственными являются NCR-рецепторы NK-клеток. МАТ против NK-p46 и NKp30 ингибируют лизис опухолевых клеток аллогенными NK-клетками. Возможно, лигандами для этих рецепторов является рецептор для поливирусов (PVR) и нектин-2 (CD112), сверхэкспрессия которых наблюдается на опухолевых клетках различного типа. По крайней мере, имеется чёткое соответствие между чувствительностью к лизису NK-клетками и экспрессией этих лигандов на поверхности лейкозных клеток.

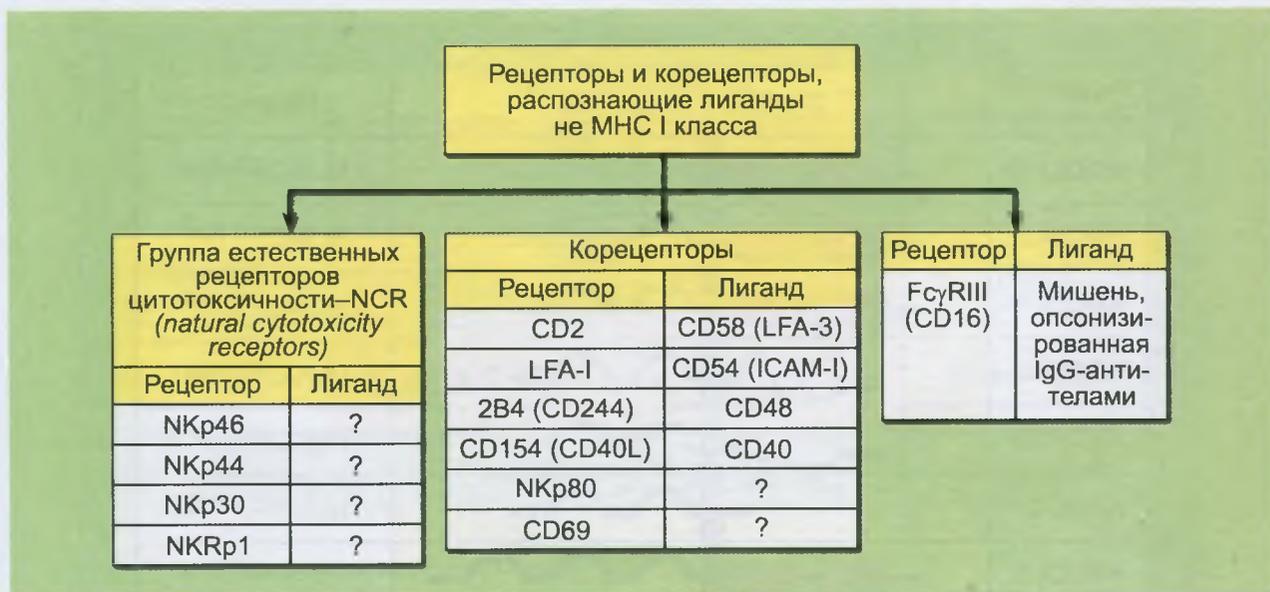


Рис. 69. Рецепторы NK-клеток, распознающие лиганды иные, чем МНС I класса

Рецепторы из группы NCR (*NK cell receptors*) являются активационными и вызывают лизис клеток, не содержащих АГ МНС I класса. Лиганды для этих рецепторов неизвестны. Рецепторы NKp46 и NKp30 экспрессируются конститутивно. Рецептор NKp44 появляется на NK-клетках при активации IL-2. Рецепторы NCR-группы находятся в ассоциации с ITAM-содержащими адапторными белками CD3ζ и FcεRIγ, с помощью которых осуществляется процесс активации NK-клеток. Рецептор NKp46

(NCR1) экспрессируется на всех NK-клетках периферической крови человека, обезьян, всех линий мышей. В развитии цитолитической реакции при образовании комплекса NK-клетка—мишень важную роль играют корецепторы (CD2, LFA-I, 2B4 и др.), с помощью которых происходит образование иммунного синапса. Рецептор FcγRIII (CD16) осуществляет важную защитную реакцию — антителозависимую клеточную цитотоксичность (АЗКЦ).

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

Поскольку в настоящее время не выявлено специфических маркёров NK-клеток, предлагается следующее определение NK-клеток: NK-клетки — это NKp46⁺CD3⁻, IL-15-зависимые, IL-12-индуцируемые лимфоциты, присутствующие у человека и всех видов млекопитающих. При развитии инфекционного процесса NK-клетки являются одним из ранних источников в организме IFNγ. Кроме того, эти клетки быстро развивают цитотоксическую активность по отношению к различным клеточным мишеням, не имеющим молекул МНС I класса и экспрессирующим стресс-индуцированные (лиганды для NKG2D) или микробные молекулы (Walzer T. и др., 2007).

Рецептор NK-клетки	Структура рецептора	Лиганды
KIR2DL3		HLA-C ^{S77 N80}
KIR2DL2		HLA-C ^{S77 N80}
KIR2DL1		HLA-C ^{N77 K80}
KIR2DS2		HLA-C ^{S77 N80}
KIR2DS3		HLA-C ^{S77 N80}
KIR2DS1		HLA-C ^{N77 K80}
KIR3DL3		?

Рис. 70. Некоторые представители рецепторов KIR

Рецепторы семейства KIR являются трансмембранными гликопротеинами I типа с двумя или тремя иммуноглобулиноподобными доменами (KIR2D и KIR3D соответственно). Цитоплазматические участки бывают длинными (L) и содержат ингибиторный ITIM-мотив. Цитоплазматические домены могут быть короткими и взаимодействовать с адапторами, содержащими активационный ITAM-мотив. Рецепторы KIR прицельно распознают белки HLA-A, HLA-B и HLA-C, а точнее, тример: α-цепь, β2-микроглобулин и пептид, встроенный в желобок молекулы HLA I класса. Рассмотрим его на примере молекулы HLA-C, имеющей два аллоти́па. Ингибиторные рецепторы KIR2DL2 и KIR2DL3 распознают аллели первого аллоти́па молекулы HLA-C, содержащей Ser77 и Asn80 в α-цепи.

Активационные рецепторы KIR2DS2 и KIR2DS3 содержат домены, идентичные таковым у ингибиторных рецепторов, и поэтому взаимодействуют с теми же аллелями первого аллоти́па. Аналогичная ситуация наблюдается в отношении ингибиторного рецептора KIR2DL1 и активационного рецептора KIR2DS1, определяющих аллели второго аллоти́па (Asn77 и Lys80) молекулы HLA-C. NK-клетки экспрессируют одновременно и ингибиторный, и активационный рецепторы, которые совместно связываются с клеткой-мишенью: ингибиторный рецептор соединяется с соответствующим лигандом с большей аффинностью, чем активационный. Именно поэтому NK-клетка получает ингибиторный сигнал, и цитолитическая реакция не развивается (Lanier L.L., 2005).

Рецептор НК-клеток	Структура рецептора	Лиганд
CD94/NKG2A		HLA-E
CD94/NKG2C		HLA-E
LILRB1		HLA-A,B,C,E,F

Рис. 71. Рецепторы семейства CD94/NKG2 и LILR

Молекула CD94 — продукт одного непалиморфного гена, сцепленного с четырьмя генами NKG2: A, C, E, F, кодирующими С-лектиноподобные трансмембранные белки II типа. На рисунке рассматриваются только два рецептора, наиболее важные для цитотоксического эффекта НК-клеток: CD94NKG2A и CD94NKG2C. Рецептор NKG2A является ингибиторным: его цитоплазматический участок содержит ITIM-мотив. Белок NKG2C — активационный: его цитоплазматический участок связан с ITAM-содержащим адапторным белком DAP12. Функции белков NKG2E и NKG2F остаются малоизученными. Рецепторы NKG2 распознают «неклассические» молекулы MHC I класса — HLA-E. Рецепторы NKG2A и NKG2C определяют одни и те же детерминанты HLA-E. Как и в случае с рецепторами KIR, при одновременном взаимодействии с

клеткой-мишенью активационных и ингибиторных NKG2-рецепторов НК-клеток сигнал, идущий от ингибиторного рецептора, является доминантным, и лизиса мишени не происходит. Однако при различных стрессовых ситуациях наблюдается образование белков теплового шока, которые связываются с молекулами HLA-E. Такая молекула не распознаётся ингибиторным рецептором NKG2A, и клетка-мишень подвергается лизису. Так могут элиминироваться из организма изменённые клетки.

Из семьи LILR (CD85) хорошо изучен ингибиторный рецептор LILRB1. Он содержит во внеклеточном участке четыре иммуноглобулиноподобных домена и четыре ITIM-мотива в цитоплазматической области. Рецептор LILRB1 взаимодействует со всеми гликопротеинами MHC I класса, но с меньшей аффинностью, чем NKG2 и KIR-рецепторы.

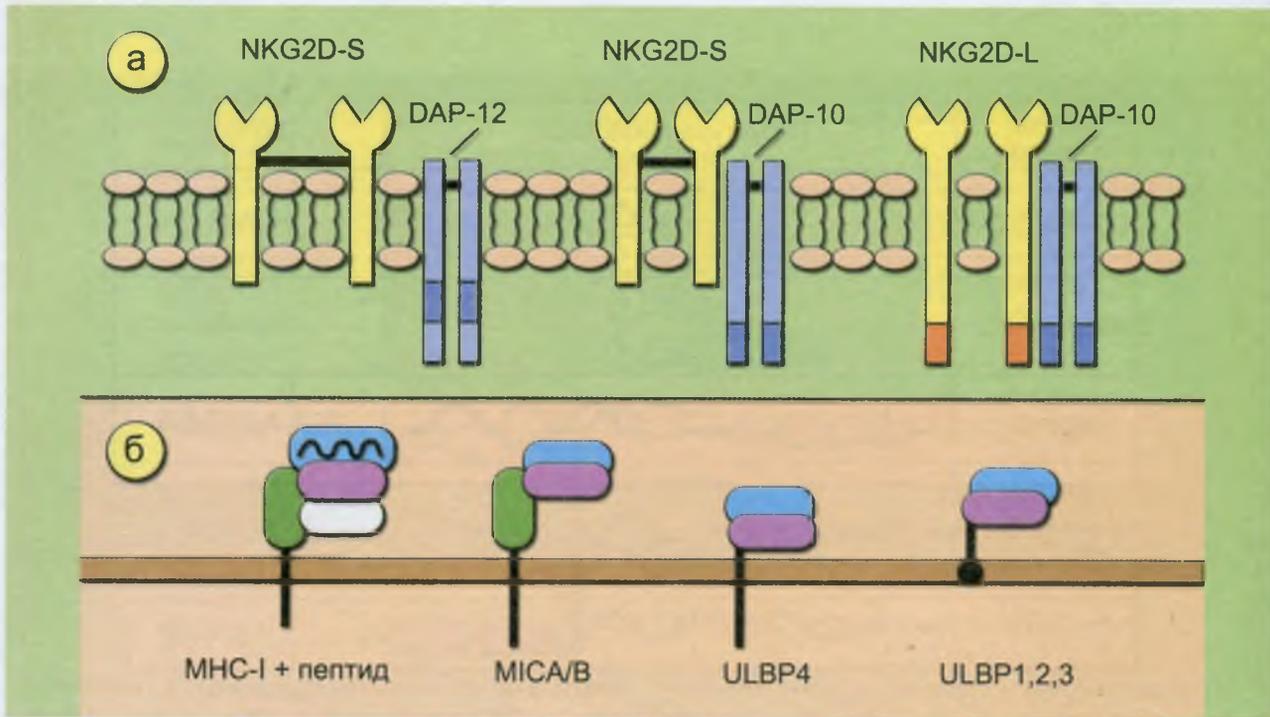
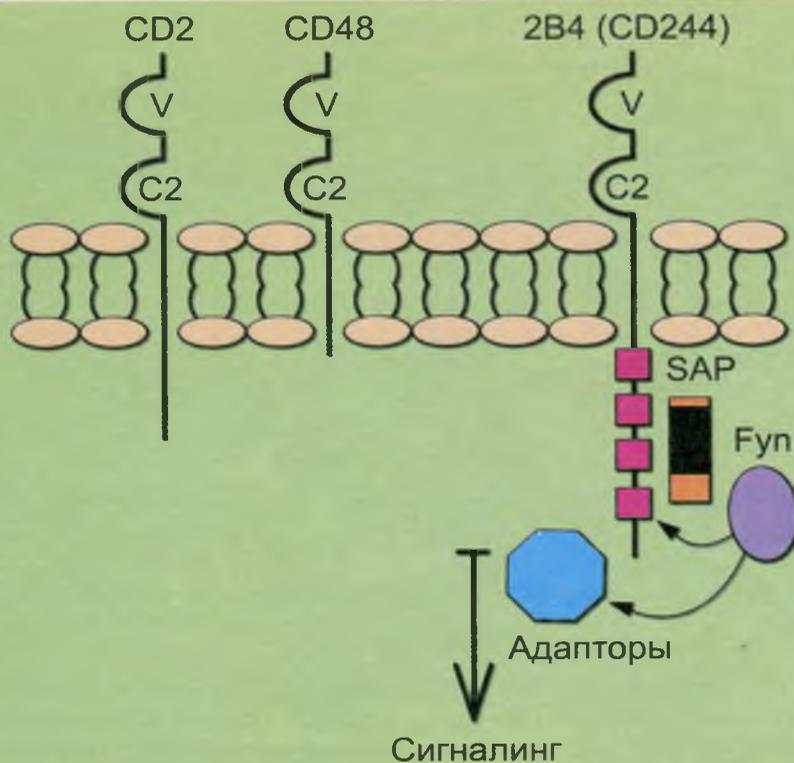


Рис. 72. Строение рецептора NKG2D и его лигандов

а. Активационный С-лектиноподобный рецептор II типа NKG2D кодируется одним геном и не имеет полиморфизма. На поверхности клетки он экспрессируется в виде гомодимера, связанного дисульфидными мостиками. Рецептор NKG2D имеет две изоформы, являющиеся результатом альтернативного сплайсинга. Изоформа NKG2D-S имеет короткий цитоплазматический хвост и может ассоциироваться с двумя адапторными белками — DAP12 и DAP10. Изоформа NKG2D-L имеет длинный цитоплазматический хвост и ассоциируется только с адаптором DAP10. У человека идентифицирован только рецептор NKG2D-L. Оба адапторных белка при взаимодействии NKG2D с лигандом клетки-мишени передают активационный сигнал, ведущий к развитию литической реакции.

б. Лигандами для NKG2D-рецепторов NK-клеток являются структурные гомологи MHC I класса — MIC (MHC class I-related chain) и белки ULBP. Существует 7 локусов MIC от А до G, но только локусы MICA и MICB транскрибируются. Гены MIC характеризуются большим полиморфизмом: ген MICA имеет 54 аллеля, ген MICB — 18. Гликопротеины MIC состоят из трёх MHC-подобных α -доменов, но, в отличие от белков MHC I класса, не содержат 2-микроглобулина и пептид-связывающего желобка. Гликопротеины MIC экспрессируются на инфицированных, стрессированных или трансформированных клетках. Эти гликопротеины являются специфическими лигандами для NKG2D-рецептора. Второй класс лигандов для NKG2D — белки ULBP, были идентифицированы по их способности связывать белок U16, экспрессируемый в клетках, инфицированных цитомегаловирусом. Всего выделено четыре вида белков ULBP. Они состоят из α -доменов, не содержащих β 2-микроглобулина. Белки ULBP также являются строгими лигандами для рецептора NKG2D.



 T_xY_{xx}V/I (SAP-связывающий мотив)

Рис. 73. Рецептор 2B4

Рецептор 2B4 из CD2-подтипа рецепторов суперсемейства иммуноглобулиноподобных рецепторов экспрессируется на NK-клетках, CD8⁺ и $\gamma\delta$ T-клетках. Этот рецептор осуществляет не-MHC-рестриктированную цитотоксичность NK-клеток. Лигандом для рецептора 2B4 является молекула CD48, также относящаяся к CD2-подтипу рецепторов. Цитоплазматический участок рецептора 2B4 содержит 4 тирозиновых остатка. При

связывании рецептора 2B4 с лигандом CD48 адапторный белок SAP привлекает к тирозиновым остаткам тирозинкиназу Fyn, которая фосфорилирует эти остатки и активируется сама. Далее тирозинкиназа Fyn фосфорилирует ряд адапторных белков, что инициирует сигнальные пути и активацию NK-клетки, приводя к цитотоксической реакции, пролиферации и синтезу NK-клетками цитокинов.

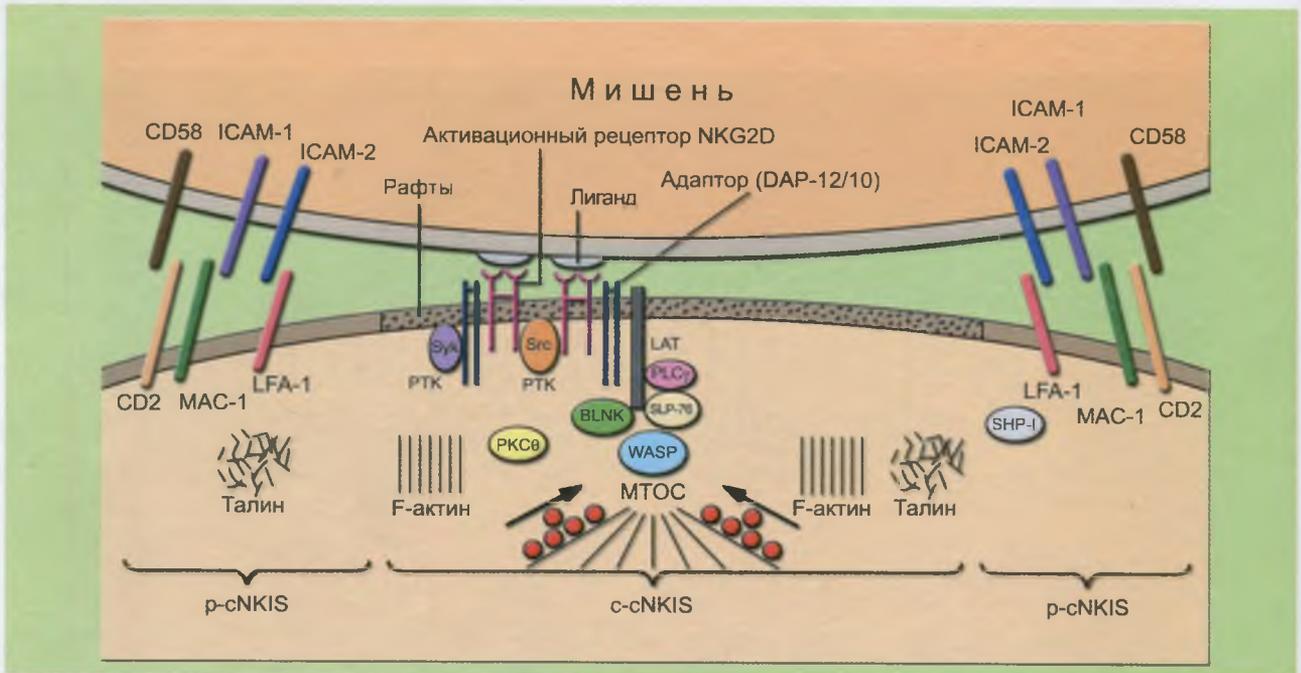


Рис. 74. Образование цитолитического синапса

При встрече с клеткой-мишенью как с чувствительной, так и с резистентной, НК-клетка образует с ней конъюгат. В месте клеточного контакта происходит образование супрамолекулярного активационного комплекса, являющегося аналогом иммунного синапса при взаимодействии Т-лимфоцитов с антигенпрезентирующими клетками. У НК-клеток имеется два вида иммунных синапсов: цитолитический — cNKIS, образуется при встрече с чувствительной клеткой, и ингибиторный — iNKIS, образуется при взаимодействии с резистентной клеткой (последний на рис. не показан). Формирование синапса происходит в липидных рафтах, участках ЦПМ, обогащённых гликофинголипидами и холестерином, создавая оптимальные условия для функционирования ферментов, адапторных белков и липидных мессенджеров. В cNKIS различают три участка: два периферических — p-cNKIS и один центральный — c-cNKIS. Главная роль в создании прочного синапса принадлежит молекулам адгезии, локализованным в p-cNKIS. К ним относят рецепторы НК-клеток — CD2, MAC-1 и LFA-1, которые связываются с молекулами CD58, ICAM-2 и ICAM-1 клетки-мишени. Центральная часть кластера c-cNKIS содержит активационные рецепторы и их адапторные молекулы НК-клеток, взаимодействующие с соответствующими лигандами клеток-

мишеней. На рисунке представлен рецептор NKG2D, который в зависимости от длины цитоплазматического хвоста может реагировать с DAP-12 или DAP-10. Конститутивно с адапторами связаны киназы семейства Src и Syk. Их активация происходит при контакте рецептора с лигандом. Активированные киназы вовлекают в c-cNKIS ряд других сигнальных белков. В течение 1 мин после образования синапса в cNKIS проникают фосфолипаза PLCγ, цитозольные адапторы SLP-76 и BLNK, белок синдрома Вискотта–Олдрича, протеинкиназы ITK, Fyn, Lsk, Syk, ZAP-70 и PKC-θ и активируется трансмембранный адаптор LAT. Взаимодействие всех этих сигнальных молекул способствует активации НК-клеток, что проявляется в синтезе цитокинов, дегрануляции и развитии цитолитической реакции. При образовании цитолитического синапса происходит перемещение актинсвязывающего белка талина в область ниже адгезивных молекул. Талин обеспечивает связь цитоскелета клетки с c-cNKIS. Образуется компактная структура MTOC (*microtubule-organizing center*), состоящая из сконцентрированных в одном месте микротрубочек, ориентированных по направлению к клетке-мишени. По этому комплексу перфоринсодержащие гранулы направляются к мишени и освобождают на неё своё содержимое (MacFarlane A.W., Campbell K.S., 2006).

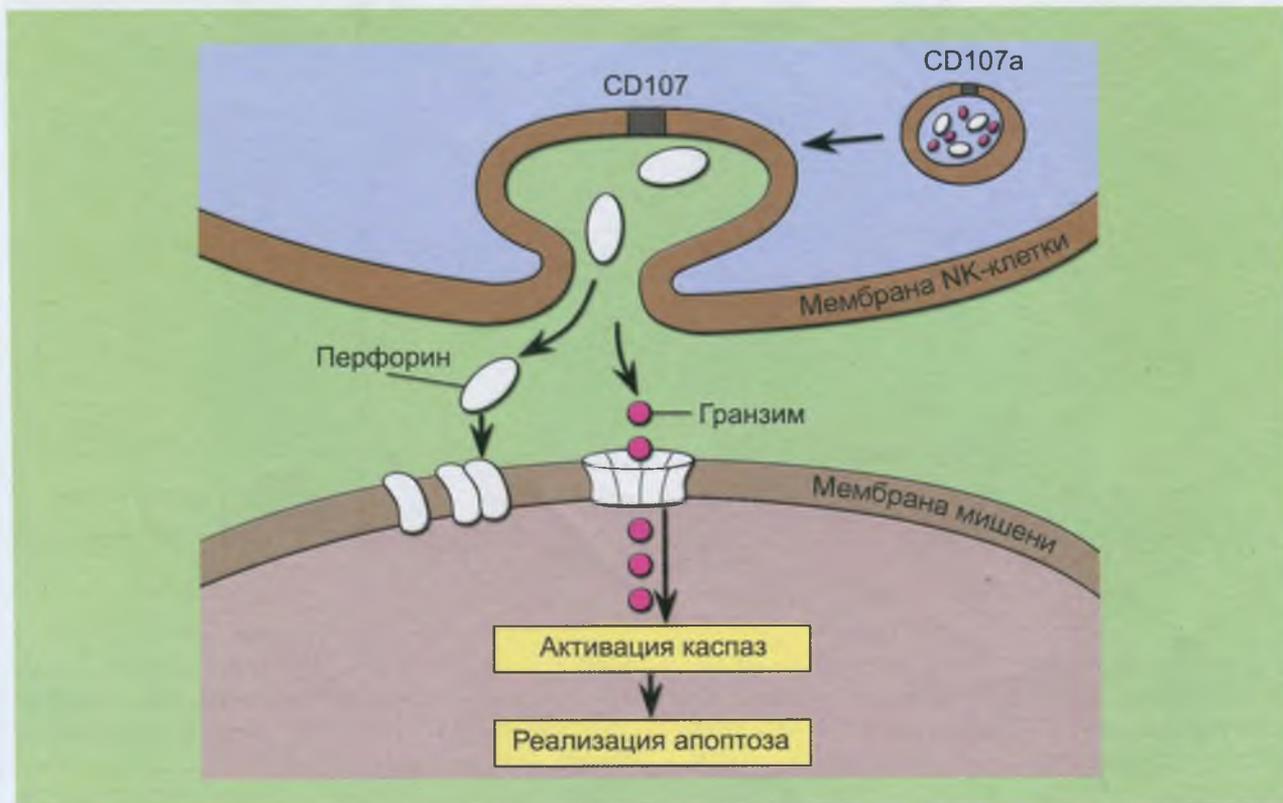


Рис. 75. Основной механизм лизиса мишеней

После образования иммунного синапса происходит процесс дегрануляции НК-клеток. В гранулах НК-клеток содержится три типа субстанций — перфорин, гранулизин и гранзимы (А и В). Перфорин представляет собой белок с молекулярной массой 66 000–70 000 D. В присутствии ионов Ca^{2+} он изменяет свою конформацию: у него открываются гидрофобные участки, с помощью которых он внедряется в мембрану клетки-мишени и олигомеризуется. Соединения 3–4 мономеров уже достаточно для формирования канала, который обычно состоит из 10–20 молекул перфорина, имеет диаметр 10–20 нм и допускает прохождение мо-

лекул белка. В эти каналы проникают ферменты гранзимы (протеазы химотрипсинового типа), которые в свою очередь активируют другие сериновые протеазы — каспазы. Развивается сложная цепь внутриклеточных событий, ведущих к активации эндонуклеаз и деградации ДНК, т.е. к апоптозу. Характерной чертой цитолитических гранул НК- и CD8^+ Т-клеток является экспрессия молекулы CD107a на мембране гранул. При дегрануляции происходит слияние мембраны гранул с ЦПМ НК-клеток, и молекула CD107a начинает экспрессироваться на ЦПМ. Этот процесс можно выявить с помощью соответствующих МАТ.

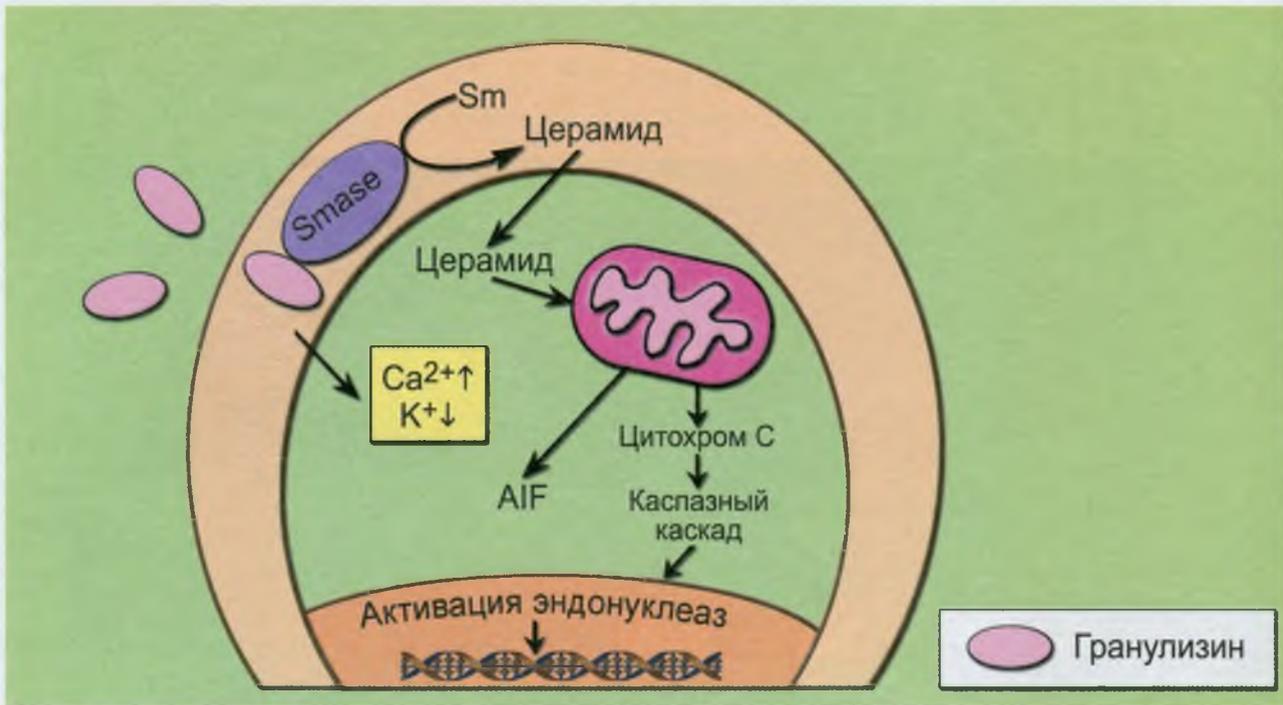


Рис. 76. Механизм действия гранулизина

Гранулизин — сапониноподобный положительно заряженный белок с молекулярной массой 9 kDa, представляющий собой кластер из 5 α -спиралей. Наряду с перфорином и гранзимами, этот белок содержится в гранулах NK-клеток, а также активированных $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток. При взаимодействии с мишенью происходит дегрануляция NK-клеток и выход цитолитических белков. Положительно заряженный гранулизин внедряется в отрицательно заряженную мембрану клетки-мишени. Это вызывает повышение внутриклеточного

Ca^{2+} и понижение K^+ , что может вызвать разрыв мембраны и быструю гибель клетки. Одновременно с этим развивается и другой путь деструкции клетки. Гранулизин активирует в мембране клетки-мишени сфингомиелиназу (Smase), которая расщепляет соответствующий субстрат с образованием церамида. Церамид и изменение концентрации внутриклеточных солей нарушает проницаемость мембраны митохондрий и выход из неё цитохрома С и фактора AIF (*apoptosis inducing factor*). Происходит активация каспаз и развитие апоптоза.

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

Гранулизин принимает активное участие в противоинфекционной защите организма. Оказалось, что этот белок обладает способностью убивать ряд патогенных бактерий, грибов и гельминтов *in vitro*. Совместно с перфорином гранулизин убивает внутриклеточные микобактерии туберкулёза. Более того, есть данные, что $CD8^+$ и $CD4^+$ Т-клетки, содержащие большие количества гранулизина, способны напрямую убивать микобактерии туберкулёза. Причём интересно отметить, что у больных туберкулёзом существенно подавлена продукция не только $IFN\gamma$, но и гранулизина. Далее было установлено, что гранулизин участвует в элиминации *Mycobacterium leprae*, *Cryptococcus neoformans*, *Acholeplasma laidlawii* и вирусов герпеса. Гранулизин принимает также участие в противоопухолевой защите. Есть данные, что развитие опухоли коррелирует с понижением уровня гранулизина в NK-клетках, тогда как перфорин в этих клетках оставался в пределах нормы. Есть успешные попытки лечения гранулизином опухолей в эксперименте.

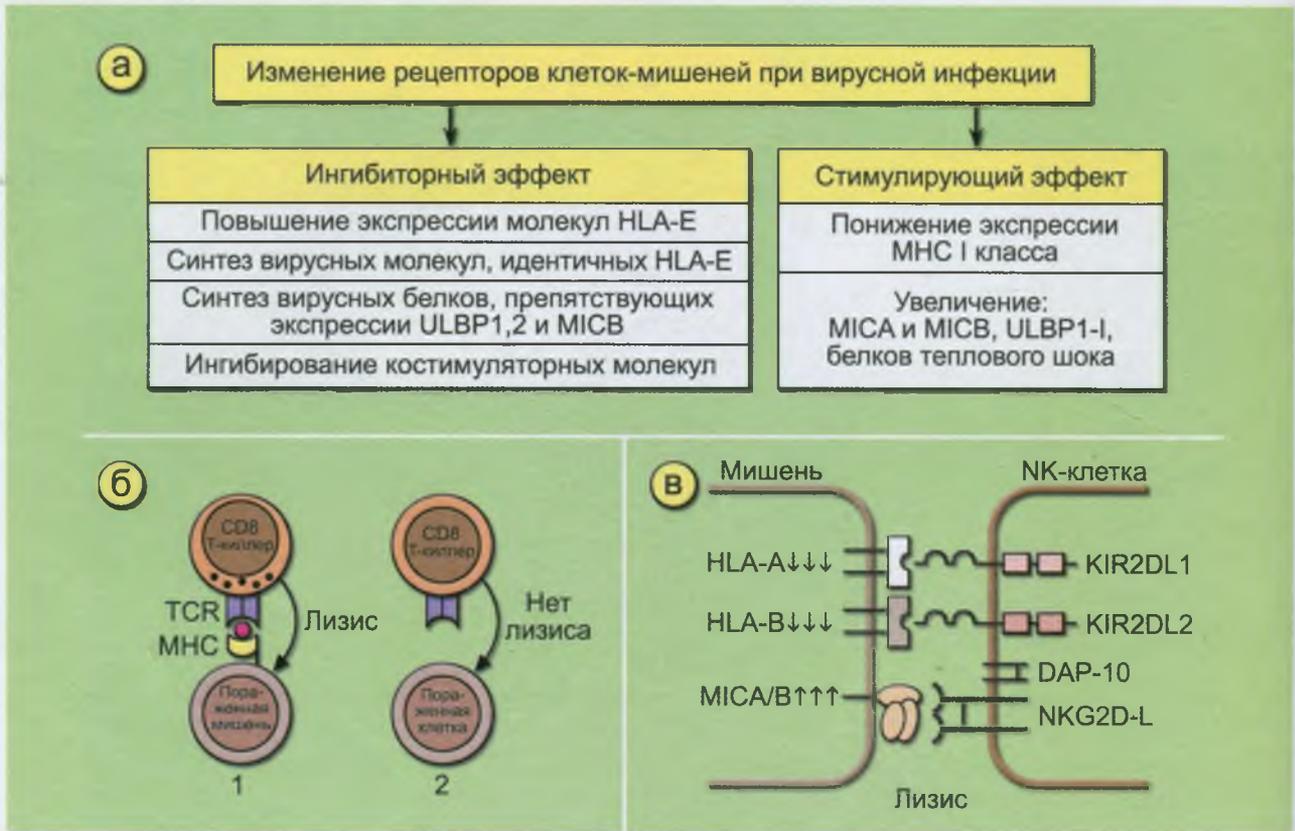


Рис. 78. Роль NK-клеток в противовирусном иммунитете

а. При вирусной инфекции происходят изменения в рецепторном аппарате клеток-мишеней, оказывая как ингибирующий, так и стимулирующий эффект на цитолитическую активность NK-клеток. Ингибиторный эффект связан с повышением при вирусной инфекции на клетках-мишенях молекул HLA-E, являющихся высокоаффинными лигандами для ингибиторных рецепторов NKG2A. Такие клетки становятся нечувствительными к литическому действию NK-клеток. Вирусы, в частности ЦМВ, синтезируют пептиды, которые в цитоплазме поражённой клетки взаимодействуют с MICB и препятствуют их экспрессии на её мембране, в результате они также не распознаются NK-клетками. Однако одновременно с этим в патологической клетке могут происходить изменения, ведущие к развитию цитолитической реакции. К ним относят снижение экспрессии классических молекул HLA-A и HLA-B, что, как правило, наблюдается при вирусных инфекциях. Однако этот процесс может иметь и неблагоприятные последствия.

б. Отрицательный результат заключается в том, что поражённые клетки-мишени, не экспрессирующие или слабо экспрессирующие молекулы MHC I класса, не узнаются CD8⁺ T-киллерами и не подвергаются лизису.

в. Представлен пример лизиса клетки, поражённой NK-клетками. Литическая реакция стала возможной благодаря снижению экспрессии классических молекул MHC I класса, что отменило действие ингибиторных рецепторов группы KIR. На этой клетке экспрессируются атипичные MHC-молекулы типа MICA/B, являющиеся лигандами для активационных рецепторов NKG2D. Клетка, поражённая вирусом, подвергается лизису.

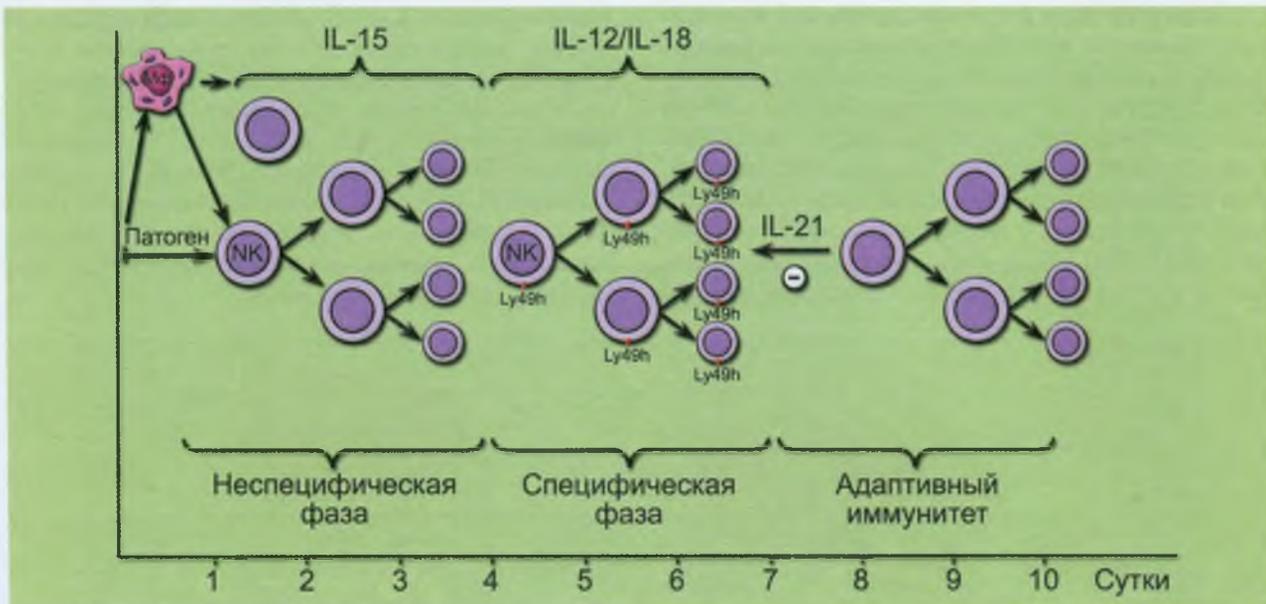


Рис. 79. Кинетика NK-клеток на модели цитомегаловирусной инфекции мышей

При заражении мышей ЦМВ различают две фазы пролиферации NK-клеток в печени: неспецифическая и специфическая. Первая из них развивается на ранних этапах инфекции, когда под влиянием вируса происходит индукция синтеза $IFN\alpha/\beta$ в МФ и ДК. В МФ повышается синтез IL-15, который является ростовым фактором для NK-клеток. Под влиянием IL-15 происходит пролиферация всех субпопуляций NK-клеток, несущих различные активационные и ингибиторные маркеры. Но с 4-го дня начинается селективная пролиферация NK-клеток, имеющих в составе активационный маркер

Ly49h. NK-клетки, содержащие этот маркер, распознают и убивают клетки, инфицированные ЦМВ. Рецептор Ly49h является фактором естественной резистентности мышей к этому вирусу. Пролiferация $Ly49h^+$ NK-клеток поддерживается цитокинами IL-12 и IL-18 и является специфической, так как создаёт устойчивость только к ЦМВ, а не к другим вирусам. На 6–7-й день формирование новых $Ly49h^+$ NK-клеток замедляется, что связано с развитием адаптивного иммунитета. Возможно, активированные T-клетки синтезируют цитокины, которые подавляют пролиферацию NK-клеток.

ЗАТЕКСТОВОЕ ПРИМЕЧАНИЕ

Первоначально NK-клетки описаны как клетки, участвующие в противовирусной и противоопухолевой защите. Но накапливается много данных об их участии в аутоиммунных процессах. Их повышенное количество обнаруживается в синовиальной ткани при ревматоидном артрите и в поражениях мозга при рассеянном склерозе. При псориазе количество NK-клеток в крови снижено. Но в псориазных бляшках — повышено. При системной красной волчанке количество NK-клеток в периферической крови снижено. Возможны две роли этих клеток при аутоиммунных заболеваниях: ингибирующая и стимулирующая. Ингибирующая роль NK-клеток заключается в синтезе цитокинов, способствующих развитию Th2-клеток, подавляющих функциональную активность Th1-клеток. Стимулирующая роль NK-клеток заключается в продукции $IFN\gamma$, который в данном случае следует рассматривать как повреждающий фактор. При большинстве аутоиммунных заболеваний, при которых происходит увеличение NK-клеток, наблюдается повышенный синтез цитокинов Th1-профиля. В этом случае NK-клетки будут усиливать развитие патологического процесса. Такая роль может быть особенно ярко выражена при аутоиммунных процессах, возникающих как следствие вирусной инфекции. Продолжение синтеза $IFN\gamma$ на завершающих этапах вирусного процесса будет иметь больше повреждающий, чем защитный характер, и способствовать развитию аутоиммунных поражений.

Защитную роль в противоопухолевом иммунитете NK-клетки выполняют с помощью активационного рецептора NKG2D и рецепторов семейства NCR. Предполагают, что рецепторы NCR и NKG2D распознают разные лиганды и их эффект на опухоль является комплементарным. Взаимодействие опухоли с NK-клеткой разбирается на примере NKG2D. Аналогично случаю с активационными рецепторами KIR и CD94/NKG2, ингибиторный сигнал, идущий от лиганда MHC I класса, является для NKG2D

доминирующим. Как нормальные, так и опухолевые клетки, экспрессирующие высокие уровни MHC I класса, нечувствительны к лизису, опосредованному NKG2D-рецептором. Для этого должно произойти снижение экспрессии АГ MHC I класса и повышение экспрессии лигандов NKG2D — молекул MICA/B и UBLP1, 2, 3, 4. Эти белки, появляющиеся на стрессированных, инфицированных и опухолевых клетках, делают их «видимыми» для NK-клеток, а также для NKT- и $\gamma\delta$ T-клеток.

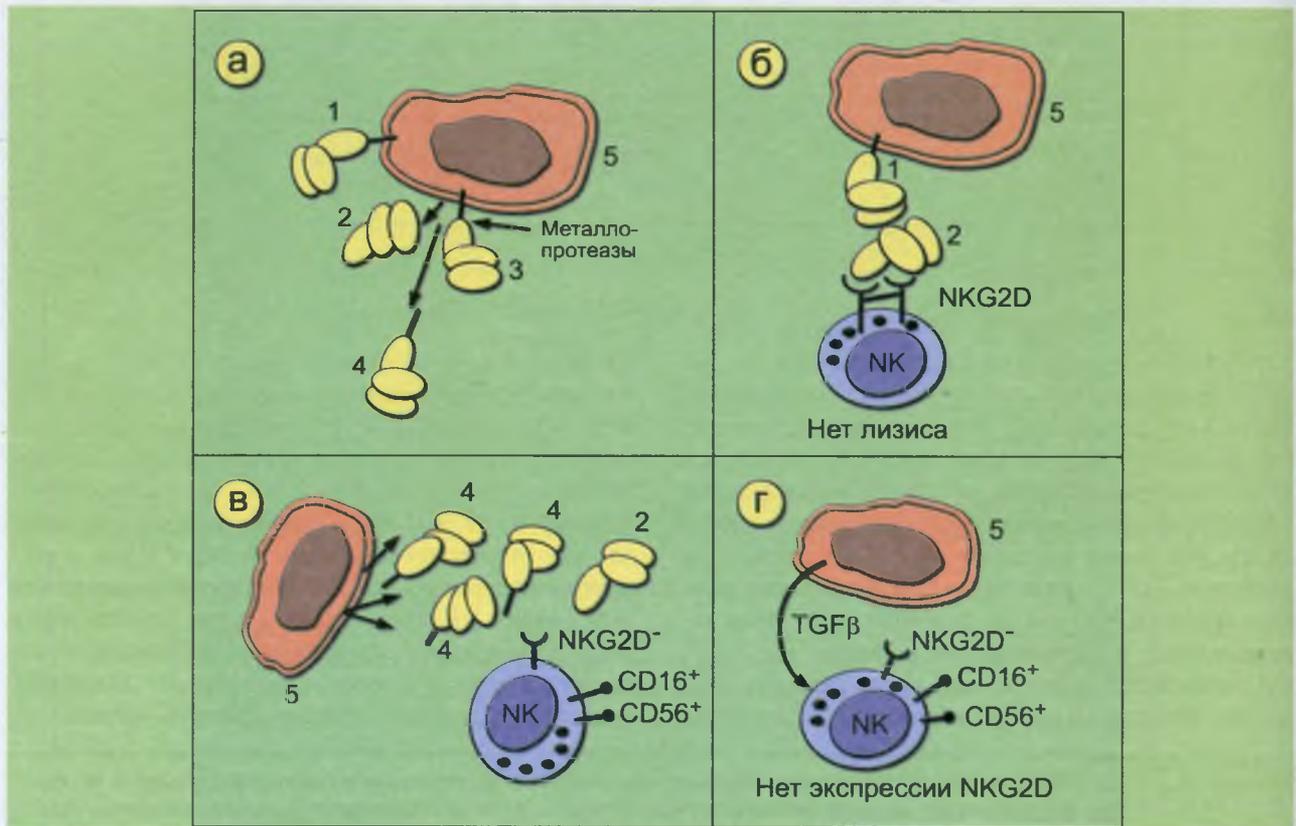


Рис. 80. Роль рецептора NKG2D в противоопухолевом иммунитете

а. Опухолевые клетки (5) вырабатывают свою «тактику борьбы» с NK-клетками. При ряде опухолей в сыворотке крови появляются в высоких титрах растворимые формы белков MICA. Это может быть результатом альтернативного сплайсинга генов MICA, приводящего к потере цитоплазматического хвоста MICA-белка (2). Эти структуры не могут встраиваться в мембрану клетки и секретируются в окружающую среду. Может происходить активация металлопротеаз, которые отщепляют MICA-белки от мембраны (3), которые тоже переходят во внеклеточную среду (4).

б. Растворимые формы MICA-белков (2) реагируют с NKG2D NK-клетки, в результате чего NK-клетка не распознаёт опухолевую клетку с «нормальным» (1) MICA-белком. Лизиса не происходит.

в. Постоянный контакт NK-клетки с растворимыми формами MICA-белков приводит к анергии NK-клеток, проявляющейся в утрате или пониженной экспрессии NKG2D-рецептора.

г. Опухолевая клетка (5) синтезирует цитокин TGF- β , который подавляет экспрессию NKG2D у NK-клеток, вследствие чего она не может участвовать в противоопухолевом иммунитете.

1.3.8. В1-КЛЕТКИ

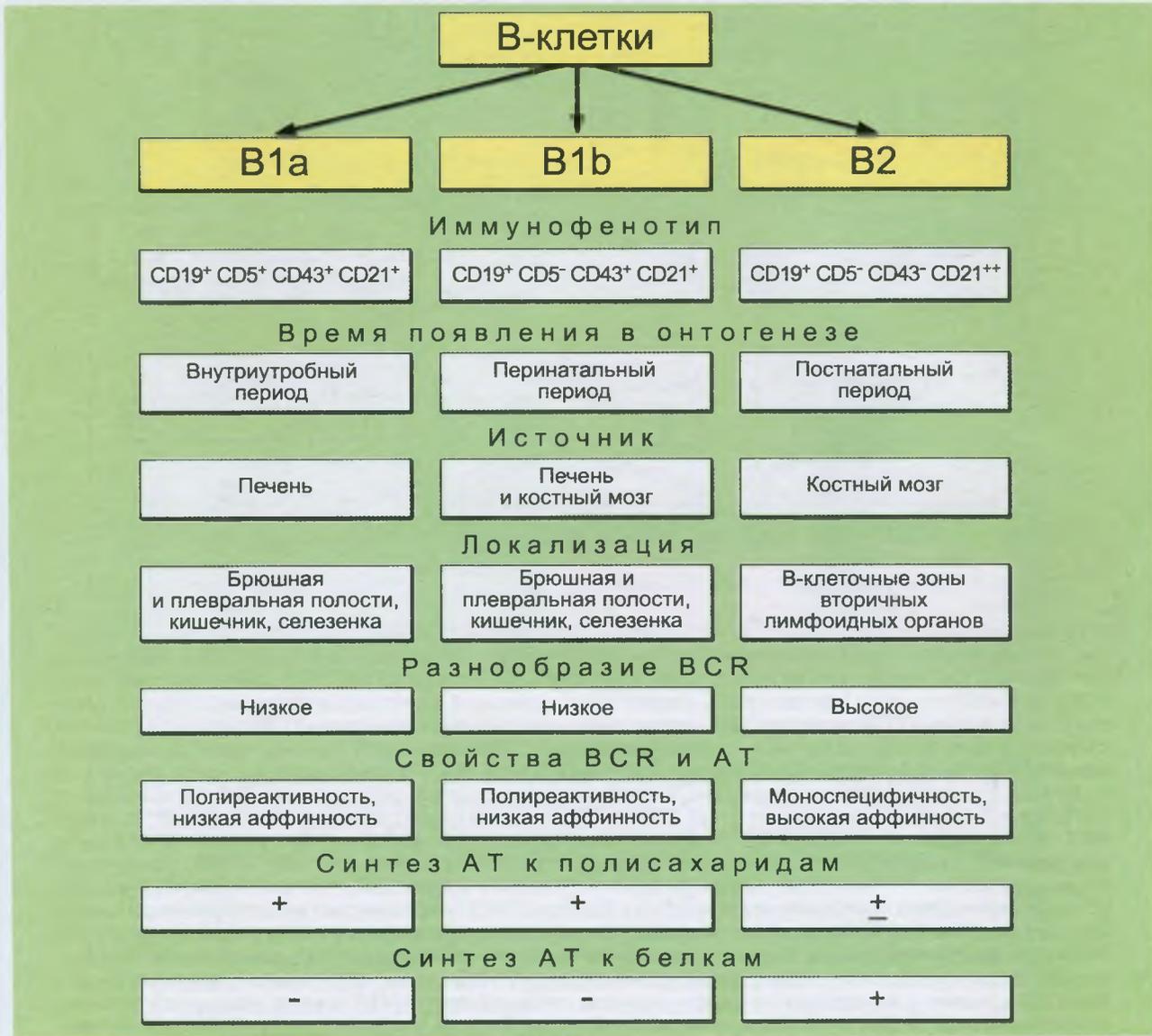


Рис. 81. Свойства и функции В1-клеток

В1-клетки — особая минорная субпопуляция В-клеток, которую наряду с $\gamma\delta$ T-клетками можно отнести как к врождённому, так и адаптивному иммунитету. Фундаментальным отличием В1-клеток от В2-клеток (или обычных В-клеток) является малое разнообразие репертуара BCR и антител, независимость синтеза антител от Т-хелперов, отсутствие иммунологической памяти и синтез преимущественно низкоаффинных IgM-антител к бактериальным по-

лисахаридам. Считают, что сывороточный IgM является, в основном, продуктом В1-клеток, которые выступают первой линией защиты от капсульных микроорганизмов, способствуя их немедленной опсонизации и фагоцитозу. По экспрессии поверхностного АГ CD5 В1-клетки подразделяют на В1а- и В1b-клетки. Последние по своим свойствам ближе к В2-клеткам, так как они могут синтезировать IgG и обладают иммунологической памятью.

1.3.9. NKT-КЛЕТКИ

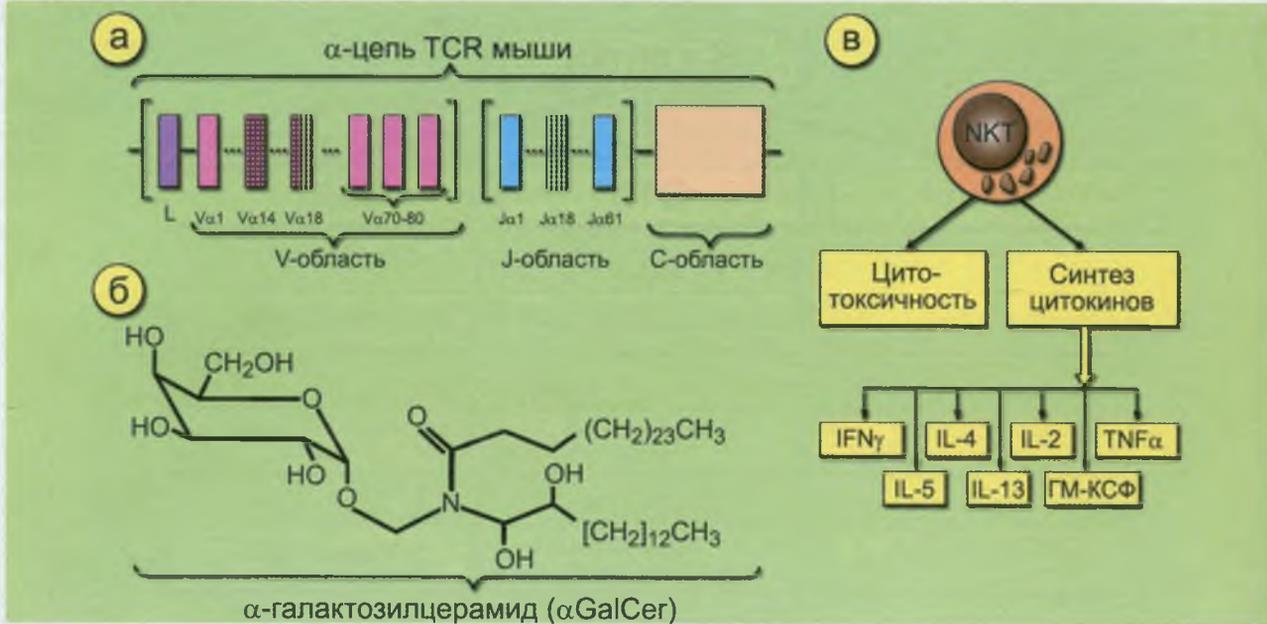


Рис. 82. Общая характеристика NKT-клеток

а. Естественные киллерные Т-клетки (NKT-клетки) представляют собой особую субпопуляцию лимфоцитов, которая занимает промежуточное положение между клетками врождённого и адаптивного иммунитета. Это связано с тем, что эти клетки имеют черты как NK-, так и Т-лимфоцитов. NKT-клетки экспрессируют α/β TCR Т-клеток и NK1.1-рецептор NK-клеток, принадлежащий к суперсемье лектиновых гликопротеинов С-типа. Однако TCR-рецептор NKT-клеток имеет существенные отличия от TCR-рецептора обычных клеток. У мышей большинство NKT-клеток экспрессирует инвариантный V-домен α -цепи, состоящий из сегментов Va14-Ja18 (иногда обозначаемый как Ja281). У человека V-домен α -цепи состоит из сегментов Va24-JaQ. У мышей α -цепь инвариантного TCR преимущественно комплексируется с V β 8.2, у человека – с V β 11. Из-за особенностей строения цепей TCR NKT-клеток называют инвариантным – iTCR. Развитие NKT-клеток зависит от молекулы CD1d, которая имеет сходство с молекулами MHC I класса. В отличие от классических молекул MHC этого класса, презентующих Т-клеткам пептиды, CD1d презентует Т-клеткам только гликолипиды. Хотя считается, что печень является местом развития NKT-клеток, имеются строгие доказательства роли тимуса в их развитии. NKT-клетки играют важную роль в регуляции иммунитета. У мышей и людей с различными аутоиммунными процессами функциональная активность NKT-клеток сильно нарушена. Полной картины о значимости таких нарушений в патогенезе аутоиммунных процессов нет. При некоторых аутоиммунных процессах NKT-клетки могут играть супрессорную роль. Введённые мышам гликолипиды подавляют развитие аутоиммунитета. NKT-клетки участвуют в развитии аллергических процессов, в частности бронхиальной астмы. Помимо контроля аутоиммунных и аллергических реакций, NKT-клетки участвуют в иммунологическом надзоре, вызывая при повышении функциональной активности отторжение опухолей. Велика их роль в противомикробной защите, особенно на ранних этапах развития инфекционного процесса. NKT-клетки вовлекаются в различные воспалительные инфекционные процессы, особенно при вирусных поражениях печени. В целом, NKT-клетки – это многофункциональная популяция лимфоцитов, тающая в себе ещё много научных загадок.

б. Главной чертой TCR NKT-клеток человека и мышей является узкая специфичность, заключающаяся в способности распознавать гликолипид α -галактозилцерамид (α GalCer), извлечённый из морских губок. Этот гликолипид представляется NKT-клеткам молекулой CD1d. Главным методом идентификации NKT-клеток является применение тетрамеров CD1d, нагруженных α GalCer и меченных флуорохромом. В проточной цитометрии с помощью этого лиганда можно установить точное количество NKT-клеток.

в. Активированные Va14⁺ и Va24⁺ NKT-клетки характеризуются наличием цитотоксических свойств и способностью синтезировать цитокины. Цитотоксичность является перфорин/гранзим- и FasL-зависимой и развивается при распознавании TCR NKT-клетки соответствующего лиганда, в частности α GalCer. Но главное свойство NKT-клеток – это практически немедленная продукция цитокинов при встрече с патогеном, что является важнейшей составной частью фазы врождённого иммунного ответа.

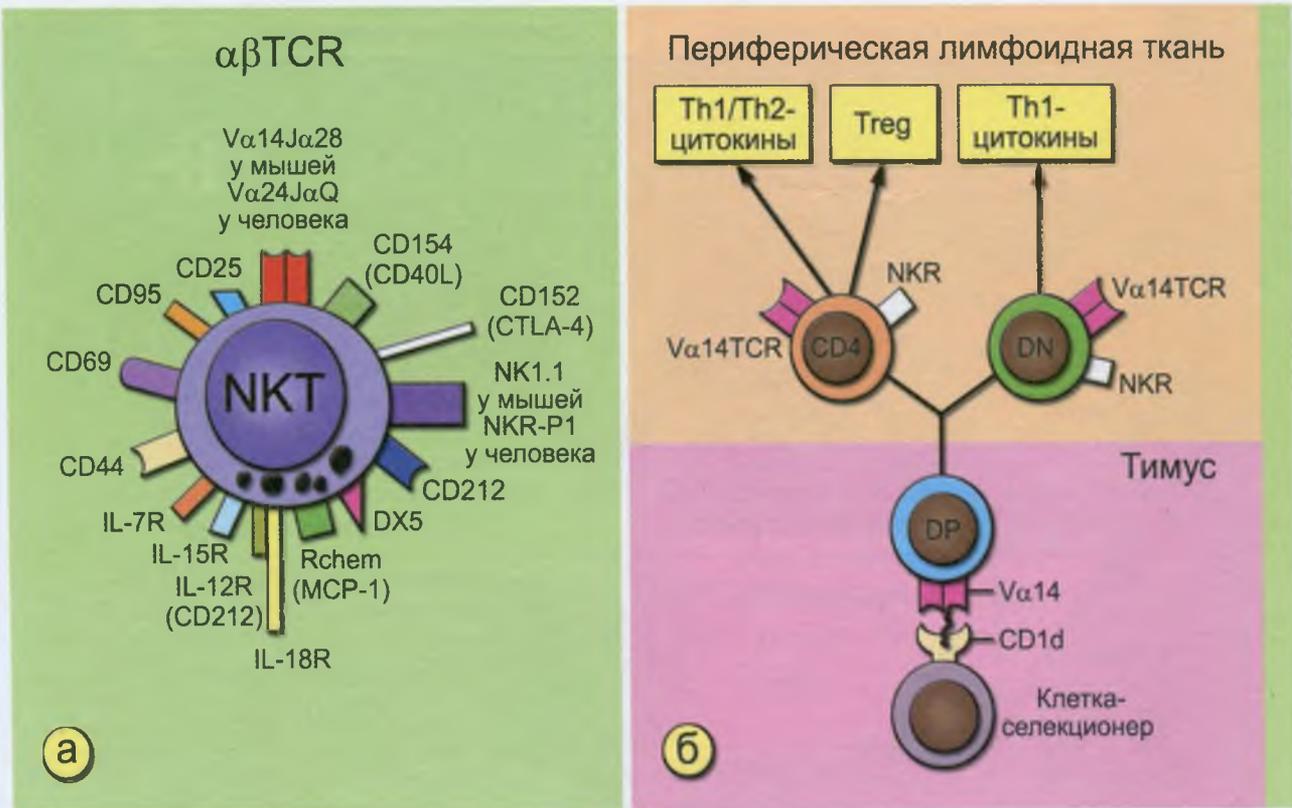
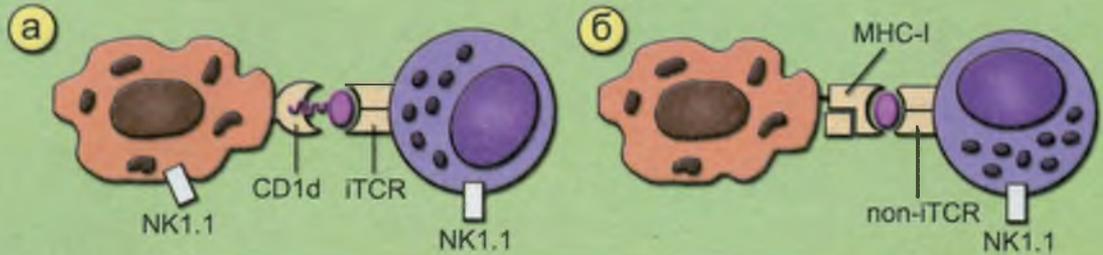


Рис. 83. NKT-клетки: иммунофенотип и основные этапы развития

а. Помимо инвариантного TCR NKT-клетки характеризуются наличием у мышей и человека соответственно NK-клеточного рецептора NK1.1 и NKR-P1 (CD166). NK-рецептор NKT-клеток не несёт ингибиторного домена и у мышей ассоциирован с активационным адаптором FcεRIγ. Именно поэтому кросс-связывание NK-рецептора моноклональными антителами вызывает цитотоксический эффект, дегрануляцию и синтез цитокинов. Активированные Vα14⁺ и Vα24⁺ NKT-клетки вызывают перфорин-зависимую и FasL-зависимую цитотоксичность при распознавании их TCR соответствующего антигена. В периферической крови NKT-клетки имеют иммунофенотип активированных клеток: они экспрессируют активационные маркёры CD69, CD44, CD95, DX5, рецепторы для IL-7, IL-15, хемокинов. IL-15 является главным ростовым фактором не только для NK-клеток, но и для NKT-клеток.

б. Развитие NKT-клеток является тимусзависимым процессом. Предполагают, что предшественниками NKT-клеток являются CD4⁺CD8⁺ двойные позитивные тимоциты (DP). Встреча в тимусе предшественника NKT-клеток, имеющего аффинный Vα14 TCR-рецептор, с эндогенным лигандом, представленным молекулой CD1d клетки-селекционера, приводит к отбору таких клеток и их пролиферации. NKT-клетки приобретают рецептор NK-клеток на периферии, где они становятся либо CD4⁻CD8⁻ (DN), либо CD4⁺. Между ними имеется различие в функциональной активности. CD4⁺ NKT-клетки синтезируют Th1/Th2-цитокины, DN NKT-клетки — Th1-цитокины.



	I тип (классические)	II тип (неклассические)
TCR	Инвариантный (iTCR)	Неинвариантный TCR (non-iTCR)
Представляющая молекула	CD1d	70% MHC I класса, 30% CD1d
Цитокины	Th1- и Th2-типа	Th1-типа
Тимус	Тимусзависимые	Тимусзависимые

Рис. 84. Типы NKT-клеток

Различают два типа NKT-клеток: классические (а) и неклассические (б). Первые имеют строго рестриктированный TCR, распознающий только гликолипиды, представленные молекулой CD1d. Репертуар неклассических NKT-клеток значительно более разнообразен. Они могут различать не только гликолипиды, но и молекулы нелипидной природы, которые в 70% случаев представляются молекулами MHC I класса. Характерная черта NKT-клеток I типа — практически немедленный синтез при микробной инвазии как цитокинов Th1-типа (IFN γ), так и Th2-типа (IL-4). NKT-клет-

ки II типа преимущественно синтезируют IFN γ . Развитие классических NKT-клеток контролируется неполиморфной молекулой CD1d, которая ассоциируется с β 2-микроглобулином. Классические NKT-клетки, в основном, экспрессируют молекулы CD4. Неклассические NKT-клетки бывают чаще двойные негативные, но могут экспрессировать CD8. Как классические, так и неклассические NKT-клетки экспрессируют маркер NK-клеток — NK1.1 у мышей, NKR-P1 (CD166) — у человека. Развитие обоих типов NKT-клеток является тимусзависимым.

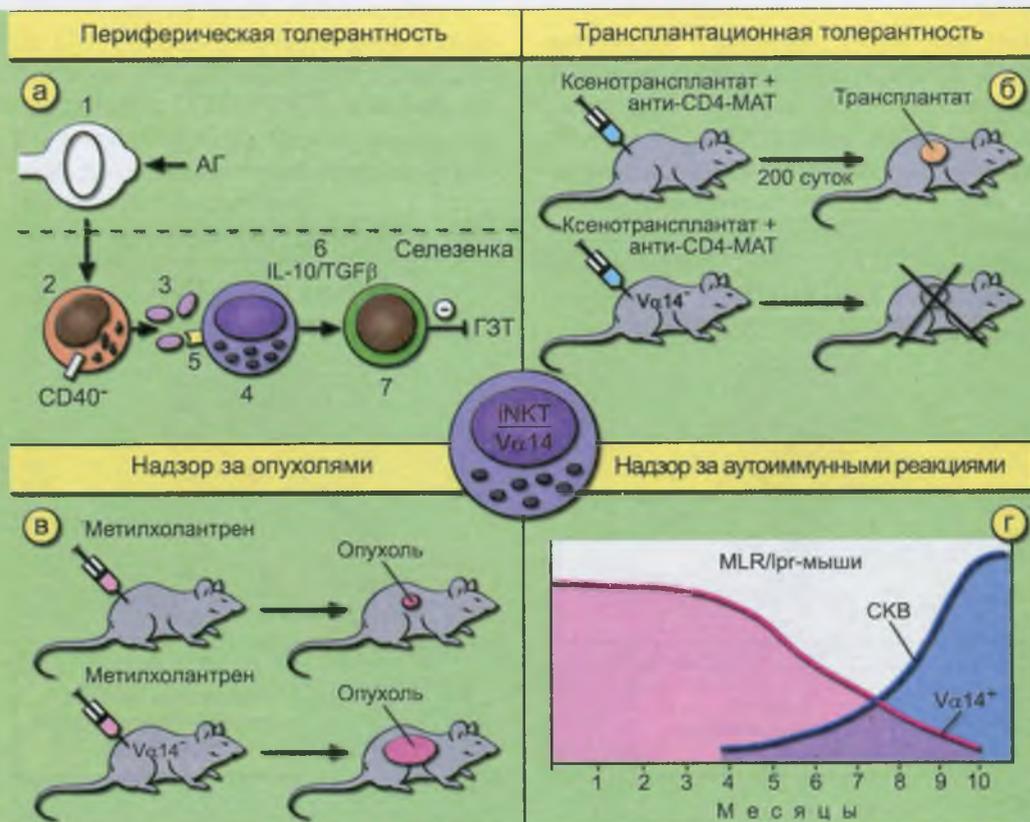


Рис. 85. Физиологические функции $V\alpha 14^+$ NKT-клеток в эксперименте

а. На данном рисунке на модели ACAID (*anterior chamber-associated immune deviation*) показана роль NKT-клеток в индукции толерантности. Сущность модели заключается в том, что при введении мышам АГ в переднюю камеру глаза (1), являющегося иммунологически привилегированным компартментом, происходит индукция на периферии антигенспецифической толерантности, проявляющейся в неспособности таких мышей развивать ГЗТ. Считается, что АПК, моноциты/макрофаги и ДК (2), примированные в передней камере глаза, приобретают уникальную способность синтезировать избыточные количества хемокина MIP-2, аналога человеческого IL-8 (3). АПК мигрируют в селезёнку и привлекают туда NKT-клетки (4), экспрессирующие CXCR2 (5) — рецептор для MIP-2. В свою очередь NKT-клетки продуцируют цитокины IL-10/TGF- β (6), которые вызывают образование иммунорегуляторных клеток Treg (7), подавляющих развитие ГЗТ. У мышей с нокаутом CD1d, $V\alpha 14$ или IL-10 подобного явления не происходит.

б. Трансплантация в печень мышей клеток поджелудочной железы крыс совместно с инъекцией МАТ к мышиному CD4 вызывает выживание трансплантата в течение 200 сут. У мышей с дефицитом $V\alpha 14^+$ NKT-клеток происходит быстрое отторжение пересаженного материала. Введение мышам $V\alpha 14^+$ NKT-клеток восстанавливает продолжительность жизни ксенотрансплантата. Аналогичная ситуация наблюдается и при аллотрансплантациях. Следовательно, $V\alpha 14^+$ NKT-клетки способствуют установлению длительной трансплантационной толерантности.

в. $V\alpha 14^+$ NKT-клетки играют решающую роль в иммунологическом надзоре за развитием фибросаркомы, индуцированной метилхолантреном. Под влиянием этого канцерогена опухоль у мышей с дефицитом $V\alpha 14^+$ NKT-клеток развивается в 5–6 раз быстрее, чем у нормальных мышей. Этот эффект связывают со способностью NKT-клеток у нормальных мышей синтезировать большие количества IFN γ .

г. Мыши линии MLR/lpr склонны развивать аутоиммунное заболевание, идентичное СКВ человека. Развитие заболевания начинается на 5–6-й мес жизни и чётко совпадает с началом падения уровней $V\alpha 14^+$ NKT-клеток. Аналогичная ситуация наблюдается у мышей NOD, развивающих спонтанный сахарный диабет 1 типа.

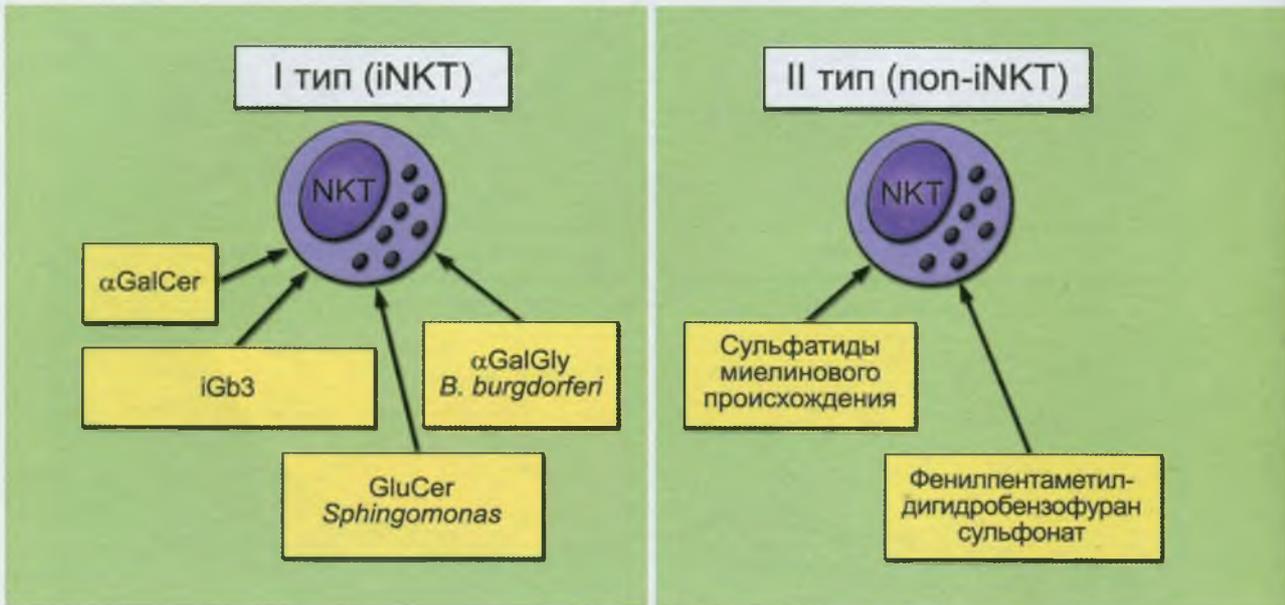


Рис. 86. Возможные активаторы NKT-клеток

Сильным активатором NKT-клеток является вещество α GalCer, получаемое из морских губок. Однако α GalCer нельзя рассматривать как естественный активатор NKT-клеток человека и млекопитающих. В процессе поиска активатора NKT-клеток было установлено, что лизосомальный гликофинголипид — изоглоботригексозилцерамид (iGb3) способен активировать iNKT-клетки человека и мышей. У мышей, дефективных по β -гексоаминидазе — ферменту, ответственному за образование iGb3 в лизосомах, не образуются NKT-клетки. Вероятно, iGb3 является физиологическим активатором NKT-клеток. Далее было обнаружено, что гликозилцерамид клеточной стенки грамотрицательной, ЛПС-негативной бактерии *Sphingomonas* — активатор iNKT-клеток. Эти бактерии широко распространены в природе. Есть данные, что они участвуют в развитии септического шока у им-

мунокомпрометированных людей и формировании первичного билиарного цирроза. Недавно было установлено, что α -галактозилдиацилглицерол из спирохеты *Borellia burgdorferi*, возбудителя болезни Лайма, является активатором NKT-клеток. Возможно, что гликолипиды других патогенных спирохет (*B. hermsii*, *Tr. pallidum*) оказывают стимулирующий эффект на эти клетки. Обнаружено, что активаторами non-iNKT-клеток являются сульфатиды — галактолипиды миелиновой оболочки аксонов центральной нервной системы. Человеческие non-iNKT-клетки реагируют с синтетическим веществом — фенилпентаметилдигидробензофурансульфонатом. Это нелипидное низкомолекулярное вещество имеет общую химическую структуру с сульфопрепаратами, вызывающими сильную гиперчувствительность замедленного типа у человека.

Молекула CD1d играет ключевую роль в активации iNKT-клеток. Эта молекула экспрессируется рядом клеток, включая CD4⁺CD8⁺ тимоциты, гепатоциты, В-клетки, МФ и ДК. Однако неясно, какой клеточный тип в наибольшей степени ответствен за активацию iNKT-клеток.

Складывается впечатление, что ДК играют главную роль в презентации гликолипидов iNKT-клеткам и, соответственно, в их активации. Обработка мышинных ДК α -GalCer ведёт к мощной продукции Th1- и Th2-цитокинов и параллельной

активации NK-клеток. Обработка этим лигандом В-клеток вызывает продукцию IL-4 и ингибирует активацию iNKT-клеток, опосредованную ДК. Активация iNKT-клеток происходит при многих инфекционных и аутоиммунных заболеваниях, при ряде хронических воспалительных процессов. Однако при всех этих процессах далеко не всегда находят лиганды типа α -GalCer, необходимые для активации iNKT-клеток. В связи с этим рассматривают два механизма их активации: прямой и непрямой.

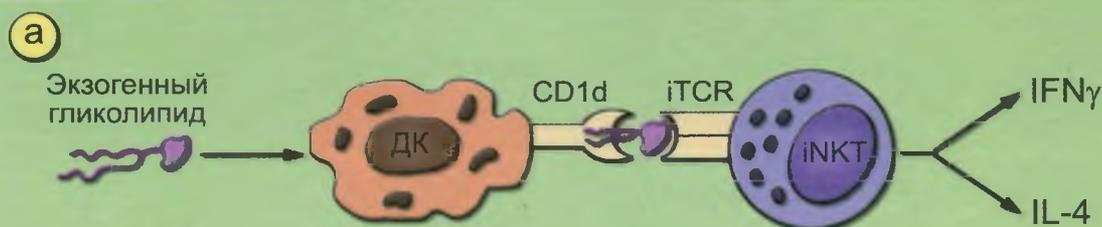


Рис. 87, а. Механизм активации NKT-клеток

а. Первый механизм активации заключается в захвате дендритными клетками или макрофагами (вероятно, с помощью пиноцитоза) экзогенных микробных гликолипидов. Далее молекула CD1d ДК представляет этот гликолипид iTCR NKT-клеткам. Следствием этого являются активация и синтез iNKT-клетками Th1- и Th2-цитокинов. Презентация α GalCer В-клетками (на рис. не показано) индуцирует у iNKT-клеток образование только IL-4. В данном механизме активации непонятным является вопрос, как гликолипиды становятся доступными для iNKT-клеток. Для решения этого вопроса был синтезирован гликолипид галактозил (α 1-2) галактозилцерамид – GGC (на рис. не показан). Оказалось, что GGC ассоциируется с сывороточными липопротеинами очень низкой плотности (VLDL), включая аполипопротеин Е (ApoE), который участвует в очищении организма от липопротеинов и холестерина. ApoE образует комплекс с лигандом GGC, который связывается с рецепторами для липопротеинов очень низкой плотности (VLDLR), через них и происходит проникновение этого лиганда в АПК. Проникший в АПК лиганд GGC подвергается лизосомальному процессингу с помощью карбогидрат гидролаз, превращаясь в активатор iNKT-клеток α GalCer (более подробно этот процесс представлен на рис. 89). Предполагается, что не только GGC, но и другие гликолипиды после связи с ApoE представляются АПК с помощью рецепторов VLDLR. У мышей, дефектных по рецепторам VLDLR, не происходит активация iNKT-клеток лигандом GGC. Представленные данные показывают участие iNKT-клеток в обмене липидов. Действительно, оказалось, что эти клетки участвуют в развитии атеросклероза.

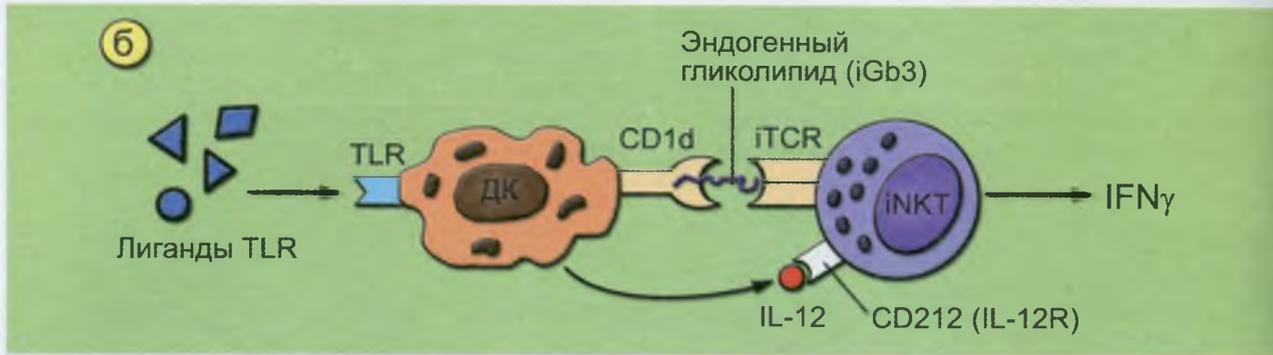


Рис. 87, б. Механизм активации NKT-клеток

б. Второй механизм активации заключается в распознавании микробными лигандами соответствующих TLR ДК. В этом случае происходит двойная активация iNKT-клеток: первая – с помощью IL-12, синтезируемого ДК; вторая – эндогенным лизосомальным гликофинголипидом – iGb3. Следствием этого являются активация и продукция iNKT-клетками IFN γ . Возможно, такой механизм активации участвует в развитии аутоиммунных и хронических инфекционно-воспалительных процессов, когда происходит активация NKT-клеток продуктами нарушенного липидного метаболизма и повышенный синтез NKT-клетками провоспалительных цитокинов. Механизм активации NKT-клеток без участия GalCer хорошо документируется на модели *S. typhimurium*. Эти бактерии являются сильными активаторами iNKT-клеток. Таким же эффектом обладает и ЛПС, компонент клеточной стенки этих бактерий. Активация iNKT как *S. typhimurium*, так и ЛПС осуществляется с помощью ДК, которые под влиянием этих агентов синтезируют большие количества IL-12. В системе, состоящей из ДК и iNKT-клеток, IL-12 без участия бактериальных агентов активирует iNKT. Но эта активация IL-12 происходит только в том случае, если используются ДК, экспрессирующие рецептор CD1d. Показано, что в этом случае TCR iNKT-клеток распознаёт лиганд iGb3, представляемый рецептором CD1d АПК. В настоящее время описаны механизмы активации NKT-клеток без участия TLR и гликолипидов. Такая активация, в частности, осуществляется яйцами глист *Schistosoma mansoni*.

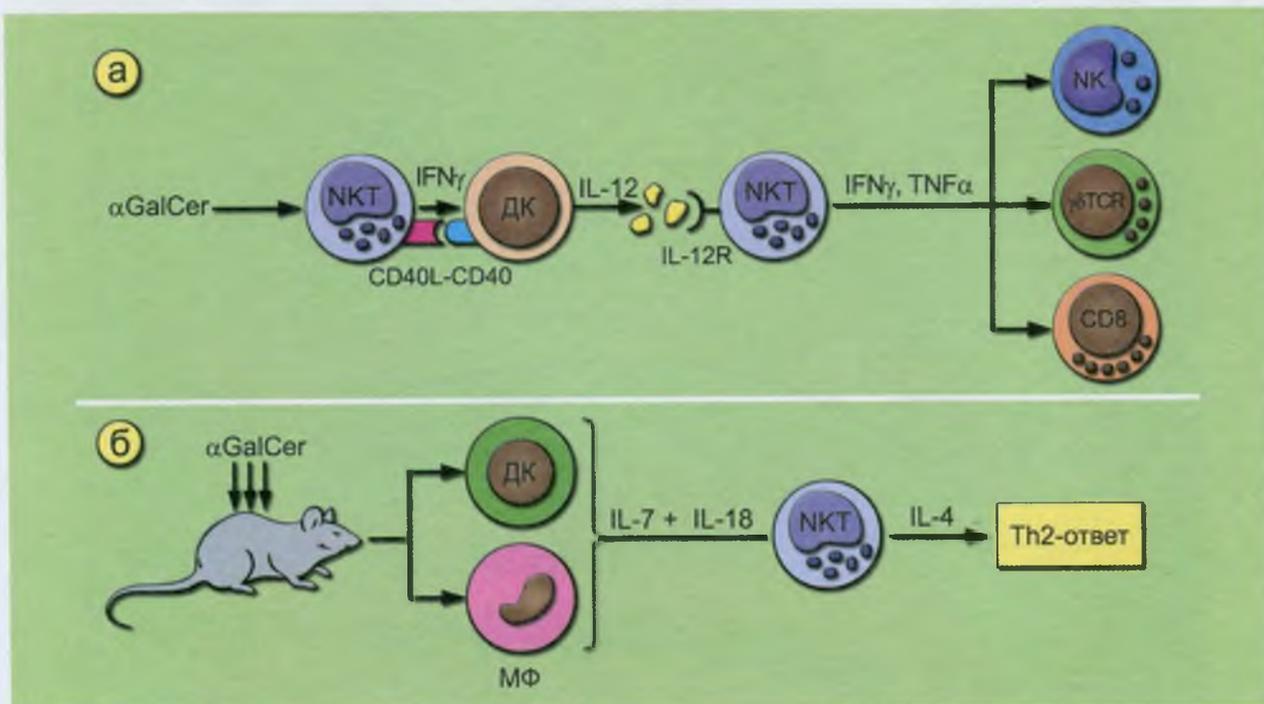


Рис. 88. Действие α GalCer на функциональную активность NKT-клеток

а. Лиганд NKT-клеток α GalCer активирует NKT-клетки, которые экспрессируют CD40L (CD154) и синтезируют $\text{IFN}\gamma$. Взаимодействие CD40L-CD40 активирует ДК, которые начинают синтезировать IL-12. Мишенью IL-12 на ранних этапах инфекции являются только NKT-клетки, так как только на них, а не на NK-клетках или CD8^+ T-клетках, экспрессируется рецептор для IL-12. Под влиянием IL-12 NKT-клетки начинают продуцировать $\text{IFN}\gamma$ и $\text{TNF}\alpha$, повышающие функциональную активность всех типов цитотоксических клеток: NK-клеток, CD8^+ T-клеток и $\gamma\delta$ T-клеток. Основное количество $\text{IFN}\gamma$, синтезируемое у IL-12-стимулированных мышей, образуется NKT-клетками. Подтверждением этого положения является отсутствие цитотоксического противоопухолевого эффекта IL-12 у мышей, дефицитных по $\text{V}\alpha 14^+$ NKT-клеткам.

б. Было установлено, что при многократном введении α GalCer происходит развитие Th2-ответа, вызывая у МФ и ДК преимущественный синтез IL-7 и IL-18. При совместном действии этих цитокинов происходит индукция синтеза NKT-клетками IL-4 и сдвиг иммунного ответа в Th2-сторону.

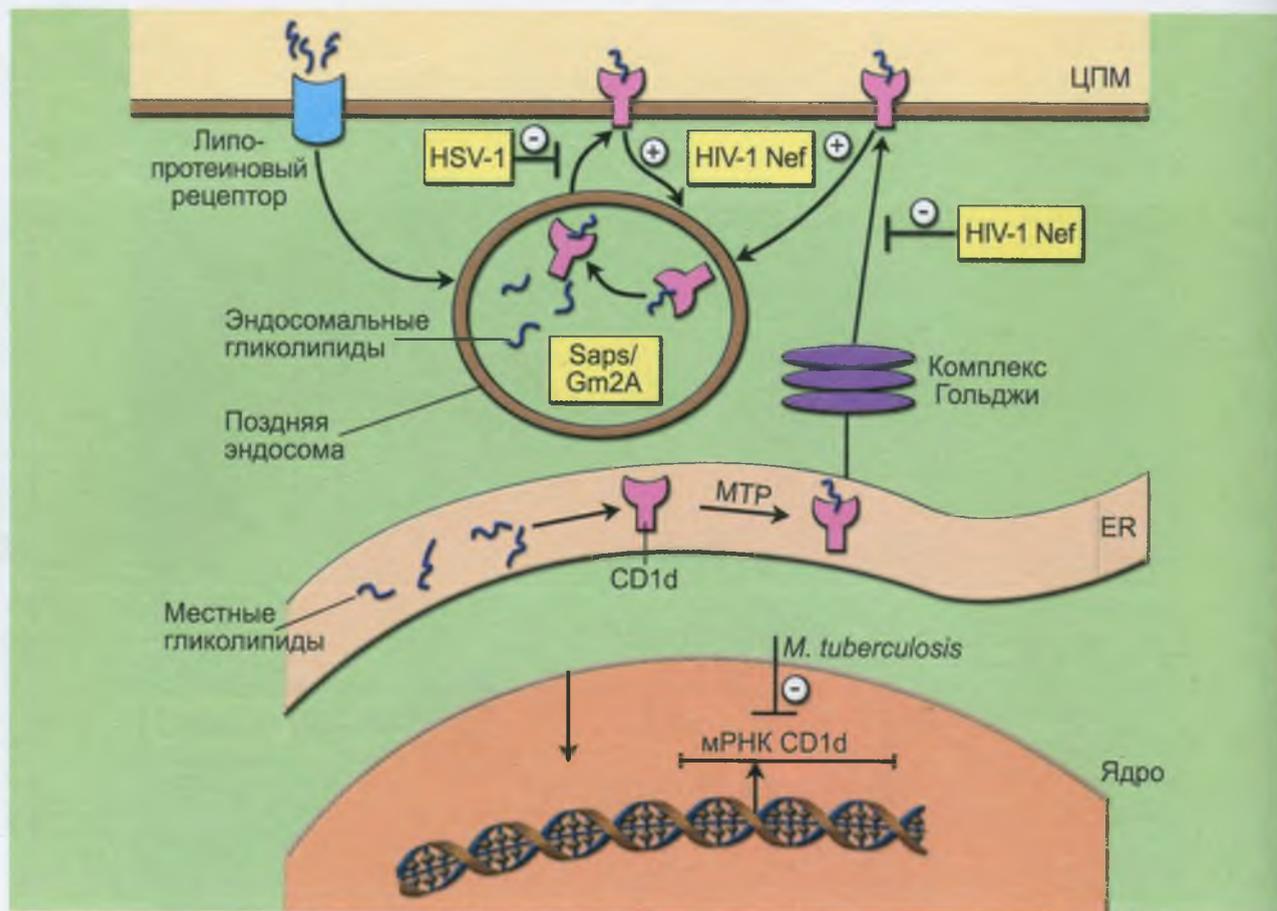


Рис. 89. Презентация гликолипидов NKT-клеткам молекулой CD1d

Молекула CD1d синтезируется в эндоплазматическом ретикулуме (ER), и здесь же её гидрофобный жёлоб заполняется местными гликолипидами. Далее CD1d взаимодействует с белковым переносчиком липидов MTP (*microsomal transfer protein*). Этот белок экспрессируется профессиональными АПК, и его отсутствие снижает поверхностную экспрессию CD1d и приводит к дефекту активации NKT-клеток. Из ER молекула CD1d совместно с гликолипидами через аппарат Гольджи транспортируется на поверхность АПК, а затем возвращается в позднюю эндосому клетки, где с помощью белковых переносчиков липидов сапонина (Saps) и Gm2-активатора наполняется эндосомальными гликолипидами и снова транспортируется на поверхность клетки. Посредством липопротеинового рецептора АПК могут получать гликолипиды из окружающей среды, с их последующим переносом

в эндосому. Некоторые гликолипиды процессируются в эндосоме соответствующими гидролазами. Поскольку NKT-клетки играют решающую роль в защите против ряда инфекций, патогены, особенно вирусы, имеют определённые механизмы подавления активации NKT-клеток путём ингибирования представления CD1d на поверхности этих клеток. Вирус иммунодефицита человека с помощью белка Nef, с одной стороны, стимулирует миграцию CD1d из ЦПМ в позднюю эндосому, а с другой стороны — препятствует миграции этой молекулы из аппарата Гольджи на ЦПМ. Вирус простого герпеса (HSV-1) блокирует выход CD1d из эндосомы и её экспрессию на ЦПМ. *M. tuberculosis* подавляет синтез мРНК CD1d. Вирус везикулярного стоматита и вирус вакцины (на рис. не показаны) подавляют презентацию АГ молекулами CD1d (Kaer L.V., 2007).

Хотя NKT-клетки не экспрессируют TLR, за исключением TLR1, эти рецепторы играют важную роль в инфекционной патологии.

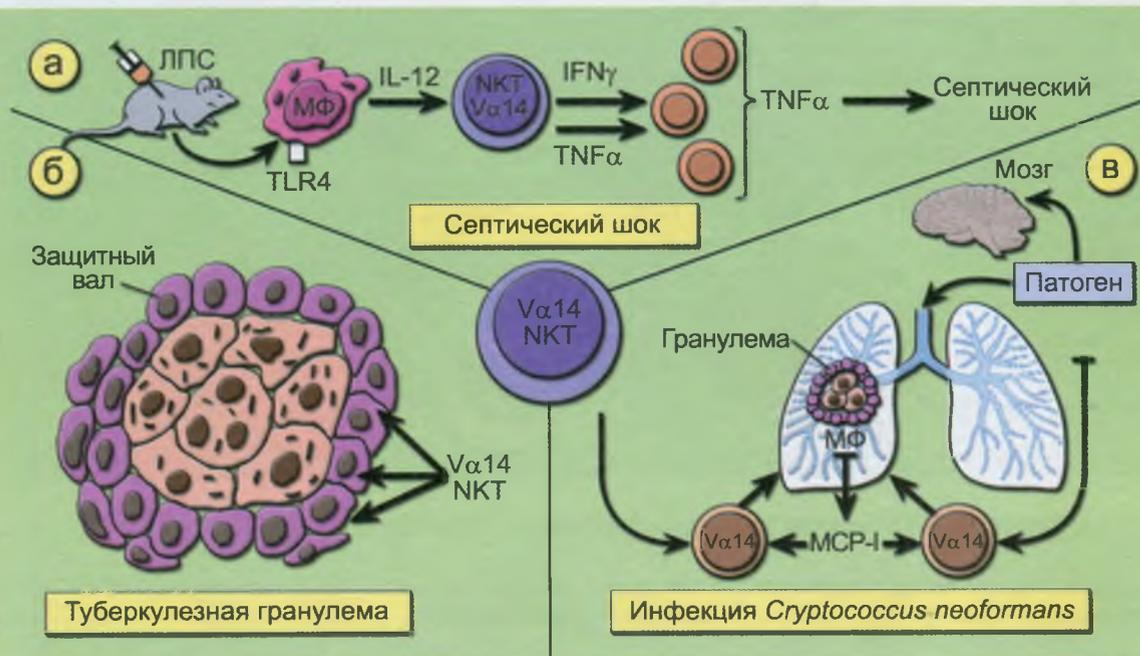


Рис. 90. Роль NKT-клеток в инфекционной патологии

а. При введении мышам двух последовательных доз ЛПС у них развивается летальный септический шок. Установлено, что ЛПС активирует TLR4 MΦ и индуцирует синтез IL-12. IL-12 действует непосредственно на $V\alpha 14^+$ NKT-клетки, которые мгновенно начинают синтезировать значительные количества $IFN\gamma$ и $TNF\alpha$ и индуцируют синтез $TNF\alpha$ другими клетками врождённого иммунитета. Результатом действия этого цитокина является развитие септического шока. У мышей с дефицитом $V\alpha 14^+$ NKT-клеток развития летального шока практически не происходит.

б. Образование гранулёмы при развитии туберкулёзной инфекции носит защитный характер, направленный на ограничение распространения возбудителя. Гранулёма состоит из гигантских многоядерных и эпителиоидных клеток, инфицированных микобактериями. Вокруг этих клеток формируется защитный вал, состоящий из T-клеток и MΦ. С помощью экспериментальной модели установлено, что самыми ранними клетками в защитном вале являются $V\alpha 14^+$ NKT-клетки. У $V\alpha 14$ -дефицитных мышей не образуется гранулёмы. Однако $V\alpha 14^+$ NKT-клетки не играют, вероятно, решающей роли в защите от микобактерий туберкулёза, поскольку CD1d-дефицитные и нормальные мыши дают одинаковый протективный ответ против возбудителя туберкулёза.

в. *Cryptococcus neoformans* — это широко распространённый условно-патогенный грибок, вызывающий у иммунокомпрометированных людей гранулематозный процесс в лёгких и часто летальный менингоэнцефалит, особенно у ВИЧ-инфицированных. $V\alpha 14^+$ NKT-клетки, синтезирующие $IFN\gamma$, играют существенную роль в защите от этого патогена. Хемокин MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein 1*) вызывает приток в лёгкие $V\alpha 14^+$ NKT-клеток, от чего зависит их очищение от патогена. У MCP-1-дефицитных мышей не происходит миграции $V\alpha 14^+$ NKT-клеток в лёгкие, а у мышей с дефицитом $V\alpha 14^+$ NKT-клеток — элиминации возбудителя из лёгких.

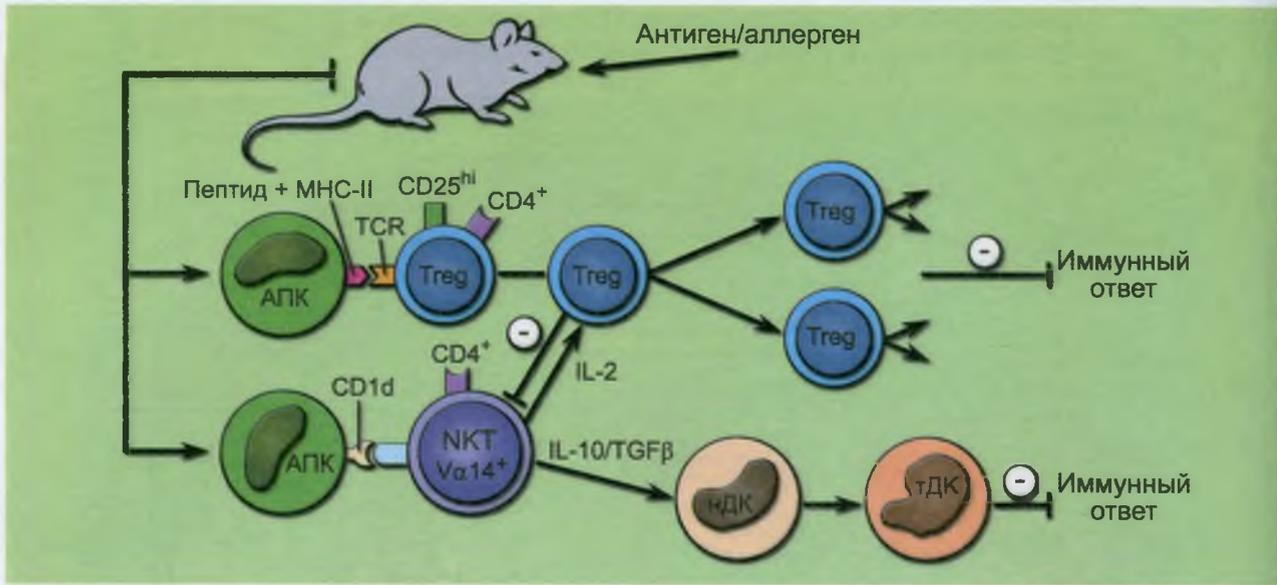


Рис. 91. Роль NKT-клеток в развитии пероральной толерантности

В создании пероральной толерантности решающую роль играют $CD4^+$ NKT-клетки с фенотипом $V\alpha 14^+$. Создание толерантности проходит в двух направлениях. Активированные NKT-клетки синтезируют IL-10 и TGF- β , которые при действии на незрелые ДК (нДК) индуцируют образование толерогенных ДК (тДК), подавляющих развитие иммунного ответа. Кроме того, активированные NKT-клетки синтезируют большие количества IL-2,

который стимулирует пролиферацию $CD4^+CD25^{high}$ регуляторных Т-клеток (Treg). Происходит подавление иммунного ответа. У мышей с дефицитом NKT-клеток не образуется Treg. В свою очередь, Treg могут оказывать регулирующее действие на NKT-клетки. В ряде инфекционных и аутоиммунных моделей показано, что развитие Treg предохраняло животных от летального исхода, связанного с избыточной продукцией $IFN\gamma$ NKT-клетками.

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

iNKT-клетки участвуют в регуляции аутоиммунных процессов и поддержании ауто толерантности. Это положение хорошо документируется на модели инсулинзависимого диабета и рассеянного склероза. Мыши линии NOD (*non-obese diabetic mice*) спонтанно развивают диабет, который характеризуется инфильтрацией островков Лангерганса $CD8^+$ -лимфоцитами, разрушающими β -клетки. У мышей этой линии существенно снижено количество iNKT-клеток. Их перенос мышам линии NOD препятствует развитию заболевания. Более того, введение этим мышам лиганда $\alpha GalCer$ даёт положительный лечебный эффект. Подавление аутоиммунного процесса происходит вследствие межклеточного взаимодействия в панкреатическом лимфатическом узле iNKT-клеток и ДК. В результате этого взаимодействия происходит созревание ДК, которые привлекают в лимфатический узел аутореактивные $CD8^+$ -клетки и активируют их. Активированные $CD8^+$ -клетки подвергаются апоптозу или становятся анергическими. Рассеянный склероз (РС) — это аутоиммунное заболевание, при котором $IFN\gamma$ -синтезирующие Th1-клетки вызывают демиелинизацию нервной ткани. У больных РС существенно снижено количество iNKT-клеток. При ремиссии РС iNKT-клетки преимущественно синтезируют IL-4, что свидетельствует об их регуляторной роли в патогенезе этого заболевания. Роль iNKT-клеток в регуляции аутоиммунного поражения нервной системы подтверждается на модели экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита (ЭАЭ), развивающегося у мышей при иммунизации основным белком миелина. При наличии повышенного количества iNKT-клеток это заболевание не развивается. Более того, их активация $\alpha GalCer$ препятствует развитию ЭАЭ. Протективный эффект этого лиганда не наблюдается у $CD1d^{-/-}$ мышей. Регуляторная роль связана с синтезом iNKT-клетками IL-4 и IL-10.

1.4. РЕЦЕПТОРНЫЙ АППАРАТ КЛЕТОК ВРОЖДЁННОГО ИММУНИТЕТА

ЗАТЕКСТОВОЕ ПРИМЕЧАНИЕ

В 1989 г. на симпозиуме Cold Spring Harbor Laboratories С.А. Janeway Jr. впервые высказал идею о существовании у клеток врождённого иммунитета человека и высших животных системы распознавания чужеродного материала. С. Hashimoto, К. Hudson и К.В. Anderson (1988) нашли у дрозофилы трансмембранные рецепторы, ответственные за дорсо-вентральное развитие эмбриона. Мутанты по этим рецепторам были без брюшка и имели странный вид. С. Nusslein-Volhard (1992) для обозначения этих рецепторов использовала немецкое слово *tol* (странный, необычный). Группой учёных под руководством J. Hoffmann (1996) было установлено, что TOLL-рецепторы определяют устойчивость дрозофилы к ряду инфекций. Первый гомолог TOLL-рецептора у человека был описан R. Medzhitov, P. Preston-Hurlburt и С.А. Janeway Jr. (1997). В дальнейшем гомологи TOLL-рецептора у высших позвоночных получили название TLR (*TOLL-Like Receptors*). В 1998 г. В. Beutler и соавт. установили, что TLR4 является рецептором к LPS. В настоящее время у человека описано 10 TLR-рецепторов.

1.4.1. TLR-РЕЦЕПТОРЫ

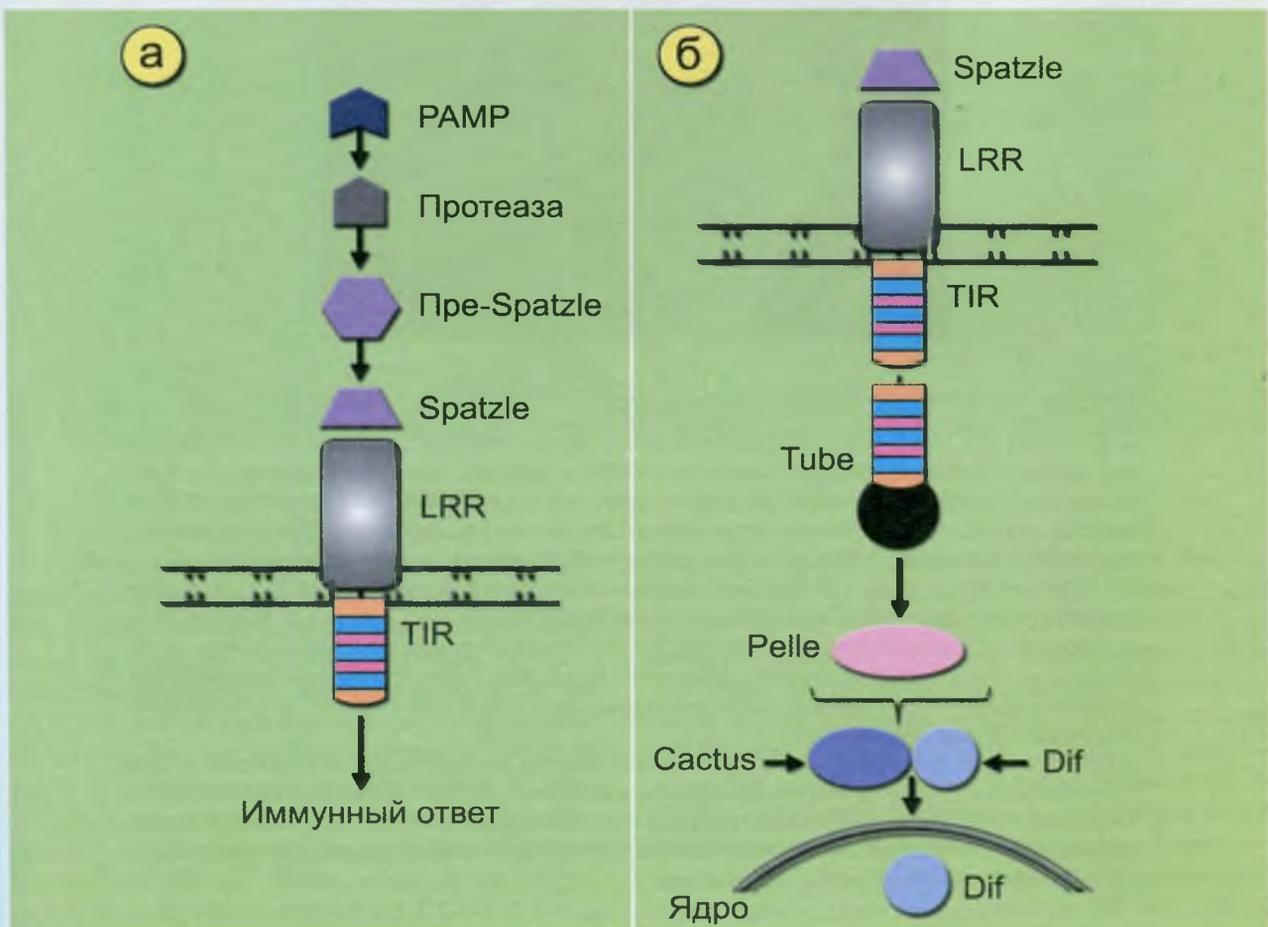


Рис. 92, а, б. TOLL-рецепторы дрозофилы



Рис. 92, в. Профессор J. Hoffmann

а. Лигандом для TOLL-рецептора является белок Spatzle, который синтезируется в неактивной форме пре-Spatzle. Микробный агент PAMP активирует сериновую протеазу, которая расщепляет пре-Spatzle до активной формы, которая и стимулирует TOLL-рецептор. Как и у высших животных, TOLL-рецептор дрозофилы состоит из распознающей внеклеточной части, богатой лейцином (LRR), и внутриклеточного TIR-домена, передающего сигнал.

б. Сигнал от TIR-домена TOLL-рецептора передаётся на адапторный белок Tube, который активирует протеазу Pelle. Этот фермент расщепляет ингибитор Cactus, в результате чего освобождается транскрипционный фактор Dif (идентичный фактору NF-κB). Он мигрирует в ядро и активирует транскрипцию ряда генов. TOLL-рецепторы дрозофилы активируются грибами и грамположительными бактериями, следствием чего является синтез антимикробных пептидов типа дрозомидин.

в. Группа учёных под руководством проф. J. Hoffmann (на фото) установила роль сигнального пути, идущего от TOLL-рецептора дрозофилы, в контроле синтеза противогрибкового пептида дрозомидина. Мутации в этом сигнальном пути резко повышают чувствительность дрозофилы к грибковой инфекции (фото предоставлено проф. С.А. Недоспасовым и д-ром биол. наук Д. Купраш).

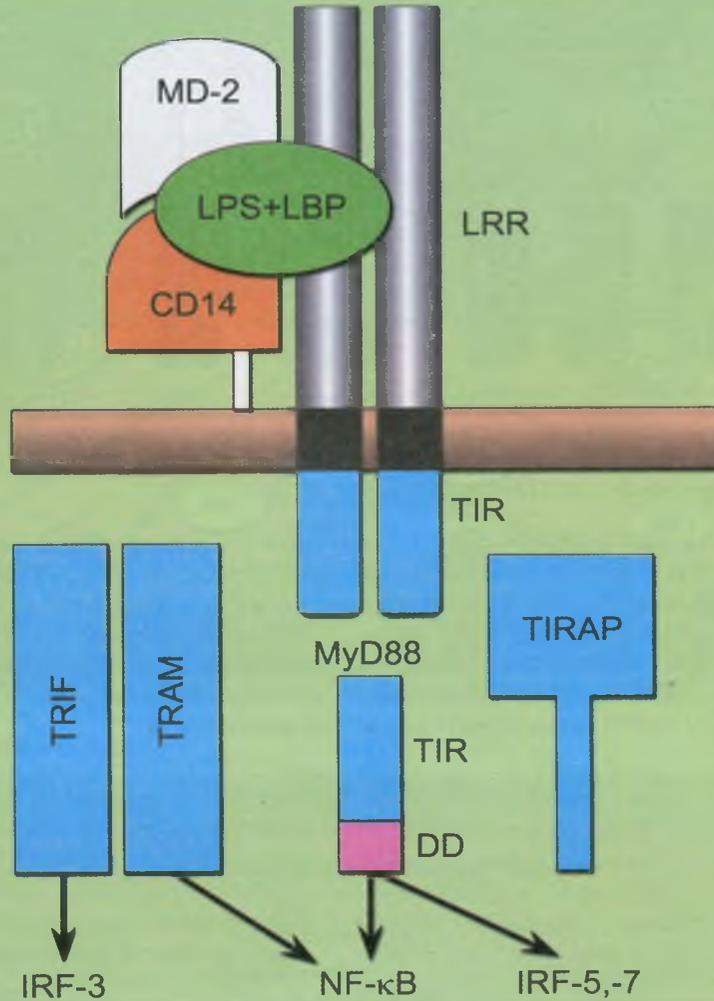


Рис. 93. Схема строения TLR4

TLR4 является рецептором для одного из главных компонентов грамотрицательных бактерий — ЛПС (липополисахарида). В сыворотке крови человека содержится ЛПС-связывающий белок — LBP (*LPS-binding protein*), который взаимодействует с ЛПС и доставляет его к поверхностному рецептору CD14 (на моноцитах, МФ и других клетках), закоренному в мембране клетки с помощью гликозилфосфатидилинозитола. Рецептор CD14 ассоциируется с внеклеточным вспомогательным белком MD2 и TLR4. Сигнал от ЛПС в клетку проводится при образовании комплекса MD2-CD14-TLR4, но в передаче сигнала участвует только TLR4. Как и все TLR, TLR4 состоит из внеклеточного лиганд-

распознающего N-концевого LRR-домена (*leucine-rich repeat*) и внутриклеточного C-концевого сигнал-проводящего TIR-домена (TOLL- and IL-1-receptor). Главным отличием TLR4 от других TLR является его способность взаимодействовать с четырьмя адапторными белками: MyD88, TIRAP (*TIR adaptor protein*), TRIF (*Toll/IL-1R-domain-containing adaptor protein inducing interferon-β*) и TRAM (*TRIF-related adaptor molecule*). Все эти белки характеризуются наличием TIR-домена. Через несколько сигнальных молекул эти адапторы активируют транскрипционные факторы NF-κB, IRF-3, -5, -7, следствием чего являются активация клетки и синтез ряда цитокинов.

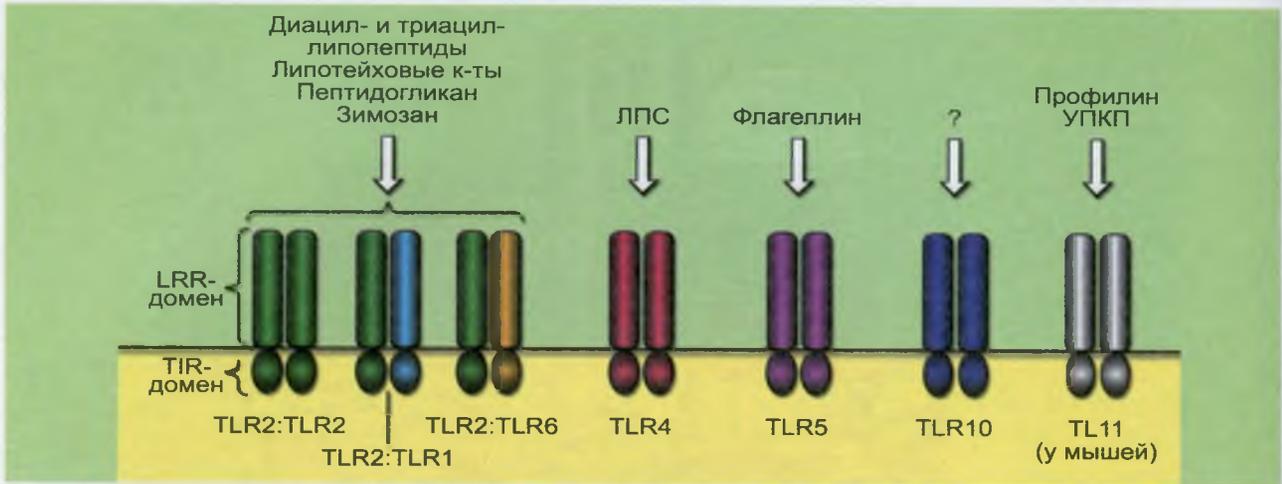


Рис. 94. Поверхностные TLR и их лиганды

На рисунке представлены поверхностные (или мембранные) формы TLR и их лиганды. Как было показано на предыдущем рисунке, все TLR состоят из двух доменов: LRR и TIR. На поверхности клетки они всегда присутствуют в виде гомодимеров, за исключением TLR1 и TLR6, которые гетеродимерируются с TLR2. TLR10 может существовать как в

виде гомодимера, так и в виде гетеродимера с TLR2 (на рис. не показано). TLR11 присутствует только у мышей и играет роль в защите от уропатогенной кишечной палочки (УПКП). У человека этот рецептор не экспрессируется из-за наличия множественных стоп-кодонов в его кодирующей последовательности.

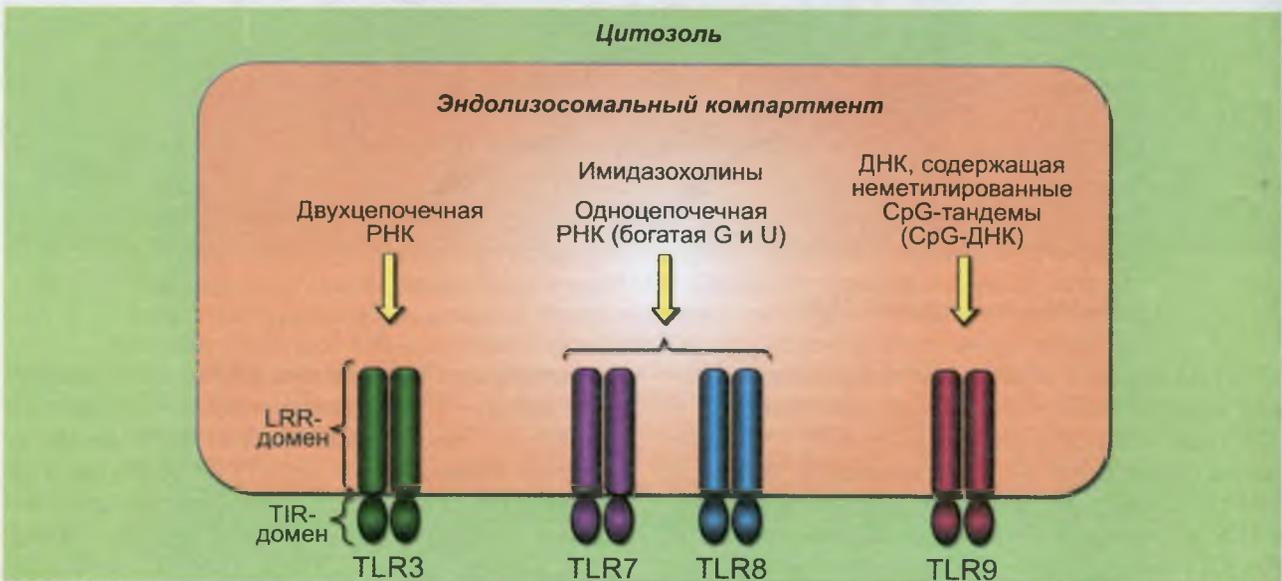


Рис. 95. Внутриклеточные TLR и их лиганды

На рисунке представлены внутриклеточные TLR-рецепторы и их лиганды. К ним относят рецепторы TLR3, TLR7, TLR8 и TLR9, взаимодействующие со своими лигандами в эндолизосомальном компартменте.

Это связано с тем, что лигандами внутриклеточных TLR являются микробные нуклеиновые кислоты, высвобождение которых возможно только после протеолитической деградации микроорганизмов в лизосомах.

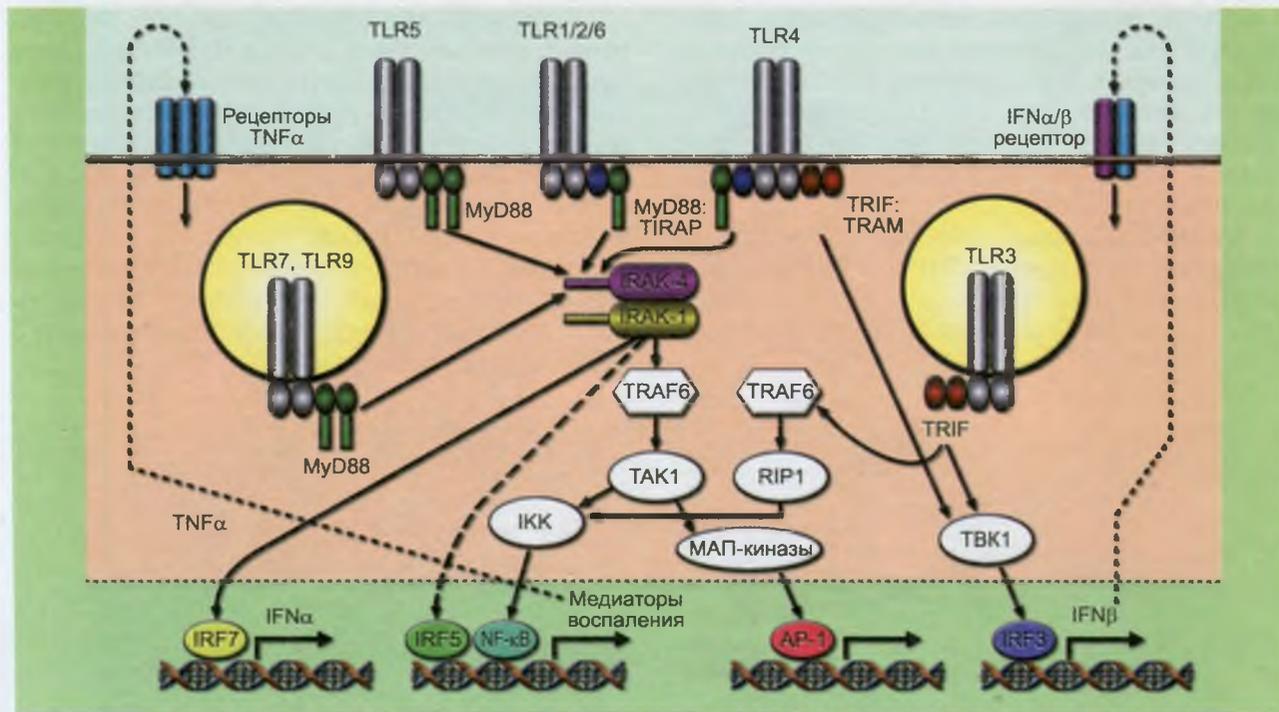


Рис. 96. Сигнальные пути TLR

Все TLR используют одинаковую принципиальную схему передачи активационного сигнала в ядро. После связывания с лигандом рецептор привлекает один или несколько адапторов (MyD88, TIRAP, TRAM, TRIF), которые обеспечивают передачу сигнала с рецептора на каскад серинтреониновых киназ. Последние вызывают активацию факторов транскрипции NF-κB, AP-1, IRF3, IRF5 и IRF7, которые транслоцируются в ядро и индуцируют экспрессию генов-мишеней.

Все адапторы содержат TIR-домен и связываются с TIR-доменами рецепторов путём гомофильного взаимодействия. Все известные TOLL-подобные рецепторы, за исключением TLR3, передают сигнал через адаптор MyD88 (MyD88-зависимый путь). Связывание MyD88 с TLR1/2/6 и TLR4 происходит при помощи дополнительного адаптора TIRAP, который не требуется в случае TLR5, TLR7 и TLR9. В передаче сигнала с TLR3 адаптор MyD88 не участвует; вместо него используется TRIF (MyD88-независимый путь). TLR4 использует как MyD88-зависимый, так и MyD88-независимый пути передачи сигнала. Однако связывание TLR4 с TRIF происходит при помощи дополнительного адаптора TRAM.

MyD88-зависимый путь. Адаптор MyD88, связанный с рецептором с помощью гомофильного TIR-TIR взаимодействия, посредством другого гомофильного соединения с DD-доменом (*death domain*) привлекает киназы IRAK-4 (*interleukin-1 receptor-associated kinase-4*) и IRAK-1, что сопровождается их последовательным фосфорилированием и активацией. После этого IRAK-4 и IRAK-1 отделяются от рецептора и связываются с адаптором TRAF6. Последний, в свою очередь, привлекает киназу TAK1 и убиквитин-лигазный комплекс (на рис. не показан), что ведёт к активации TAK1. TAK1 активирует две группы мишеней: 1) IκB-киназу (IKK), что приводит к активации фактора транскрипции NF-κB, 2) каскад митоген-активируемых протеинкиназ (MAP-киназ), способствующий активации факторов транскрипции группы AP-1. Результатом является индукция экспрессии антимикробных факторов и медиаторов воспаления, в том числе фактора некроза опухолей альфа (TNFα), который, воздействуя на клетки аутокринно, вызывает экспрессию дополнительных генов. Кроме того, IRAK-1 может фосфорилировать и активировать фактор транскрипции IRF7 (*interferon regulatory factor 7*), который является индуктором

экспрессии интерферона; однако этот путь функционирует только в клетках с высокой конститутивной экспрессией IRF7, например в плазматоидных ДК. Помимо этого, в MyD88-зависимом пути участвует фактор транскрипции IRF5, который вместе с NF-κB индуцирует экспрессию генов — медиаторов воспаления.

MyD88-независимый путь. Передача сигнала происходит через адаптор TRIF или TRIF:TRAM и приводит к активации киназы TBK1, которая, в свою очередь, активирует фактор транскрипции IRF3.

Последний индуцирует экспрессию интерферона-β, который, как и TNFα в MyD88-зависимом пути, воздействует на клетки аутокринно и активирует экспрессию дополнительных генов (*interferon response genes*). Кроме того, MyD88-независимый путь тоже приводит к активации NF-κB, что обеспечивается цепочкой TRIF—TRAF6—RIP1 (*receptor interacting protein 1*)—IKK. Активация различных сигнальных путей при стимуляции TOLL-подобных рецепторов, вероятно, обеспечивает направленность врождённой иммунной системы на борьбу с тем или иным типом инфекции.

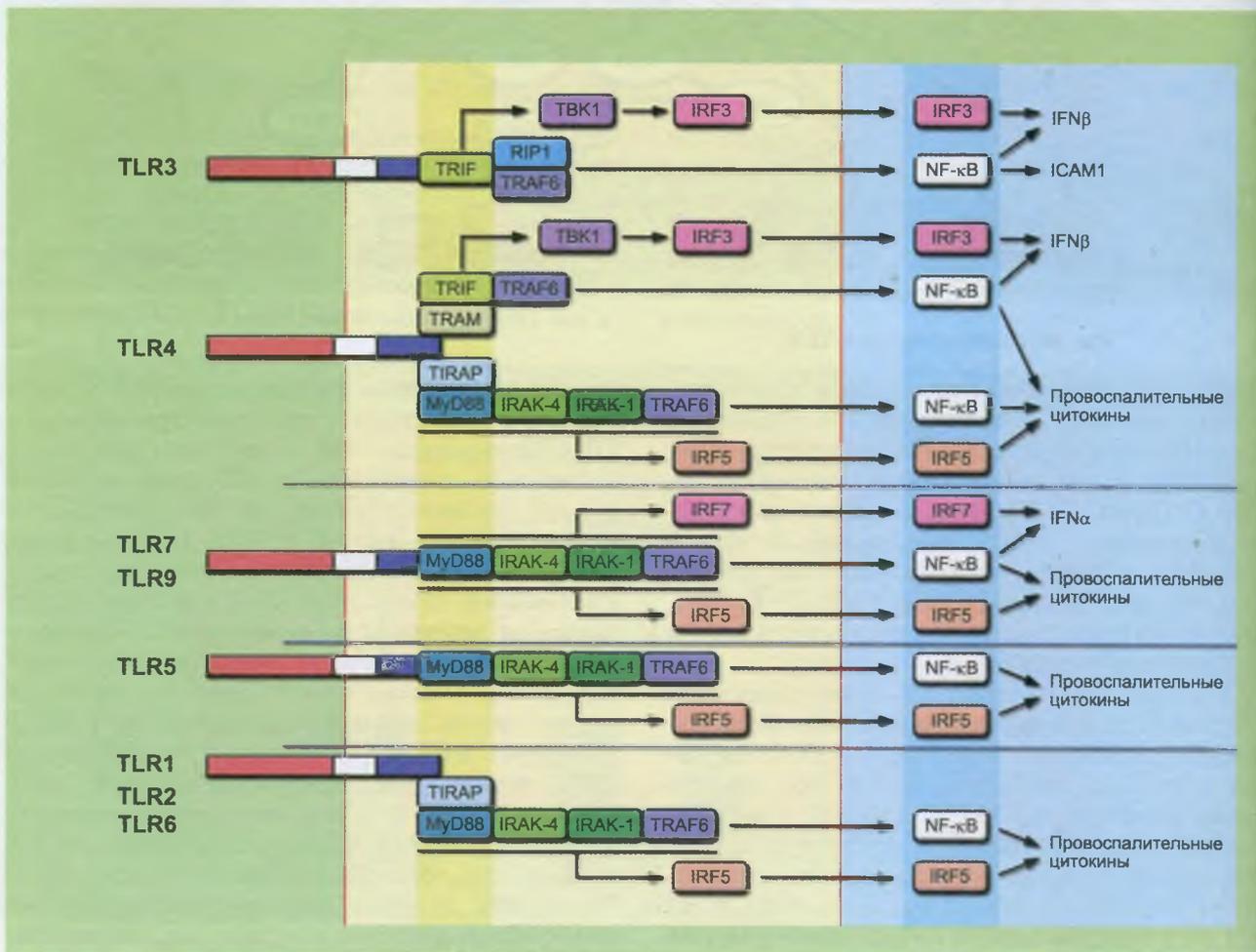


Рис. 97. Общая схема сигнальных путей TLR

На рисунке (Akira S., 2005) показан модульный характер сигнальных путей TLR. Все TLR используют одни и те же сигнальные модули (кирпичики),

однако их сочетания являются уникальными, что в итоге обуславливает относительную специфичность эффектов того или иного TLR.

1.4. Рецепторный аппарат клеток врождённого иммунитета

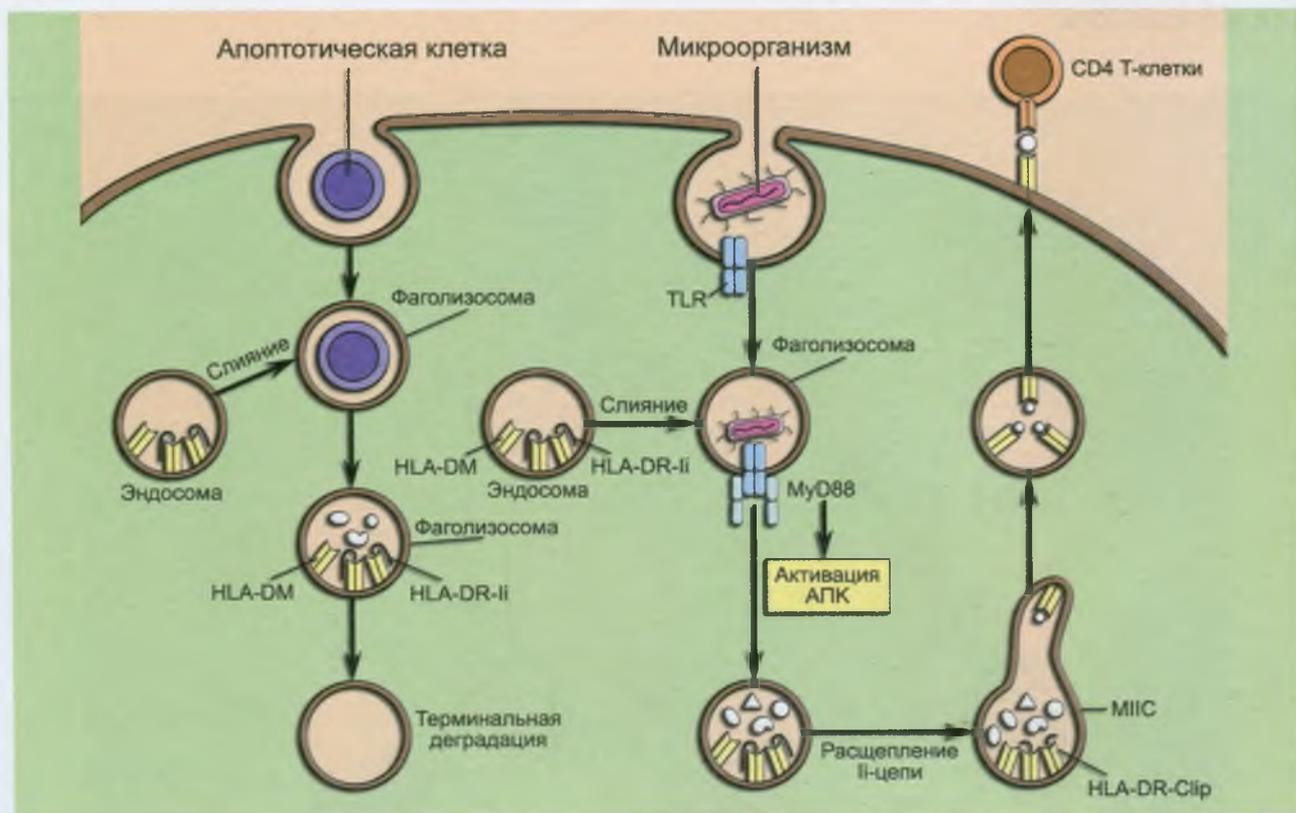


Рис. 98. Модель дискриминации «своего» от «чужого» с помощью TLR

Фагоцитозу МФ и ДК подвергаются микроорганизмы, инфицированные и апоптотические клетки. У апоптотических клеток, не содержащих PAMP, TLR не участвуют в образовании фагосомы и далее фаголизосомы. В таких фаголизосомах не происходит расщепления инвариантной цепи II, блокирующей пептидсвязывающий участок молекулы HLA-DR. Комплекс HLA-DR-II подвергается разрушению лизосомальными ферментами. Развития адаптивного иммунитета к фагоцитированной клетке не происходит.

При фагоцитозе микроорганизмов или инфицированных клеток (последние на рис. не показаны) в процесс образования фагосомы вовлекаются TLR, что придаёт фагосоме особый биохимический и молекулярный профиль. Развивается цепь событий, опосредованная с помощью адапторного белка MyD88, приводящая к презентации антигенпредставляющей клеткой АГ фагоцитированного микроорганизма. У мышей, дефектных по MyD88,

презентации АГ с помощью АПК не происходит. В присутствии TLR наблюдается более быстрое созревание фаголизосомы по сравнению с фаголизосомами, не содержащими TLR. Этот процесс заключается в слиянии первичной фагосомы с различными видами эндосом. Только в фаголизосомах, содержащих TLR, происходит расщепление инвариантной цепи с образованием пептида Clip, блокирующего пептидсвязывающий участок молекулы HLA-DR. В присутствии TLR пептидсвязывающая способность молекулы HLA-DR резко возрастает. С помощью вспомогательной структуры HLA-DM происходит вытеснение Clip из молекулы HLA-DR и её связывание с пептидом микроорганизма. Отдел клетки, где происходит расщепление инвариантной цепи и связывание молекулы HLA-DR с этим пептидом, называется MIIC (*MHC class II compartment*). Комплекс HLA-DR-микробный пептид перемещается на поверхность АПК; осуществляется развитие адаптивного иммунного ответа к этому пептиду.

1.4.2. NLR-РЕЦЕПТОРЫ

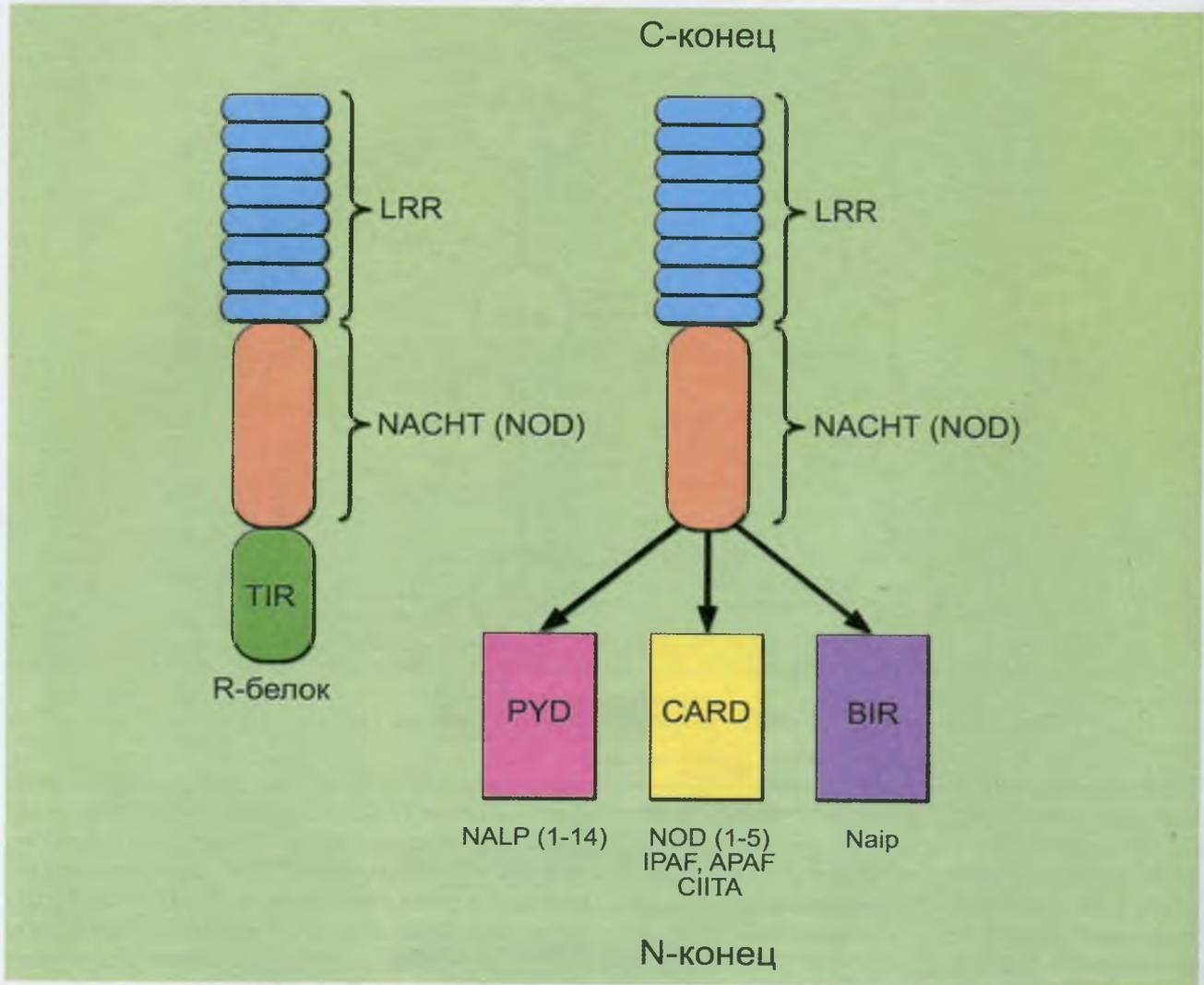


Рис. 99. Строение NOD-подобных рецепторов

Все NLR являются внутриклеточными и состоят из С-концевого лиганд-связывающего LRR-домена (*leucine rich repeat*), центрального NOD- (*nucleotide-binding oligomerization domain*) или NACHT-домена (домен, присутствующий в белках Naip, Araf, CIITA, HET-E, TP-1) и N-концевого эффекторного домена. У NOD-подобных рецепторов имеются три вида эффекторных доменов: PYD

(*pyrin domain*), CARD (*caspase recruitment domain*), BIR (*baculovirus inhibitor of apoptosis protein repeat*). Эффекторные домены NOD-подобных рецепторов реагируют с аналогичными доменами киназ или каспаз и передают активационный сигнал. В растениях обнаружен R-белок, сходный с NOD-подобными рецепторами, осуществляющий защиту от патогенов.

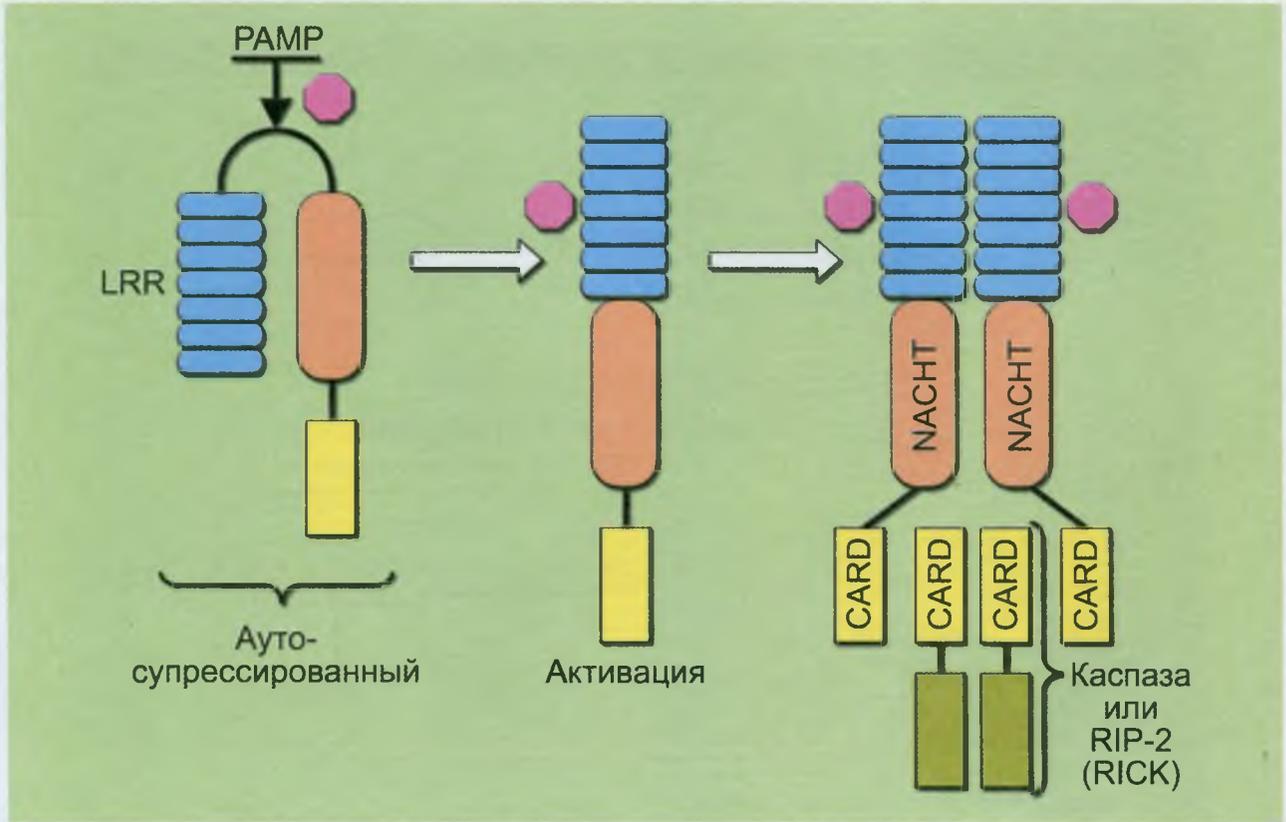


Рис. 100. Модель активации NLR

Процесс активации NLR представлен на модели NOD-рецепторов. У этих рецепторов, распознающих мурамилпептиды пептидогликана бактерий, эффекторным доменом является CARD. В покое в клетке эти рецепторы находятся в ауто-супрессированном состоянии.

При распознавании лиганда LRR-доменом происходят конформационные изменения рецептора и его олигомеризация через NBD-домены. Эффекторный домен рецептора может связываться с CARD-доменами сигнальных молекул, каспаз, киназ и др.

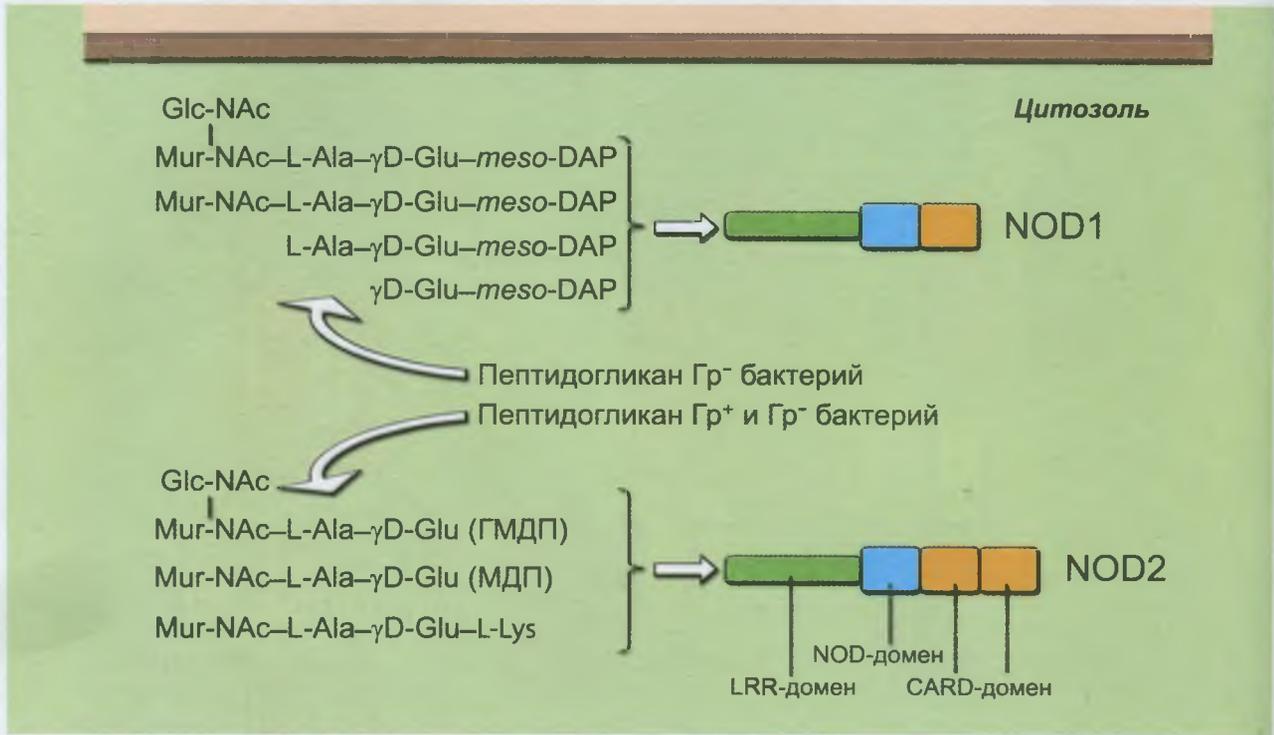


Рис. 101. NOD-рецепторы и их лиганды

NOD-рецепторы (NOD1 и NOD2) находятся в цитозоле и состоят из трёх доменов: N-концевого CARD-домена, центрального NOD (NBS или NACHT)-домена и C-концевого LRR-домена. Различие между этими рецепторами заключается в количестве CARD-доменов. Рецепторы NOD1 и NOD2 распознают мурамилпептиды — вещества, образующиеся после ферментативного гидролиза пептидогликана, входящего в состав клеточной стенки всех бактерий. NOD1 распознает мурамилпептиды с кон-

цевой мезо-диаминопимелиновой кислотой (*meso*-DAP), которые образуются только из пептидогликана грамотрицательных бактерий. NOD2 распознает мурамилдипептиды (МДП и ГМДП) с концевым D-изоглутамином или D-глутаминовой кислотой, являющиеся результатом гидролиза пептидогликана как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. Кроме того, NOD2 имеет сродство к мурамилпептидам с концевым L-лизином, которые есть только у грамположительных бактерий.

1.4. Рецепторный аппарат клеток врождённого иммунитета

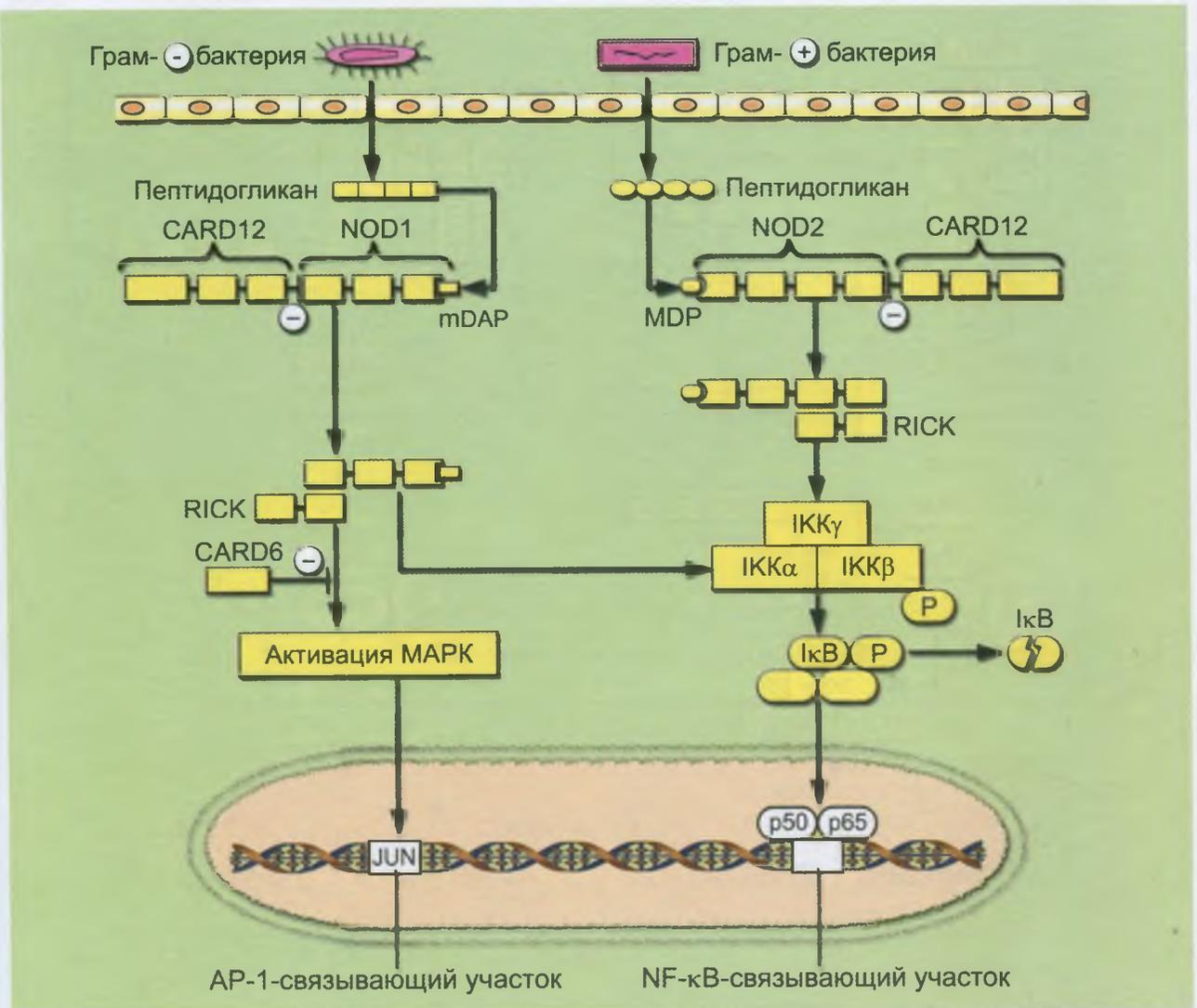


Рис. 102. Активация клеток врождённого иммунитета грамположительными и грамотрицательными бактериями

После взаимодействия мурамилпептидов с NOD1 или NOD2 последние олигомеризуются и переходят в активное состояние. Результатом этого является гомофильное взаимодействие их CARD-доменов с CARD-доменом киназы RIP2 или RICK (*receptor-interacting serine/threonine kinase*). Киназа RICK активируется и в свою очередь активирует киназный комплекс IKK. Последний фосфорилирует ингибитор I κ B и тем самым активирует транс-

крипционный фактор NF- κ B, который перемещается в ядро и вызывает транскрипцию ряда генов-мишеней. Кроме того, сигнальные пути как от NOD1, так и от NOD2 могут активировать транскрипционный AP-1 (*activator protein*), что опосредуется через MAP-киназы (*mitogen-activated protein kinases*). Белки CARD6 и CARD12 являются негативными регуляторами сигнальных путей NOD-рецепторов.

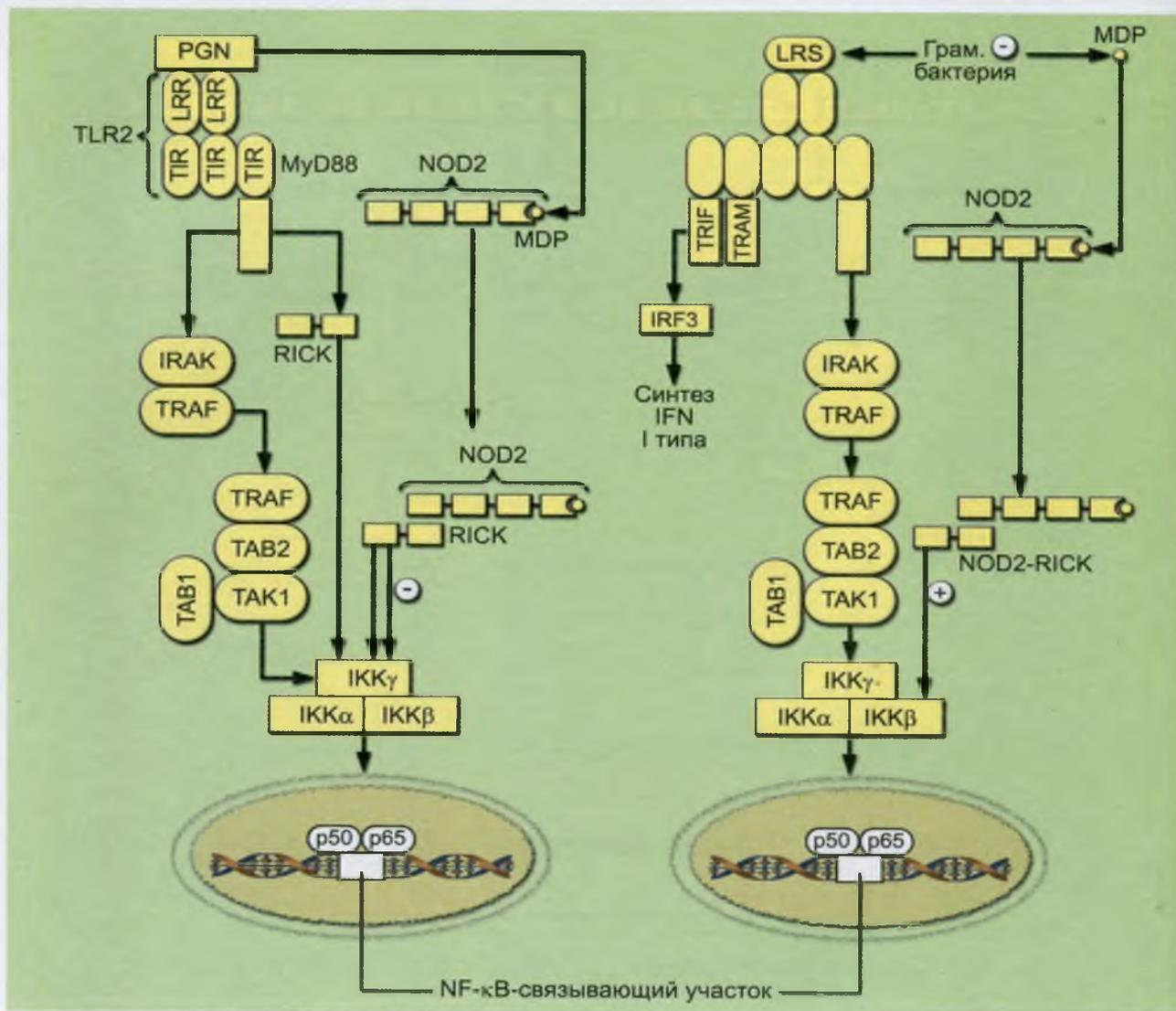


Рис. 103. Модель взаимодействия TLR- и NLR-рецепторов

Пептидогликан (PGN) клеточной стенки грамположительных бактерий взаимодействует с поверхностным TLR2-рецептором и через систему сигнальных молекул MyD88, IRAK, TRAF, TAB2, TAK1 активирует комплекс IKK и, соответственно, фактор NF-κB. При расщеплении PGN образуется мурамилдипептид MDP, который распознаётся внутриклеточным рецептором NOD2. Эффекторный CARD-домен этого рецептора связывается с CARD-доменом серин-треониновой киназы RICK, которая взаимодействует с комплексом IKK, что может привести к снижению сигнала, идущего от TLR2. При взаимодействии TLR4 с ЛПС граммотри-

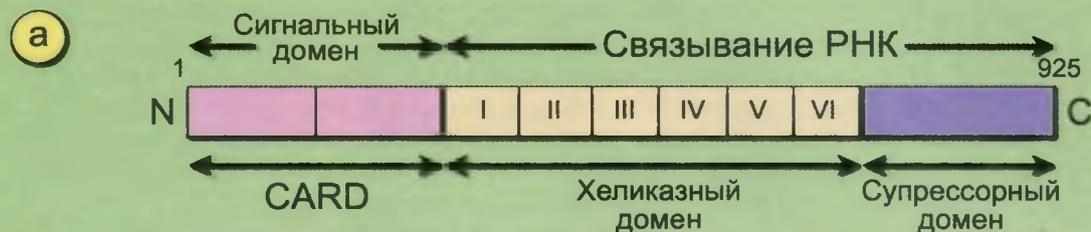
цательных бактерий также активируется сигнальный путь, идущий через адаптор MyD88 и способствующий активации фактора NF-κB и синтезу провоспалительных цитокинов. Одновременно с этим могут активироваться сигнальные пути через адапторы TRIF и TRAF, приводящие к синтезу IFN I типа.

При расщеплении пептидогликана бактерии может образовываться MDP, который активирует путь NOD2-RICK, действующий синергически с MyD88. Таким образом, NOD2 не подавляет информацию, исходящую от TLR4, в отличие от сигнала, идущего от TLR2 (Strober W. et al., 2006).

1.4.3. РЕЦЕПТОРЫ RLR

У человека и мышей три гена кодируют RIG-I-подобные рецепторы (*RLR, RIG-like receptors*): RIG-I (*retinoic acid-inducible gene I*), MDA5 (*melanoma differentiation-associated antigen 5*) и LGP2 (*labora-*

tory of genetics and physiology 2). Все три рецептора, кодируемые этими генами, имеют сходную химическую структуру и локализуются в цитозоле.



Рецепторы	Лиганды
RIG-I	РНК вирусов Сендай, болезни Ньюкасл, везикулярного стоматита, гриппа А, японского энцефалита и др.
MDA5	РНК пикорнавирусов, вирусов энцефаломиокардита, вируса Менго и др.

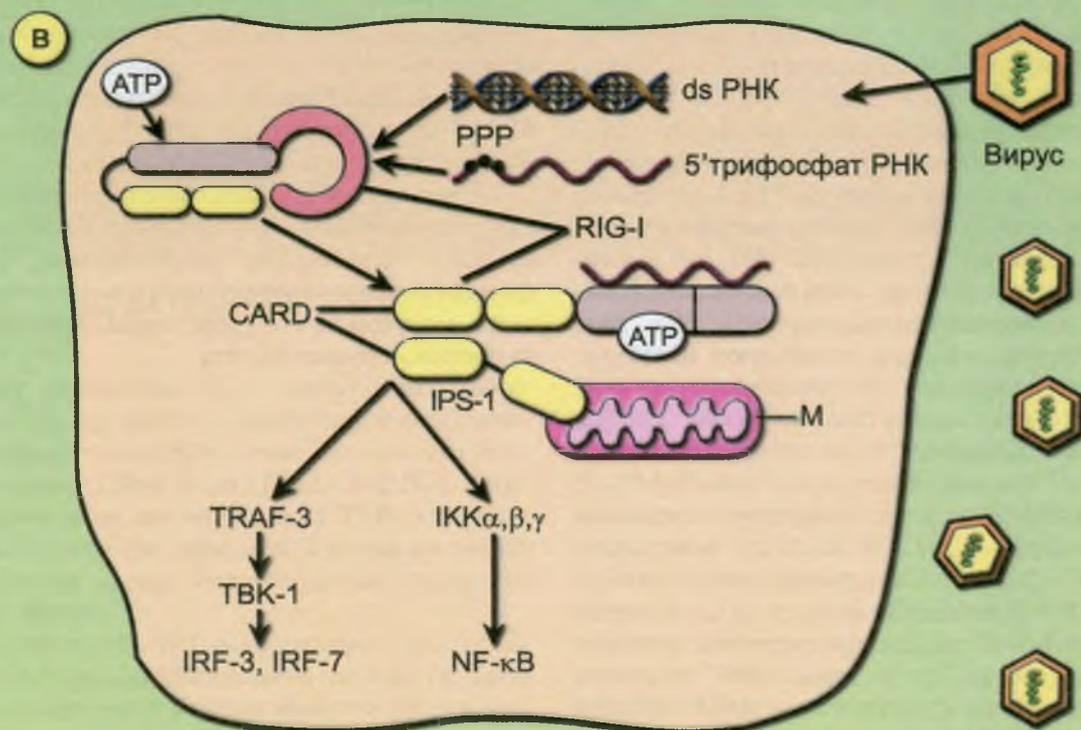


Рис. 104. Рецепторы RLR, их лиганды и активация

а. Рецептор RIG-I содержит 925 аминокислотных остатков и состоит из двух N-концевых CARD-доменов, центрального хеликазного домена и С-концевого супрессорного домена. В интактной клетке этот домен полностью подавляет функцию RIG-I. Совместно с центральным С-концевой домен распознаёт вирусную РНК, проникшую в клетку. CARD-домены выполняют сигнальные функции. Единичные замены аминокислот полностью нарушают функциональную активность RIG-I рецептора. Рецептор MDA5 состоит из 1025 аминокислотных остатков и имеет сходную с RIG-I структуру. Белок LGP2 (на рис. не показан) состоит из 678 аминокислотных остатков. В отличие от двух предыдущих, этот белок не имеет CARD-доменов. Рецепторы RIG-I и MDA5 распознают вирусную РНК. Роль белка LGP2 пока неясна; возможно, он выполняет регуляторные функции.

б. Рецепторы RIG-I и MDA5 распознают различные вирусы.

в. RIG-I распознает односпиральную РНК с 5-трифосфатом, а также относительно короткие (<2000 пар оснований) двуспиральные РНК. MDA5 различает длинные (>2000 пар оснований) двуспиральные РНК. Таких структур в цитоплазме эукариотической клетки нет. Вклад RIG-I и MDA5 в распознавание конкретных вирусов зависит от того, образуют ли данные микроорганизмы соответствующие формы РНК.

Вирусные РНК связываются с РНК-распознающим (хеликазным) доменом RIG-I. С центральным доменом этого рецептора связывается также молекула АТФ. Это приводит к изменению конформации рецептора и освобождению CARD-домена от действия супрессора. В результате этого CARD-домен рецептора RIG-I взаимодействует с аналогичным доменом адаптора IPS-1 (*interferon promoter stimulator-1*). Этот адаптор локализуется на наружной мембране митохондрии (М), что важно для его функционирования. Хотя рецепторы RIG-I и MDA5 и распознают разные вирусные РНК, для передачи сигнала оба они используют молекулу

IPS-1. Эта молекула запускает два сигнальных пути. Первый — через систему киназ IKK активирует транскрипционный фактор NF-κB, что вызывает активацию клетки и синтез ряда провоспалительных цитокинов. Второй — через адапторный белок TRAF3 и протеинкиназу TBK-1 активирует два транскрипционных фактора IRF-3 и IRF-7 (*interferon regulatory factor*), индуцирующих синтез интерферонов β и α соответственно. RIG-I и MDA5 являются важнейшими рецепторными белками врождённого противовирусного иммунитета. У мышей с нокаутом по этим рецепторам резко понижена противовирусная защита.

1.5. ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЦИТОКИНЫ

1.5.1. ИНТЕРЛЕЙКИН-1

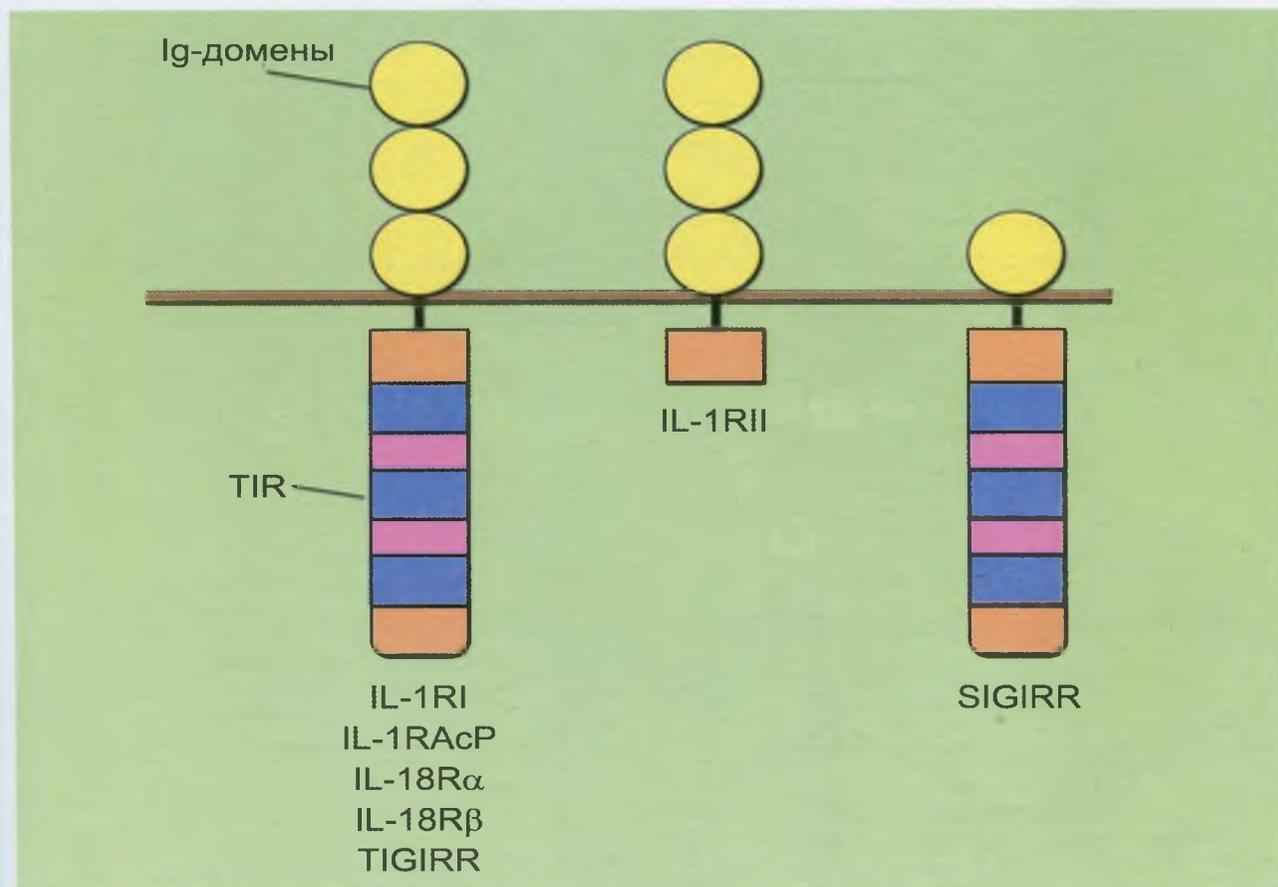


Рис. 105. Семья рецепторов IL-1

Семья рецепторов IL-1 представляет собой большую группу молекул, характерной особенностью которой является наличие сигнального внутриклеточного TIR-домена (*TOLL- and IL-1-receptor*), идентичного таковому у всех TLR, а также у TOLL-рецептора дрозофилы и R-белка растений. IL-1R состоит из двух полипептидных цепей: IL-1RI и IL-1RAcP.

У рецептора IL-1RI (мембранная и растворимая форма), взаимодействующего как с IL-1 α , так и IL-1 β , внеклеточный участок является лиганд-распознающим и состоит из трёх Ig-подобных доменов.

Этот рецептор экспрессируется практически на всех клетках иммунной системы, а также на фибробластах, эпителиальных и эндотелиальных клетках. IL-1RAcP является корецептором для IL-1RI, усиливающим проведение сигнала. IL-18R α является рецептором для IL-18. IL-18R β — корецептор, ответственный за проведение сигнала. IL-1RII соединяется с IL-1 β и менее эффективно с IL-1 α . Этот рецептор является ловушкой для IL-1, так как он не содержит TIR-домена и не проводит сигнала. SIGIRR (TIR8) — «сиротский» рецептор, негативный регулятор сигналинга через IL-1R.

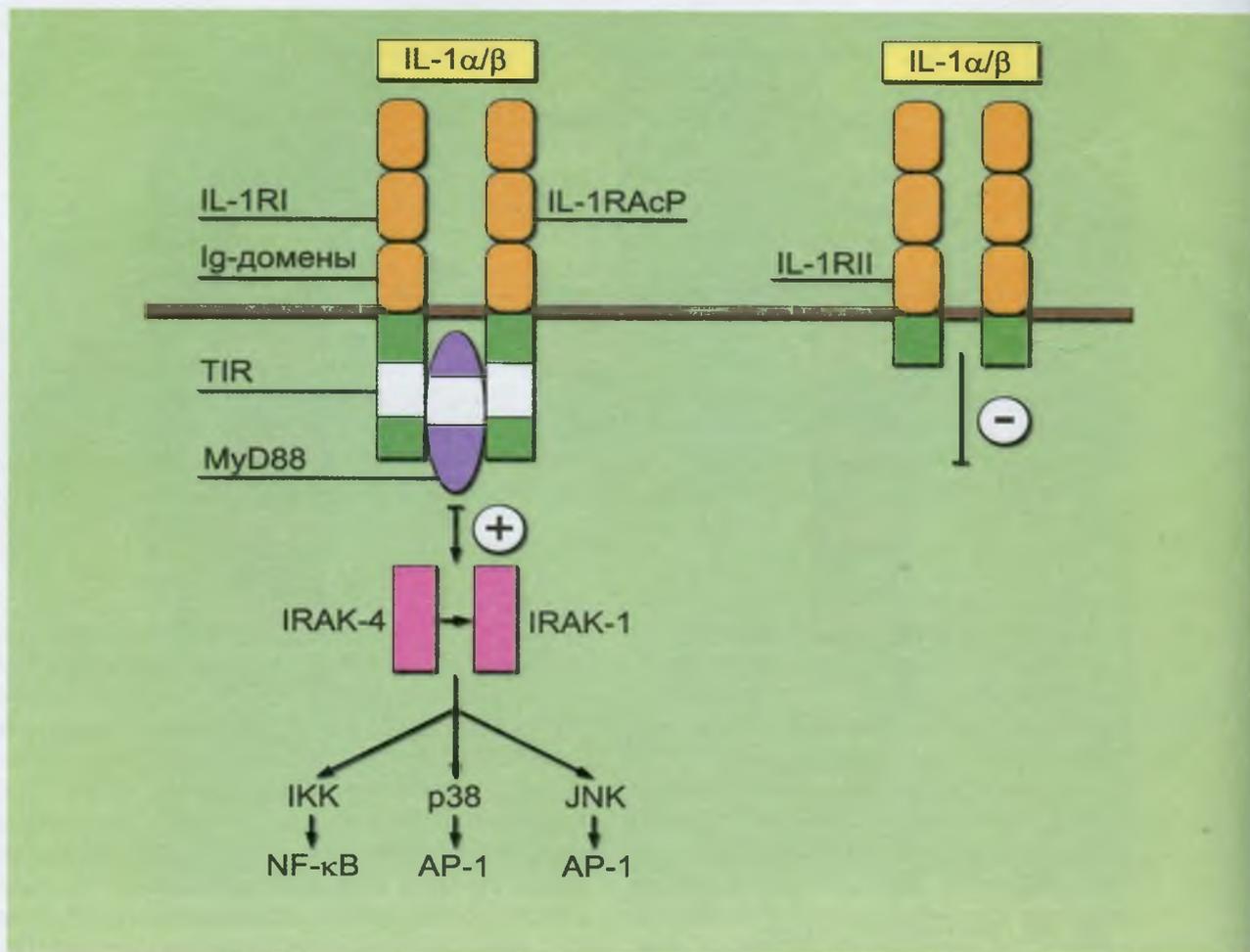


Рис. 106. Сигнальные пути рецептора IL-1

На покоящихся клетках иммунной системы экспрессируется только рецептор IL-1RI — полипептидная цепь с массой 80 kDa. При связывании IL-1 с IL-1RI происходит привлечение к нему второй вспомогательной цепи IL-1RAcP. Сигнальной цепью является IL-1RI. Внутриклеточный домен полипептидных цепей IL-1R содержит TIR-домены, которые взаимодействуют с TIR-доменами адапторного белка MyD88 и активируют систему киназ IRAK. В конечном итоге включается класси-

ческий MyD88-зависимый сигнальный путь, идущий также от TLR и активирующий транскрипционный фактор NF-κB, митоген-активированную протеинкиназу p38 и JUN N-терминальную киназу JNK. IL-1RII, в связи с отсутствием сигнального домена, не проводит сигнала и не активирует клетку, т.е. является рецептором-ловушкой. В рекомбинантной форме IL-1α и IL-1β связываются с одинаковыми рецепторами и производят аналогичный биологический эффект.

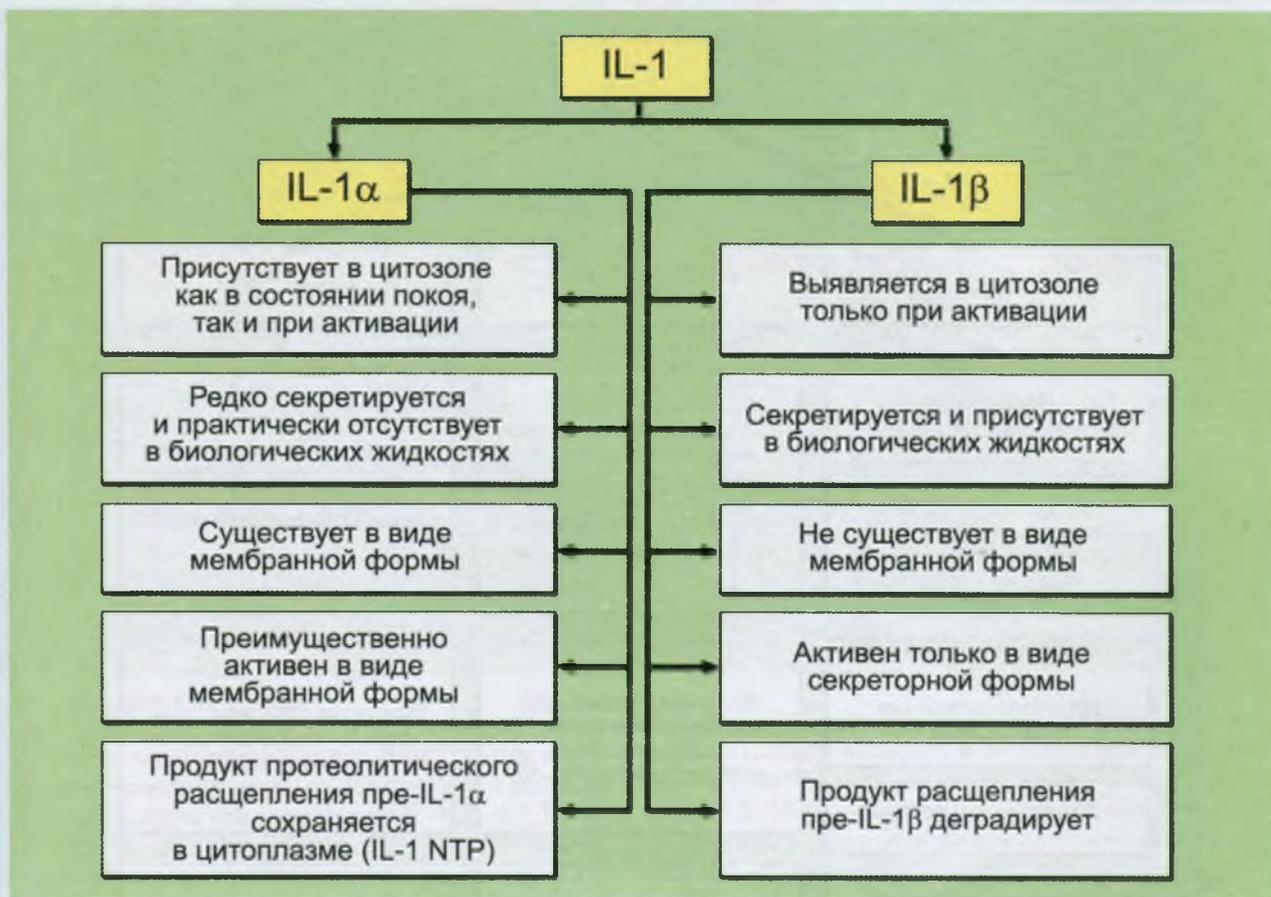


Рис. 107. Различия между IL-1β и IL-1α

IL-1α и IL-1β имеют сходную структуру и взаимодействуют с одним и тем же рецептором. Однако между ними отмечаются существенные различия по распределению в клеточных компартментах, по характеру активности и способности к секреции.

IL-1α и IL-1β состоят из 271 и 269 аминокислотных остатков с молекулярной массой 30 746 и 30 606 Да соответственно. IL-1α и IL-1β имеют сходную химическую структуру. У человека уровень гомологии по аминокислотному составу между ними составляет 26%. Данные рентгеноструктурного анализа показали, что IL-1α, IL-1β и IL-18 пред-

ставляют собой белковые глобулы, состоящие из 12 β-слоёв. Для их функционирования необходима целостность всей глобулярной структуры. Удаление с С- или N-конца даже одной аминокислоты ведёт к потере биологической активности. Поэтому, вероятно, ни один из приготовленных синтетических пептидов не воспроизводит биологическую активность IL-1. IL-1, IL-1α и IL-1β взаимодействуют с одним и тем же рецептором и обладают практически одинаковыми биологическими свойствами. Различия между ними заключаются только в распределении в клеточных компартментах и по способности к секреции.

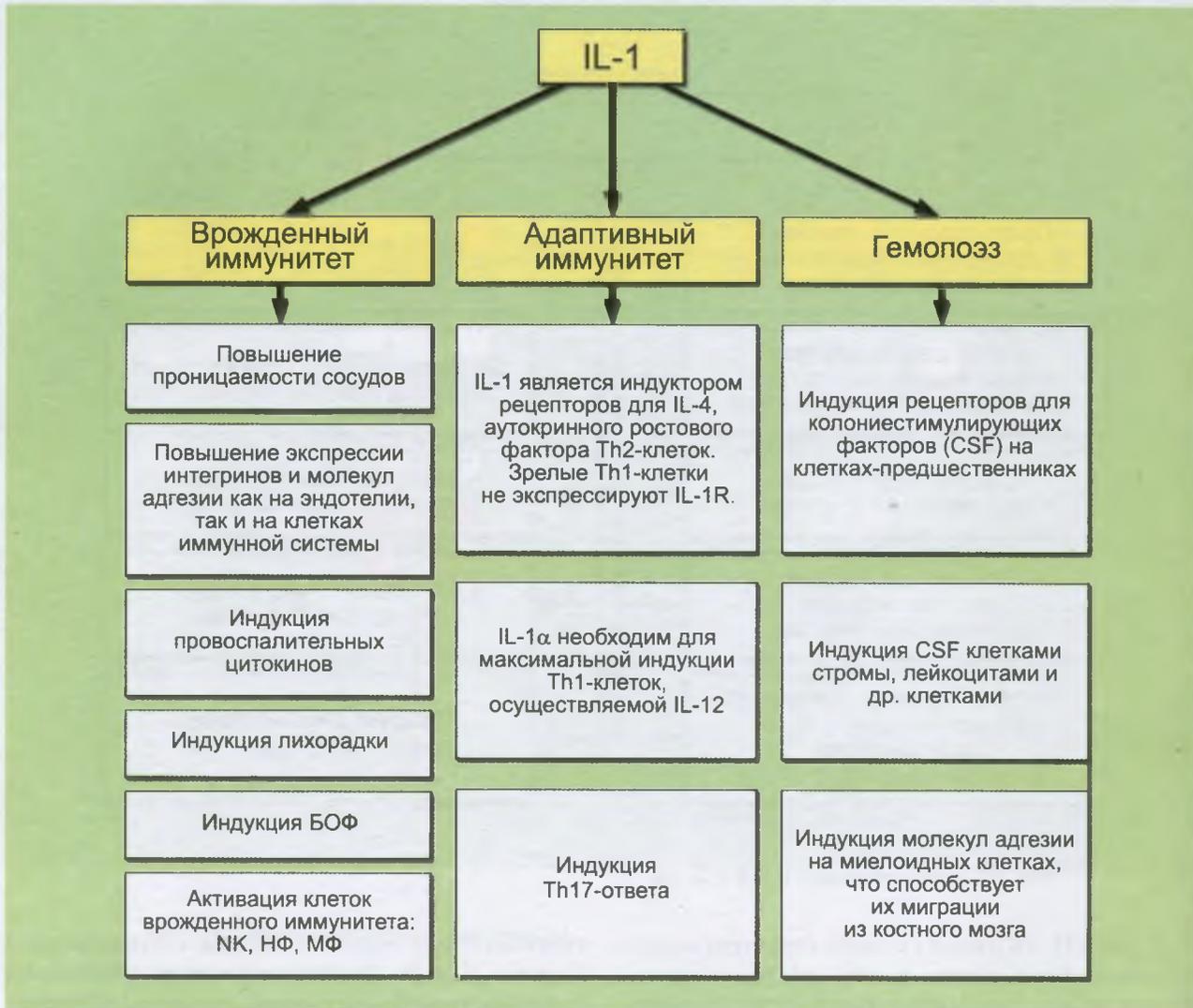


Рис. 108. Роль IL-1 в развитии иммунного ответа и в гемопозезе

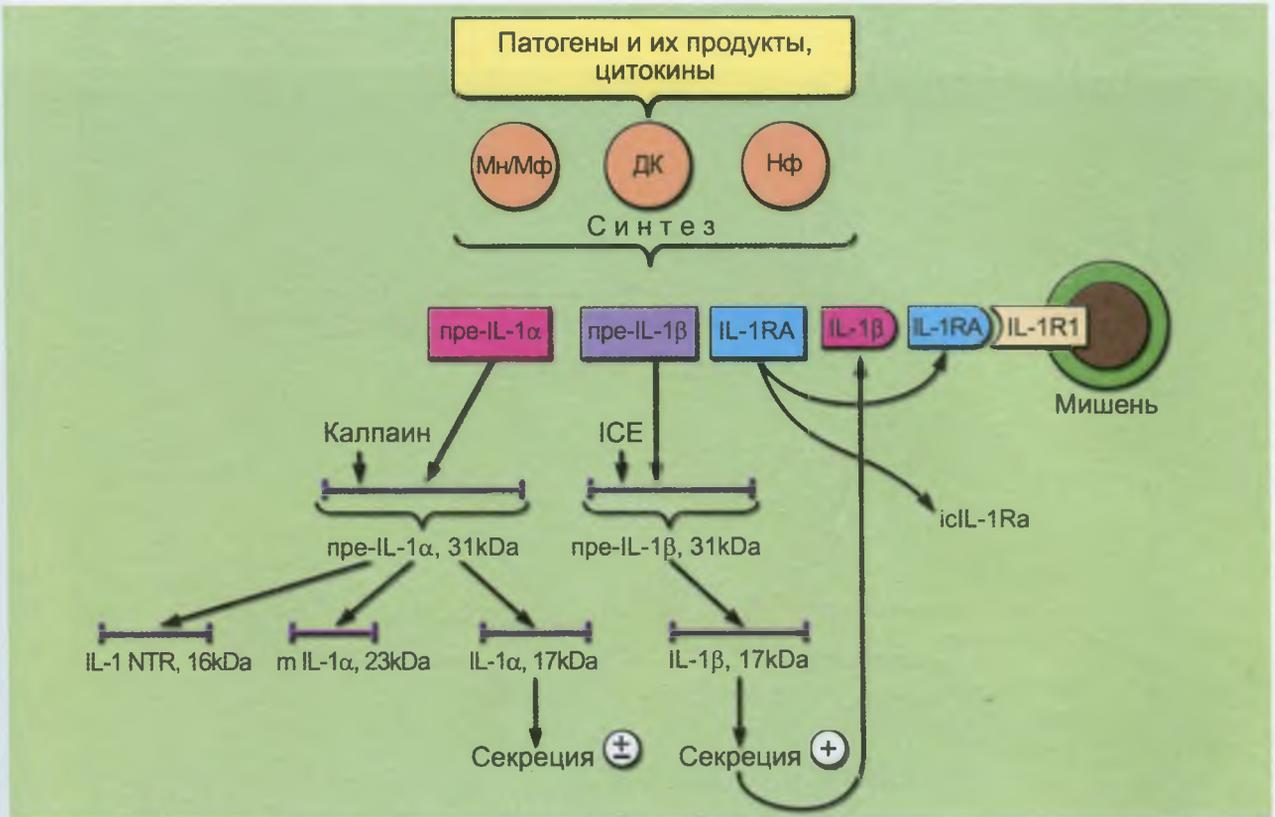


Рис. 109. Синтез IL-1

Многие типы клеток синтезируют IL-1 при активации микроорганизмами, их продуктами и цитокинами. Рассмотрим три члена семьи IL-1: IL-1α, IL-1β и IL-1Ra. IL-1Ra является антагонистическим белком: он имеет такой же аффинитет к рецептору IL-1, как и IL-1β, но не обладает способностью активировать клетку. Взаимодействуя с рецептором, IL-1Ra препятствует соединению IL-1β с рецептором. IL-1α и IL-1β синтезируются в клетке в виде предшественников с молекулярной массой 31 kDa. Пре-IL-1α является активным, пре-IL-1β требует дополнительной активации путём ограниченного протеолиза. Активация пре-IL-1β осуществляется протеазой ICE (*IL-1β-converting enzyme*, или каспаза-1) с образованием зрелой формы IL-1β массой 17 kDa. IL-1β может секретироваться только в зрелой форме; таким образом, для синтеза этого цитокина, помимо активации транскрипции, нужен сигнал, стимулирующий протеазу ICE, источником которого служит высокая внеклеточная концентрация АТФ. Внеклеточный АТФ стимулирует пуринергический рецептор P2X7, что приводит к выходу ионов K^+ из клетки. Это, в свою очередь, открывает трансмембранный канал, образованный белком паннек-

сином-1, через который в цитозоль клетки входят РАМР. Последние взаимодействуют с цитозольными NALP- и NOD-рецепторами, способствуя образованию макромолекулярного комплекса — инфламмосомы, где создаются условия для активации ICE.

Пре-IL-1α расщепляется с помощью Ca^{2+} -зависимой протеазы калпаина с образованием зрелой формы IL-1α с молекулярной массой 17 kDa. Описана мембранная форма IL-1α с молекулярной массой 23 kDa. IL-1α, как и IL-1β, секретируется только в зрелой форме. Синтез IL-1α происходит путём транслокации через поверхностную мембрану клетки-производителя (IL-1β проходит через мембрану эндолизосом с последующим экзоцитозом их содержимого). Однако секреция IL-1α даже при активации моноцитов/макрофагов происходит в значительно меньшей степени, чем IL-1β. Как правило, IL-1α не выявляется в тканевых жидкостях, за исключением тяжёлых воспалительных процессов. Отщеплённый от пре-IL-1α неактивный пептид с молекулярной массой 16 kDa дальнейшему делению не подвергается и сохраняется в цитоплазме в виде IL-1NTP. В цитоплазме также сохраняется несекретируемая изоформа IL-1Ra (icIL-1Ra).

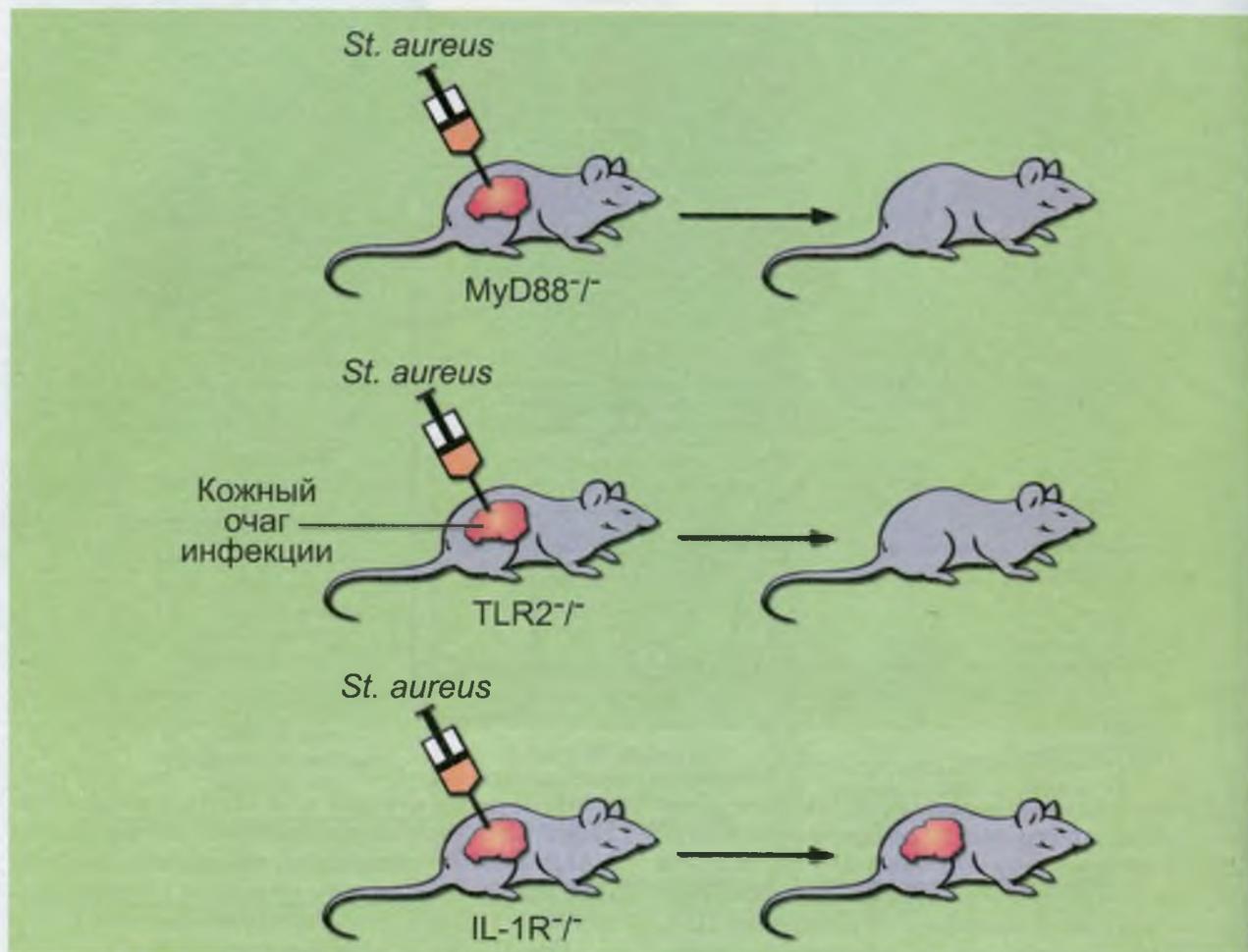


Рис. 110. Роль IL-1 в защите от внеклеточного возбудителя *S. aureus*

Показана важная роль сигнального пути от IL-1R в элиминации *S. aureus* в месте входных ворот. При подкожном введении этих бактерий у мышей развивается местный воспалительный очаг. У мышей *MyD88*^{-/-} и *TLR2*^{-/-} происходит выраженная миграция НФ в воспалительную зону и элиминация стафилококка. У мышей *IL-1R*^{-/-} трансло-

кация НФ в эту область практически не происходит и нет элиминации возбудителя. Таким образом, IL-1 является ведущим агентом, от которого зависит перемещение НФ в воспалительный очаг. Этот эксперимент является обоснованием для применения IL-1 как лечебного препарата при хронических инфекционно-воспалительных процессах.

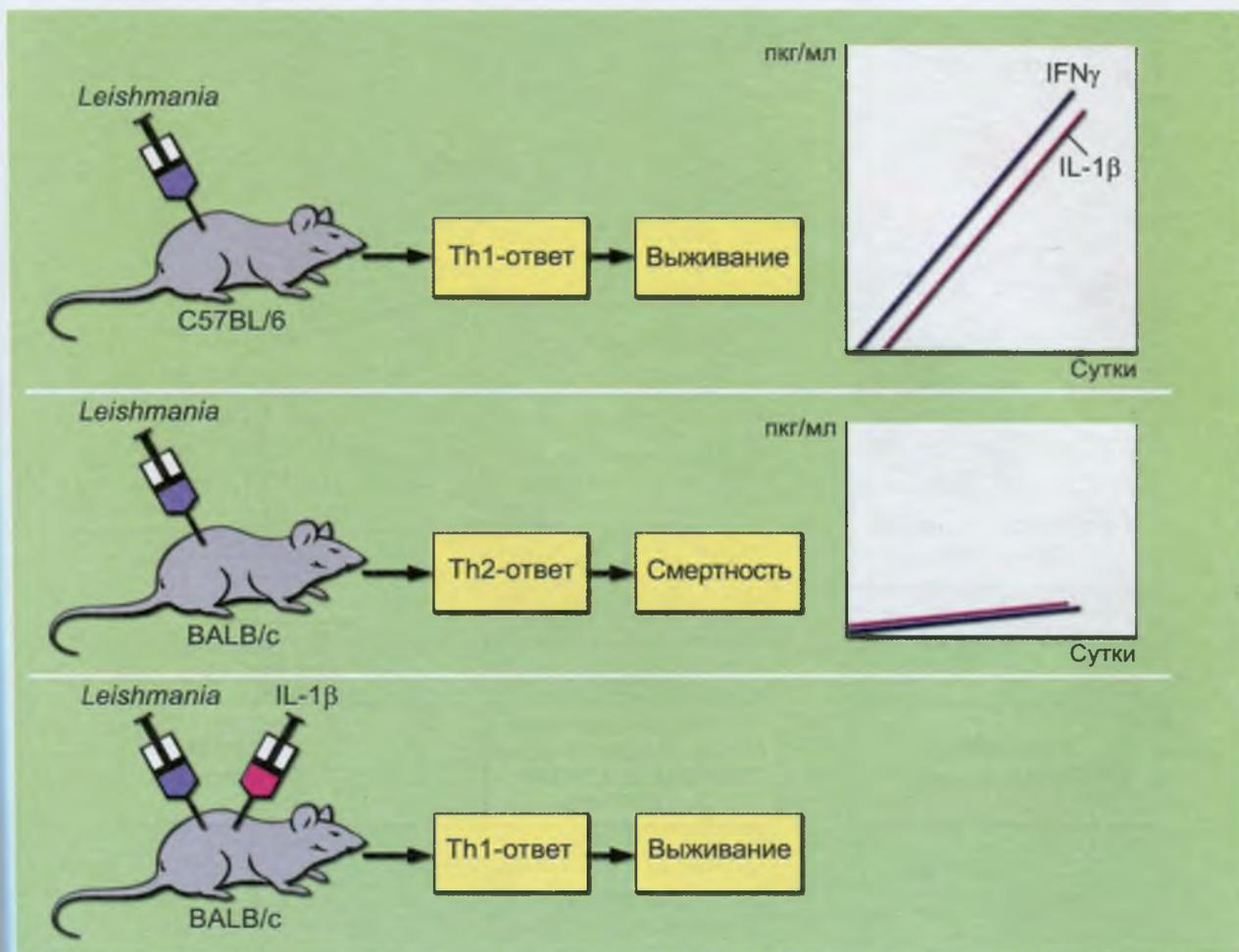


Рис. 111. Роль IL-1 в защите от внутриклеточного возбудителя *Leishmania*

Мыши линии C57BL/6 при заражении патогенными простейшими *Leishmania* развивают Th1-ответ с высокой продукцией $IFN\gamma$. МФ этих мышей эффективно убивают лейшмании. ДК мышей линии C57BL/6 синтезируют высокие уровни $IL-1\beta$, и заражённые мыши выживают. Мыши линии BALB/c при инфицировании лейшманиями развивают Th2-ответ с низкой продукцией $IFN\gamma$ и $IL-1\beta$. У мышей

формируется молниеносная летальная инфекция. Если мышам BALB/c вскоре после заражения ввести $IL-1\beta$, то у них развивается сильный Th1-ответ, в результате чего они выживают (von Stebut E. и др., 2003).

Показано, что в данной модели лейшманиозной инфекции $IL-1\beta$ действует синергически с $IL-12$ в индукции Th1-ответа.

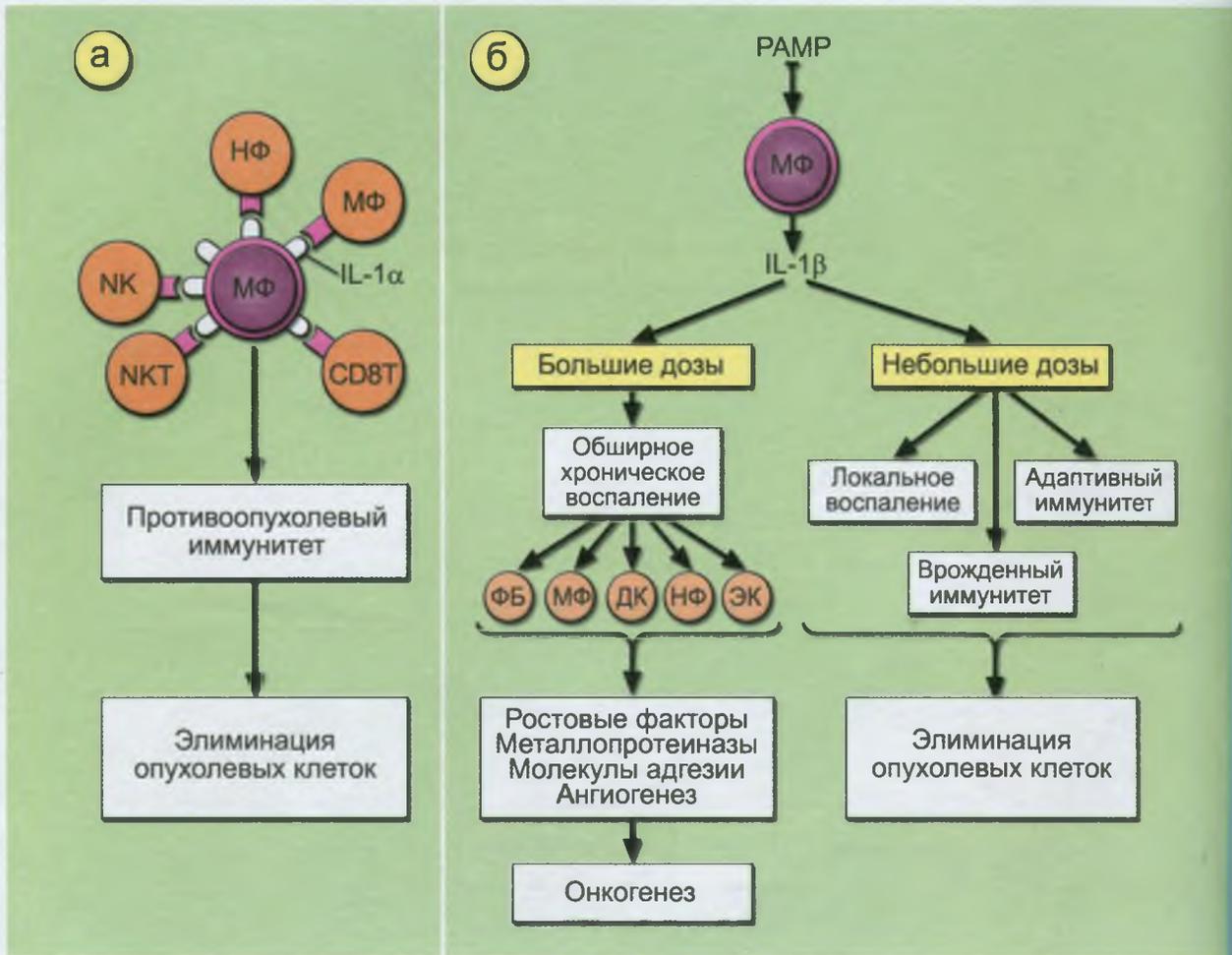


Рис. 112. Гипотеза о роли IL-1 в онкогенезе

Предполагается, что IL-1α и IL-1β играют различную роль в противоопухолевом иммунитете (Arte R.N. et al., 2006).

а. Мембрано-ассоциированная форма IL-1α обладает иммуностимулирующей активностью. МФ, несущие на поверхности эту форму, активируют практически все клетки, оказывающие цитотоксический эффект, приводя к развитию противоопухолевого иммунитета и элиминации опухолевых клеток.

б. При избыточной продукции активированными МФ IL-1β развивается обширный воспалительный процесс, который вовлекает широкий круг клеток: фибробласты (ФБ), макрофаги (МФ), нейтрофилы (НФ), эндотелиальные клетки (ЭК), дендритные клетки (ДК). Эти клетки синтезируют ряд факторов и ферментов, способствующих росту опухоли. При умеренной продукции IL-1β развивается локальное воспаление, происходит активация врождённого и адаптивного иммунитета и элиминация опухолевых клеток.

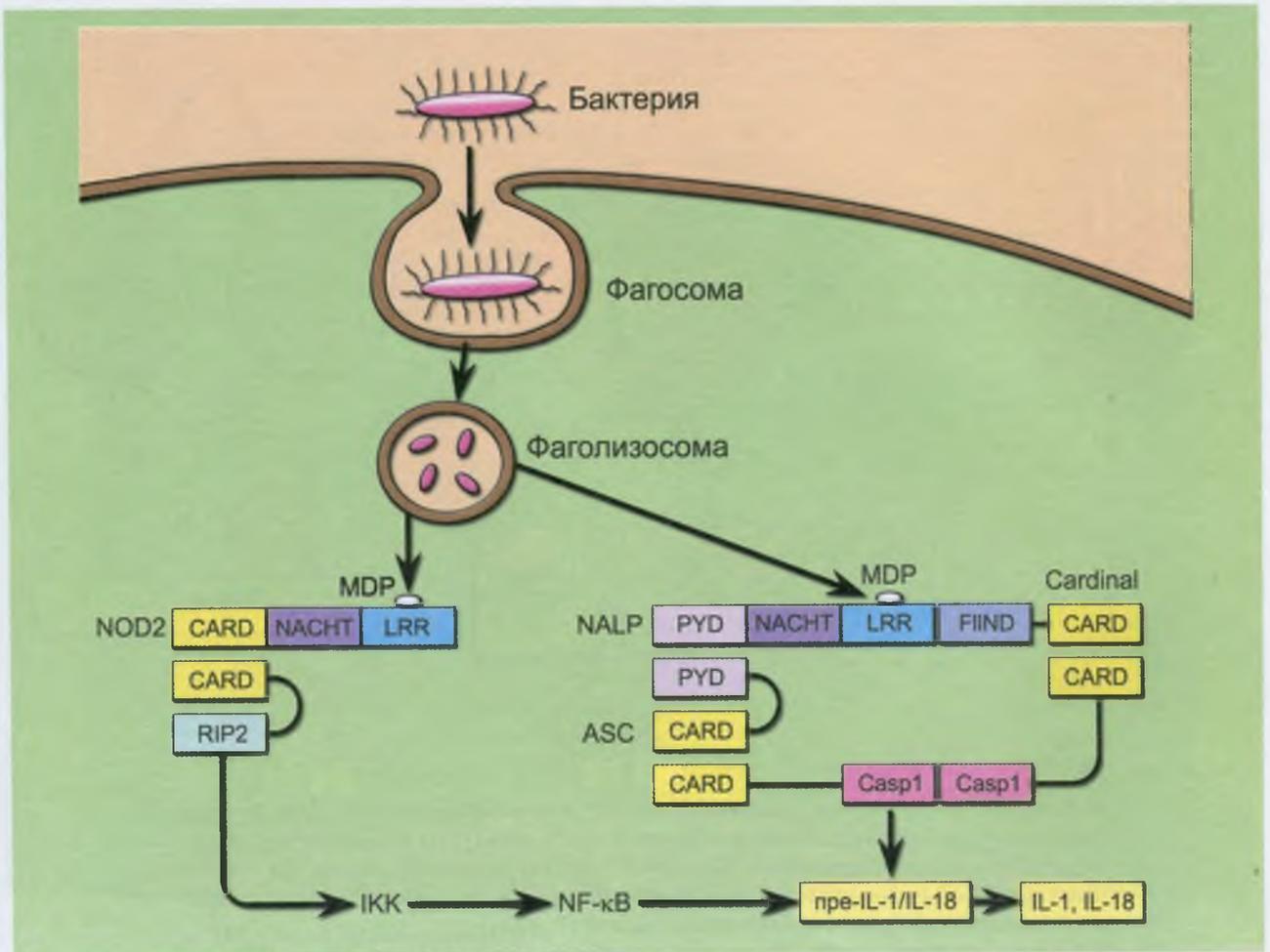


Рис. 113. Роль NALP-рецепторов в секреции IL-1 β и IL-18

В процессинге и секреции IL-1 β важная роль принадлежит NALP-рецепторам и их адапторному белку ASC (*apoptosis-associated speck-like protein containing CARD*). Этот белок является бифункциональным, содержащим два домена: N-терминальный PYD-домен и C-терминальный CARD-домен. При активации клетки, в частности в процессе фагоцитоза, происходит образование макромолекулярной структуры — инфламмосомы, состоящей из внутриклеточного рецептора NALP из группы NLR, содержащей домены PYD, NACHT и LRR, белка ASC и каспазы-1 (ICE), состоящей из CARD-домена. В результате этого происходит активация кас-

пазы-1. Индуктором для формирования инфламмосомы может быть МДП, образующийся при расщеплении пептидогликана клеточной стенки бактерий и различаемый LRR-доменом белка NALP. Синтез пре-IL-1 β и пре-IL-18 является NF- κ B-зависимым и индуцируется в результате распознавания МДП внутриклеточными рецепторами NOD1 или NOD2, а также при активации других рецепторов (например, TLR, на рис. не показаны). Пре-IL-1 β и пре-IL-18 расщепляются активированной каспазой-1 с образованием функционально полноценных цитокинов.

1.5.2. ИНТЕРЛЕЙКИН-18

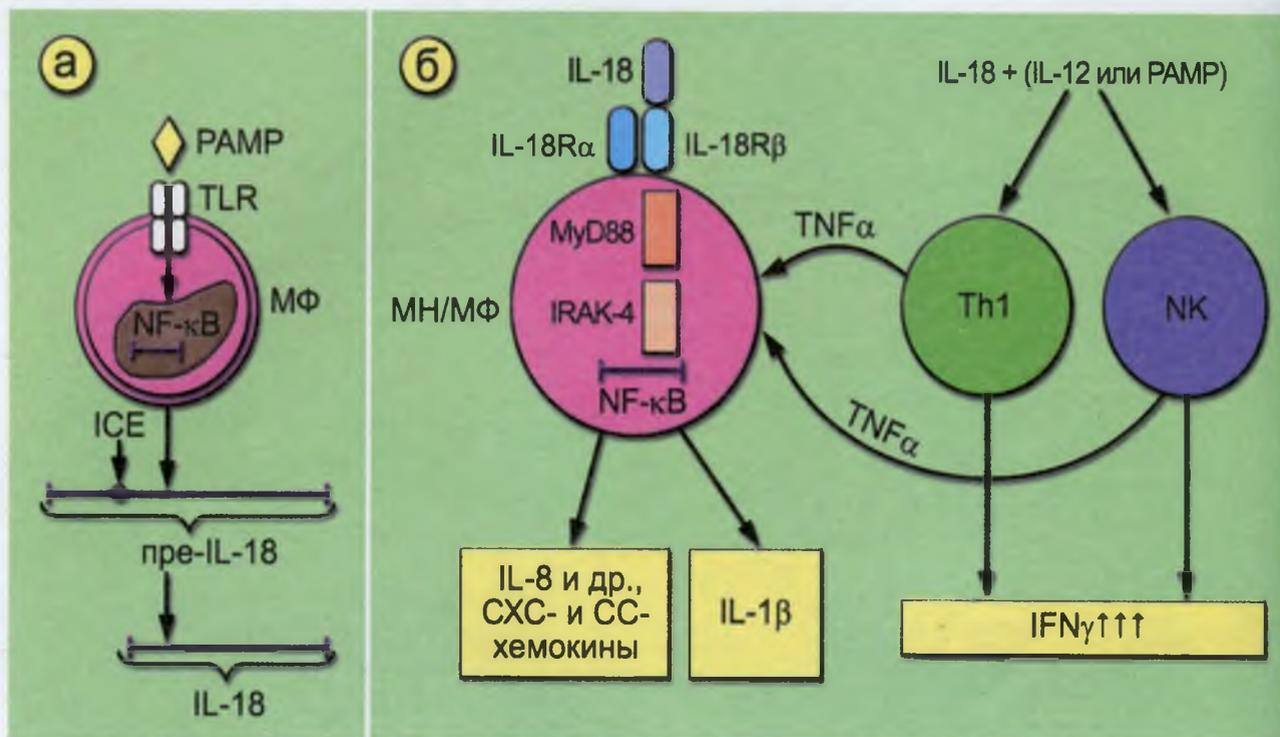


Рис. 114. Основные свойства IL-18

а. Главными продуцентами IL-18 являются МФ, а также кератиноциты. Индукторами IL-18 являются микроорганизмы и их компоненты — PAMP. IL-18 синтезируется в виде неактивного предшественника. Каспаза-1 (или IL-1 β -converting enzyme, ICE) расщепляет пре-IL-18 после остатка аспарагиновой кислоты в положении 36, после чего образуется активный белок с молекулярной массой 17–18 kDa.

б. Главной особенностью IL-18 является способность резко усиливать синтез IFN γ , индуцированный IL-12 или PAMP. Сам по себе IL-18 синтез IFN γ не инициирует. Основными продуцентами IFN γ под влиянием IL-18 и IL-12 являются NK- и Th1-клетки, которые синтезируют также TNF α . Рецептор для IL-18 состоит из двух цепей: IL-18R α и IL-18R β . Эти цепи, как и все представители семейства IL-1R, для активации используют сигнальный путь MyD88-IRAK-4-NF- κ B. Под влиянием сочетанного действия IL-18 и TNF α моноциты/макрофаги синтезируют IL-1 β , IL-8 и многие CXC- и CC-хемокины. На мышиной модели показана значительная роль IL-18 в защите от внутриклеточных возбудителей, а также в развитии аутоиммунных процессов, связанных с избыточной продукцией IFN γ .

1.5.3. ИНТЕРЛЕЙКИН-6

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Семейство цитокинов IL-6 включает IL-6, IL-11, IL-12, CD27, IL-31, фактор, ингибирующий лейкемию (LIF), онкостатин М (OSM), цилиарный нейротрофический фактор (CNTF), кардиотропин-1 (CT-1) и кардиотропиноподобный цитокин (CLC), нейропозтин (NPN) (Mitsuyama K. et al., 2006). Первый член этой семьи IL-6 был открыт как медиатор межклеточного взаимодействия Т- и В-лимфоцитов и имел ряд названий, отражающих различные стороны его биологического действия: В-стимулирующий фактор 2, интерферон- β 2, гепатоцидактивирующий фактор и др. При получении рекомбинантного белка (Gauldie J. et al., 1987) было установлено, что все эти эффекты принадлежат одному белку – IL-6. Члены семейства IL-6 имеют сходство между собой в химическом строении и биологическом действии. Все они обладают способностью реагировать с рецептором gp130 и в силу этого имеют сходные пути передачи внутриклеточного сигнала. Члены семейства IL-6 регулируют иммунный ответ и воспаление, синтез белков острой фазы, гемопоэз, метаболизм костей, участвуют в патогенезе ряда аутоиммунных заболеваний.

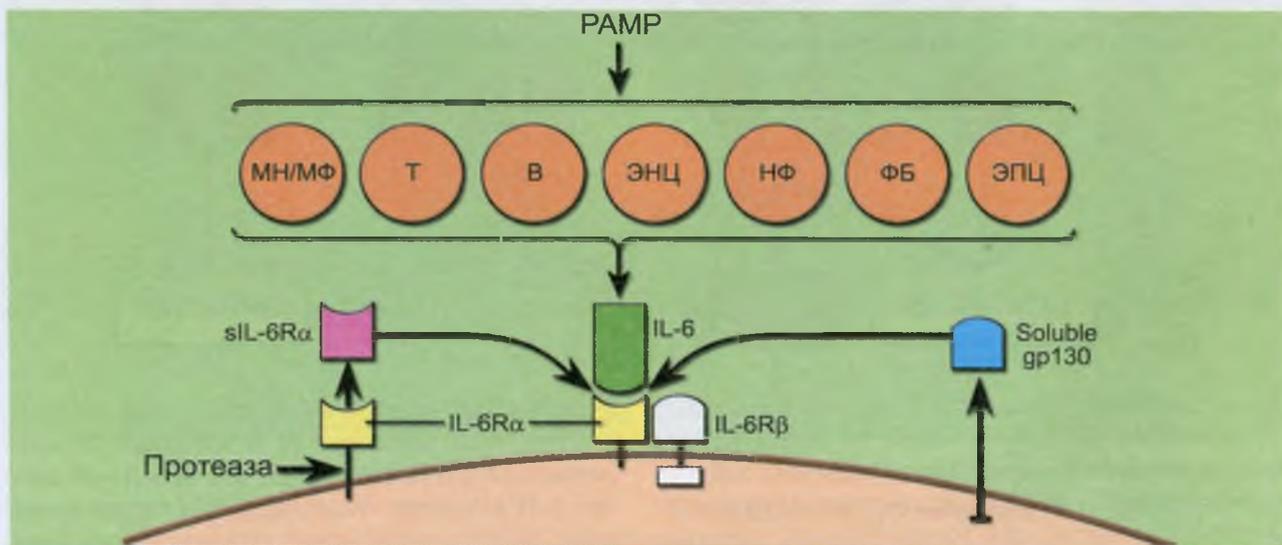


Рис. 115. Общая характеристика IL-6

Зрелый секреторный IL-6 является гликопротеином, состоящим из 184 аминокислотных остатков. В силу разной степени гликозилирования ММ IL-6 может колебаться от 23 до 30 кДа. Особенностью гена IL-6 является наличие единичного нуклеотидного полиморфизма (G174C). Замена гуанина на цитозин приводит к более низкой продукции IL-6 и более низкому его содержанию в плазме. IL-6 синтезируется МН/МФ, фибробластами (ФБ), эпителиоцитами (ЭПЦ), эндотелиоцитами (ЭНЦ), НФ, Т- и В-клетками. IL-6 синтезируется под влиянием PAMP бактерий, грибов, вирусов, а также провоспалительных цитокинов в виде одной полипептидной цепи, складывающейся в виде α -спирали. Синтез IL-6 начинается практически немедленно под влиянием активирующего агента. Уже через 2–3 ч после введения ЛПС энтеробактерий уровень IL-6 достигает максимума, но через 24 ч возвращается к норме. Высокоаффин-

ный рецептор IL-6 экспрессируется на многих типах клеток в виде гетеродимера, состоящего из α -цепи, 80 кДа (IL-6R α , CD126), и β -цепи, 130 кДа (CD130, gp130). IL-6R α преимущественно экспрессируется на НФ, МН/МФ, гепатоцитах и на некоторых лимфоцитах; IL-6R β – на всех клетках организма. IL-6R α существует в мембранной и растворимой форме. Во втором случае рецептор отщепляется от мембраны клетки металлопротеазой, появляется во внеклеточной среде и связывается с секреторным IL-6. Мембранная форма IL-6R α не является сигнальной. Она осуществляет связывание IL-6 с клеткой, после чего ассоциируется с IL-6R β . IL-6R β является сигнальной и, как отмечалось выше, входит в состав рецепторов всех цитокинов семейства IL-6. β -цепи могут существовать и секретироваться отдельно. В этом случае они являются мощными ингибиторами взаимодействия IL-6 с его рецептором.

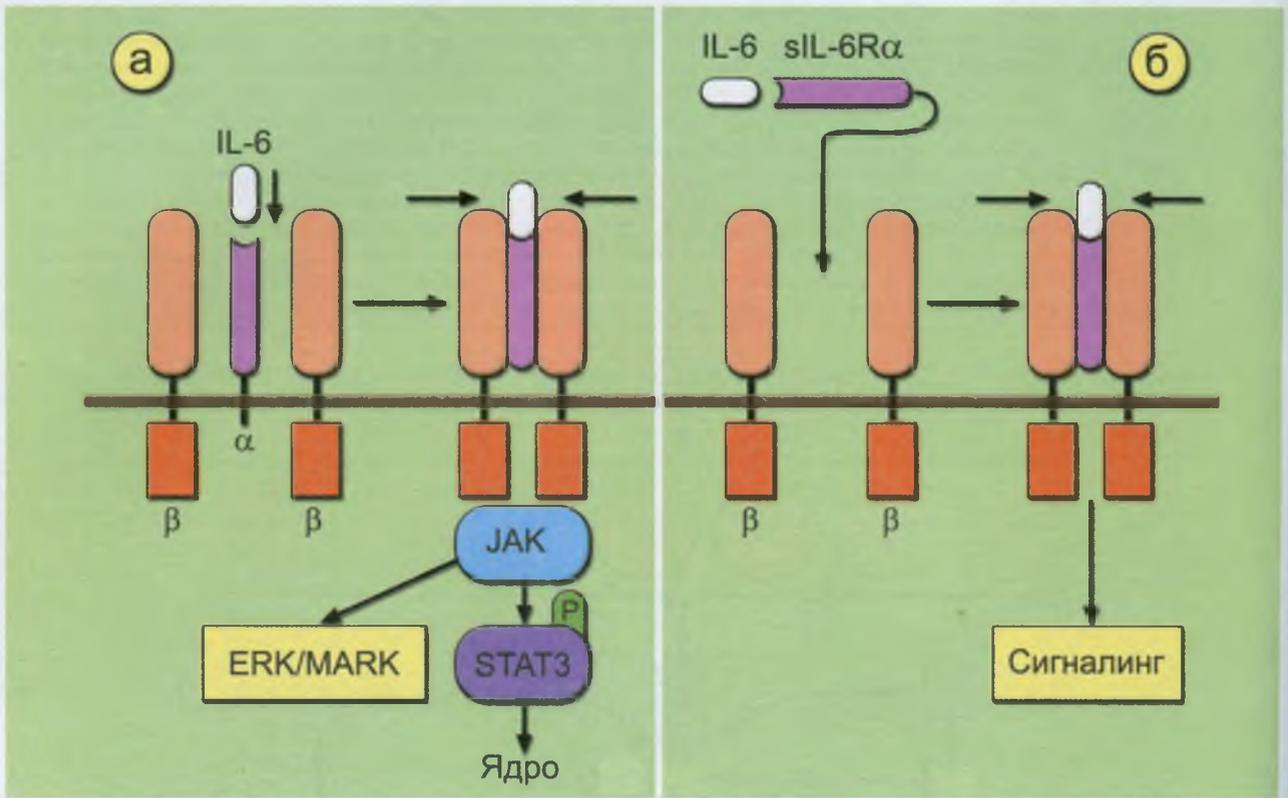


Рис. 116. Сигнальные пути рецептора IL-6

а. Классический IL-6-сигналинг. IL-6 взаимодействует с распознающей α-цепью IL-6R, приводя к димеризации проводящих β-цепей. На внутриклеточном участке β-цепи создаётся докинг-участок для киназы Jak, которая активируется и фосфорилирует транскрипционный фактор STAT3, транслоцирующийся в ядро и вызывающий активацию генов иммунного ответа и воспаления. Одновременно с этим активируется ERK/MAPK-сигнальный путь, который способствует выживанию, активации и пролиферации клетки.

б. Транс-сигналинг. Совместно с мембранной формой IL-6Rα существует секреторная форма sIL-6Rα, обнаруживаемая в биологических жидкостях. Она может образовываться в результате неправильного сплайсинга мРНК, ведущего к потере цитоплазматического конца, а также при отщеплении металлопротеазами мембрано-заякоренной цепи рядом с клеточной поверхностью. В конечном итоге клетка содержит только β-цепь. В этом случае IL-6 образует комплекс с sIL-6Rα, который взаимодействует с β-цепью. Происходит димеризация β-цепей и развитие сигналинга по классическому типу. Важно отметить, что многие клетки организма (нервной системы, мышечной ткани, эндотелий, гемопоэтические клетки и многие другие) содержат β-цепь IL-6 (gp130). При наличии в организме секреторной формы sIL-6Rα все эти клетки будут отвечать на IL-6. Именно поэтому транс-сигналинг играет важную роль в патофизиологии хронического воспаления.

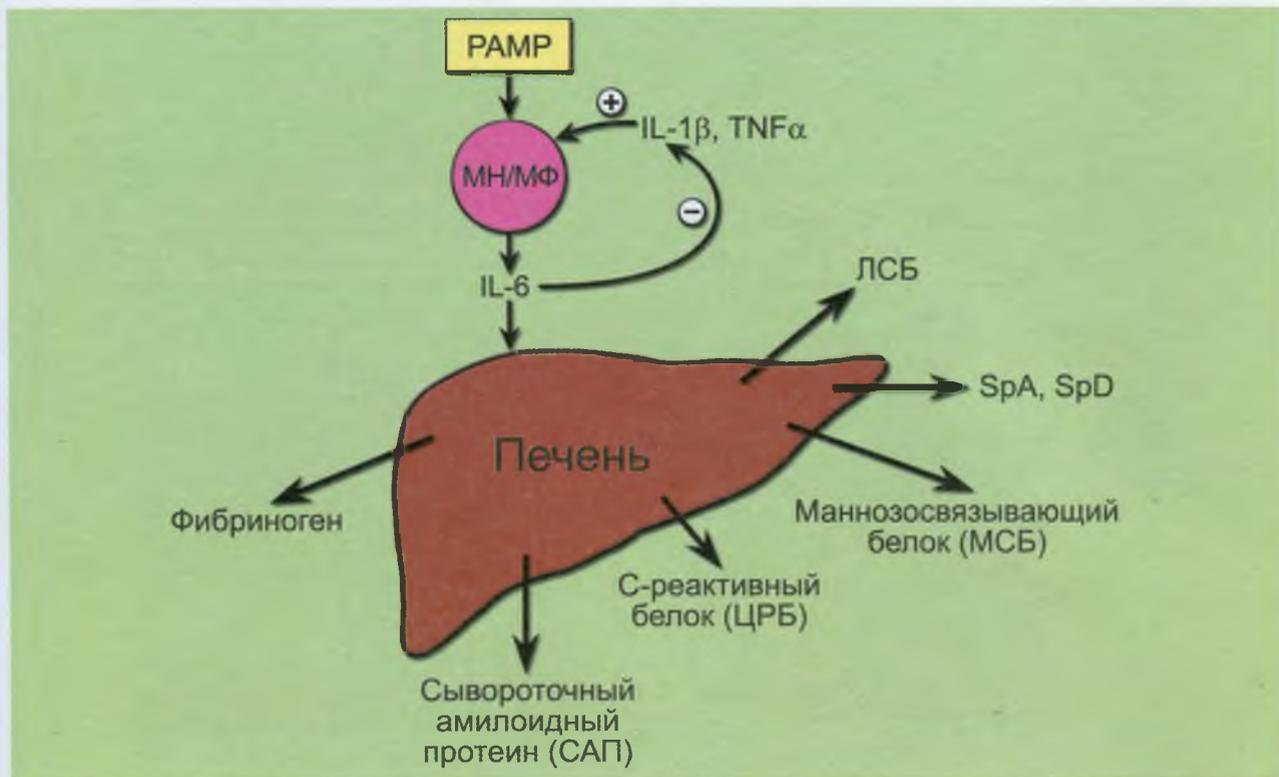


Рис. 117. Роль IL-6 в индукции белков острой фазы

Главными индукторами синтеза МН/МФ IL-6 являются бактерии и их компоненты (PAMP), а также IL-1 β и TNF α . IL-6 — ингибитор их синтеза. При развитии воспалительного процесса IL-6 является главным индуктором белков острой фазы (БОФ) в печени. К БОФ относят пентраксины: ЦРБ и САП (у мышей); коллектины: МСБ, сурфак-

тантные белки SpA и SpD; ЛПС-связывающий белок (ЛСБ).

Все перечисленные белки синтезируются в раннюю фазу индуцибельного ответа и являются опсонинами, повышающими фагоцитарную функцию лейкоцитов задолго до развития гуморального иммунного ответа.

ЗАТЕКСТОВОЕ ПРИМЕЧАНИЕ

Некоторые члены семейства IL-6

IL-11 является плеiotропным цитокином, усиливающим синтез АТ, дифференцировку и активацию МФ, синтез БОФ и др. Специфическим свойством IL-11 является индукция созревания тромбоцитов, что начинает использоваться в клинике. IL-31 участвует в развитии воспалительных процессов в коже и слизистых оболочках, что, вероятно, связано с повышенной экспрессией IL-31R на МН/МФ, эпителиальных клетках и кератиноцитах, особенно при дерматитах. По своим свойствам LIF, обладающий провоспалительными и гемопоэтическими эффектами, напоминает IL-6. Несмотря на своё название, он *in vivo* не обладает противоопухолевыми свойствами. Важной функцией LIF является участие в развитии нейронов в эмбриогенезе, что также используется в клинике. OSM по многим свойствам напоминает LIF. CNTF и CT-1 обладают основными провоспалительными свойствами, характерными для IL-6. Но главным биологическим свойством CNTF является активация дифференцировки нейронов и астроцитов. Главным биологическим свойством CT-1 является поддержание функциональной активности миоцитов сердца и скелетной мускулатуры.

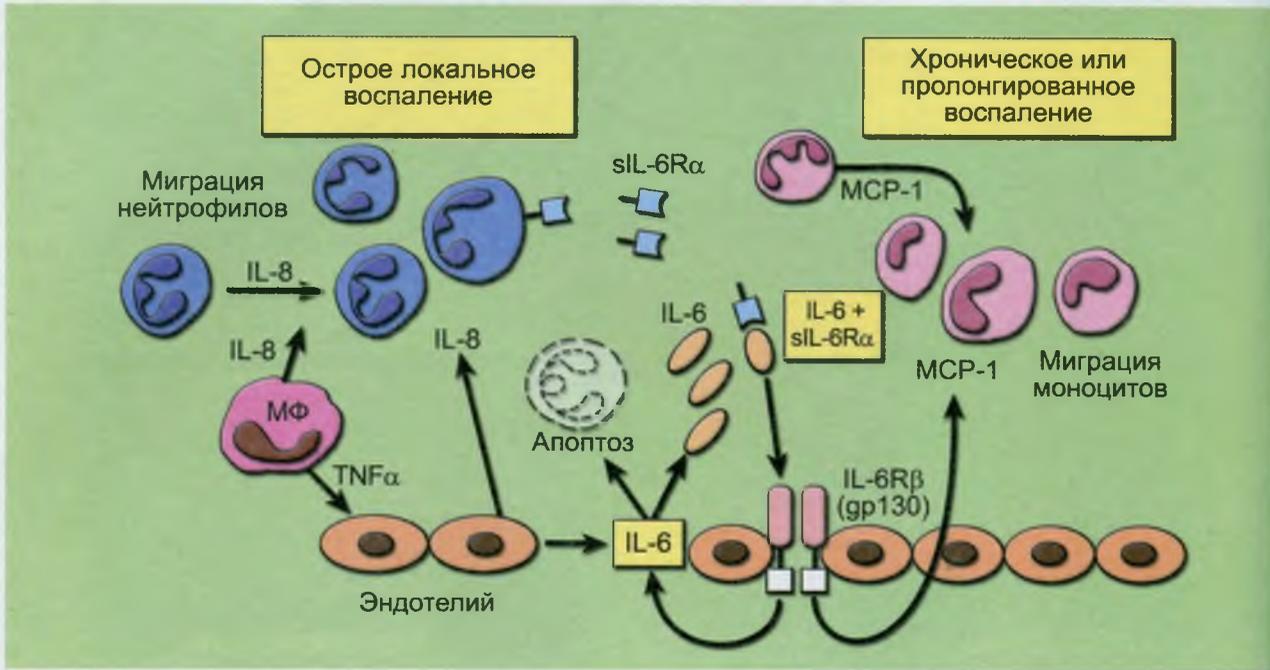


Рис. 118. Роль IL-6 в развитии хронического воспаления

Первыми, как известно, в воспалительный очаг мигрируют НФ под влиянием IL-8, синтезируемого тканевыми МФ, эндотелием, НФ. Развивается острая фаза воспаления. Клетки эндотелия, активированные провоспалительными цитокинами, в частности TNF α , синтезируют IL-6, IL-8 и др. Вместе с накоплением НФ в воспалительном очаге резко увеличивается концентрация растворимой формы рецептора IL-6R α (sIL-6R α). Основным его источником является процесс шединга (сброса) рецептора с НФ. Происходит образование комплекса IL-6+sIL-6R α . Клетки эндотелия не экспрессируют полноценного рецептора IL-6, но экспрессируют β -цепь (IL-6R β или gp130). Эти цепи распознаются комплексом IL-6+sIL-6 α . Происходит их димеризация и активация сигнального пути Jak/STAT3 (на рис. не показано). В результате

этого повышается синтез IL-6 клетками эндотелия и индукция синтеза этими клетками хемокина MCP-1 (*monocyte chemoattractant protein 1*), являющегося мощным хемоаттрактантом МН. Кроме того, уже через несколько часов после прибытия в очаг воспаления активированные НФ начинают сами синтезировать MCP-1. Смена повышенного количества НФ на моноциты свидетельствует о хронизации воспалительного процесса, который может поддерживаться за счёт синтеза активированными МН провоспалительных цитокинов. Тем не менее, смена в патологическом очаге НФ на моноциты/макрофаги является полезным событием, так как избыток НФ с их мощным деструктивным аппаратом повреждает органы и ткани. Полезным событием также является апоптоз под влиянием IL-6 и элиминация НФ моноцитами/макрофагами.

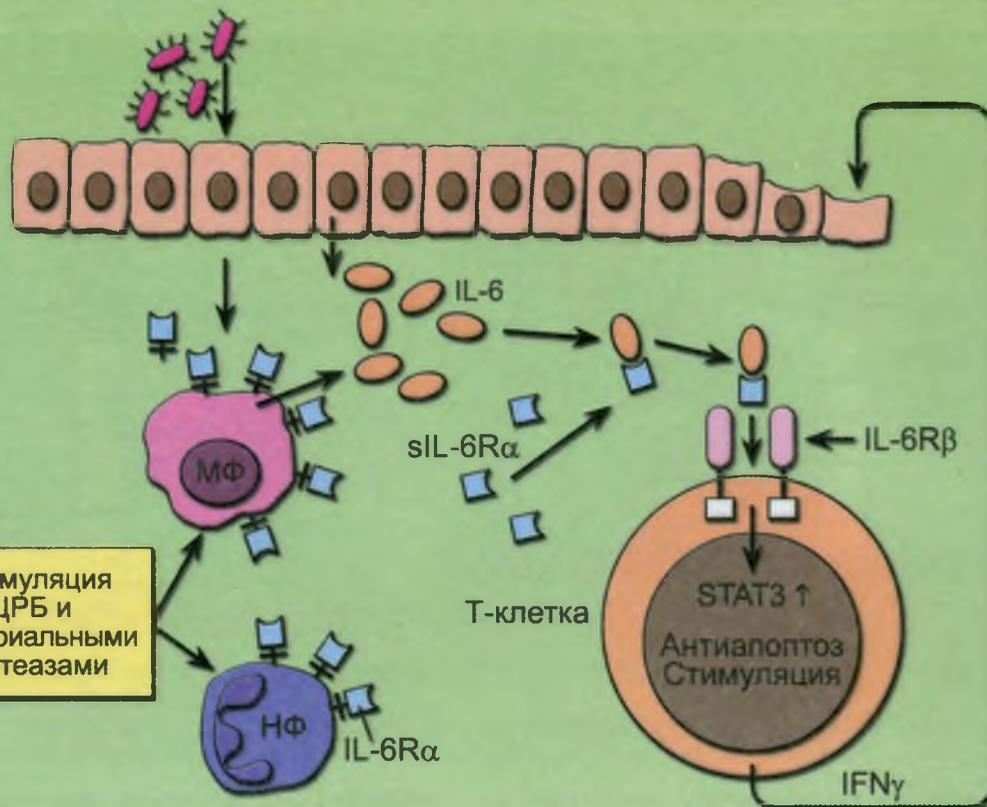


Рис. 119. Роль IL-6 в воспалительных заболеваниях кишечника

При воспалительных процессах (язвенный колит, болезнь Крона) под влиянием бактериальных продуктов клетки эпителия кишечника синтезируют повышенные количества IL-6. Этот цитокин вступает во взаимодействие с растворимым рецептором sIL-6 α , образующимся при шеддинге этого рецептора с НФ и МФ. Шеддинг происходит под влиянием ЦРБ и бактериальных протеаз. Создаётся комплекс IL-6+sIL-6R α . Т-клетки, активированные в воспалительном очаге, экспрессируют повы-

шенные количества мембраносвязанного IL-6R β (gp130).

Комплекс IL-6+sIL6R α взаимодействует с этими рецепторами Т-клеток и активирует STAT3-сигнальный путь. Происходит активация антиапоптотических белков Bcl-xL и Bcl-2. Повышается выживание Т-клеток, происходит их пролиферация и синтез ими провоспалительных цитокинов типа IFN γ , вызывающих разрушение стенки кишечника (Mitsuyama K. и др., 2006).

ЗАТЕКСТОВОЕ ПРИМЕЧАНИЕ

При воспалительных заболеваниях кишечника (ВЗК) часто нарушается метаболизм костной ткани с развитием остеопороза. Это связано с тем, что главная роль в развитии ВЗК принадлежит провоспалительным цитокинам: TNF α , IL-1 β , IL-6, IFN γ , а также TNF-подобному цитокину RANK (*receptor activator of nuclear factor kappa B*) и его лиганду RANKL. Эти же цитокины вызывают потерю костной ткани, чем и объясняется сопряжённость процессов остеопороза и ВЗК, заключающаяся в повышенной возможности развития остеопороза у больных ВЗК. Возможно, нейтрализация соответствующими МАТ провоспалительных цитокинов является перспективным методом лечения и профилактики остеопороза.

1.5.4. ИНТЕРЛЕЙКИН-12/ИНТЕРЛЕЙКИН-23/ИНТЕРЛЕЙКИН-27

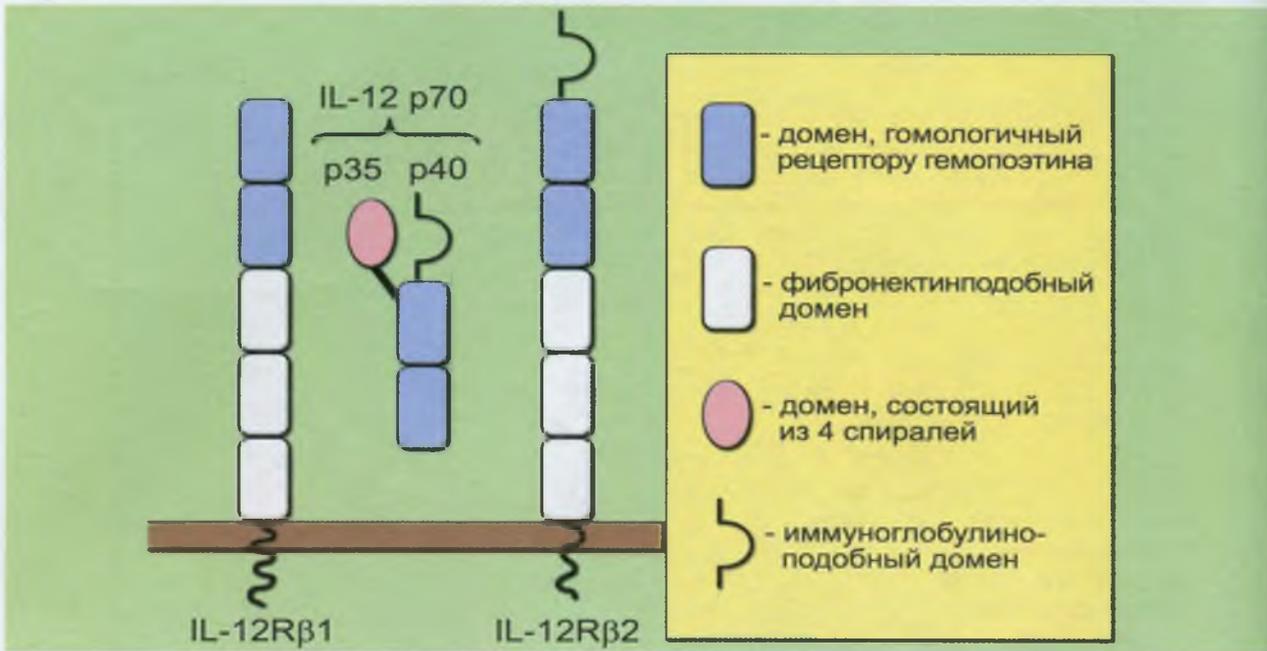


Рис. 120. Строение IL-12 и его рецептора

IL-12 является гетеродимером, состоящим из двух полипептидных цепей p35 и p40 (IL-12p75), связанных дисульфидным мостиком. Субъединица p35 имеет гомологию с IL-6. Субъединица p40 родственна растворимой форме рецептора IL-6R α . Для IL-12 характерно наличие домена, состоящего из четырёх α -спиралей, и домена, гомологичного рецептору гемопоэтина. Впервые IL-12 был идентифицирован как продукт В-клеток, трансформированных вирусом Эпштейна-Барр. Его характерными свойствами являются способность активировать NK-клетки, способствовать развитию LAK-клеток, индуцировать синтез IFN γ и усиливать пролиферацию Т-лимфоцитов. IL-12 наиболее интенсивно синтезируется миелоидными ДК и МФ при стимуляции микроорганизмами и их продуктами. Коэкспрессия обеих субъединиц является необходимой для проявления биологической активности IL-12. Когда p35 синтезируется без p40, она не секретируется. Напротив, субъединица p40 образуется при активации клеток в большом избытке по сравнению с гетеродимером и может присутствовать в виде свободных цепей или гомодимера. Гомодимер p40 обладает свойствами хемоаттрактанта, в эксперименте ответствен за развитие аутоиммунных процессов и является ингибитором

эффекта IL-12. Например, трансгенная экспрессия IL-12p40 в кератиноцитах запускает развитие аутоиммунных заболеваний кожи.

Биологический эффект IL-12 опосредуется высокоаффинным рецептором IL-12, состоящим из двух цепей: IL-12R β 1 (CD212, 100 kDa) и IL-12R β 2 (130 kDa). Последняя имеет сильную гомологию с gp130 — общей β -цепью суперсемьи IL-6-подобных цитокиновых рецепторов. Эти гликопротеины являются трансмембранными белками I типа. Обе цепи рецептора нужны для эффективного связывания с IL-12. Цепь IL-12R β 2 является сигнальной. Наиболее интенсивно рецептор IL-12 экспрессируется на активированных Т- и NK-клетках, реже — на МФ и ДК, для которых IL-12 является аутокринным регулятором активности. На покоящихся Т-лимфоцитах высокоаффинный рецептор IL-12 отсутствует. Неактивированные NK-клетки экспрессируют небольшие количества этого рецептора, в результате чего происходит их быстрая активация под влиянием IL-12. Активация через TCR приводит к экспрессии рецептора IL-12 Т-клетками. Эта экспрессия, особенно IL-12R β 2, повышается цитокинами IL-12, IFN γ , IFN α , TNF α и при ко-стимуляции через рецептор CD28. Экспрессия IL-12R β 2 определяет Th1-путь развития Т-лимфоцита.

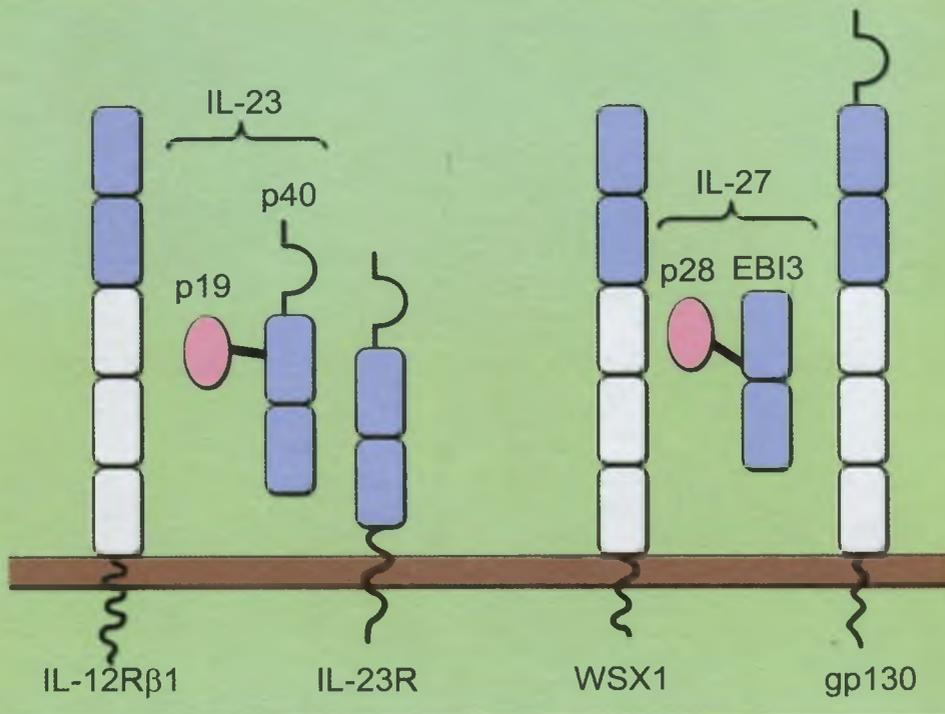


Рис. 121. Строение рецепторов IL-23 и IL-27

Гетеродимер IL-23 состоит из двух связанных дисульфидными мостиками полипептидных цепей: p19, имеющей примерно 40% гомологии с субъединицей IL-12p35, и p40, идентичной субъединице IL-12p40. IL-23 синтезируется рядом клеток, но наиболее интенсивно МФ и ДК. Рецептор IL-23 состоит из двух цепей: IL-12Rβ1 и IL-23R, являющейся новым членом суперсемьи IL-6/IL-12 цитокиновых рецепторов. IL-23R экспрессируется на активированных НК- и Т-клетках, а также Т-клетках памяти, в небольших количествах — на моноцитах, МФ и ДК. Эта цепь является сигнальной, и она конститутивно коэкспрессируется с киназой Jak-2. IL-23R при взаимодействии с IL-23 использует те же сигнальные пути, что и IL-12, но с преимущественным вовлечением в этот процесс транскрипционного фактора STAT3, поэтому IL-23 индуцирует образование IFN γ значительно слабее, чем IL-12. В целом, IL-23, так же как и IL-12, игра-

ет важную роль в защите организма от инфекции. Совместно с IL-12 путём индукции синтеза IFN γ они контролируют рост и размножение внутриклеточных возбудителей.

В 1998 г. на НК- и Т-клетках был обнаружен рецептор WSX1, имеющий гомологию с рецептором IL-6 gp130. Через 2 года была описана молекула EB13 (*Epstein-Barr virus-induced molecule-3*), синтезируемая В-клетками, инфицированными вирусом Эпштейна-Барр. Эта молекула имеет гомологию с субъединицей IL-12p40. При поиске белков, имеющих гомологию с субъединицей IL-12p35, была обнаружена молекула p28, которая оказалась партнёром EB13. Комплекс EB13/p28 является цитокином IL-27. Рецептором для него является димерный рецептор, состоящий из сигнальной цепи WSX1 и gp130. IL-27 наиболее активно синтезируется МФ и ДК, а его рецептор экспрессируется на CD4⁺ Т-клетках, CD8⁺ Т-клетках, НК-клетках и др.

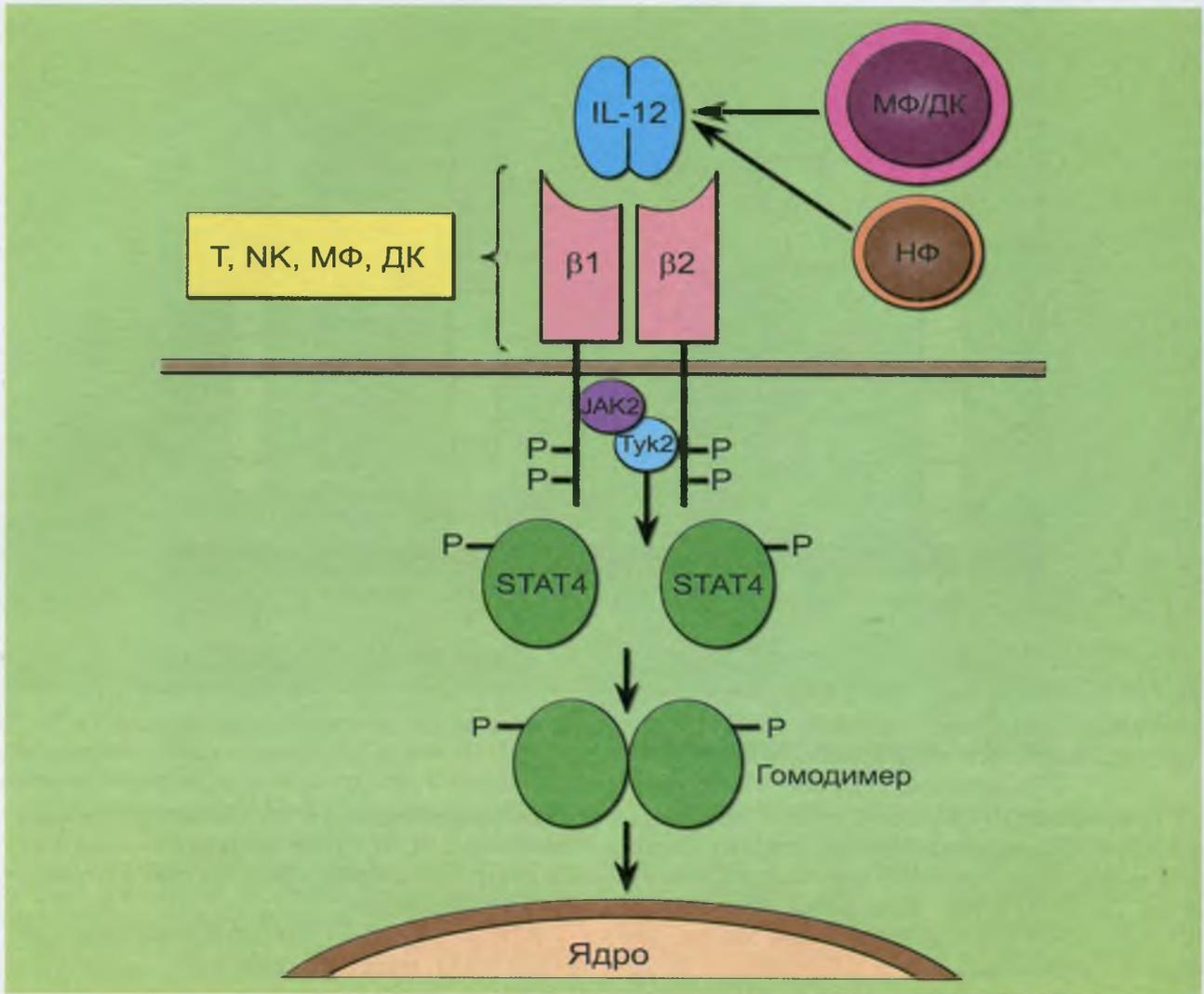


Рис. 122. Сигнальные пути рецептора IL-12

Внутриклеточный домен $\beta 1$ -цепи IL-12 ассоциирован с киназой Jak2, $\beta 2$ -цепи IL-12 — с киназой Tyk2. Взаимодействие IL-12 с IL-12R приводит к фосфорилированию этими киназами двух тирозинов $\beta 1$ и $\beta 2$ -цепей. Это создаёт связывающие участки для транскрипционного фактора STAT4, который фосфорилируется Jak2 и Tyk2 и образует гомодимер. Он транспортируется в ядро, где связы-

вается с промоторами соответствующих генов, активируя ряд клеток иммунной системы. Главным следствием этой активации является защита организма от патогенных микроорганизмов, прежде всего от внутриклеточных возбудителей. Эта защита полностью зависит от активации IL-12 STAT4-сигнального пути, так как антиинфекционная защита полностью отсутствует у мышей STAT4^{-/-}.

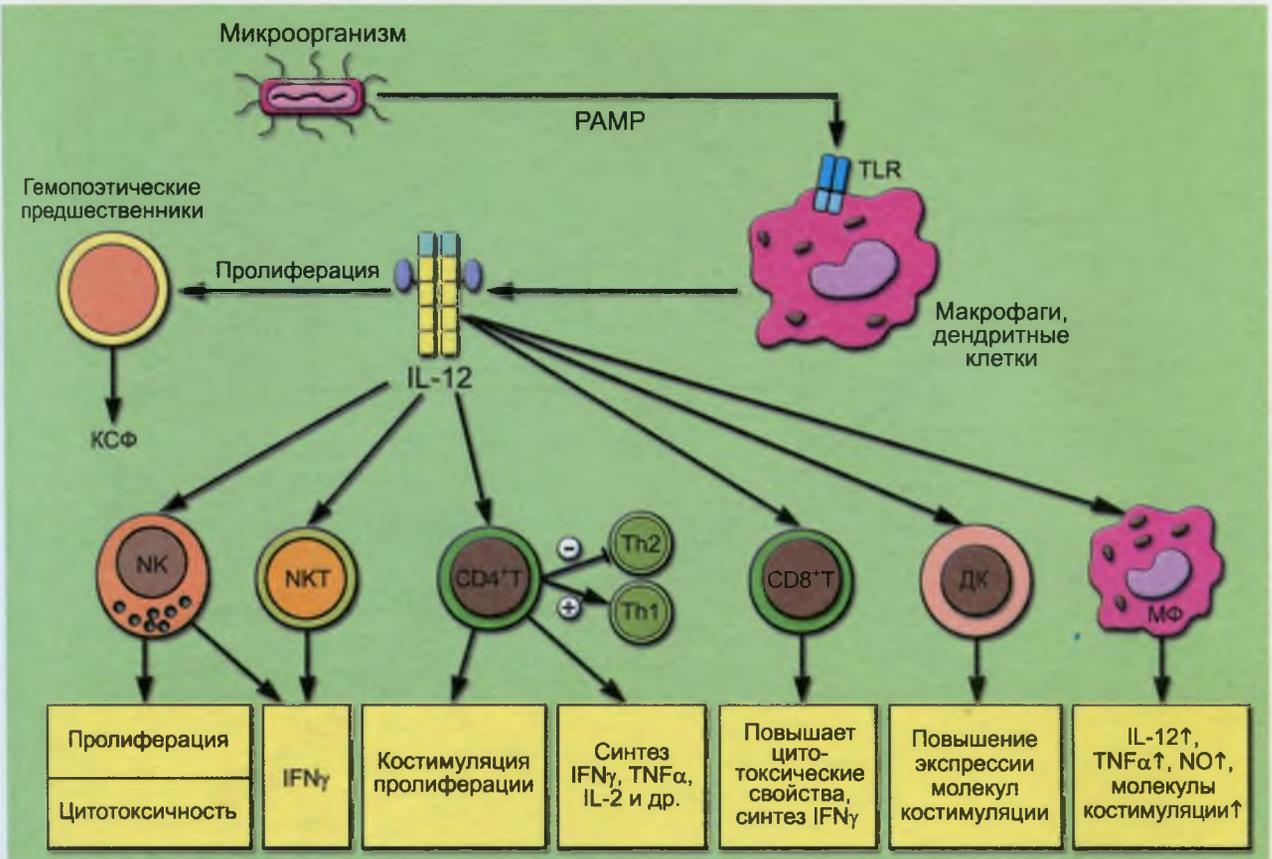


Рис. 123. Биологические эффекты IL-12

Защитная функция IL-12 напрямую связана с его способностью стимулировать интенсивный синтез IFN γ : в раннем индуцибельном периоде — NK- и NKT-клетками, а несколько позднее — CD8⁺ и CD4⁺ Т-клетками, являющимися на поздних этапах иммунного ответа главными продуцентами IFN γ . Значительно слабее IL-12 индуцирует образование IFN γ МФ и ДК (у мышей). У этих кле-

ток IL-12 индуцирует экспрессию HLA-DR, CD80/CD86, CR и др. Существенную роль в защите организма от внутриклеточных возбудителей играет образование МФ бактерицидного агента оксида азота NO. Есть данные, что этот синтез инициируется эндогенным IFN γ , индуцированным IL-12. У мышей IFN γ ^{-/-} образование оксида азота не происходит.

Индукторы синтеза IL-12

Индукцию синтеза IL-12 вызывают как внутриклеточные (*Mycobacterium*, *Listeria*, *Toxoplasma*, *Leishmania* и др.), так и внеклеточные (*Staphylococcus*, *E. coli* и др.) патогены, а также такие вещества микробного происхождения, как CpG, двухцепочечная РНК. Мощным индуктором синтеза IL-12 является ЛПС. Продукция IL-12 МФ существенно увеличивается после их контакта с активированными Т-клетками. Как уже отмечалось, IFN γ , синтезируемый Т-клетками, усиливает синтез МФ IL-12, а IL-12, в свою очередь, — синтез IFN γ . Важную роль в усилении продукции IL-12 играет межклеточное взаимодействие между АПК и Т-клетками, осуществляемое с помощью молекул CD40–CD154, CD80/86–CD28 и B7h-ICOS. Синтез IL-12, индуцированный взаимодействием CD40–CD154, существенно усиливается под влиянием IL-1.

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

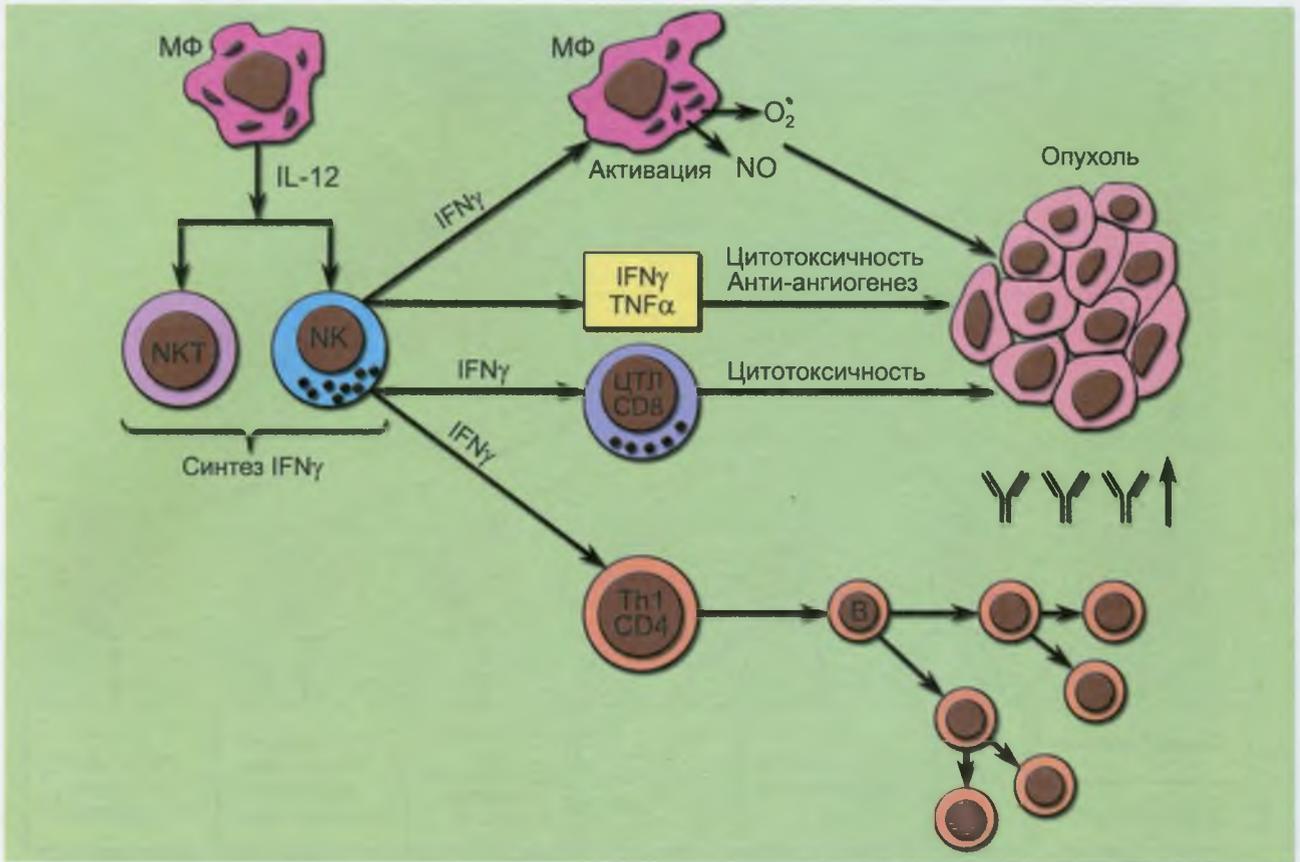


Рис. 124. Противоопухолевая активность IL-12

Противоопухолевая активность IL-12 связана с активацией практически всех звеньев иммунного ответа, что показано на предыдущих рисунках. IL-12, синтезируемый МФ, индуцирует образование NKT- и NK-клетками IFN γ и TNF α , оказывающих прямой цитотоксический эффект на опухолевые клетки. IL-12 опосредованно через IFN γ стимулирует АГ-специфическую и АГ-неспецифическую цито-

токсичность CD8⁺ Т-клеток и МФ соответственно. Цитотоксичность МФ зависит от образования ими оксида азота. Определённую защитную роль могут играть и антитела, синтезирующиеся в результате активации функций В-клеток CD4⁺ Т-хелперами. Как известно, антитела могут осуществлять антителозависимую клеточную цитотоксичность, приводящую к разрушению опухоли.

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

Ингибиторы синтеза IL-12

При активации синтеза IL-12 происходит избыточное образование цепи р40, в несколько раз превышающее синтез самого интерлейкина. Цепи обладают способностью образовывать гетеродимеры, р40-р40. Эти гетеродимеры являются мощными ингибиторами IL-12. Связываясь с IL-12R, они подавляют эффект IL-12 на клетки иммунной системы, ингибируя тем самым развитие Th1-ответа. Рассматривается возможность применения гомодимеров для лечения септического шока, в развитии которого IL-12 играет важную роль. Ингибиторами синтеза IL-12 являются все цитокины, синтезируемые Th2-клетками: IL-4, IL-13, IL-10, а также PGE2 и ингибитор фосфодиэстеразы пентоксифиллин. Мощным ингибитором IL-12 является TGF β 2, что делает возможным его применение для лечения аутоиммунных и воспалительных заболеваний.

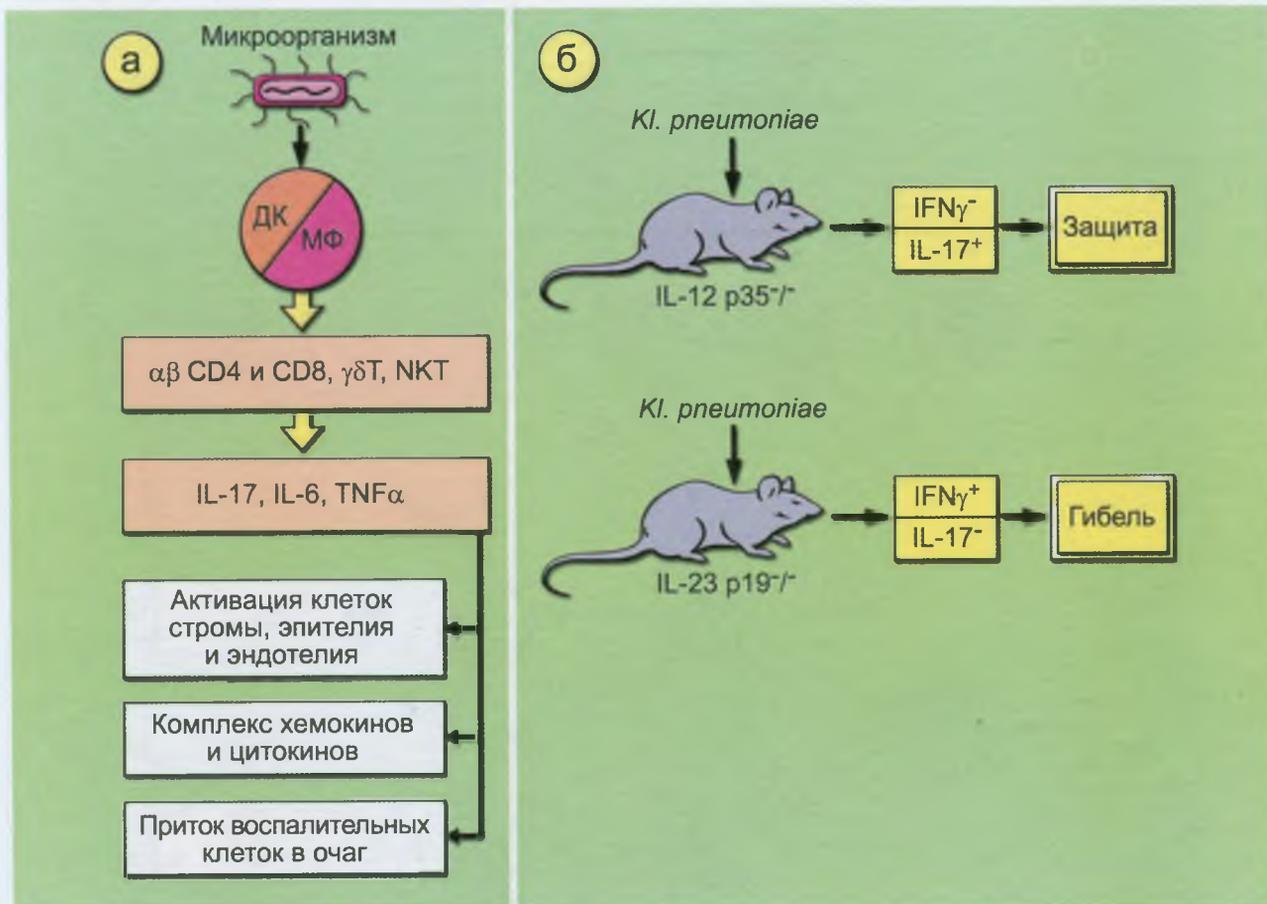


Рис. 125. Свойства IL-23

а. В месте входных ворот под влиянием микроорганизма или его компонентов ДК и МФ синтезируют IL-23. Этот цитокин индуцирует у регионарных Т-клеток ($\alpha\beta$ и $\gamma\delta$) и NKT-клеток синтез уникального набора цитокинов: IL-17, IL-6 и TNF α . В семью IL-17 входят цитокины IL-17A, -B, -C, -D, -F. IL-17A и IL-17F синтезируются преимущественно субпопуляцией CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток. Главной мишенью IL-17 являются клетки стромы, эпителия и эндотелия, которые, в свою очередь, под влиянием этого цитокина синтезируют комплекс хемокинов (CXCL6, CXCL7, CXCL8 и др.) и провоспалительных цитокинов (TNF, IL-6, IL-17E, M- и G-CSF). Таким образом, IL-23/IL-17-взаимодействие играет существенную роль в защите организма от инфекции в раннем индукционном ответе, а также в случае местного повреждения органов и тканей при избыточной миграции нейтрофилов и, соответственно, чрезмерном синтезе провоспалительных цитокинов.

б. В противоположность комплексам IL-12/IFN γ и IL-12/IL-23, взаимодействие IL-23/IL-17 играет относительно ограниченную роль в защите экспериментальных животных от конкретных инфекций: наиболее выражена на модели клебсиеллёзной инфекции у мышей. Мыши, дефектные по субъединице p35 (IL-12p35^{-/-}) не синтезируют IFN γ , но образуют большие количества IL-17. При заражении летальной дозой *Kl. pneumoniae* мыши IL-12p35^{-/-} показывают высокий уровень устойчивости к этой инфекции. Мыши, дефектные по субъединице p19 (IL-23p19^{-/-}), обладают способностью создавать в больших количествах IFN γ , но не синтезируют IL-17. Такие мыши погибают при заражении их летальной дозой *Kl. pneumoniae*.

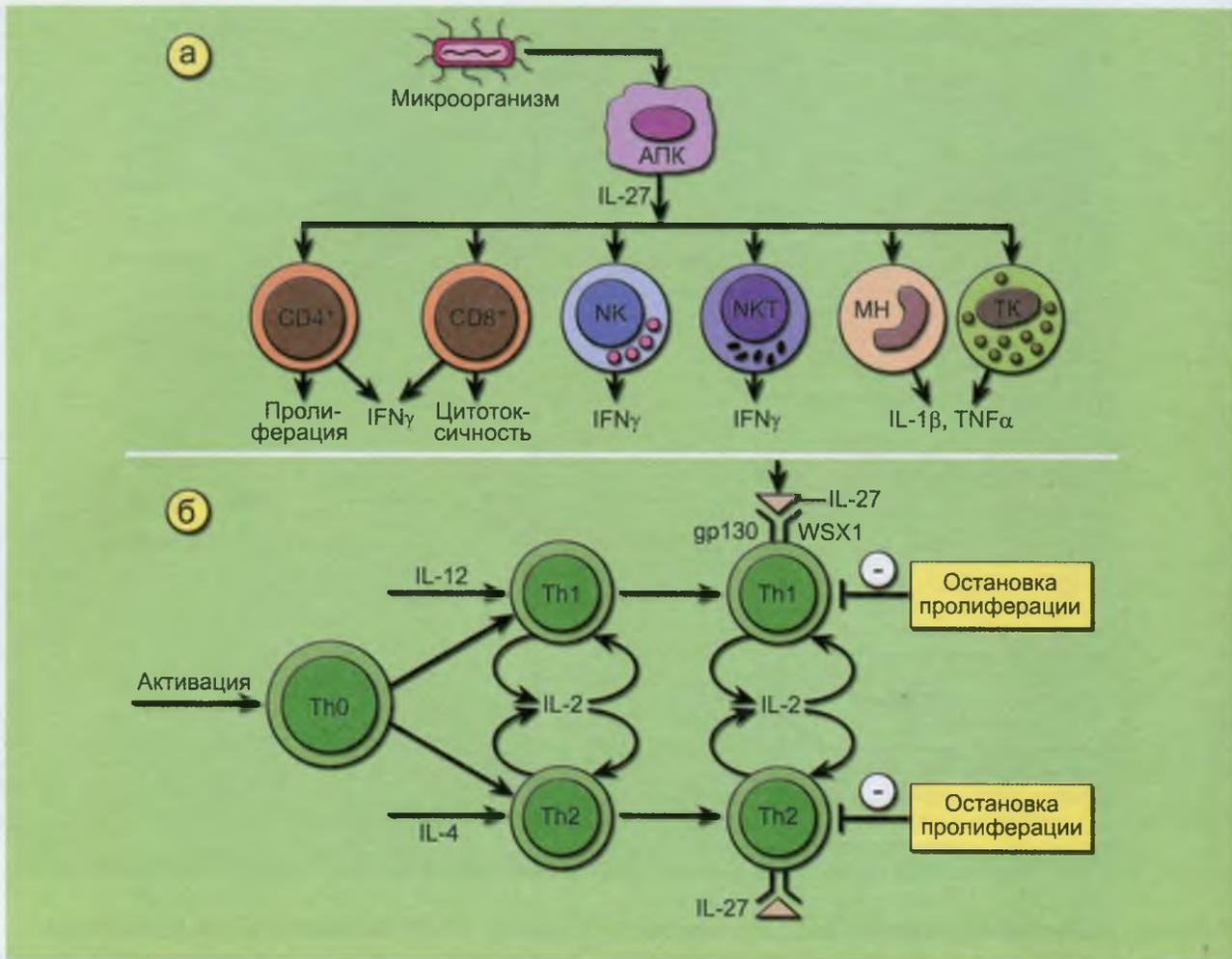


Рис. 126. Свойства провоспалительного цитокина IL-27

а. Синтез IL-27 преимущественно осуществляется АПК под влиянием ряда внутриклеточных возбудителей. Эффект IL-27 распространяется на клетки как врождённого, так и адаптивного иммунитета. Подобно IL-12 и IL-23, IL-27 индуцирует синтез IFN γ NK-, NKT-, CD4 $^{+}$ и CD8 $^{+}$ Т-клетками. Трансгенная сверхэкспрессия IL-27 при вирусном гепатите или аденокарциноме печени приводит к повышенной продукции IFN γ , избыточной АГ-специфической цитотоксичности CD8 $^{+}$ Т-клеток, разрушению опухолевых или вирусинфицированных клеток. Особенностью IL-27 является индукция синтеза МН и ТК IL-1 β и TNF α . Вследствие этого IL-27 участвует в развитии аутоиммунных заболеваний: коллаген-индуцированного артрита у крыс и экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита.

б. IL-27 обладает противовоспалительными свойствами. На рисунке представлена гипотеза С.А. Hunter (2005), объясняющая способность IL-27 подавлять как Th1-, так и Th2-ответ. Эта особенность связана с его антагонистическими взаимоотношениями с IL-2. При активации, ведущей к развитию Th1- или Th2-клеток, эти клетки начинают синтезировать большие количества IL-2, усиливающего их пролиферацию. Одновременно происходит экспрессия на Т-клетках WSX1-цепи, образование рецептора IL-27, и клетка становится чувствительной к IL-27. Последний подавляет эффект IL-2 и тем самым блокирует пролиферацию соответствующего клона клеток. Ингибирующий эффект будет больше проявляться в отношении тех клеток, которые раньше начнут экспрессировать рецептор IL-27.

5.5. ХЕМОКИНЫ

Класс	Хемокин	Продуцент	Рецептор	Привлекаемая клетка	Эффект
CXС(ELR ⁺)	CXCL1(Gro α)	Моноциты, фибробласты, эндотелий	CXCR2	Нейтрофилы, наивные Т-клетки, фибробласты	Активация нейтрофилов. Фиброплазия. Ангиогенез
	CXCL2(Gro β)				
	CXCL3(Gro γ)				
	CXCL5(ENA-78)	Моноциты/макрофаги	CXCR1, -2	Нейтрофилы	Активация нейтрофилов
	CXCL6(GCP-2)	Нейтрофилы	CXCR1, -2	Нейтрофилы	
	CXCL7(NAP-2)	Тромбоциты	CXCR2	Нейтрофилы	Активация нейтрофилов. Рассасывание тромба. Ангиогенез
CXCL8(IL-8)	Нейтрофилы, моноциты/макрофаги, фибробласты, кератиноциты, эндотелиоциты	CXCR1, -2	Нейтрофилы, наивные Т-клетки	Мобилизация нейтрофилов, активация и дегрануляция нейтрофилов, ангиогенез	
CXС(ELR ⁻)	CXCL9(Mig)	Моноциты, нейтрофилы, кератиноциты, фибробласты, эндотелиоциты	CXCR3	Моноциты, NK-клетки, Th1-клетки	Иммуностимулирующий. Ангиогенез. Привлечение Th1-клеток
	CXCL10(IP-10)				
	CXCL11(i-TAC)				
	CXCL12(SDF-1)	Стромальные клетки	CXCR4	Наивные Т-клетки, (CD34 ⁺)В-клетки, нейтрофилы, дендритные клетки	Хоуминг лимфоцитов, созревание нейтрофилов, развитие В-клеток
	CXCL13(BLC)	Стромальные клетки	CXCR5	Наивные В-клетки	Хоуминг В-лимфоцитов
CC	CCL2(MCP-1)	Моноциты, макрофаги, фибробласты, кератиноциты	CCR2	Моноциты, NK- и Т-клетки, базофилы, незрелые дендритные клетки	Активация макрофагов, стимуляция Th2-клеток, освобождение гистамина
	CCL3(MIP-1 α)	Моноциты, Т-клетки, тучные клетки, фибробласты	CCR1, -3, -5	- " -	Стимуляция Th1-клеток, антивирусная защита, конкуренция с HIV-1
	CCL4(MIP-1 β)	Моноциты/макрофаги, нейтрофилы, эндотелий	CCR5	- " -	Конкуренция с HIV-1
	CCL5(Rantes)	Т-клетки, эндотелий, тромбоциты	- " -	+ эозинофилы	Дегрануляция базофилов, активация Т-клеток, хроническое воспаление
	CCL11(Eotaxin)	Эндотелий, эпителий, моноциты, Т-клетки	CCR3	Эозинофилы, моноциты, Т-клетки	Аллергизация
	CCL18(DC-CK)	Дендритные клетки	CCR3	Наивные Т-клетки	Активация Т-клеток
	CCL19(MIP-3 β)	Клетки стромы лимфатических узлов, высокоэндотелиальные венулы	CCR7	Зрелые дендритные клетки, наивные Т-клетки, активированные В-клетки	Миграция дендритных клеток в регионарный лимфоузел. Хоуминг лимфоцитов
	CCL20(MIP-3 α)		CCR6	Т-клетки памяти, активированные В-клетки, клетки Лангерганса	
	CCL21(6Ckine/SLC)		CCR7	Зрелые дендритные клетки, наивные Т-клетки, В-клетки	
C	XCL1(лимфотактин)	Т-клетки	XCR1	Тимоциты, дендритные клетки, NK-клетки	Миграция лимфоцитов, созревание лимфоцитов
CX ₃ C	CX ₃ CL1(фракталкин)	Микроглия, эндотелий, моноциты	CX ₃ CR1	Моноциты, Т-клетки	Адгезия лейкоцитов, воспаление мозга

Рис. 127. Основные хемокины и их рецепторы

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

Хемокины — это низкомолекулярные цитокины, состоящие из 66–76 аминокислотных остатков, ответственных за направленное движение лейкоцитов. По расположению цистеина (С) в N-конце молекулы хемокины делят на CXC (содержат одну аминокислоту между двумя остатками цистеина), CC (содержат подряд два цистеина), C (содержат один остаток цистеина) и CX3C (содержат два цистеина, разделенных тремя аминокислотными остатками). В свою очередь CXC-хемокины делятся на ELR+ и ELR– — в зависимости от наличия мотива Glu-Leu-Arg на N-конце молекулы, перед первым остатком цистеина (Кетлинский С.А., Симбирцев А.С., 2008).

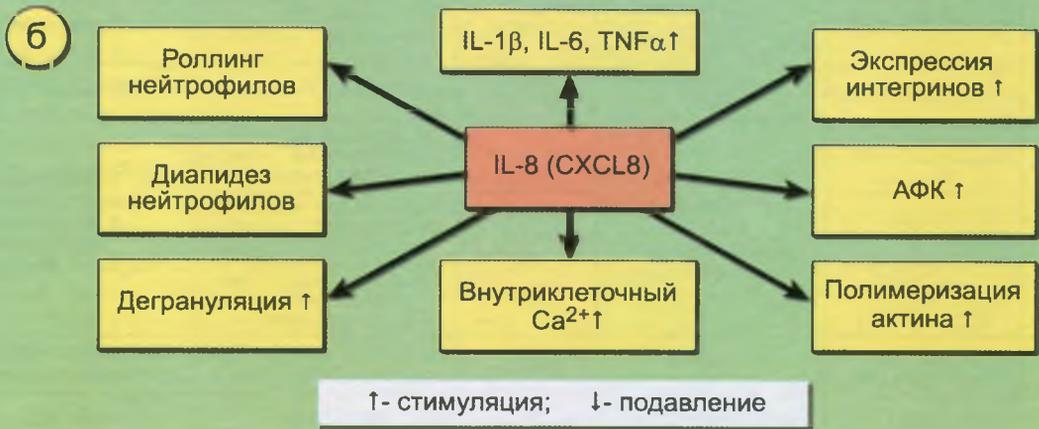
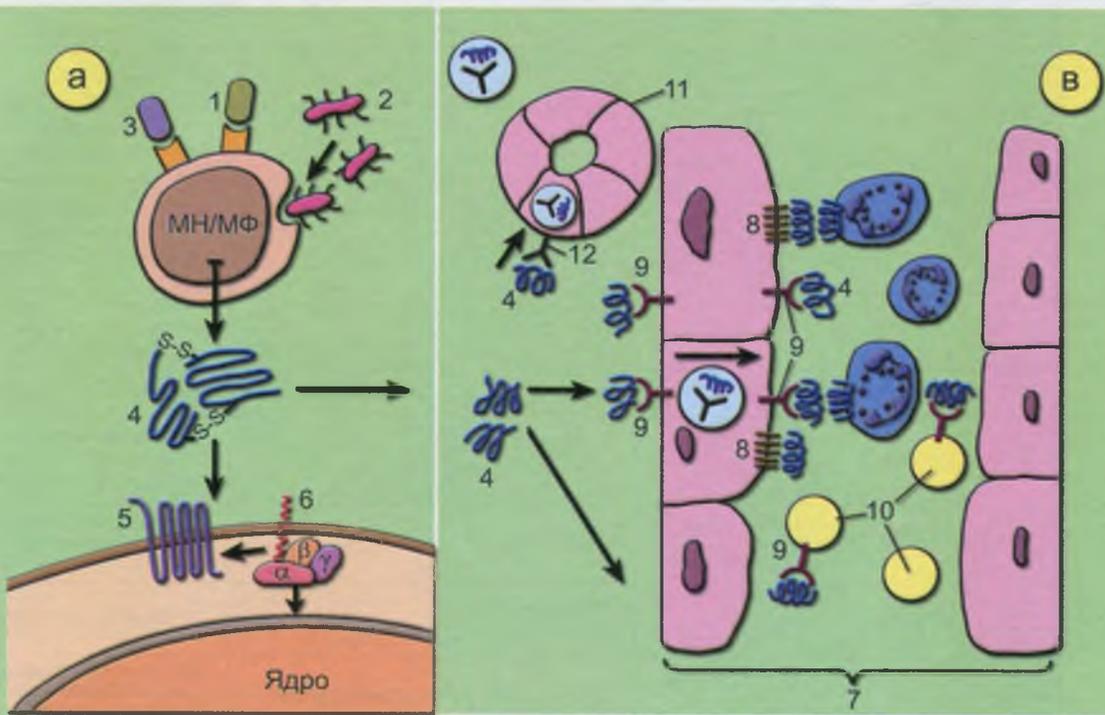


Рис. 128. IL-8 — основной хемоаттрактант для нейтрофилов

а. IL-8 (CXCL8) может синтезироваться практически всеми ядродержащими клетками человека и высших животных, но главными его продуцентами являются моноциты/макрофаги. Индукторами IL-8 служат провоспалительные цитокины — IL-1 и TNF (1), бактерии (2), PAMP (3). Этот интерлейкин синтезируется в виде предшественника из 77 аминокислотных последовательностей, который расщепляется до цепи из 72 остатков и спонтанно образует с помощью двух дисульфидных связей гомодимер (4). IL-8 высокоустойчив к протеолизу, температуре и кислой среде, что способствует его «работе» в воспалительном очаге. Для него характерно наличие аминокислотного мотива ELR (Glu-Leu-Arg), с помощью которого он связывается с рецептором CXCR1 (5), экспрессирующимся с высокой плотностью на НФ. Этот рецептор имеет змеевидную форму и 7 раз проходит через цитоплазматическую мембрану. Рядом с рецептором CXCR1 располагается G-белок, состоящий из трёх полипептидных субъединиц (6). При связывании IL-8 с рецептором CXCR1 происходят конформационные изменения в этом рецепторе, позволяющие ему связываться с G-белком. Белок G диссоциирует на α - и $\beta\gamma$ -субъединицы, которые, взаимодействуя с другими клеточными компонентами, передают сигнал в ядро клетки. Происходит активация нейтрофила.

б. Биологические эффекты IL-8.

в. Миграция нейтрофилов под влиянием IL-8.

Из воспалительного очага IL-8 (4) пассивно движется с током тканевой жидкости по направлению к кровеносному сосуду, что обеспечивается градиентом давления (от -6 до -8 мм рт.ст.) между периферической тканью и кровеносным сосудом (7). Далее главным является вопрос, как создать в постоянно движущемся потоке крови концентрацию хемокина, достаточную для активации нейтрофила. Оказалось, что как CXС-, так и СС-хемокины концентрируются на верхушках микроворсинок эндотелиальных клеток, где они удерживаются с помощью гликозаминогликанов (8). Эти соединения в избытке присутствуют на поверхности эндотелия. Кроме глюкозаминогликанов, в транспорте хемокинов принимают участие интернализирующие рецепторы DARC (*Duffy antigen receptor for chemokines*), связывающиеся с CXС- и СС-хемокинами и переносящие их через эндотелиальный барьер (9). С помощью рецептора DARC IL-8 появляется на поверх-

ности эндотелия, вступает в контакт с нейтрофилом и активирует его. Важно отметить, что, в отличие от CXCR1, рецептор DARC не взаимодействует с G-белком и, следовательно, его контакт с хемокином не активирует клетку. Следующим важным вопросом является удаление избыточного количества IL-8. Этот хемокин, в отличие от других, может довольно длительно персистировать и вызывать избыточную активацию лейкоцитов. Имеются несколько способов его элиминации. На эритроцитах (10) экспрессируется рецептор DARC, с которым связывается IL-8. Такие эритроциты в дальнейшем удаляются МФ. На НФ и эндотелии лимфатических сосудов (11) экспрессируется хемокиновый рецептор D6 (12), распознающий IL-8. После присоединения комплекс D6+IL-8 интернализируется, поступает в эндосомы, где разрушается. У мышей D6^{-/-} развивается хронический воспалительный процесс с повышенным уровнем хемокинов в крови.

1.5.6. ФАКТОР НЕКРОЗА ОПУХОЛИ- α (TNF α)ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Способность микробов и их продуктов при ведении больных вызывать разрушение опухолей была известна с конца XIX в., когда американский врач W.B. Colley показал, что смесь фильтратов бульонных культур *Str. pyogenes* и *Serratia marcescens* (Colley's mixed toxins) вызывает разрушение некоторых опухолей. Интересно, что толчком к созданию этого «токсина» было наблюдение W.B. Colley за больным с распространённой саркомой лица, который перенёс тяжёлый постоперационный сепсис. После снижения температуры саркома исчезла, и, по наблюдению W.B. Colley, больной был жив после перенесённого сепсиса по крайней мере ещё 6 лет.

Хотя последующее применение токсина Colley далеко не всегда давало блестящие результаты, приведённое наблюдение взволновало умы врачей и явилось мощным толчком для исследовательских работ, особенно экспериментального характера. В 1944 г. M.J. Shearer, A. Perrault показали, что за регрессию опухолей у мышей отвечает бактериальный липополисахарид – ЛПС. В 1962 г. W.E. O'Malley et al. нашли, что введение мышам-опухоленосителям сыворотки нормальных мышей, получавших ЛПС, вызывает у них разрушение опухолей. Наибольший успех был достигнут в 1975 г. E.A. Carswell et al., которые описали фактор, синтезируемый клетками хозяина под влиянием ЛПС и не являющийся ЛПС, ответственный за разрушение опухоли. Фактор был назван *tumor necrotizing factor* — TNF, в дальнейшем — TNF α . Установлено, что его основными продуцентами являются МФ. Этапы опыта E.A. Carswell et al. представлены на рис. 129.

В 1985 г. был клонирован ген, ответственный за синтез TNF, получен белок и изучены его биологические свойства. В 1988 г. B. Beutler и A. Cerami нашли, что состояние кахексии, наблюдаемое при ряде хронических инфекционных процессов, в частности при трипаносомозе, зависит от сывороточного фактора, названного кахектином. Была установлена идентичность кахектина и TNF. В 1968 г. G.A. Granger и W.P. Kolb обнаружили синтезируемый Т-клетками белок, обладающий токсичностью по отношению к опухолевым клеткам. Он получил название лимфотоксина (LT). Через 18 лет LT был получен в чистом виде, установлены его структурное и функциональное родство с TNF и способность этих факторов (цитокинов) связываться с одним и тем же рецептором.

Открытие этих двух цитокинов было началом создания целого суперсемейства TNF, которое в настоящее время состоит из 19 лигандов, родственных TNF, и 20 рецепторов.

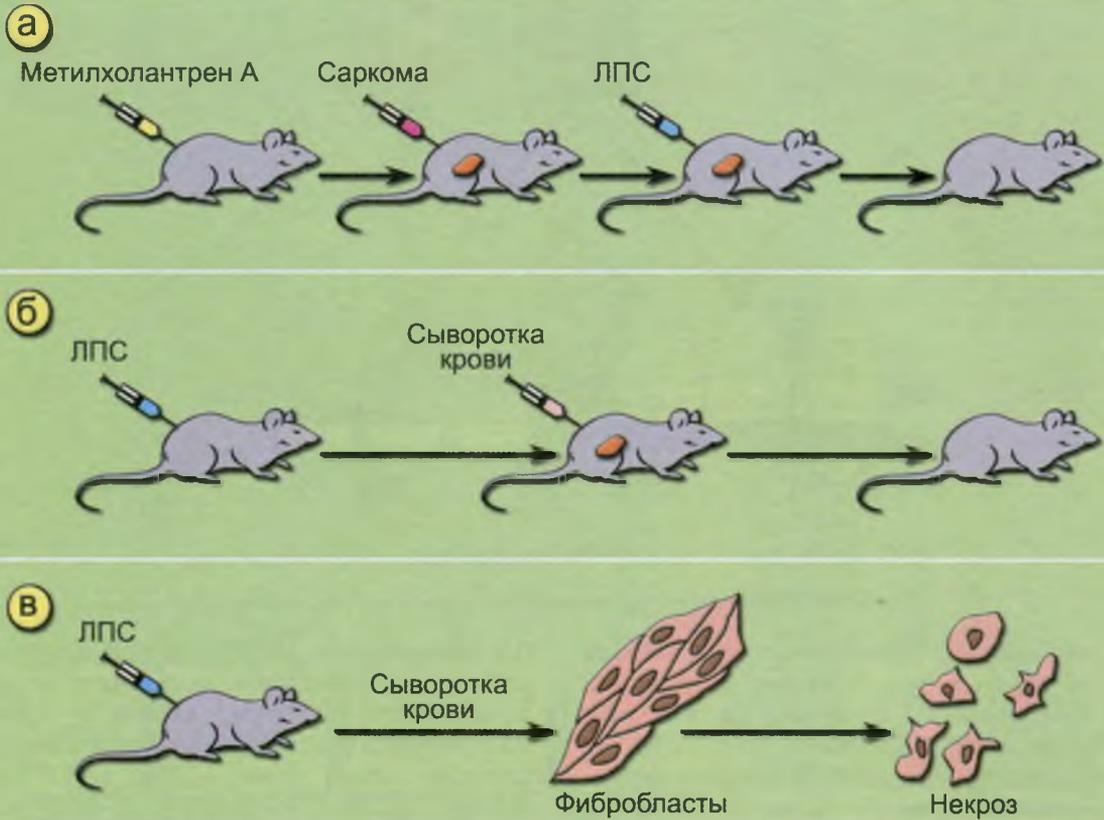


Рис. 129. Основные этапы открытия TNF

а. У мышей с помощью канцерогена метилхолантрена А была индуцирована саркома. Введение таким мышам ЛПС энтеробактерий вызвало геморрагический некроз опухоли.

б. Мышам, сенсibilизированным БЦЖ (на рис. не показано), вводили ЛПС энтеробактерий и получали от них сыворотку крови. Введение этой сыворотки мышам с метилхолантреновой опухолью вызвало разрушение опухоли. Установлено, что цитотоксический эффект сыворотки не связан с остатками ЛПС в сыворотке мышей-доноров, а связан с появлением в сыворотке этих мышей нового белка, названного фактором некроза опухолей. Для сенсibilизации мышей вместо БЦЖ можно использовать коринебактерии или зимозан, вызывающие гиперплазию ретикуло-эндотелиальной системы.

в. Сыворотка крови мышей, получивших ЛПС, вызывает гибель культуры фибробластов. В течение длительного времени до создания иммуноферментных систем цитотоксический тест на фибробластах использовался для оценки активности TNF.

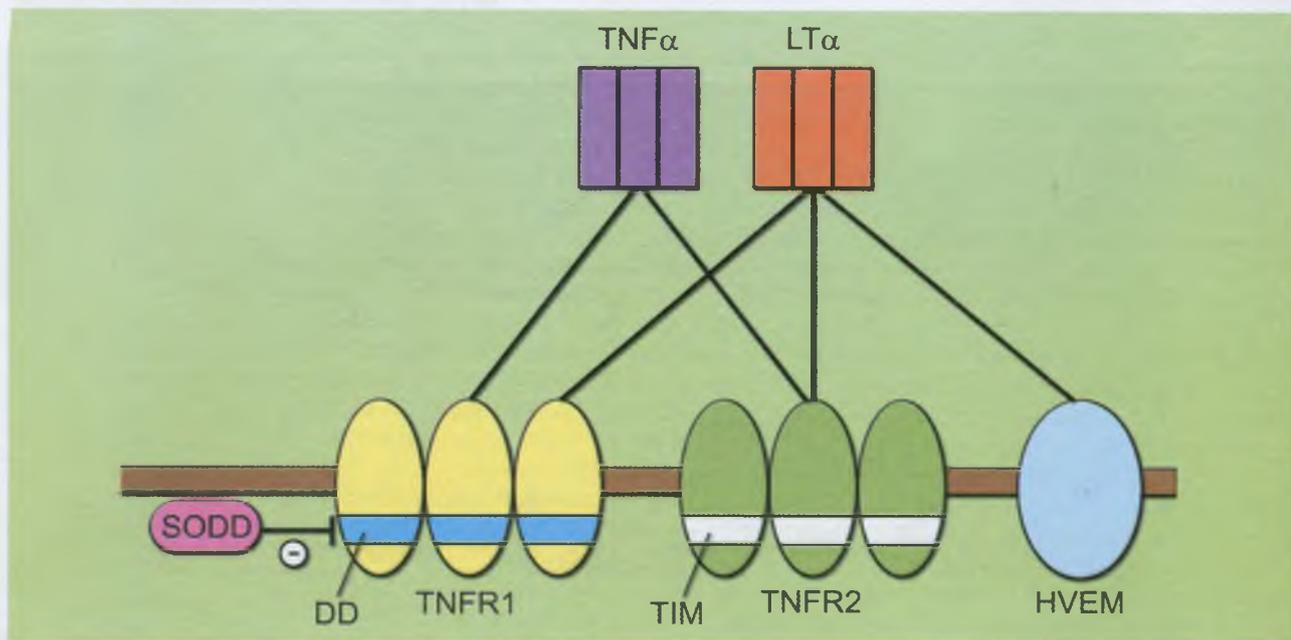


Рис. 130. TNF и его рецепторы

В суперсемье TNF входит 20 членов, имеющих 20% гомологию по аминокислотному составу. Для молекул этого семейства характерна гомо- или гетеротримерная структура. Главной биологической функцией членов суперсемьи TNF является индукция воспаления и апоптоза. В настоящее время TNF подразделяют на TNF α и лимфотоксина (LT α). Из всего семейства только TNF α и LT α являются секретлируемыми молекулами, остальные члены являются рецепторами клеточной мембраны. Главным провоспалительным цитокином является TNF α , имеющий гомотримерную структуру с молекулярной массой субъединицы 17 kDa, состоящей из 157 аминокислотных остатков. В клетке TNF сначала синтезируется в виде предшественника с молекулярной массой 26 kDa, связанного с мембраной (про-TNF). С помощью специального фермента про-TNF отщепляется от мембраны и поступает в кровяное русло. LT α может секретироваться как гомотример, но чаще он остается на поверхности клетки в ассоциации с третьим членом суперсемьи TNF — мембраноассоциированным лимфотоксином- β (LT β), образуя гетеротример.

Члены суперсемьи TNF осуществляют передачу сигнала внутрь клетки с помощью 30 рецепторов (на рис. представлены не все). Эти рецепторы можно разделить на три группы. Первая группа содержит в цитоплазматической части домен «смерти» —

DD (*death domain*). Именно поэтому сигналы, идущие от этих рецепторов, могут вести не только к активации клетки, но и к её гибели — апоптозу. Вторая группа рецепторов содержит в цитоплазматической части домен TIM (*TRAF-interacting domain*), взаимодействующий с членами семьи TRAF (*TNF receptor-associated factor*), и способствует активации клетки. Третья группа рецепторов не передаёт сигнал внутрь клетки, но конкурирует за лиганд с другими рецепторами.

TNF α взаимодействует и передаёт сигнал через два рецептора: TNFR1 и TNFR2. TNFR1, или TNFRp55/60, имеет молекулярную массу 60 kDa и экспрессируется на всех типах клеток. TNFR2, или TNFRp75/80, имеет молекулярную массу 80 kDa и экспрессируется только на клетках иммунной системы и эндотелии. LT α взаимодействует с TNFR1, TNFR2 и рецептором-ловушкой HVEM (*herpes virus entry mediator*). TNFR1 содержит домен DD, TNFR2 — домен TIM. Внутриклеточная часть TNFR богата лейцином и содержит три дисульфидные связи. При связывании с лигандом рецептор образует тример или даже олигомер, причём чем выше степень олигомеризации, тем сильнее сигнал. В покоещейся клетке рецептор блокирован ингибиторной молекулой SODD (*silencer of death domain*). Освобождение от этой молекулы происходит при образовании тримеров.

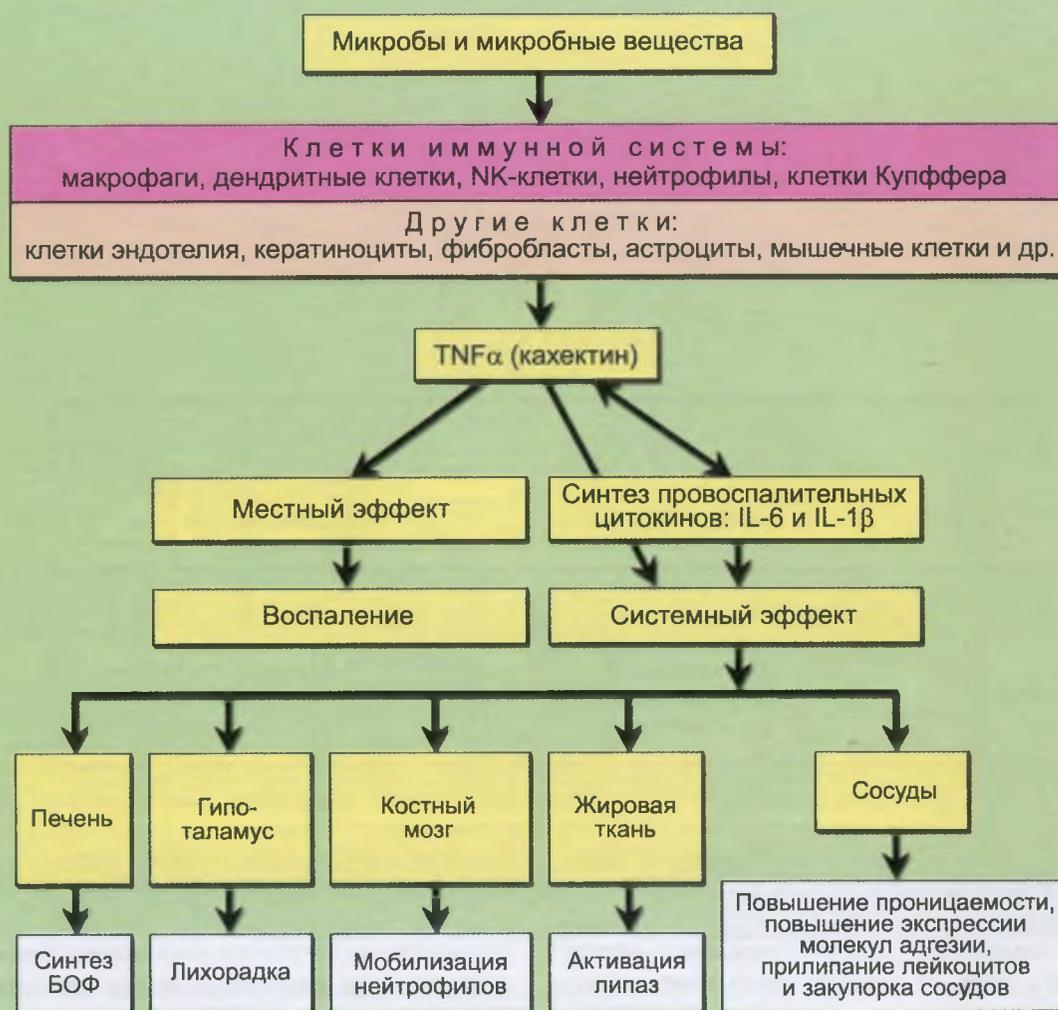


Рис. 131. Биологические эффекты $TNF\alpha$ на тканевом уровне в раннем индуцибельном периоде

Основными продуцентами $TNF\alpha$ являются клетки врождённого иммунитета: МФ, NK-клетки, ДК, а также клетки других систем. Есть данные о способности НФ продуцировать $TNF\alpha$. Основными индукторами $TNF\alpha$ являются микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности. Эффекты $TNF\alpha$ подразделяют на местные и системные. Местные эффекты $TNF\alpha$ развиваются в основном во входных воротах инфекции и заключаются в развитии воспаления с его классическими признака-

ми: отёк, болезненность, припухание, покраснение. Эти характеристики в основном связаны с повышением проницаемости сосудов под влиянием $TNF\alpha$ и направлены на локализацию патогена у входных ворот. Системные эффекты $TNF\alpha$ тесно переплетаются с эффектами двух других провоспалительных цитокинов: $IL-1\beta$ и $IL-6$. Эти эффекты связаны с воздействием этих цитокинов практически на все органы и ткани организма. Воздействие на печень ведёт к синтезу БОФ.

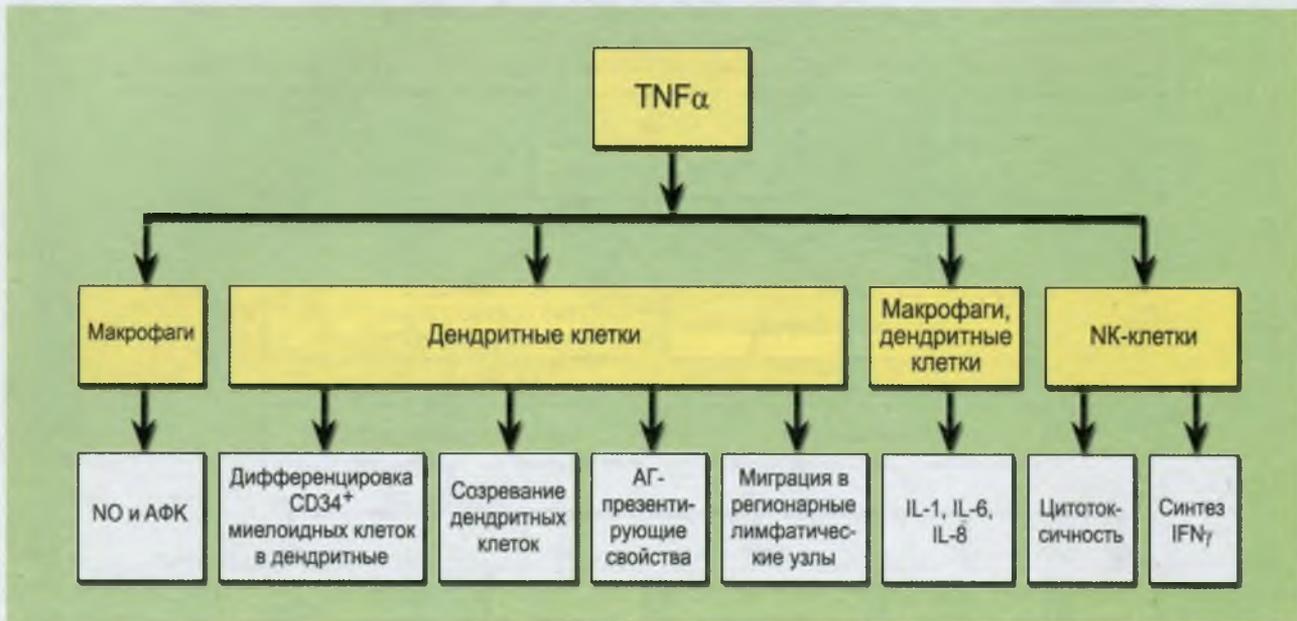


Рис. 132. Биологические эффекты $TNF\alpha$ на клеточном уровне в раннем индуцибельном периоде

$TNF\alpha$ индуцирует в МФ образование оксида азота (NO) и АФК, от которых зависит гибель внутриклеточных и внеклеточных возбудителей. $TNF\alpha$ способствует дифференцировке $CD34^+$ миелоидных клеток в незрелые ДК и созреванию последних в зрелые. $TNF\alpha$ усиливает экспрессию на ДК молекул HLA-DR, костимулирующих молекул, в результате чего повышаются антигенпрезентирующие свойства ДК и стимулируется развитие адаптивного иммунитета. $TNF\alpha$ активирует миграцию ДК из

воспалительного очага в регионарный лимфатический узел, что также способствует развитию адаптивного иммунитета. $TNF\alpha$ индуцирует синтез МФ и ДК провоспалительных цитокинов $IL-1\beta$, $IL-6$ и $IL-8$, обладающих способностью совместно с $TNF\alpha$ активировать клетки врождённого иммунитета. $TNF\alpha$ повышает цитотоксические свойства НК-клеток и продукцию ими $IFN\gamma$, который активирует многие клетки врождённого иммунитета и индуцирует дифференцировку Т-клеток по Th1-пути.

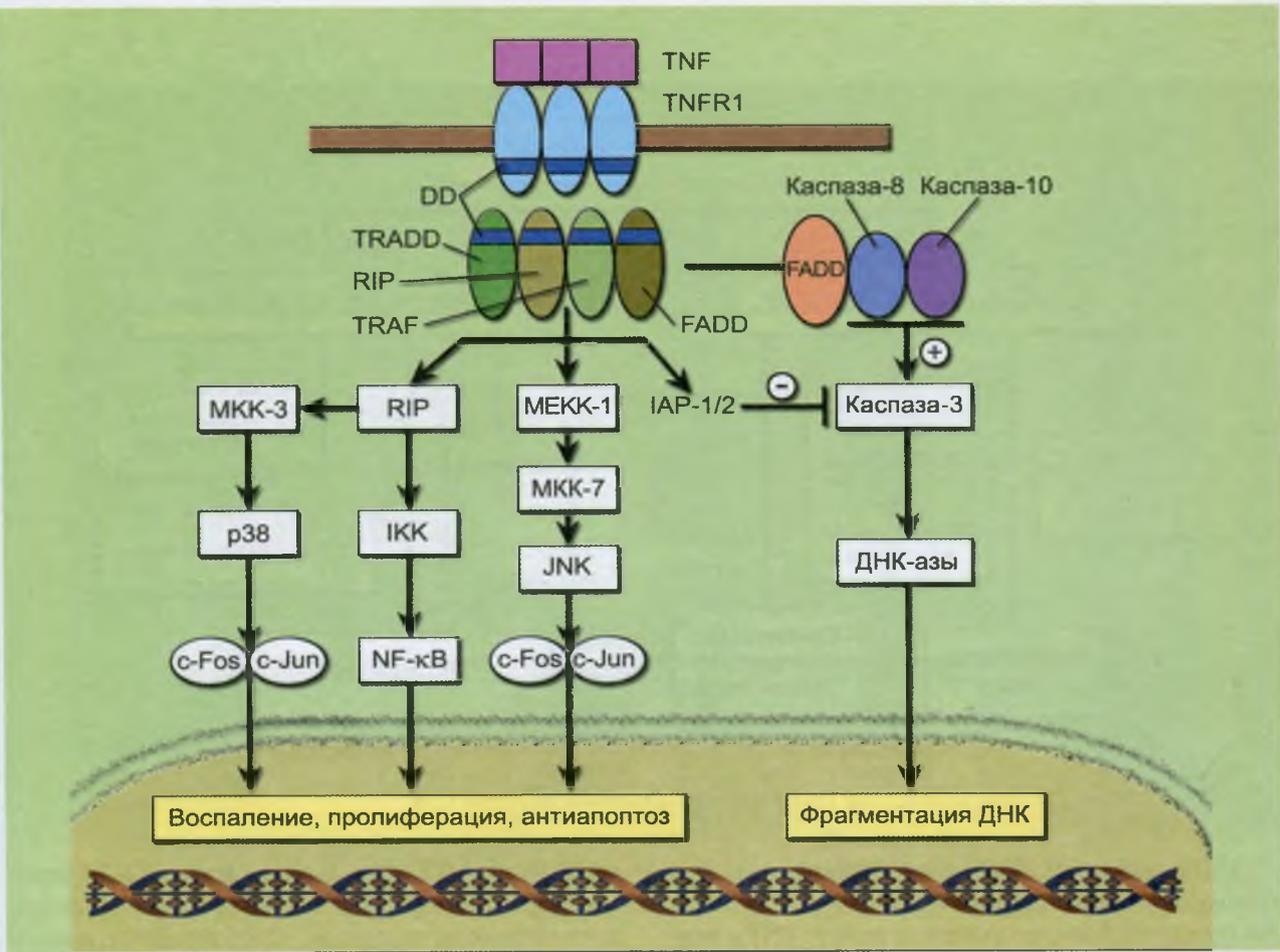


Рис. 133. Основные сигнальные пути рецептора TNF

Основной поток сигналов, идущий в клетку от $TNF\alpha$, осуществляется через TNFR1. Эти сигналы могут вести как к апоптозу, так и к активации клетки. При взаимодействии $TNF\alpha$ с рецептором происходит образование тримера и освобождение от ингибиторной молекулы SODD. На цитоплазматической части рецептора формируется мультимолекулярный комплекс. Первым с помощью гомофильного взаимодействия с DD-доменом рецептора реагирует белок TRADD (*TNF receptor-associated death domain*). Белок TRADD вовлекает во взаимодействие с рецептором адапторные белки RIP (*receptor interacting protein*), TRAF (*TNF receptor-associated factor*) и FADD (*Fas-associated death domain*), содержащие DD-домены. В этом процессе участвуют также другие адапторы и ферменты. Белок FADD использует каспазы 8 и 10, которые

инициируют протеазный каскад, ведущий к апоптозу — фрагментации ДНК. При другом пути развития событий TRAF активирует синтез ингибитора апоптотических протеаз IAP-1/2 (*inhibitor of apoptosis protein*), который препятствует развитию апоптоза. Происходит фосфорилирование транскрипционных факторов c-Fos и c-Jun путем активации киназ MAPK (*mitogen-activated protein kinase*): JNK (*JUN-N-terminal kinase*), p38 и ERK (*extracellular response kinase*). TRAF играет решающую роль в активации транскрипционного фактора NF-κB путем активации комплекса IKK (IκB kinase), который благодаря фосфорилированию ингибитора IκB освобождает от него NF-κB. Следствием этого является активация клетки, которая может носить как физиологический, так и патологический характер.

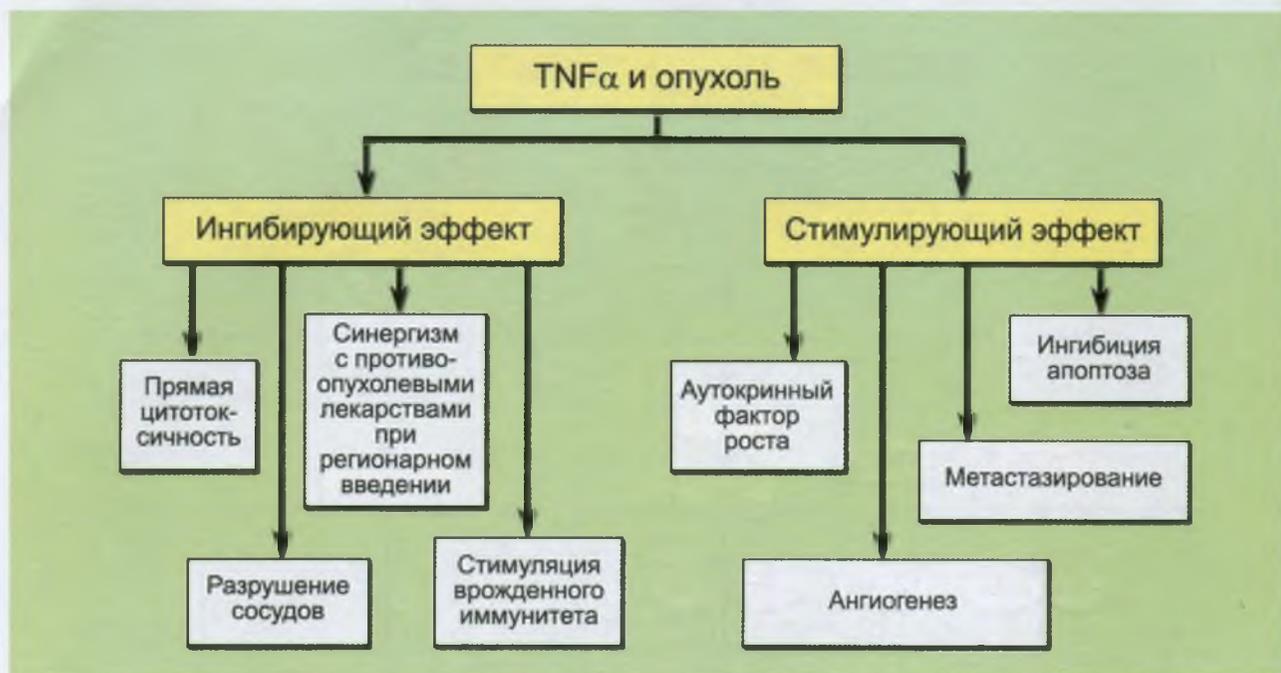


Рис. 134. Взаимодействие TNFα и злокачественной опухоли

TNFα может оказывать как ингибирующий, так и стимулирующий эффект на развитие опухоли. На некоторые опухоли, но далеко не на все, TNFα оказывает антипролиферативное и цитотоксическое действие. В малых дозах TNFα стимулирует ангиогенез, в высоких — вызывает разрушение крупных сосудов, нарушая питание опухоли. TNFα повышает эффективность обычных противоопухолевых средств. Ишемическое разрушение опухоли TNFα может эффективно дополняться цитотоксическим эффектом цисплатина, циклофосамида и др. К указанным эффектам добавляется стимуляция TNFα врождённого иммунитета: повышение цитотоксичности NK-клеток и МФ, повышение продукции цитокинов, экспрессии костимулирующих

молекул на АПК и др. В то же время TNFα может способствовать росту у человека и животных опухоли яичников, пищевода, толстой кишки, мочевого пузыря, меланомы и др. TNFα может действовать как аутокринный фактор роста, способствуя выживанию клетки путём активации ферментов MAPK-пути и транскрипционного фактора NF-κB. Интересно отметить, что у мышей с нокаутом по TNFα частота злокачественных заболеваний значительно ниже, чем у нормальных мышей. Как уже отмечалось, TNFα может способствовать ангиогенезу опухоли, увеличению скорости её роста, процессу метастазирования опухоли. У мышей TNFα^{-/-} этот процесс выражен значительно слабее, чем у мышей TNFα^{+/+}.



Рис. 135. Роль TNF α в патологии (неопухолевой)

Повышенная продукция TNF α является причиной серьёзных патологических процессов. Грозным осложнением хирургических операций является септический шок, проявляющийся в гипотонии, ацидозе, геморрагическом некрозе ряда тканей, диссеминированном внутрисосудистом свёртывании. Избыточная продукция TNF α ведёт к развитию кахексии, слабости, анемии. Повышенные количества TNF α обнаружены при острых и хронических воспалительных процессах (травма, сепсис, инфекции и др.). Хронические воспалительные процессы, связанные с синтезом TNF α , а также IL-1 β и IL-8, лежат в основе таких заболеваний, как рассеянный склероз, сахарный диабет 2 типа, ревматоидный артрит, болезнь Крона и др. TNF α играет важную роль в развитии

атеросклероза, который в настоящее время рассматривают как хронический воспалительный процесс сосудов. TNF α активирует пролиферацию МФ интимы сосудов, что лежит в основе образования атеросклеротической бляшки, стимулирует матриксные металлопротеазы, повышает экспрессию молекул адгезии на эндотелии. При стрессе TNF α синтезируется в миокарде миоцитами и резидентными МФ. Полагают, что TNF α ответствен за манифестацию ряда сердечных заболеваний, включая инфаркт миокарда. Постоянно повышенная продукция TNF α , IL-6, IL-1 β наблюдается при старении, что ведёт к дисфункции иммунной системы, сопровождающейся повышенной инфекционной заболеваемостью, склонностью к развитию онкопатологии.

1.5.7. ИНТЕРФЕРОНЫ- α/β (IFN- α/β)

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Как факторы противовирусной защиты IFN были открыты в 1957 г. Jsaacs A. и Lindenmann J. Существуют интерфероны I и II типов. У человека тип I включает интерфероны α , β , κ , ω , ϵ и интерферонподобные цитокины IFN- λ 1 (IL-29), IFN- λ 2 (IL-28A) и IFN- λ 3 (IL-28B). Главная роль в защите организма от инфекции принадлежит IFN α (включает 13 членов) и IFN β (представлен одним членом). IFN α и IFN β состоят из одной α -спиральной цепи из 165 и 166 аминокислотных остатков соответственно. Гомология между цепями составляет около 70%. К интерферону типа II относится интерферон- γ .

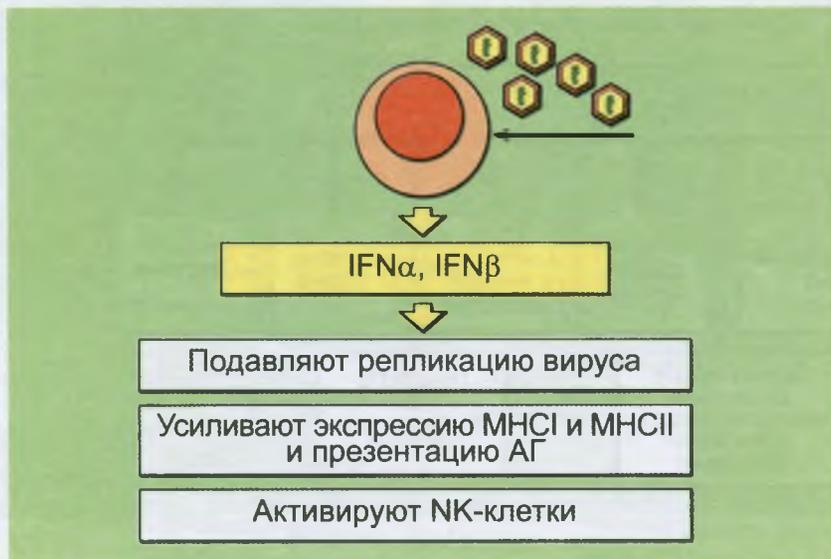


Рис. 136. Функции IFN α/β

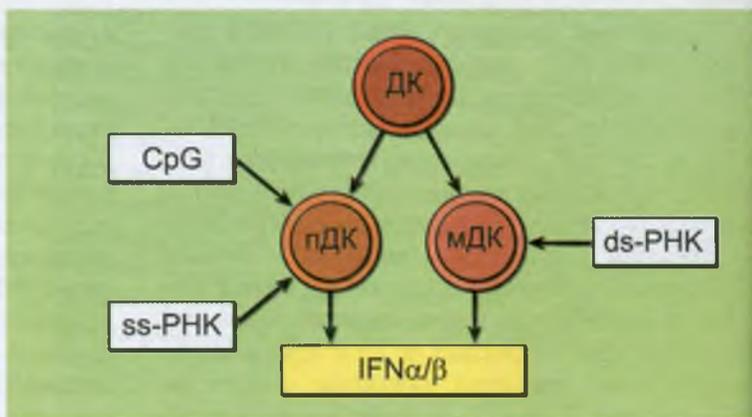


Рис. 137. Клетки-продуценты IFN α/β

Хотя практически все клетки, инфицированные вирусами или бактериями, могут синтезировать IFN α/β , наиболее мощными их продуцентами являются плазмацитоидные ДК (пДК), синтезирующие IFN α/β в 1000 раз больше, чем любой другой клеточный тип. В пДК синтез IFN α/β индуцирует-

ся вирусными одноцепочечными РНК (ss-РНК) а также бактериальными и вирусными неметилированными CpG-последовательностями. Миелоидные ДК (мДК) синтезируют IFN α/β под влияние двухцепочечной РНК (ds-РНК), но более слабее, чем пДК.

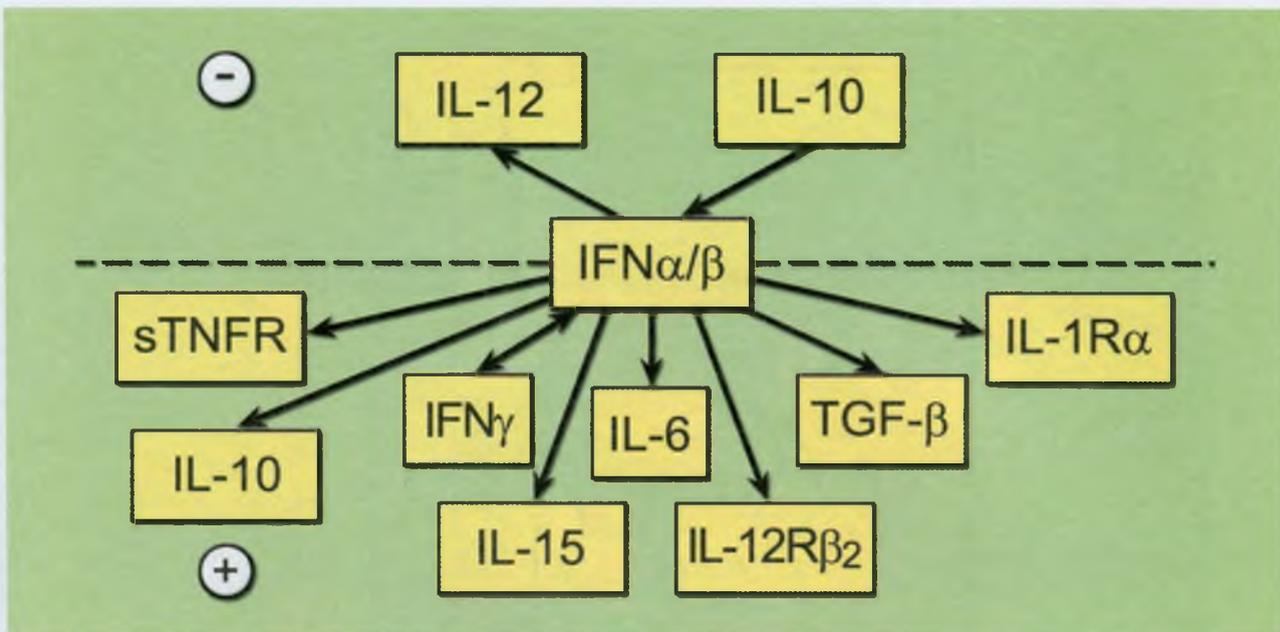


Рис. 138. Взаимодействие IFN α/β с другими цитокинами и их рецепторами

Из схемы видно, что IFN α/β обладают способностью стимулировать как провоспалительные (IL-6 и IFN γ), так и противовоспалительные (IL-10, TGF β) цитокины и рецепторы. Очевидно, тот или иной эффект зависит от конкретной ситуации, складывающейся в данный момент, и прежде всего от уровня IFN α/β в организме. Так, IFN α/β и IFN γ реципрокно стимулируют друг друга. В невысоких концентрациях IFN α/β стимулируют экспрессию IL-12R β 2, способствуя этим Th1-поляризации. В невысоких

концентрациях IFN α/β стимулирует образование IL-12 и IL-18. В высоких концентрациях IFN α/β подавляют синтез IL-12, препятствуя Th1-поляризации. Своеобразные отношения складываются между IFN α/β и IL-10. Подавляя фосфорилирование STAT1, IL-10 понижает провоспалительные эффекты IFN α/β и IFN γ . В то же время примирование IFN α/β и IFN γ способствует проявлению провоспалительных функций IL-10, повышая транскрипционный эффект STAT1 на IFN γ -индуцибельные гены.

ЗАТЕКСТОВОЕ ПРИМЕЧАНИЕ

Свойства некоторых представителей семейства IFN типа I

IFN ω является мономерным гликопротеином, имеющим 60% идентичности с IFN α . Обладает сильным ингибиторным эффектом против ряда ДНК- и РНК-вирусов. Ингибирует пролиферацию опухолевых клеток. Является компонентом человеческого лейкоцитарного интерферона. IFN κ синтезируется в кератиноцитах и имеет 30% гомологии с IFN α . IFN λ является представителем особого подсемейства интерферонов и включает в себя три типа: IFN λ 1, IFN λ 2 и IFN λ 3. Эти интерфероны функционально сходны с IFN типа I и обладают сильной противовирусной активностью. Имеются данные, что они играют важную роль в защите дыхательных путей от респираторных вирусов. Идентичность по аминокислотному составу между IFN α и IFN λ составляет не более 20%. Между этими интерферонами имеются и структурные различия. IFN типа I кодируются одним экзоном. Ген IFN λ содержит множество экзонов. Интересно отметить, что IFN λ имеет эволюционную связь с IL-10.

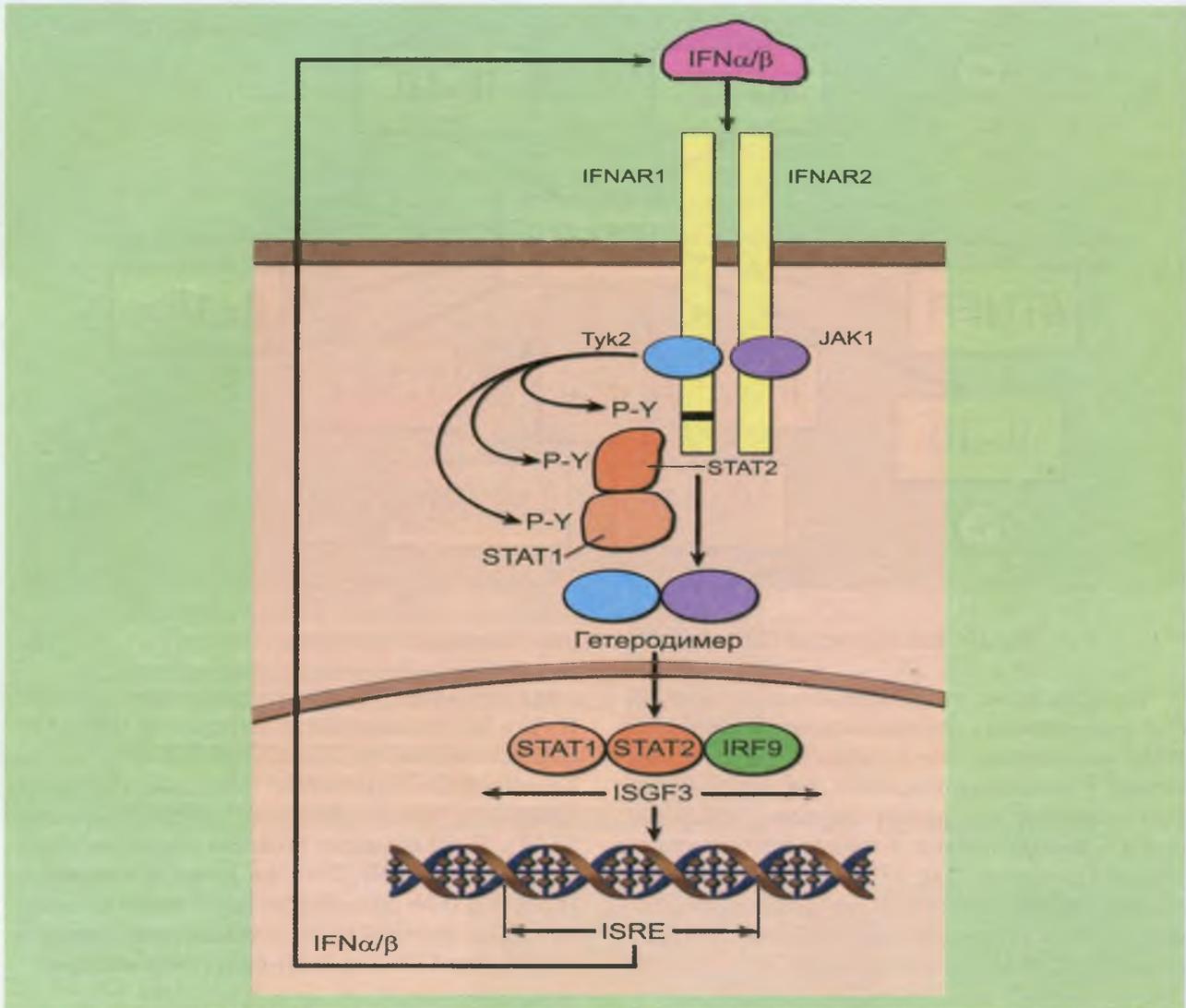


Рис. 139. Механизм активации клетки IFN α/β

Рецептор для IFN α/β состоит из двух цепей: IFNAR1 и IFNAR2, экспрессируемых практически на всех клетках. Их количество на клетку невелико (200–6000), но они характеризуются высокой аффинностью (константа диссоциации 10^{-9} – 10^{-11}). С рецепторами ассоциированы две Janus тирозинкиназы Tyk2 и Jak1, которые, соединяясь с рецептором IFN α/β , фосфорилируют друг друга и внутриклеточные участки рецептора.

В частности, Janus тирозинкиназы фосфорилируют внутриклеточный домен IFNAR1, создавая докинг-участок для «причаливания» транскрип-

ционного фактора STAT2. Janus тирозинкиназы фосфорилируют STAT2, в результате чего в рецепторный комплекс вовлекается и фосфорилируется другой транскрипционный фактор — STAT1. Образуется гетеродимер, который отделяется от рецептора, транслоцируется в ядро и соединяется с белком IRF-9 (*IFN regulatory factor*). Образуется гетеротример ISGF3 (*IFN-stimulated gene factor*), который связывается с регуляторными последовательностями IFN α/β -индуцибельных генов — ISRE и инициирует их транскрипцию; к таким генам относятся и сами гены IFN α/β .

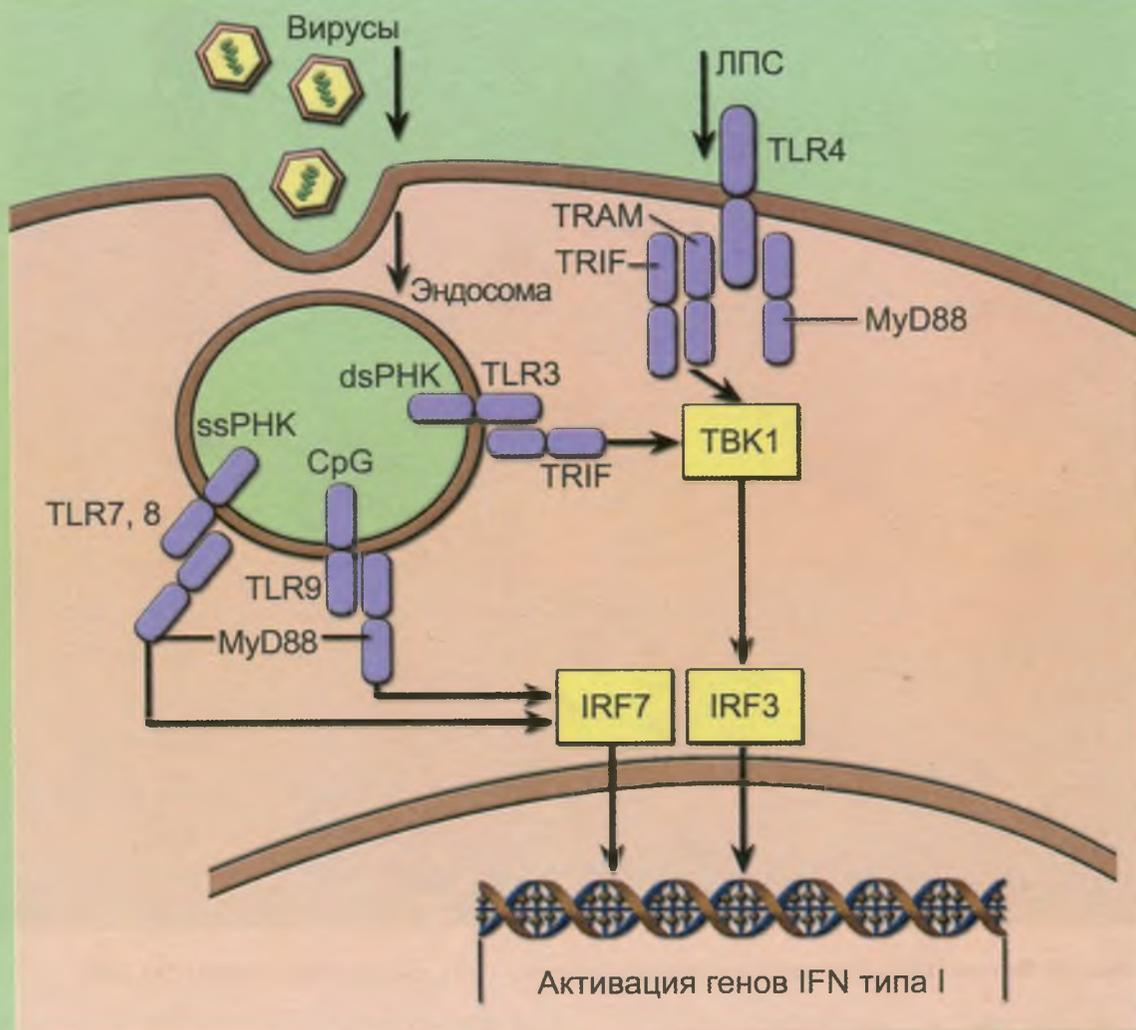


Рис. 140. Роль TLR в индукции IFN α/β

Индукция IFN α/β осуществляется при участии внеклеточного TLR4 и внутриклеточных TLR3, TLR7/TLR8 и TLR9. Лигандами для них являются соответственно ЛПС, ds-PHK, ss-PHK и CpG. TLR7, TLR8 и TLR9 передают сигнал через адапторный белок MyD88. TLR4 для передачи сигнала использует два пути: классический с участием адапторных белков MyD88 и TIRAP и альтернативный с участии-

ем адапторных белков TRIF и TRAM. Для передачи сигнала TLR3 использует MyD88-независимый путь, в котором участвует адапторный белок TRIF. Адаптор TRIF (один или в комбинации с адаптором TRAM) активирует киназу TBK1. Эта киназа фосфорилирует транскрипционный фактор IRF3, который транслоцируется в ядро и индуцирует транскрипцию генов, ответственных за синтез IFN α/β .

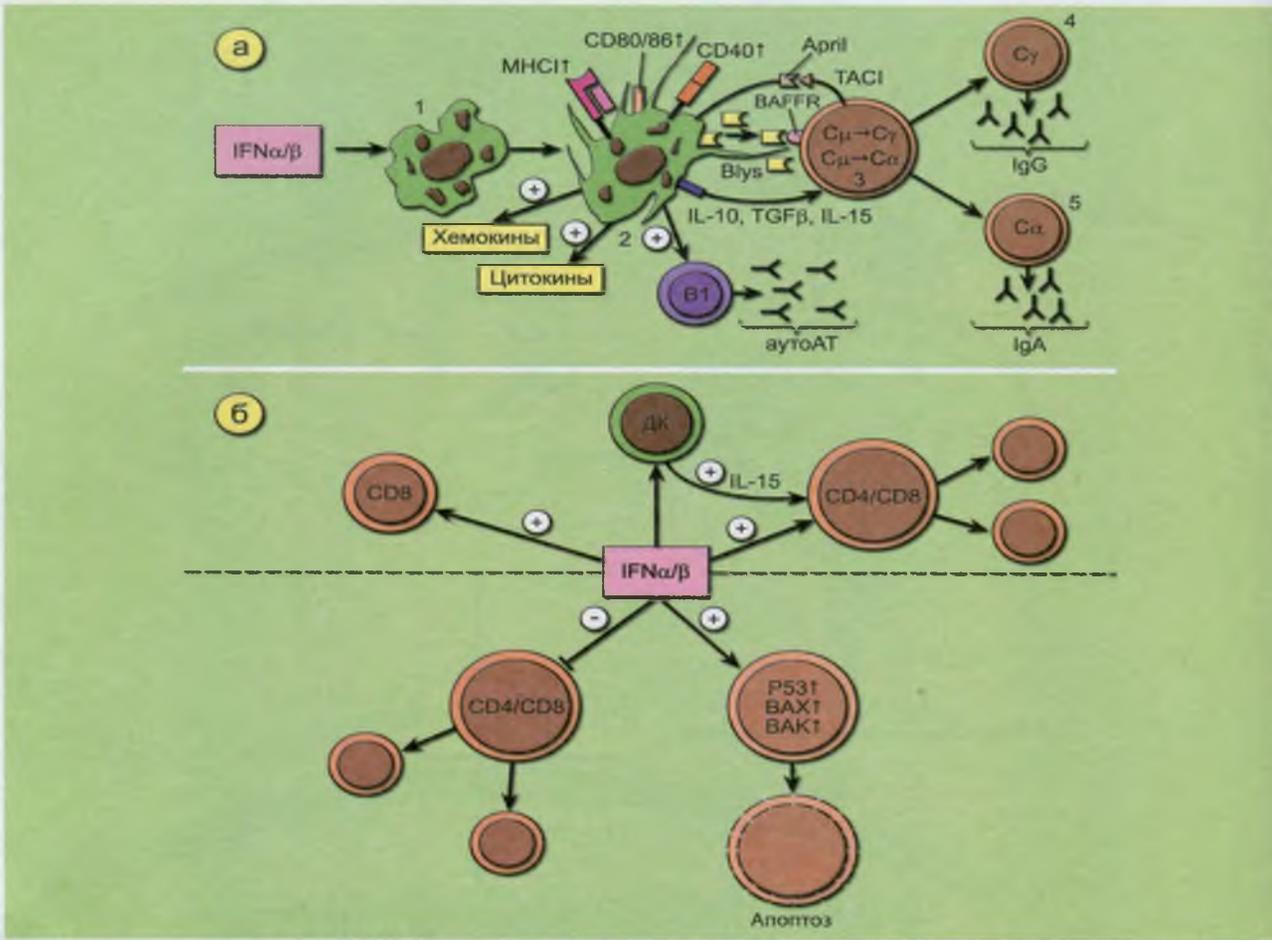


Рис. 141. Влияние IFNα/β на клетки иммунной системы

а. Влияние IFNα/β на ДК и В-лимфоциты.

IFNα/β вызывают превращение незрелых ДК (1) в зрелые (2). Это приводит к усилению ими синтеза цитокинов, хемокинов, экспрессии молекул МНС, особенно I класса, костимуляторных молекул, экспрессии и секреции главных факторов выживания и активации В2-клеток — Blys (BAFF) и APRIL. Эти лиганды, взаимодействуя с рецепторами В-клеток BAFFR и TAC1 соответственно, при участии цитокинов IL-10, TGFβ и IL-15, синтезируемых активированными ДК, вызывают у naïвных В-клеток (3) переключение иммуноглобулиновых генов Cμ-Cγ и Cμ-Cα и их созревание в IgG (4)- и IgA (5)-плазмабласты. Этот процесс может происходить независимо от взаимодействия CD40-CD40L, и его избыточная активация является одной из причин развития аутоиммунных заболеваний. IFNα/β вызывают активацию МФ с теми же последствиями, что и для ДК (на рис. не показано). IFNα/β являются необходимыми цитокинами для созревания и пролиферации В1-клеток — главных продуцентов естественных аутоантител в организме.

б. Влияние IFNα/β на Т-клетки.

IFNα/β способствуют выживанию и пролиферации CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток. У мышей IFNARI^{-/-} пролиферация Т-клеток отсутствует. IFNα/β усиливают цитотоксические свойства CD8⁺ Т-клеток, а также МФ и NK-клеток (на рис. не показано). Вместе с тем IFNα/β обладают мощным антипролиферативным и проапоптотическим эффектом, усиливая экспрессию проапоптотических молекул. Наличие одновременно пролиферативных и антипролиферативных свойств связано, вероятно, с включением на различных этапах инфекционного процесса или адаптивного иммунного ответа различных регуляторных механизмов, определяющих чувствительность клетки к действию IFNα/β.

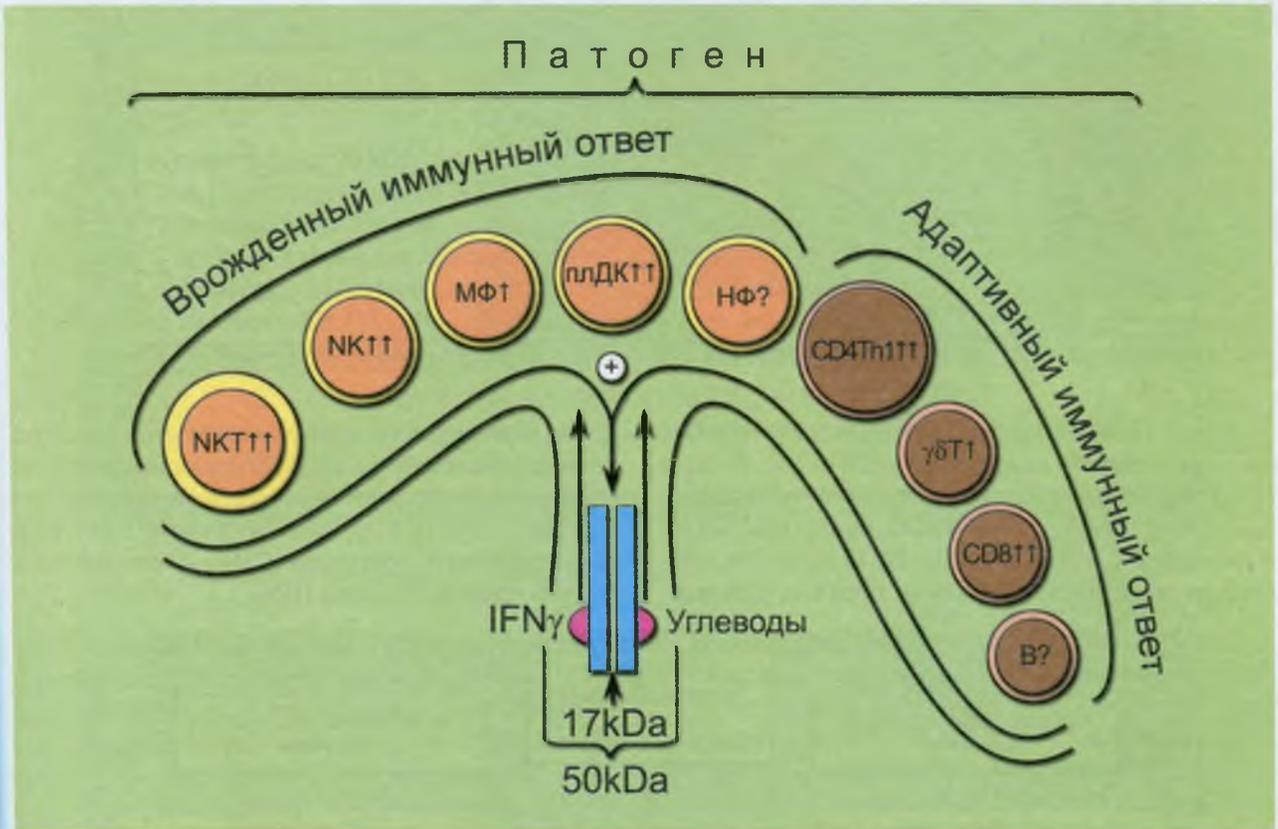
1.5.8. ИНТЕРФЕРОН- γ 

Рис. 142. Общая характеристика $\text{IFN}\gamma$

$\text{IFN}\gamma$ человека является нековалентно связанным гомодимером, состоящим из двух полипептидных цепей с молекулярной массой 17 kDa. В течение биосинтеза цепи гликозилируются, и зрелая форма $\text{IFN}\gamma$ имеет молекулярную массу 50 kDa. Структурно-кристаллический анализ подтвердил димерное строение молекулы и показал, что два полипептида ассоциируются друг с другом антипараллельным образом. Мономеры $\text{IFN}\gamma$ биологической активностью не обладают, в отличие от димерной формы. Продуцентами $\text{IFN}\gamma$ могут быть различные типы клеток. Немедленный ответ на внедрение патогена дают NKT-клетки, несколько

позднее к ним присоединяются NK-клетки — мощные, так же как и NKT-клетки, продуценты $\text{IFN}\gamma$. Способностью индуцировать $\text{IFN}\gamma$ обладают плазматоидные ДК и МФ, а также, по некоторым данным, и НФ. Однако, по всей видимости, эта способность для НФ не характерна. При развитии адаптивного иммунитета мощными продуцентами $\text{IFN}\gamma$ являются CD8^+ цитотоксические лимфоциты и CD4^+ Th1-клетки. По некоторым данным, В-лимфоциты могут также синтезировать $\text{IFN}\gamma$. $\text{IFN}\gamma$, в свою очередь, оказывает существенный эффект практически на все клетки иммунной системы.

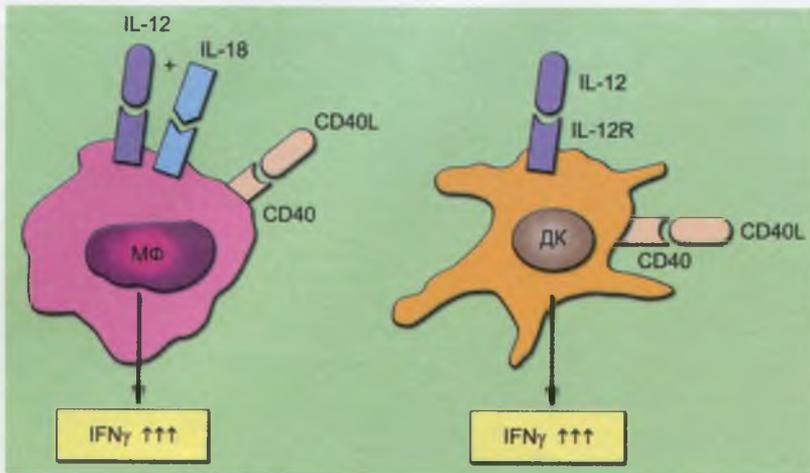


Рис. 143. Немикробные стимуляторы синтеза IFN γ МФ и ДК (у мышей)

IL-12, IL-18 и лиганды сигнальных путей являются индукторами синтеза IFN γ МФ и ДК. IL-12 и IL-18 при совместном применении дают у МФ максимальный синтез IFN γ . Такой синергизм менее выражен у ДК, у которых один IL-12 вызывает продукцию этого цитокина. Таким образом, при раз-

витии врождённого иммунного ответа возникает «самодостаточная» иммунорегуляторная цепь, которая позволяет задолго до развития адаптивного иммунитета начать борьбу с патогеном. У МФ и ДК взаимодействие рецептора CD40 с его лигандом CD40L усиливает синтез IFN γ .

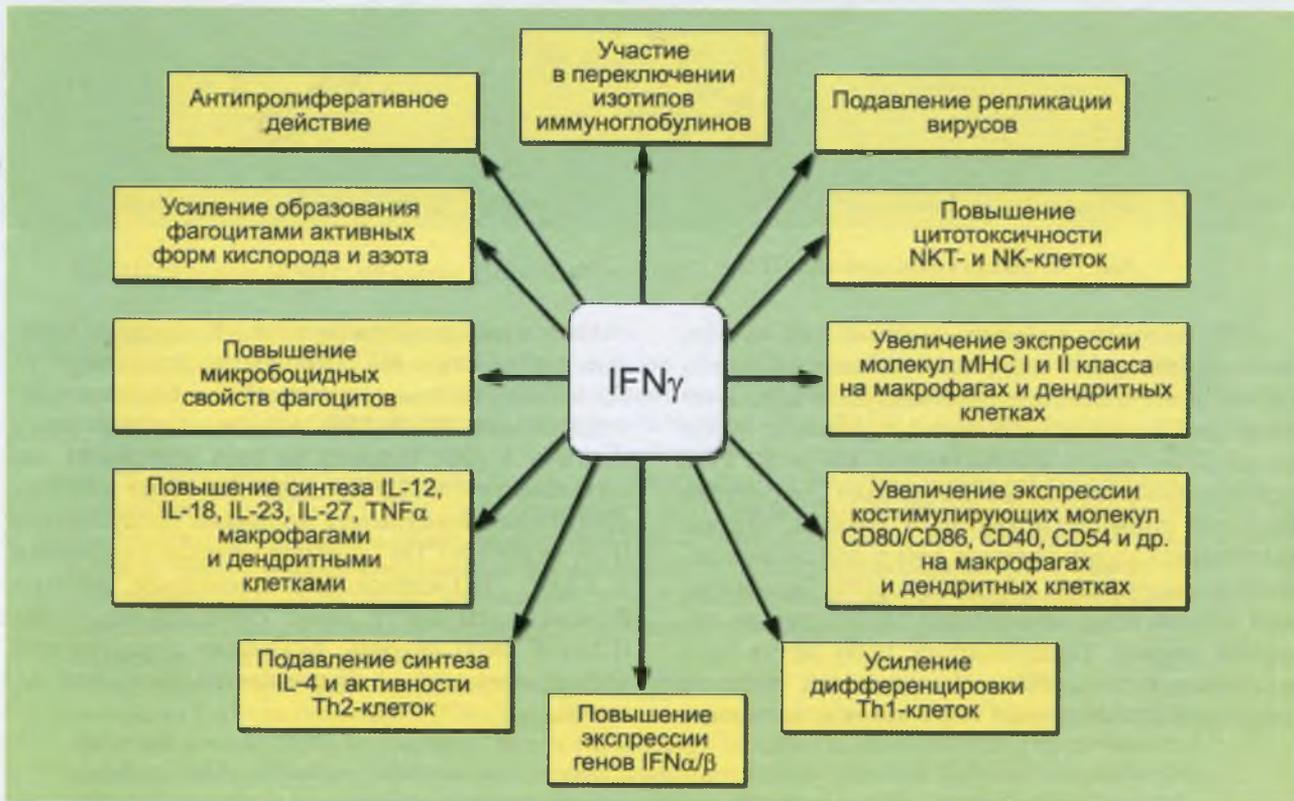


Рис. 144. Основные функции IFN γ



Рис. 145. Субъединицы рецептора IFN γ

Рецептор IFN γ состоит из двух полипептидных цепей: α (IFN γ R1, CD119) и β (IFN γ R2). IFN γ R1 экспрессируется конститутивно на поверхности почти всех клеток в количестве от 200 до 25 000 на клетку.

Этот рецептор является лиганд-связывающим. После связывания с лигандом происходит образование комплекса лиганд-рецептор, который поглощается и попадает в эндосомальный компартмент, где происходит его диссоциация. IFN γ поступает в лизосому и разрушается. α -Цепь поступает во вну-

триклеточный пул этих цепей и может возвращаться на поверхность. Экспрессия β -цепи регулируется внешними факторами и отражает способность клетки реагировать на IFN γ . Основная функция β -цепи — передача сигнала. Роль её в связывании лиганда невелика. В неактивном состоянии α - и β -субъединицы не соединены между собой. Обе цепи относятся ко II классу цитокиновых рецепторов, и поэтому их внутриклеточные домены не обладают собственной киназной или фосфатазной активностью.

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

Синтез IFN γ осуществляется в виде неактивной полипептидной цепи, содержащей N-концевой сигнальный пептид из 20 аминокислотных остатков. Этот пептид направляет секрецию IFN γ из клетки и в процессе его выделения удаляется. Неактивный предшественник содержит 2 остатка гистидина, что повышает его сродство к ионам цинка. Привлечение этих ионов способствует димеризации цепей и образованию активного гомодимера. В конечном итоге зрелая форма IFN γ представляет собой глобулярный гликопротеин, состоящий из 2 антипараллельных полипептидных цепей. Каждая цепь содержит 6 α -спиральных доменов. Взаимодействие между цепями осуществляется по неспиральным участкам. Рецепторсвязывающий участок IFN γ локализован на N- и C-концевых доменах полипептидных цепей. Мыши, дефектные по IFN γ или IFN γ R, обладают повышенной чувствительностью к бактериальным и вирусным инфекциям. Аналогичная ситуация наблюдается и у людей. Люди особенно чувствительны к авирулентным и маловирулентным микобактериям и сальмонеллам.

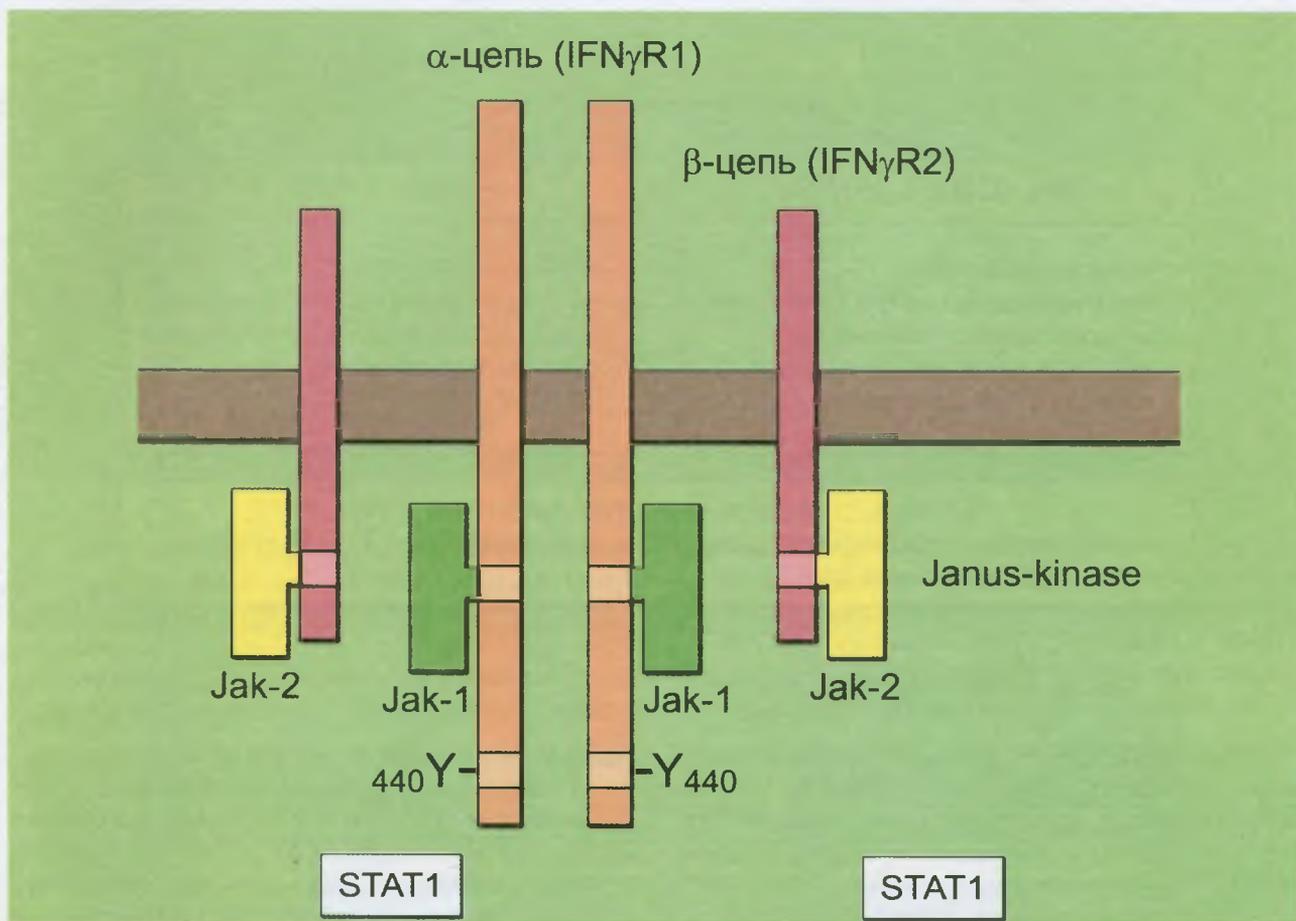


Рис. 146. Строение рецептора IFN γ

Для передачи сигнала рецептор IFN γ привлекает тирозинкиназы Jak, сопряжённые с определёнными участками на субъединицах рецептора. Jak-1 связана с последовательностью 266LPKS на внутриклеточном домене IFN γ R1, а Jak-2 — с пролин-обогащённой

последовательностью 263PPSIPLQIEEYL на IFN γ R2. α -Цепь содержит участок 440YDKPH, необходимый для взаимодействия с STAT1 (*Signal transducer and activator of transcription*), молекулы которого находятся в цитозоле в неактивном состоянии.

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

Помимо образования рецепторных гомодимеров, IFN γ R может образовывать комплексы с другими рецепторами. Так, после связывания с IFN γ IFN γ R образует гетеродимер с IFN α / β R. Это ведёт к более быстрой IFN γ R-индуцированной активации сигнальных путей и более интенсивному синтезу IFN γ . Между IFN γ R и IFN α / β R имеется аддитивное взаимодействие, заключающееся в перекрёстном примировании. Результатами этого примирования являются усиление экспрессии IFN-отвечающих генов и более быстрый противовирусный ответ. Помимо тирозинкиназ Jak, в рецепторный комплекс IFN γ R вовлекаются киназы Fyn, Lyn, PI3-K, фосфолипаза PLC α , адапторный белок MyD88. Роль этих молекул в развитии противовирусного ответа под влиянием IFN γ неясна. Так, при отсутствии адаптора MyD88 IFN γ -индуцированная активация STAT1-сигнального пути протекает нормально. По всей видимости, вышеперечисленные ферменты и адапторы участвуют в другом STAT1-независимом сигнальном пути, идущем от IFN γ R.

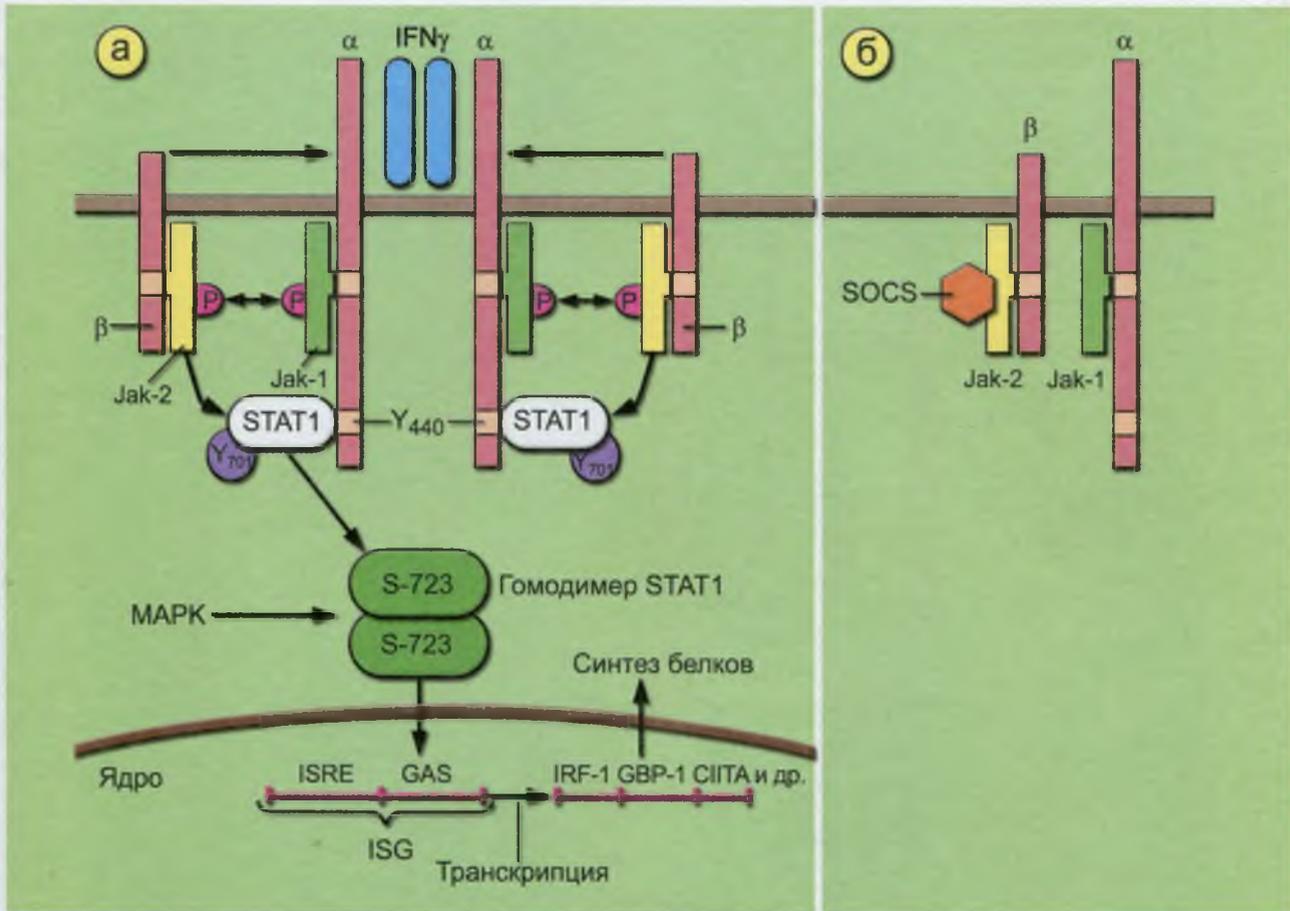


Рис. 147. Сигнальные пути рецептора IFN γ

а. При связывании с рецептором IFN γ происходит димеризация α -цепей двух соседних рецепторов и их сближение с β -цепями. При этом соединяются и киназы Jak-1 и Jak-2, локализованные соответственно на α и β -цепях. Они фосфорилируют друг друга и активируются, затем фосфорилируют тирозин 440 α -цепей и этим создают «докинг»-участок для транскрипционного фактора STAT1, находящегося в цитозоле. С помощью SH2-домена STAT1 взаимодействует с «докинг»-участком α -цепи и фосфорилируется Jak-киназами по Y-701. Активированный таким образом STAT1 отделяется от α -цепей и образует гомодимер. Этот гомодимер фосфорилируется MAPK-киназой по S-723 и транслоцируется в ядро, где связывается с промоторами семьи ISG-генов (*interferon stimulated genes*), которые активируются в течение 15–30 мин после присоединения IFN γ к рецептору. Первый промотор — ISRE (*interferon stimulated response element*) — ответствен за экспрессию IFN α/β -индуцибельных генов. Второй промотор — GAS (*gamma-interferon activation site*) ответствен за активацию IFN γ -индуцибельных генов. К ним относят гены, отвечающие за синтез IRF-1 (*interferon regulated factor*), GBP-1 (*guanilate binding protein*), CIITA (MHC class II transactivator) и др.

б. Основным регулятором передачи сигнала от IFN γ -рецептора, а также от ряда других цитокиновых рецепторов, является семейство белков SOCS (*suppressors of cytokine signaling*). Эти белки имеют SH2-домены, которые связываются с фосфорилированными остатками тирозина и препятствуют передаче сигнала. Уровень SOCS регулируется гормонами и цитокинами. В некоторых видах опухоли имеется гиперпродукция белков SOCS. Такие клетки нечувствительны к антипролиферативному действию IFN γ .

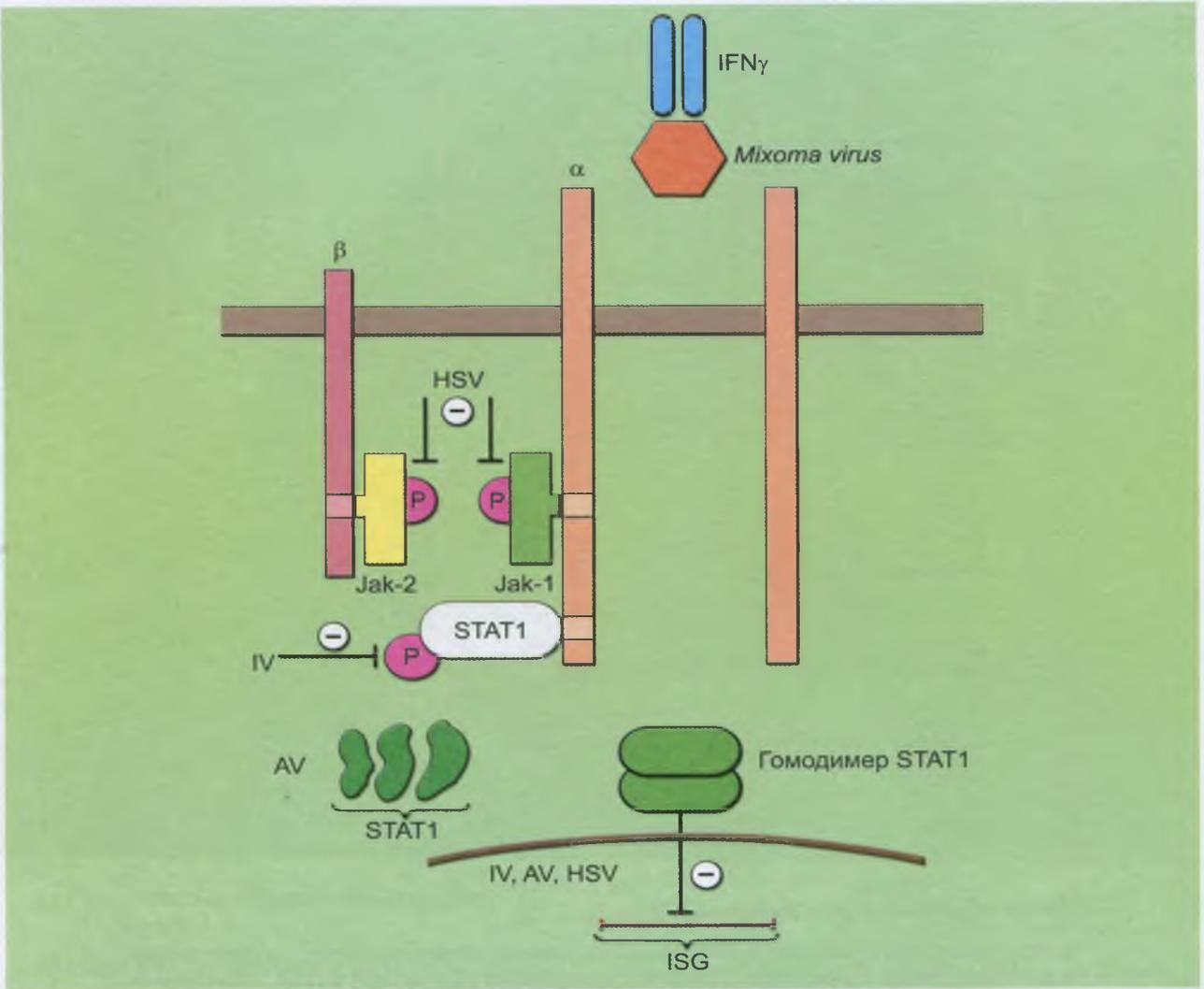


Рис. 148. Действие вирусов на передачу сигнала от рецептора IFN γ

Одним из эффектов IFN γ является противовирусный. Вирусы используют различные способы блокады передачи сигнала от интерферонового рецептора. Простейшим является блокада взаимодействия IFN γ с рецептором (*Mixoma virus*). Большинство вирусов используют блокаду Jak-STAT-пути. Вирус простого герпеса (HSV) подавляет фосфорилирование транскрипционной молекулы STAT1, а белки аденовируса (AV) вызывают разрушение этой молекулы. Вирус гриппа (IV) подавляет фосфорилирование STAT1. Ряд вирусов (IV, AV, EBV, HSV, Ebola, HIV-1, полиовирусы и

др.) препятствуют взаимодействию гомодимера STAT1 с IFN γ -индуцибельными генами (ISG), результатом чего является блокада передачи сигнала и снижение ответа на IFN γ . Имеется и противоположная ситуация (на рис. не показана). Онкогенный вирус *Herpesvirus saimiri*, индуцирующий лейкемию и лимфому, создаёт условия для непрерывного фосфорилирования STAT1, образования гомодимера и дальнейшей передачи сигнала. Происходит активация IFN γ -индуцибельных генов в отсутствие внешнего стимула, что приводит к злокачественной трансформации клетки.

Адапторный белок MyD88, передающий сигнал от всех TLR и NOD-рецепторов, играет ведущую роль в защите организма от внутриклеточных возбудителей.

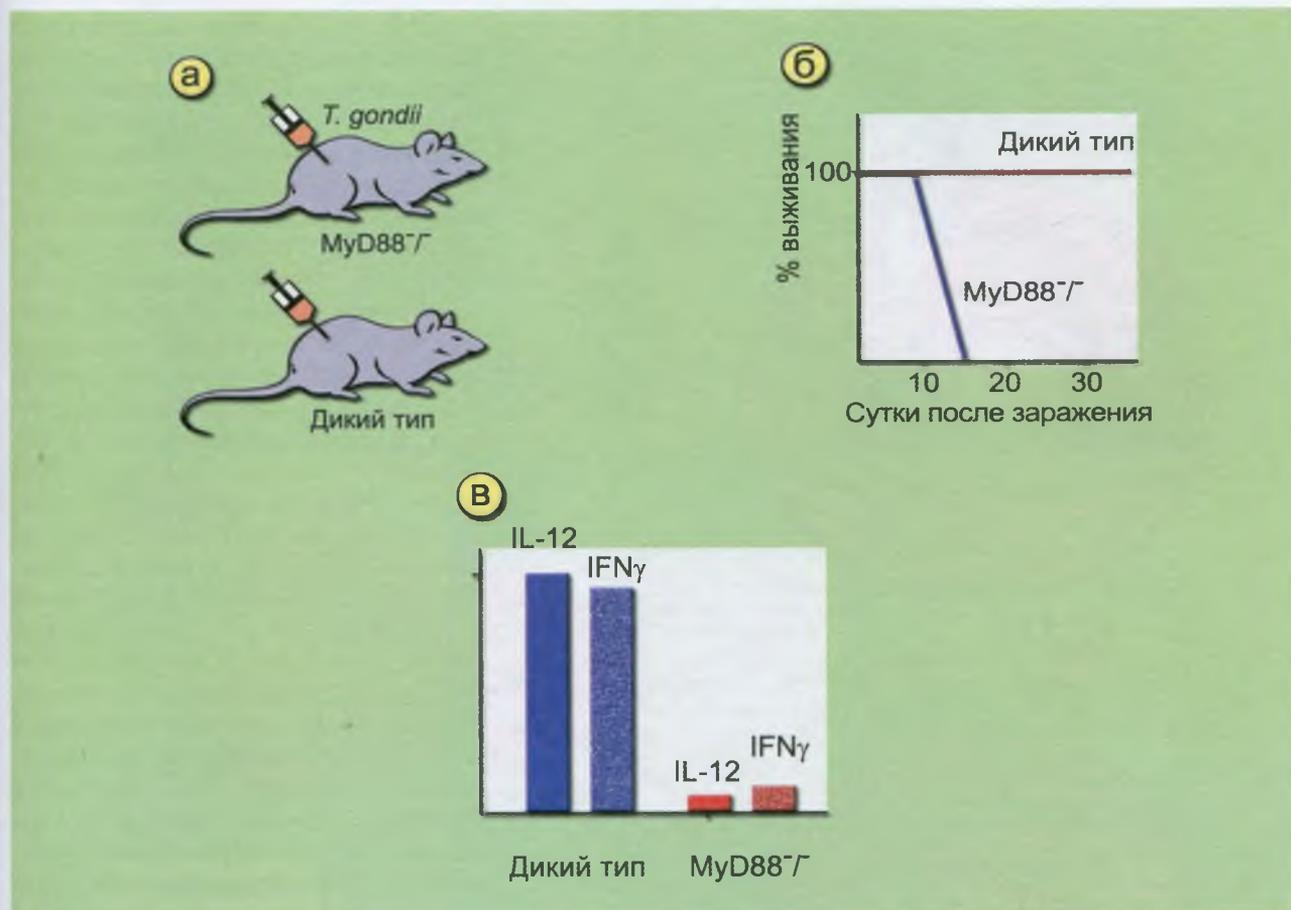


Рис. 149. Роль адапторного белка MyD88 в образовании IFN γ и IL-12

а. Нормальные мыши (дикий тип) и мыши с нокаутом по белку MyD88 (MyD88^{-/-}) заражены патогенными простейшими *Toxoplasma gondii*.

б. Заражённые мыши дикого типа дали 100%-ную выживаемость в течение 30 сут. Мыши MyD88^{-/-} погибли полностью на 15 сут.

в. Такая гибель мышей MyD88^{-/-} связана с их неспособностью продуцировать центральные цитокины Th1-типа иммунного ответа IL-12 и IFN- γ . Мыши дикого типа продуцировали большие количества этих цитокинов.

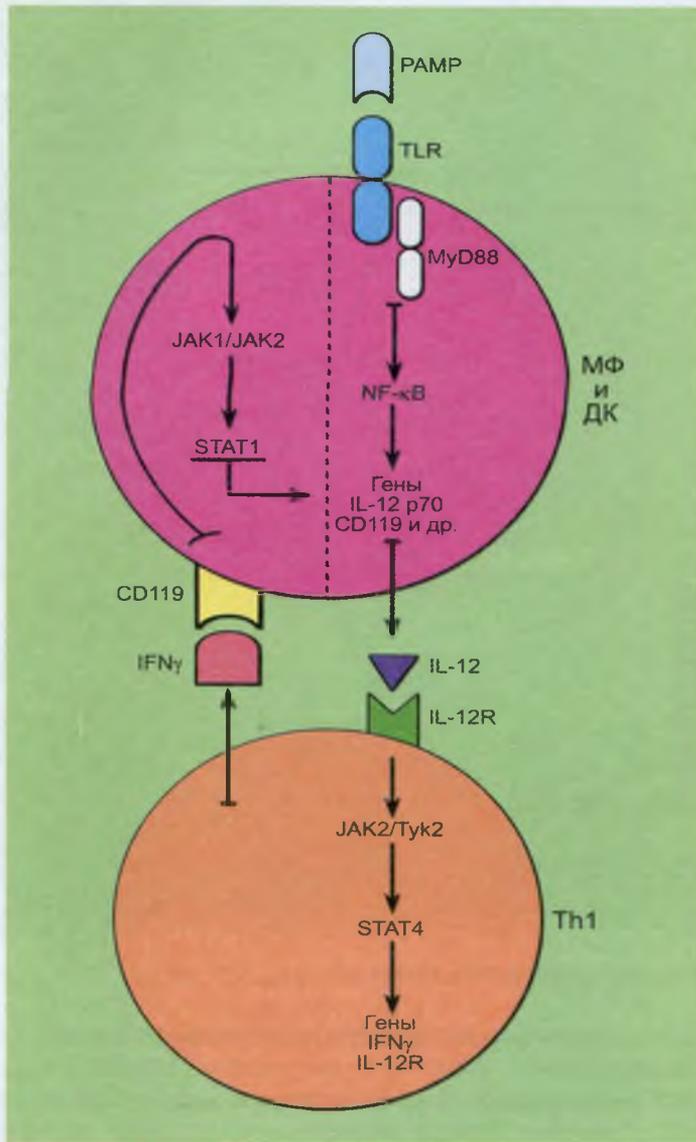


Рис. 150. Взаимодействие цитокинов IL-12 и IFN γ при инфекционном процессе

МФ и ДК являются одними из главных продуцентов провоспалительного цитокина IL-12 при развитии инфекционного очага. Эта индукция осуществляется путём взаимодействия патоген-ассоциированных молекулярных паттернов патогена с соответствующими TLR. Активация TLR ведёт в конечном итоге к активации транскрипционного фактора NF- κ B, который перемещается в ядро и индуцирует транскрипцию генов, ответственных за воспаление и развитие иммунного ответа. В рассматриваемом случае нас интересует индукция синтеза IL-12 в АПК (МФ и ДК), а также усиление экспрессии на АПК рецептора для IFN γ — CD119. IL-12, синтезируемый АПК, взаимодействует с рецепторами этого цитокина на Т-клетках и индуцирует экспрессию IL-12R β 2 и синтез IFN γ . IFN γ взаимодействует с рецептором CD119 АПК и через сигнальный путь Jak1/Jak2 активирует транскрипционный фактор STAT1. Последний перемещается в ядро АПК и резко усиливает синтез IL-12, особенно субъединицы p35. Возникает замкнутая цепь: патоген индуцирует синтез IL-12 АПК; IL-12 индуцирует синтез IFN γ и дифференцировку Th1-клеток; IFN γ , синтезируемый Th1-клетками, резко усиливает образование IL-12 АПК.

Цепочка IL-12–IFN γ –IL-12 играет решающую роль в борьбе организма с внутриклеточными возбудителями.

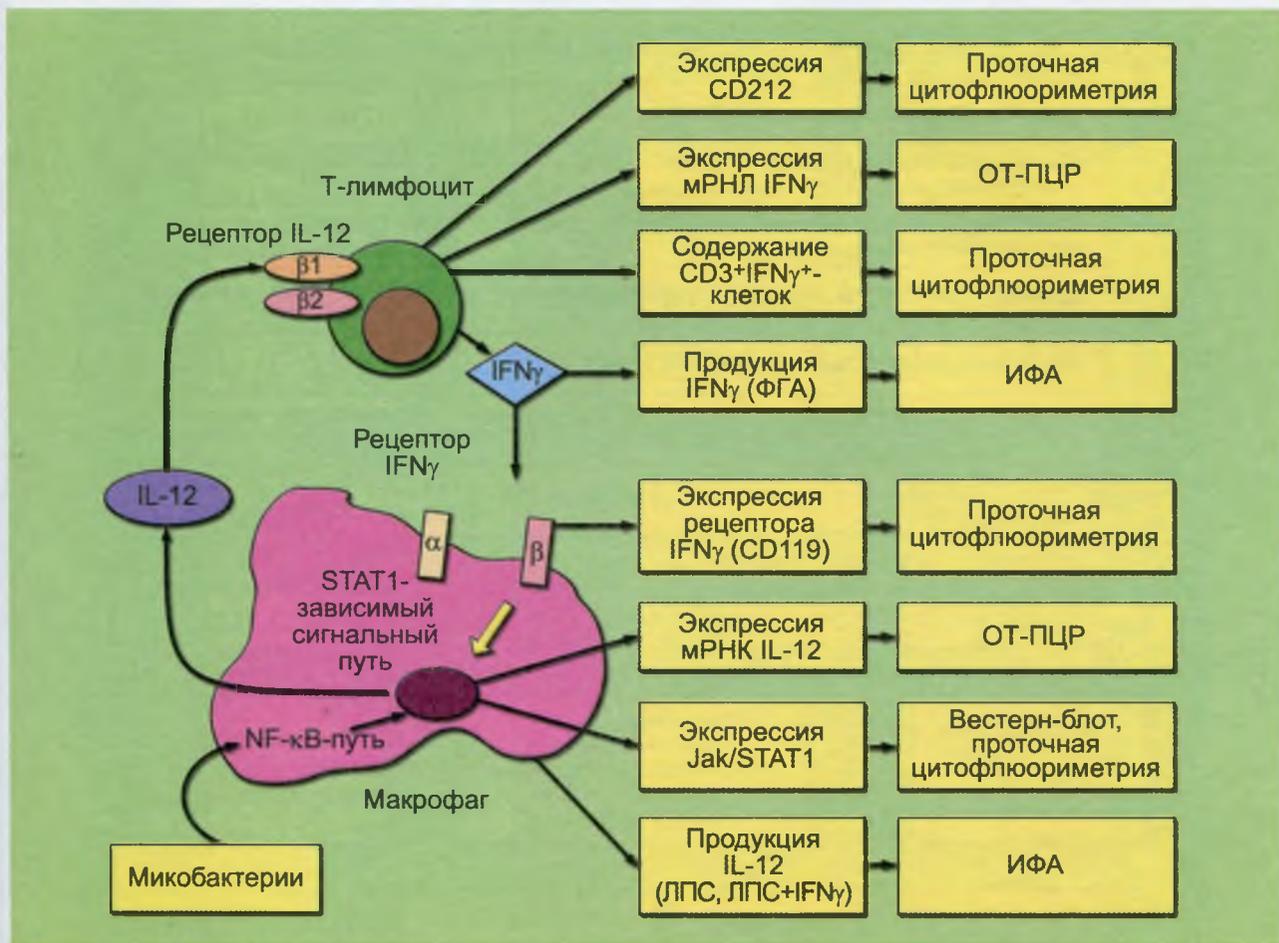


Рис. 151. Основные звенья системы IFN γ -IL-12 и методы их исследования

На данной схеме представлены основные этапы оценки системы IL-12-IFN γ -IL-12, используемые в лаборатории клинической иммунологии ГНЦ «Институт иммунологии ФМБА России». При подозрении на Th1-зависимый иммунодефицит в культуре мононуклеаров с помощью ИФА определяется IFN γ при индукции клеток ФГА и IL-12 при стимуляции клеток ЛПС и комбинацией ЛПС+IFN γ .

При пониженном уровне IFN γ с помощью проточной цитометрии определяют содержание в кро-

ви большого CD3⁺IFN γ ⁺-клеток, а с помощью ОТ-ПЦР — экспрессию мРНК IFN γ . Целесообразно установить экспрессию на мононуклеарах IL-12R β 2. При снижении синтеза IL-12 с помощью проточной цитометрии определяется экспрессия рецептора CD119, с помощью вестерн-блота или проточной цитометрии — экспрессия сигнальных молекул Jak2 и STAT1, с помощью ОТ-ПЦР — экспрессия мРНК IL-12p35 и IL-12p40. Такой подход в ряде случаев может помочь установить поломку в иммунной системе.

1.6. ГУМОРАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ ВРОЖДЁННОГО ИММУНИТЕТА

1.6.1. СИСТЕМА КОМПЛЕМЕНТА

Функции	Обозначения
Связывание с комплексом АГ-АТ	C1q
Связывание с мембраной клетки и опсонизация	C3b, C4b
Протеазы, расщепляющие и активирующие другие компоненты комплемента	C1r, C1s, C2b, Bb, D
Хемоаттрактанты и медиаторы воспаления	C3a, C5a, C4a, C2a
Мембраноатакующий литический комплекс	C5b, C6, C7, C8, C9
Рецепторы для белков комплемента	CR1 (CD35) CR2 (CD21) CR3 (CD11b/CD18) CR4 (CD11c/CD18) C3aR C5aR C1qR
Комплементрегулирующие белки	C1-ингибитор (C1 INH) C4bp CR1 MCP DAF H I P CD59

Рис. 152. Компоненты комплемента и их функции

Система комплемента является важным компонентом врождённого иммунитета, играющим большую роль в защите и удалении из организма чужеродных агентов и собственных изменённых клеток. Этот комплекс состоит из 9 основных белков, обозначаемых C1–C9. На рисунке представлены функции этих белков и продуктов их расщепления. Так, компоненты C2, C3, C4, C5 в процессе взаимодействия с клеткой расщепляются на два пептида: «а» (меньший) и «b» (большой пептид). Пептиды «а»,

как правило, остаются во внеклеточной среде и являются медиаторами воспаления и хемоаттрактантами. Пептиды «b» присоединяются к поверхности клетки и инициируют связывание с клеткой других компонентов. Факторы CR1, B, D, I, H, P, MCP, DAF, CD59 являются компонентами и регуляторами альтернативного пути активации системы комплемента. Защитная роль комплемента заключается в удалении чужеродных клеток с помощью фагоцитоза или бактерицидной литической реакции.

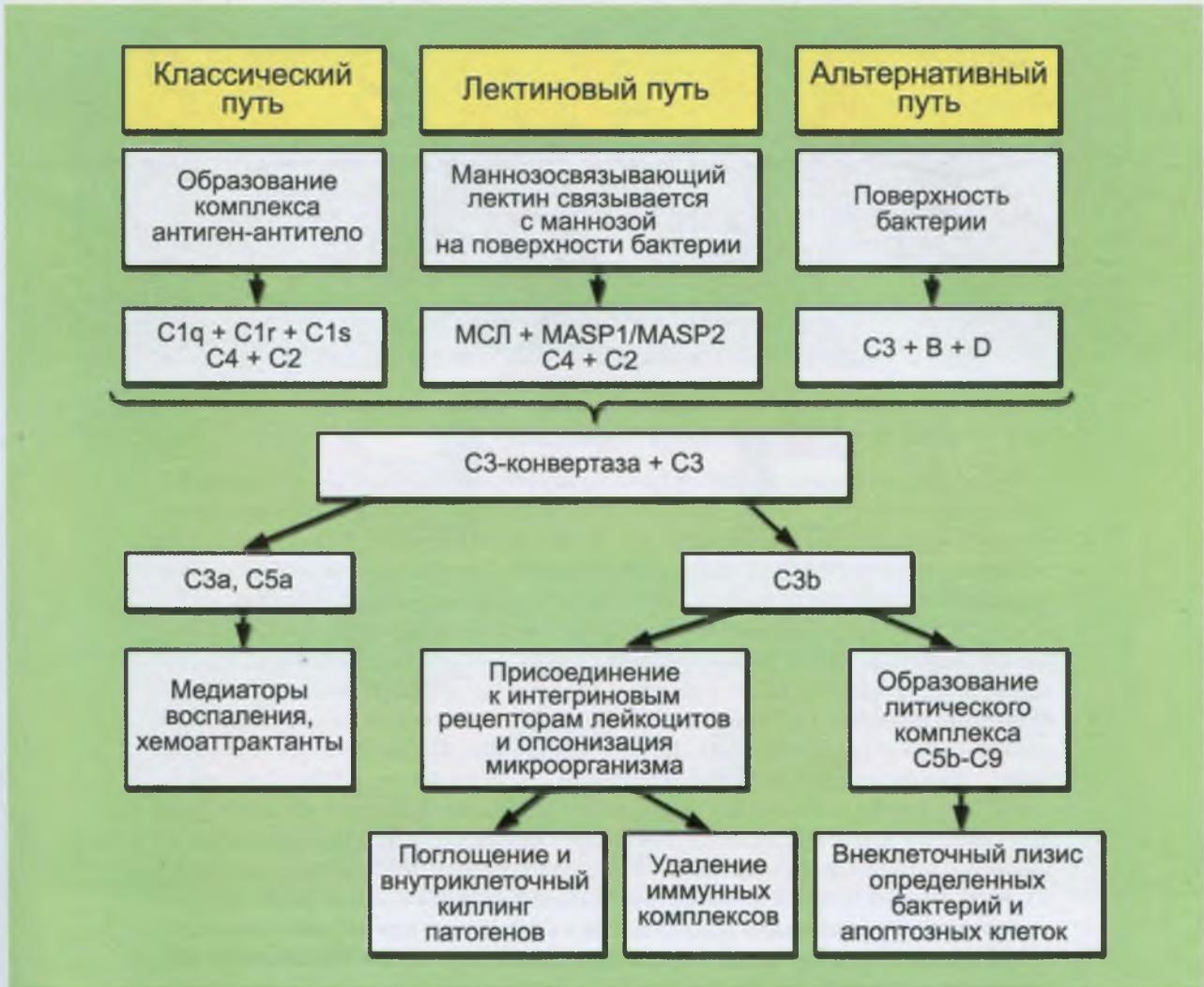


Рис. 153. Три пути активации комплемента

Существуют три пути активации комплемента: классический, альтернативный и лектиновый, в основе которого лежит образование C3-конвертазы, состоящей из пептидных компонентов C4b и C2b. Субстратом C3-конвертазы является компонент комплемента C3, который расщепляется на 2 пептида — C3a и C3b. C3a, а также C5a являются ме-

диаторами воспаления и мощными хемоаттрактантами. C3b, присоединяясь к поверхности патогена, может инициировать два важных события: либо поглощение патогена лейкоцитами с последующим внутриклеточным киллингом, либо образование на поверхности патогена литического комплекса с последующим его внеклеточным расщеплением.

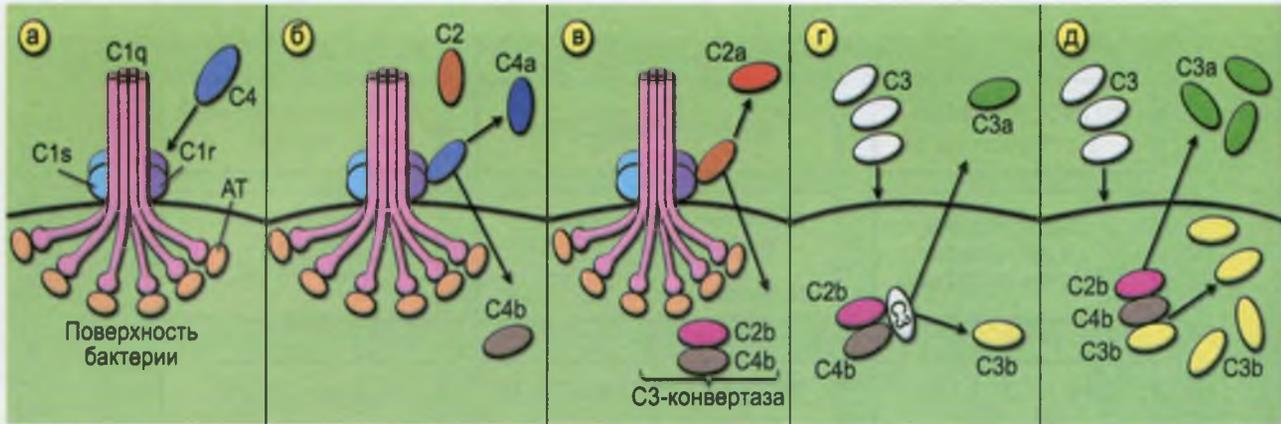


Рис. 154. Классический путь активации комплемента

а. После присоединения АТ класса IgM или некоторых изоформ IgG к поверхности бактериальной клетки у молекулы АТ образуется участок, способный взаимодействовать с C1-компонентом комплемента. C1 состоит из трёх молекул: C1q, C1r и C1s. C1q представляет собой структуру, содержащую 6 идентичных глобулярных головок и длинный коллагеновый хвост. Хвост взаимодействует с двумя другими компонентами C1: C1r и C1s, обладающими протеазной активностью. Образуется комплекс C1q–C1r2–C1s2. Каждая головка C1q взаимодействует с одним участком Fc-фрагмента Ig. При соприкосновении двух и более головок с Ig происходит активация протеазы C1r. Последняя расщепляет C4 компонент на C4a и C4b. C4b ковалентно прикрепляется к поверхности микроорганизма (б). Далее C1s расщепляет C2 на C2a и C2b. C2b также прочно прикрепляется к поверхности бактерии, образуя комплекс с C4b (в). Комплекс C2b–C4b является активной C3-конвертазой, центральной фигурой классического, лектинового и альтернативного пути активации комплемента, причём протеазной активностью обладает в основном C2b. C3-конвертаза расщепляет C3-компонент на C3a и C3b (г). Первый остаётся во внеклеточной среде и является мощным хемоаттрактантом и медиатором воспаления (также как C2a и C4a). Второй прочно присоединяется к поверхности клетки и инициирует соединение с мембраной клетки терминальных компонентов комплемента — C5b, C6, C7, C8, C9. Образуется литический комплекс, который вызывает формирование пор в мембране клетки и её лизис (д), что будет показано на последующих рисунках.

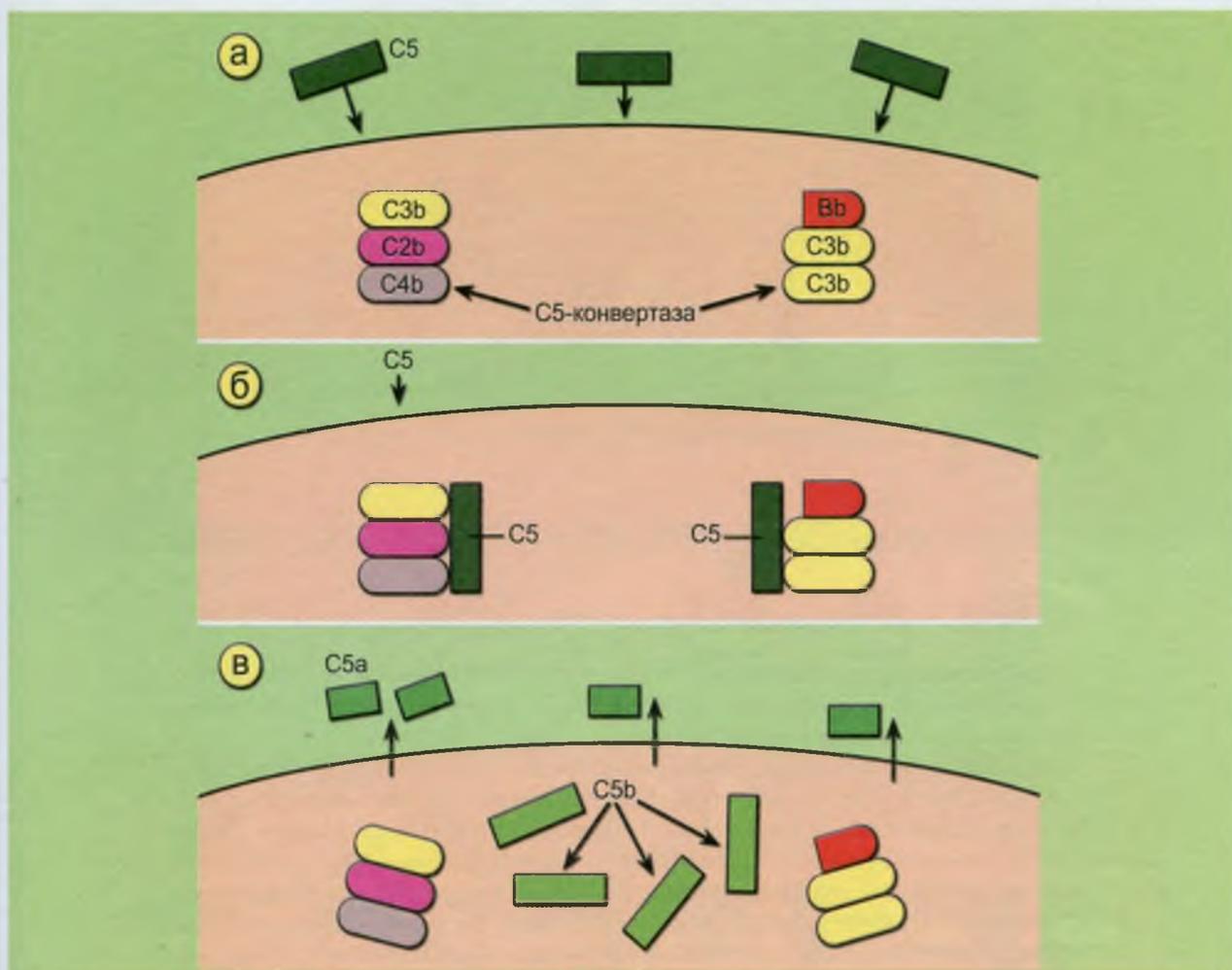


Рис. 155. Каскад, генерируемый C5-конвертазой

а. При присоединении C3b к C3-конвертазе (C2b-C4b в классическом пути или C3b-Bb в альтернативном пути) происходит образование C5-конвертазы, прочно прикреплённой к поверхности бактериальной клетки.

б. C5-компонент расщепляется сериновой протеазой C2b в классическом или Bb в альтернативном пути, являющимися компонентами C5-конвертазы.

в. Продуктом расщепления C5 являются два пептида: C5a и C5b. Первый поступает во внеклеточную среду и является хемоаттрактантом и медиатором воспаления. Второй, C5b, может находиться во внеклеточной среде или прикрепляться к поверхности клетки и инициировать присоединение литического комплекса. Образование C5-конвертазы происходит в значительно меньших количествах, чем образование C3-конвертазы.

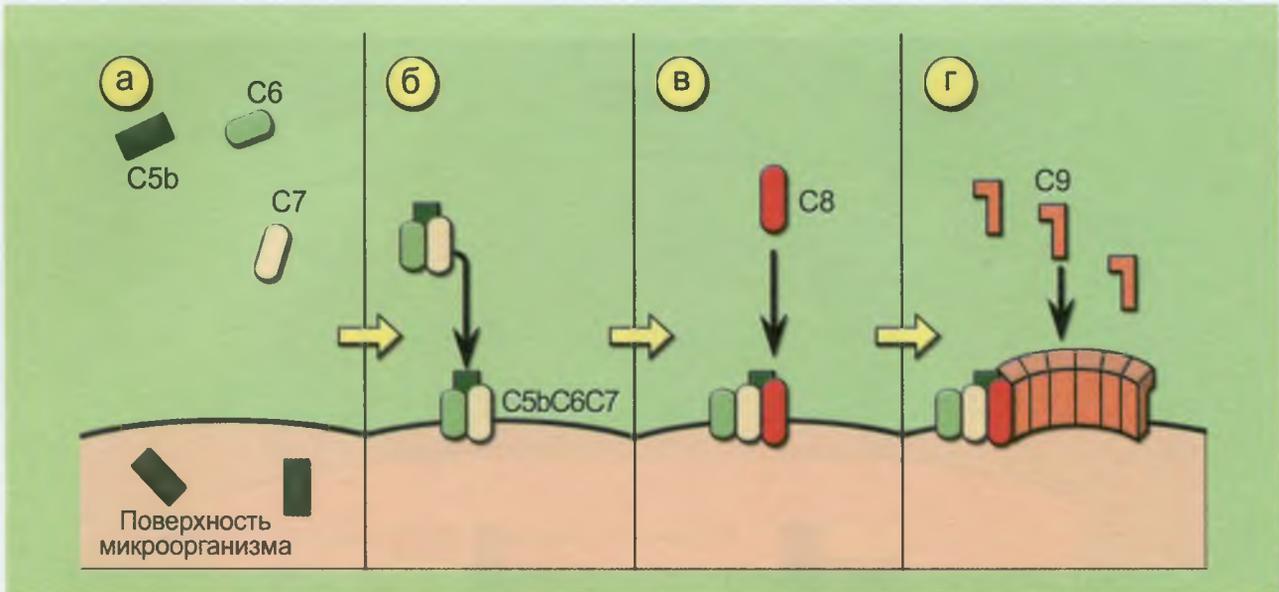


Рис. 156. Образование литического мембраноатакующего комплекса

а. C5b-пептид, продукт расщепления C5-компонента C5-конвертазой, находится в жидкой фазе или на поверхности микроорганизма. В обоих случаях он может инициировать образование литического комплекса.

б. Одна молекула C5b связывает по одной молекуле C6 и C7. Происходит образование C5b–C6–C7-комплекса, способствуя конформационным изменениям реагирующих молекул и экспозиции на поверхности C7-компонента гидрофобных участков, с помощью которых она внедряется в липидный слой клеточной стенки. Такие же гидрофобные сайты возникают на молекулах C8 и C9, когда они присоединяются к комплексу.

в. Молекула C8 состоит из двух протеинов: C8β и C8α-γ (на рис. не показаны). Первым присоединяется белок C8β, что позволяет гидрофобному участку C8α-γ глубоко внедряться в липидный слой.

г. C8α-γ индуцирует полимеризацию 10–16 молекул C9, образуя при этом канал диаметром 100 Å. Такой размер позволяет воде и солям свободно проходить через него. Вследствие вышеописанного нарушаются гомеостаз клетки и её лизис. Высокочувствительными к деструкции являются эритроциты, что используется в различных серологических реакциях, например, в реакции связывания комплемента. В защите от микроорганизмов литические свойства комплемента играют меньшую роль по сравнению с фагоцитозом. Наиболее чувствительны к такому воздействию АТ и комплемента грамотрицательные бактерии, например, холерный вибрион.

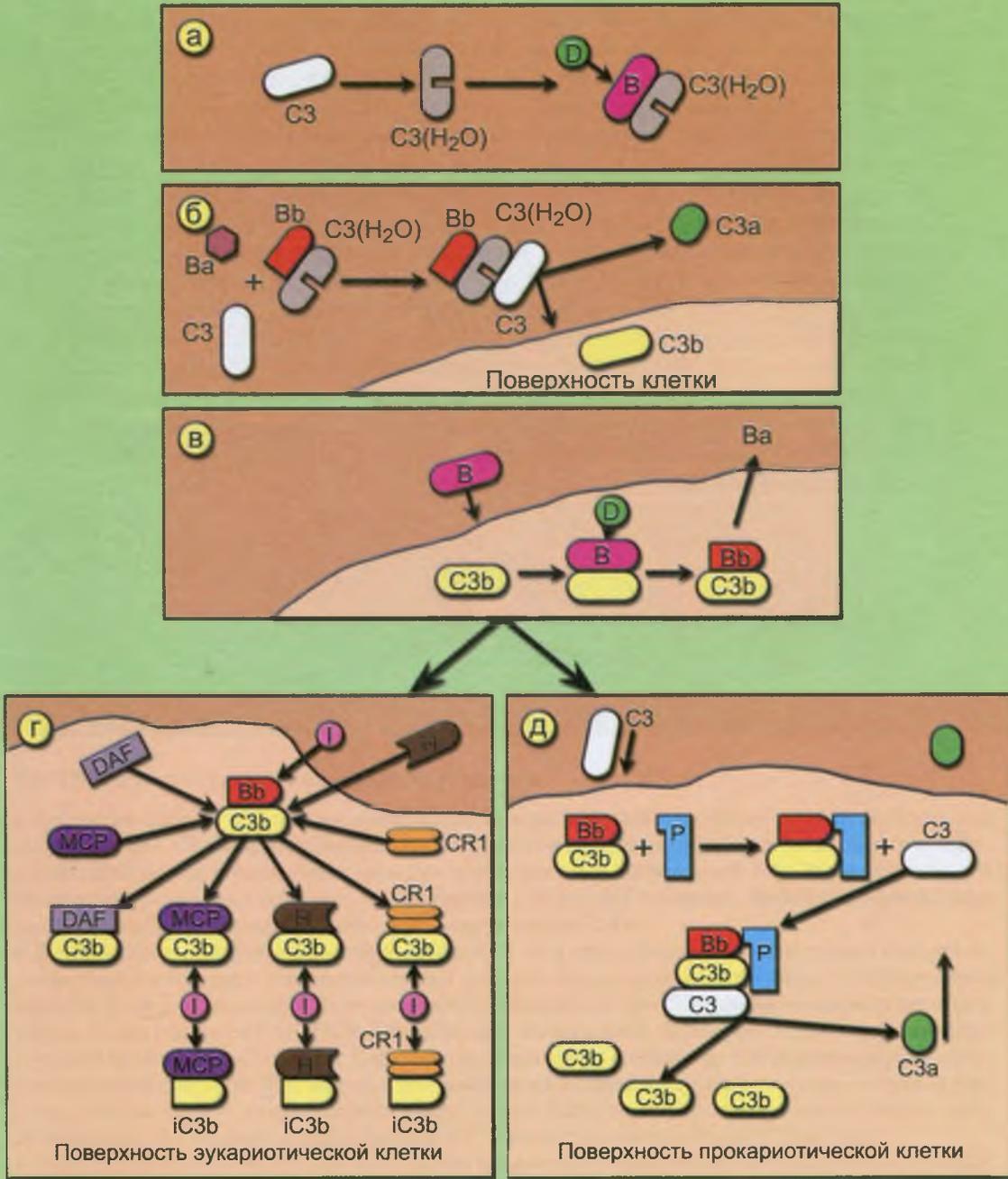


Рис. 157. Альтернативный путь активации комплемента

а. Альтернативный путь происходит в отсутствие АТ на поверхности микробной клетки, приводя к образованию С3-конвертазы. Для его инициации микробная клетка не нужна. С3 находится в плазме в избыточном состоянии и происходит спонтанный гидролиз тиоэфирных связей с образованием С3(Н₂О)-формы. Она взаимодействует с сывороточным фактором В, который расщепляется сывороточной протеазой D на небольшой пептид Ва и крупный пептид Vb, который вместе с С3(Н₂О) образует конвертазу Vb-С3(Н₂О) (б). Эта конвертаза расщепляет сывороточный С3 с образованием С3а и С3b. С3b прочно присоединяется к поверхности клетки хозяина или бактерии. С3b реагирует с фактором В, который тут же фактором D расщепляется на пептиды Vb и Va. Пептид Vb остаётся связанным с С3b на поверхности клетки, образуя Vb-С3b-конвертазу (в). Дальнейшая судьба конвертазы зависит от того, на какой клетке она находится (г). На поверхности клетки хозяина Vb-С3b-конвертаза мгновенно инактивируется сывороточными и клеточными регуляторными факторами. К ним относятся рецептор комплемента CR1, фактор DAF (*decay-accelerating factor*), фактор MCP (*membrane cofactor of proteolysis*). Из плазмы поступает вытесняющий фактор Н. Все эти структуры вытесняют Vb из комплекса с С3b. CR1, MCP и Н катализируют расщепление С3b сывороточной протеазой I на неактивный пептид iC3b (д). Регуляторных комплексов на микробной клетке нет. В этом случае комплекс Vb-С3b стабилизируется пропердином (фактор Р) и начинает работать как классическая конвертаза С3(С4b-С2b), производя большое количество пептидов С3b и С3а.

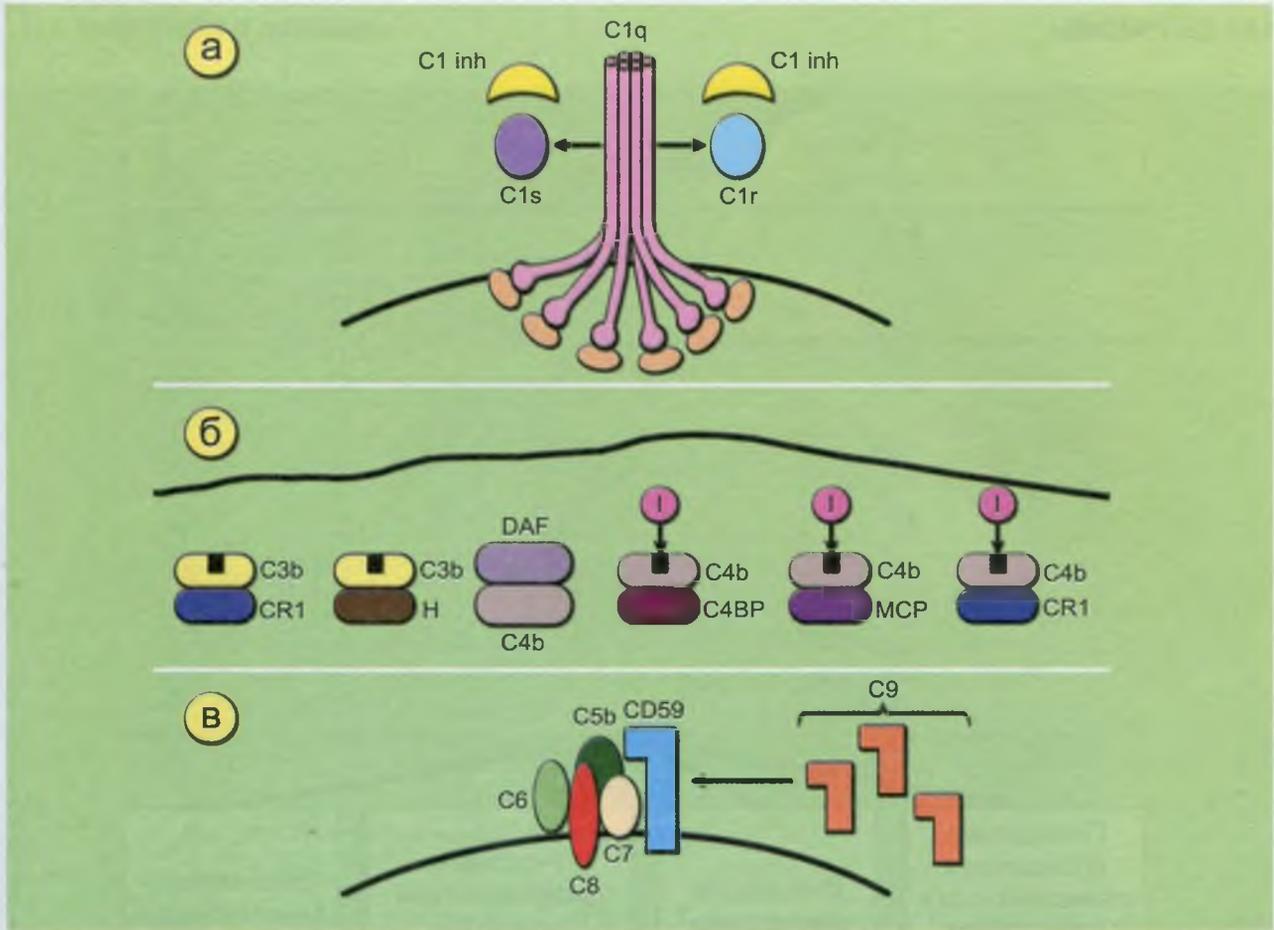


Рис. 158. Регуляция процесса активации комплемента

а. Одним из главных регуляторов процесса активации комплемента является С1-ингибитор, или серпин (C1inh). С1-ингибитор связывается с С1s и С1r и вытесняет их из комплекса с С1q, т. е. ингибитор существенно ограничивает время расщепления С4 и С2 эстеразой С1s. Этим же путём С1-ингибитор ограничивает возможность спонтанной активации С1 в плазме. Дефицит С1-ингибитора является причиной наследственного ангионевротического отёка.

б. В силу наличия тиоэфирных связей фрагменты С3 и С4 чрезвычайно реактивны и одинаково интенсивно взаимодействуют с клетками хозяина и патогена. Те факторы, которые служат для вытеснения протеазы Bb из комплекса Bb-С3b, используются и для инактивации С4b, находящегося на поверхности клетки. К ним относятся DAF, MCP, CR1, C4bp (*C4-binding protein*). Фрагмент С4b расщепляется сывороточной протеазой I на 2 пептида: С4d и С4с. В расщеплении компонента С3b решающую роль играет сывороточный фактор Н. Этот фактор имеет повышенный аффинитет к терминальным сиаловым кислотам, которые практически отсутствуют у патогена, что позволяет ему дискриминировать клетки хозяина и патогена. После присоединения фактора Н С3b расщепляется на пептиды iС3b и С3dg.

в. Конечным этапом активации комплемента является образование литического комплекса. Инициатором этого процесса является С5b, возникающий в результате деятельности С5-конвертазы. Происходит формирование комплекса С5b-С6-С7-С8. Последним этапом является присоединение компонента С9, от которого и зависит образование отверстий/каналов в мембране клетки. Этому взаимодействию мешает мембранный белок CD59. Лизиса клетки не происходит. Мутации в гене CD59 приводят к заболеванию пароксизмальной ночной гемоглобинурией, при которой происходит спонтанный лизис эритроцитов.

1.6.2. ПЕНТРАКСИНЫ

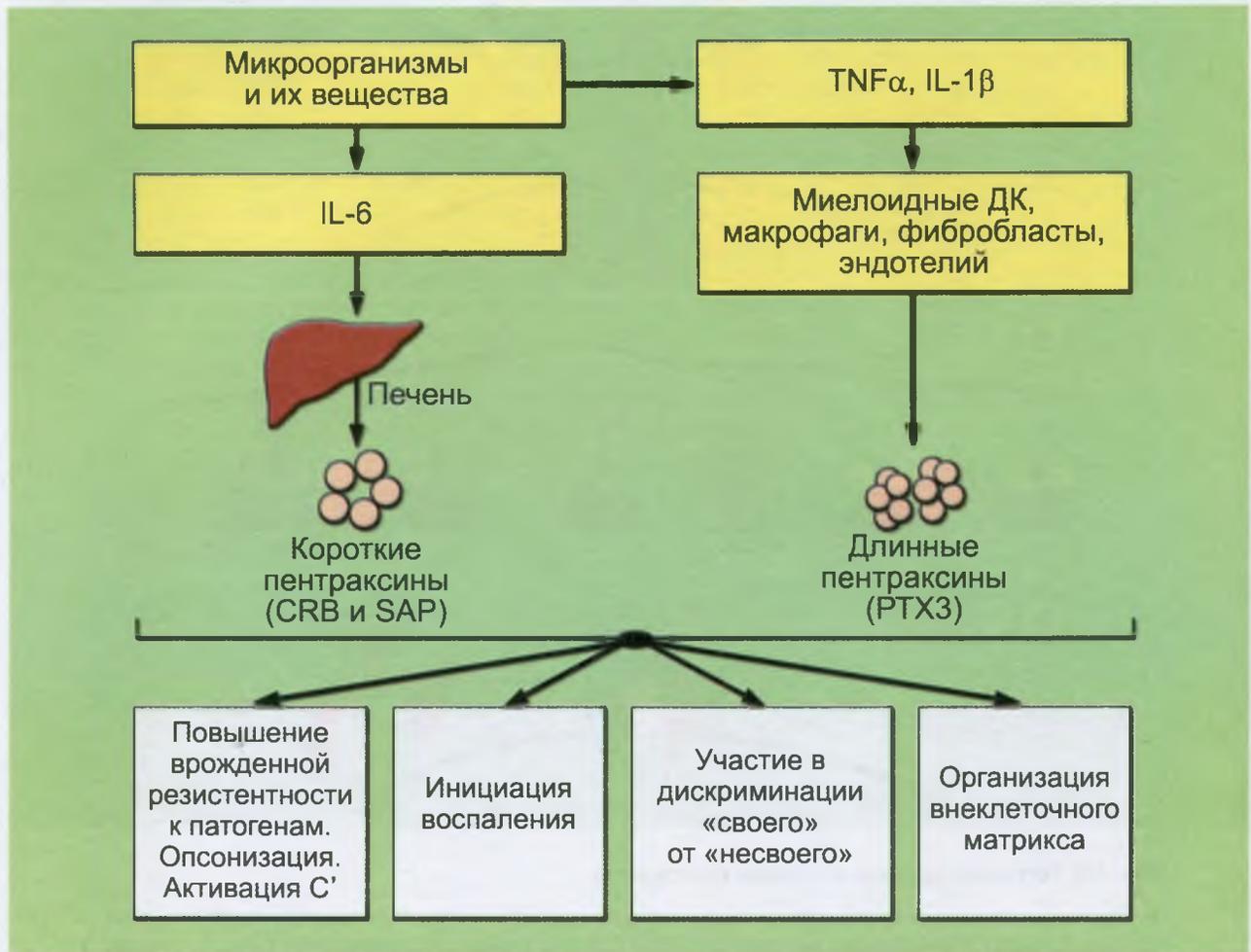


Рис. 159. Роль пентраксинов во врождённом иммунитете

Пентраксины относят к суперсемье высококонсервативных белков, характеризующихся пентамерной структурой. Пентраксины делятся на короткие (С-реактивный белок — CRB; у мышей также сывороточный амилоид P — SAP) и длинные (пентраксин 3 — PTX3). Все пентраксины обладают способностью опсонизировать ряд микроорганизмов и повышать фагоцитоз. Пентраксины реагируют с C1q-компонентом комплемента и иници-

ируют классический путь его активации. PTX3 участвует в C'-опосредованном удалении апоптотических клеток. Наиболее сильным опсоином является CRB, который синтезируется в ранний период индуцибельного ответа. Он реагирует с фосфорилхолином клеточной стенки бактерий и грибов, оказывая мощный опсонизирующий эффект задолго до синтеза антител. Пентраксины относят к белкам острой фазы.

1.6.3. КОЛЛЕКТИНЫ И ФИКОЛИНЫ

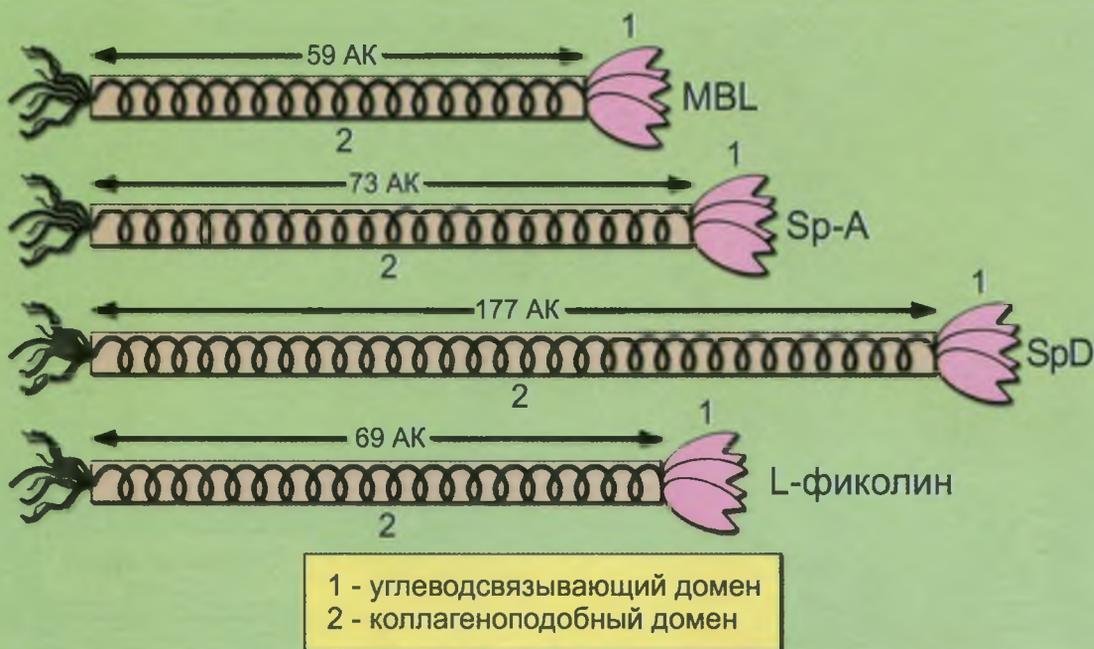


Рис. 160. Строение коллектинов и фиколинов

Коллектины и фиколины являются гуморальными факторами врождённого иммунитета, распознающими PAMP микроорганизмов. Коллектины включают маннансвязывающий лектин (MBL) и сурфактантные белки Sp-A и Sp-D. Они представляют собой олигомерные белки, состоящие из углеводраспознающего домена (CRD) и коллагеновой области. Коллектины родственны фиколинам, которых известно три типа: L, M и H. Отличие заключается в том, что у коллектинов CRD является лектиновым доменом С-типа, у фиколинов CRD представляет собой фибриногеноподобный домен.

Характерной чертой коллектинов и фиколинов является наличие трёх углеводсвязывающих доменов, присоединённых с помощью α -спиральной шейки к коллагеновому стволу, причём может быть прикреплено несколько тримерных «головок» с образованием сложной мультимолекулярной структуры.

Коллектины и фиколины присутствуют во всех биологических жидкостях человека и всех позвоночных. Эти белки являются важной составной частью врождённого иммунитета, осуществляют опсонизацию бактерий, активацию комплемента и играют роль в защите организма от инфекций.

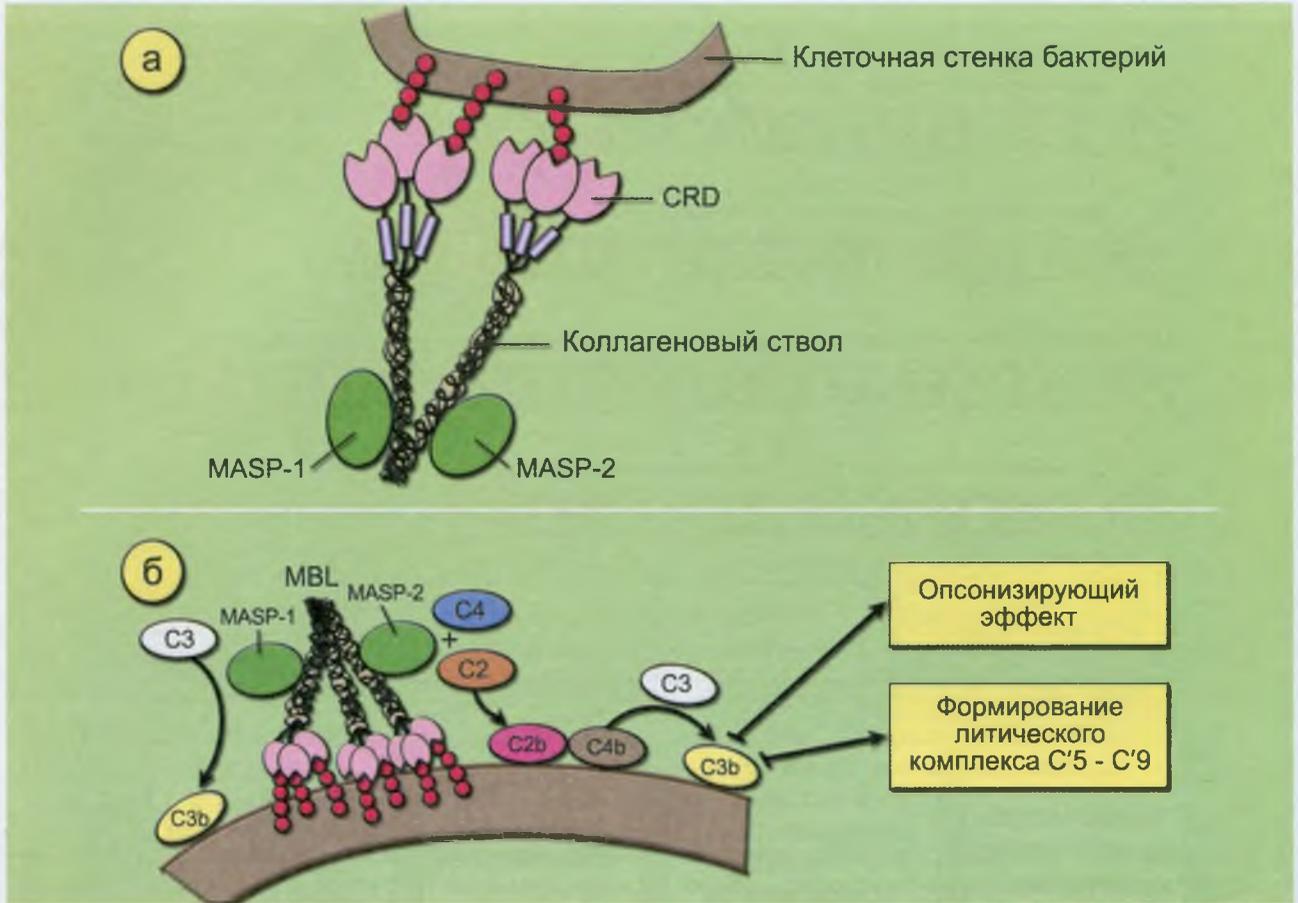


Рис. 161. Функциональная активность маннозсвязывающего белка (MBL)

а. Углеводраспознающий домен (CRD) MBL распознаёт поверхностные структуры, содержащие D-маннозу, L-фукозу, N-ацетилглюкозамин на поверхности грамположительных, грамотрицательных бактерий, грибов, вирусов. Помимо бактерий, белки MBL, Sp-A и Sp-D распознают апоптотические клетки, ишемические ткани, трансформированные клетки, ДНК и др. По своей структуре MBL похож на C1q-компонент комплемента. Находясь в димерной форме, MBL взаимодействует с двумя сериновыми протеазами MASP-1 и MASP-2 (*MBL-associated serine protease*). Эти протеазы имеют сходство с C1r и C1s компонентами комплемента.

б. Когда MBL присоединяется к поверхности бактериальной клетки, происходит активация ферментов MASP, которые могут стимулировать лектиновый и альтернативный пути активации комплемента. Лектиновый напоминает классический путь активации. При этом MASP-2 расщепляет C2 и C4 на C2b и C4b, с образованием C3-конвертазы, а последняя — C3 на C3a и C3b. C3b, прочно присоединяясь к клеточной стенке бактерии, может инициировать CD11b/CD18-опосредованный фагоцитоз или образование C5–C9-литического комплекса, что ведёт к элиминации возбудителя из организма.

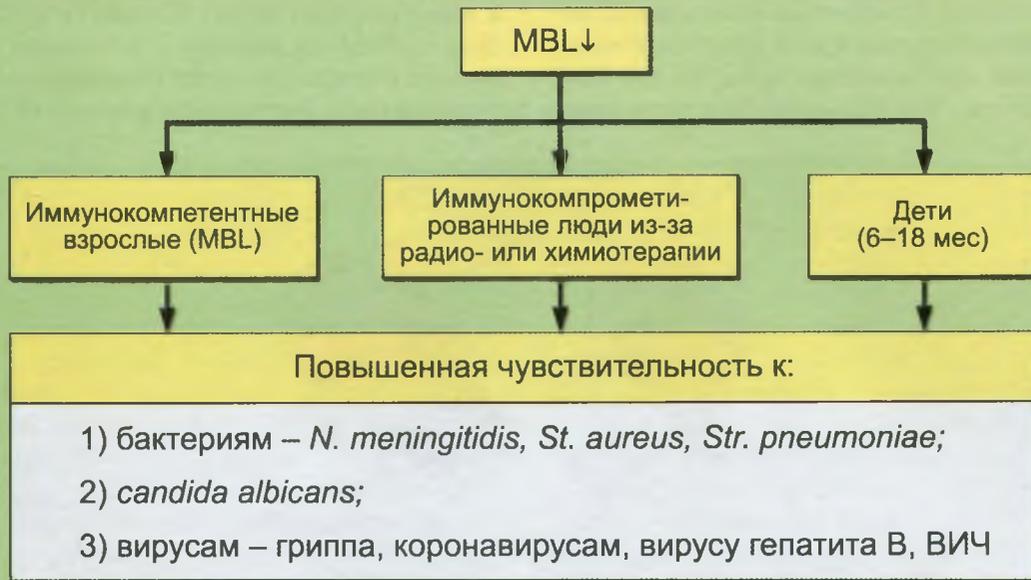


Рис. 162. Роль маннозсвязывающего белка в патологии

В норме у взрослого человека выявляется довольно высокий уровень MBL, от 0,1 до 50 мг/мл. Снижение уровня MBL встречается нередко (до 17% в европеоидной популяции) и обусловлено точечными мутациями в гене MBL. У иммунокомпетентных взрослых это может быть причиной инфекций, вызываемых *N. meningitidis*, *St. aureus*, *Str. pneumoniae*. Однако более тяжёлые и длительно текущие инфекции в результате дефицита MBL наблюдаются у иммунокомпромированных ин-

дивидуумов, в частности после химио- и радиотерапии. У детей в возрасте 6–18 мес имеется физиологическая недостаточность MBL, ведущая к повышенной чувствительности к грибам, вирусам, бактериям. MBL играет важную роль в противовирусной защите. Этот белок, в частности, опсонизирует ВИЧ, эффективно связываясь с gp120, и предотвращает его взаимодействие с Т-клетками. Другой важный защитный путь — это комплемент-зависимый лизис вирусинфицированных клеток.

Лёгкие постоянно подвергаются действию патогенов и аллергенов. Резидентные альвеолярные МФ играют выдающуюся роль в защите лёгочной ткани. Гидрофильные сурфактантные белки Sp-A и Sp-D участвуют вместе с МФ и ДК и НФ (при воспалении)

в этой защите. Мыши с нокаутом Sp-A неспособны к элиминации из лёгких *St. aureus* и *Ps. aeruginosa*. Sp-A и Sp-D связываются с углеводами бактерий, вирусов и грибов, что ведёт к агрегации микроорганизмов и более быстрому фагоцитозу НФ и МФ.

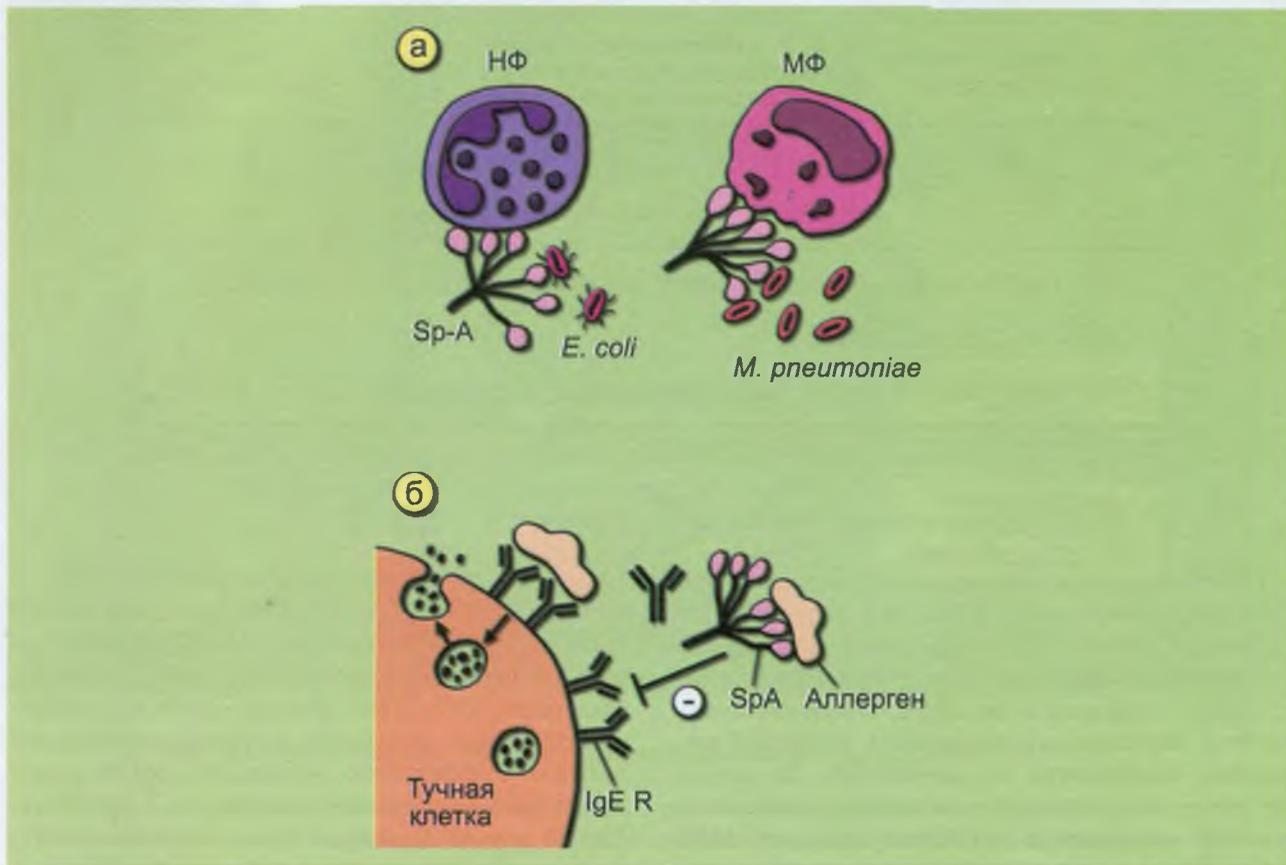


Рис. 163. Роль сурфактантов в защите лёгких от патогенов и аллергенов

- а. Оказалось, что наиболее эффективное усиление фагоцитоза происходит, если сурфактантом вначале обработать МФ или НФ, а затем добавить микроорганизмы. Это показано на модели взаимодействия *Mycoplasma pneumoniae* с МФ и *Escherichia coli* с НФ. Такая ситуация соответствует естественному ходу развития инфекции, так как в норме сурфактанты находятся в тесном контакте с клетками дыхательных путей.
- б. Сурфактанты играют важную роль в предотвращении взаимодействия аллергенов с ТК и базофилами дыхательных путей. Связываясь с углеводными детерминантами аллергена, Sp-A препятствует его взаимодействию с IgE-рецепторами. Не происходит дегрануляции ТК или базофилов и, следовательно, выброса гистамина и других биологически активных веществ.

Глава 2 АДАПТИВНЫЙ ИММУНИТЕТ

2.1. АНТИГЕНРАСПОЗНАЮЩИЕ МОЛЕКУЛЫ И ИХ ЛИГАНДЫ

Антигенраспознающие молекулы (АРМ) являются основными молекулами системы адаптивного иммунитета. Они образованы несколькими полипептидными цепями, которые гетерогенны по N-концевому домену, называемому варибельным (V-домен). Комбинация V-доменов двух полипептидных цепей АРМ формирует антигенсвязывающий участок, или активный центр. Различают АРМ, связанные с мембранами, и растворимые. Мембранные АРМ представляют собой рецепторы, предназначенные для распознавания АГ и включения иммунного ответа. Известны три разновидности мем-

бранных АРМ; две из них присутствуют на поверхности Т-лимфоцитов. Они обозначаются по образующим их полипептидным цепям как $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -TCR. Третий тип мембранных АРМ представляет собой мембранный иммуноглобулин В-лимфоцитов и является основой BCR. Наличие мембранных АРМ является основным и обязательным признаком Т- и В-лимфоцитов. Секретируемые иммуноглобулины (антитела) представляют собой единственный вариант растворимых АРМ и являются основными гуморальными факторами адаптивного иммунитета.

2.1.1. ИММУНОГЛОБУЛИНЫ (АНТИТЕЛА)

Имуноглобулины-антитела явились первыми детально охарактеризованными молекулами иммунной системы.

В связи с этим иммуноглобулины рассматриваются как прототипы АРМ, а также других, структурно родственных молекул, несмотря на большую сложность их строения. Хотя это весьма гетерогенная группа, по своим структурным особенностям и

функции они образуют единый молекулярный тип. Термин «иммуноглобулины» используется для обозначения определённого структурного типа белков, а термин «антитело» — для акцентирования на их функции — специфически взаимодействовать с антигенными детерминантами и выполнять определённые эффекторные иммунологические функции.

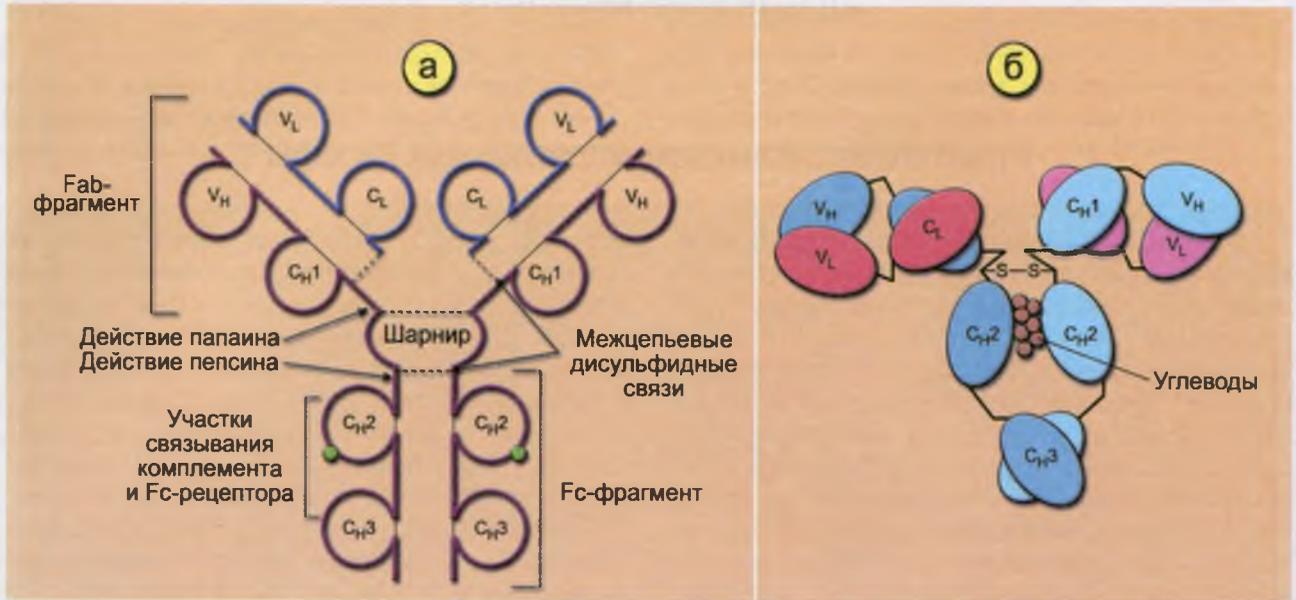


Рис. 164. Схема строения иммуноглобулинов (на примере IgG1). Взаимная ориентация доменов

а. Молекула Ig — мономер, состоит из двух лёгких (от *light*) и двух тяжёлых (от *heavy*) полипептидных цепей. В каждой из них выделяют по несколько доменов — относительно автономных в структурном и функциональном отношении участков (на схеме изображены в виде незамкнутых кружков). Внутри каждого домена имеется дисульфидная связь, стабилизирующая конфигурацию домена. L-цепь содержит два домена — переменный (от *variable*), с NH₂-конца — V_L, и константный (от *constant*), с COOH-конца — C_L. H-цепь содержит четыре домена — один V — V_H и три C — C_{H1}, C_{H2}, C_{H3}. H- и L-цепи соединены дисульфидными связями, расположенными в C-концевой части доменов C_L и C_{H1}. Первый и второй C-домены H-цепи разделены шарнирным участком, гибким в силу большого числа остатков пролина. В шарнирном участке находятся дисульфидные связи, соединяющие H-цепи. Их число различно в иммуноглобулинах разных изотипов. В этом же локусе находятся точки приложения действия протеолитических ферментов — папаина (выше дисульфидных связей) и пепсина (ниже их). В связи с особенностями локализации этих точек при действии папаина образуется три фрагмента — два Fab-фрагмента (от *Fragment antigen-binding*) и Fc-фрагмент (от *Fragment crystallizable*). Каждый из Fab-фрагментов содержит L-цепь (домены V_L и C_L) и два домена H-цепи — V_H и C_{H1}. Fc-фрагмент молекулы Ig включает по два фрагмента H-цепи с доменами C_{H2} и C_{H3}. В домене C_{H2} локализуются сайты гликозилирования (их число различно в Ig разных изотипов). В доменах C_{H2} и C_{H3} находятся участки, обладающие сродством к компоненту C1q-комплемента и к Fcγ-рецепторам.

б. Взаимная ориентация доменов в молекуле IgG1. Гомологичные домены ориентированы друг к другу под углом 45° (по Silverton E.V. и др., 1977).

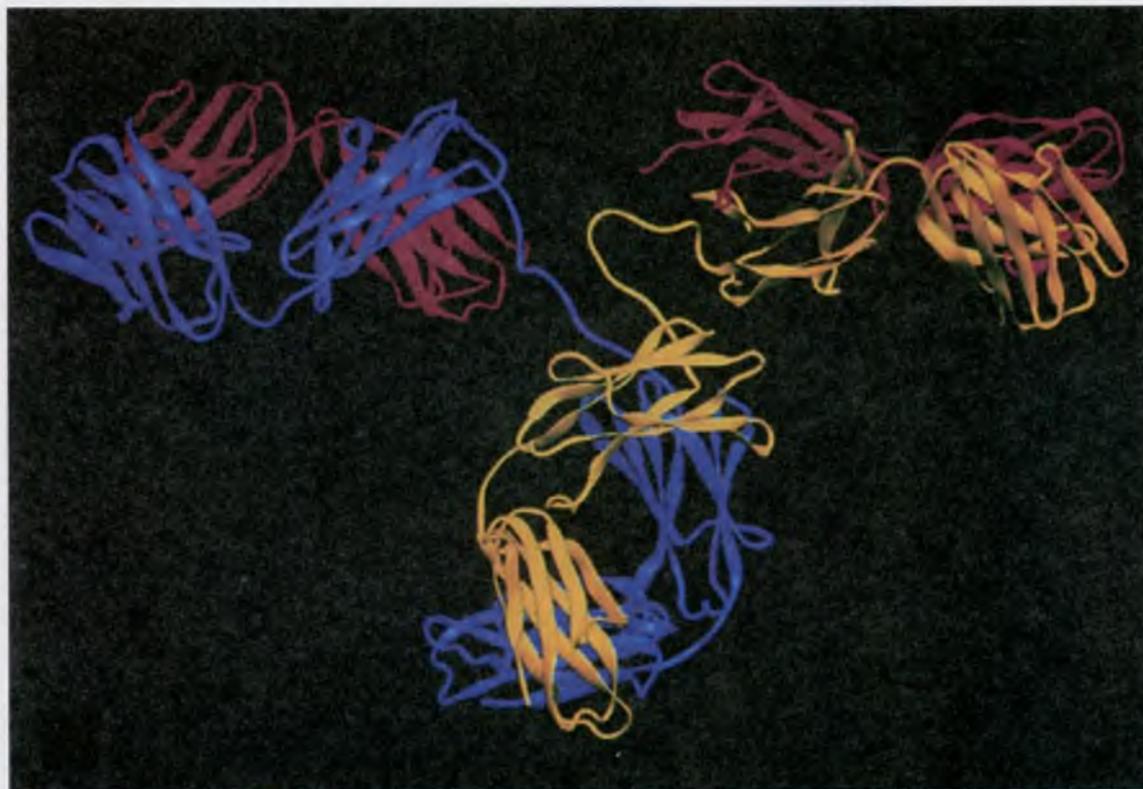


Рис. 165. Трёхмерная модель молекулы IgG, построенная на основе рентгеноструктурного анализа

Жёлтым и синим окрашены тяжёлые цепи, красным — легкие.
Хорошо видна β -складчатая структура доменов (по McPherson A., Harris L.).

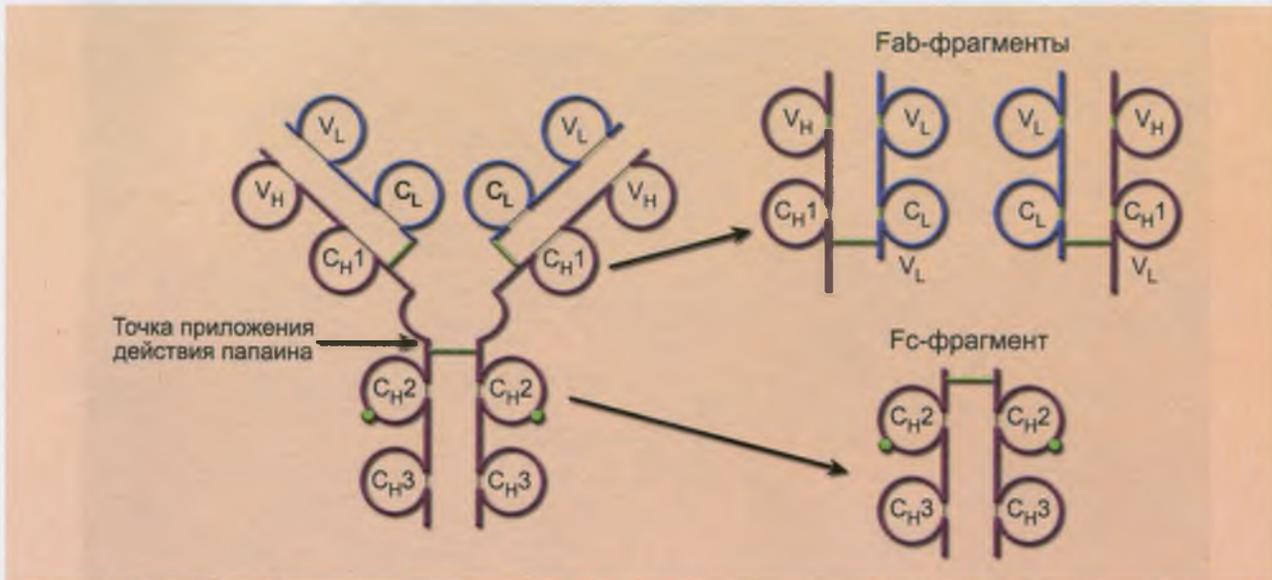


Рис. 166. Фрагментация молекулы IgG с помощью папаина

Протеолитическое расщепление молекулы иммуноглобулина (в данном примере — IgG) папином приводит к образованию фрагментов двух Fab и одного Fc. Fab-фрагменты содержат полную L-цепь и N-концевую половину H-цепи, включающую V- и CH1-домены. Присутствие в них V-доменов H- и L-цепей обеспечивает сохранность структуры антигенсвязывающего участка, что обеспечивает способность специфически связывать АГ. Обработка пепсином, действующим

ниже дисульфидной связи, приводит к образованию двухвалентного фрагмента F(ab)₂. Fc-фрагмент образован двумя C-концевыми половинами H-цепей (домены CH₂ и CH₃), скреплёнными одной или несколькими (в зависимости от субкласса иммуноглобулина) дисульфидными связями (на рисунке отмечены зелёными линиями). В Fc-фрагменте сосредоточены участки, ответственные за связывание комплемента и взаимодействие с Fc-рецепторами.

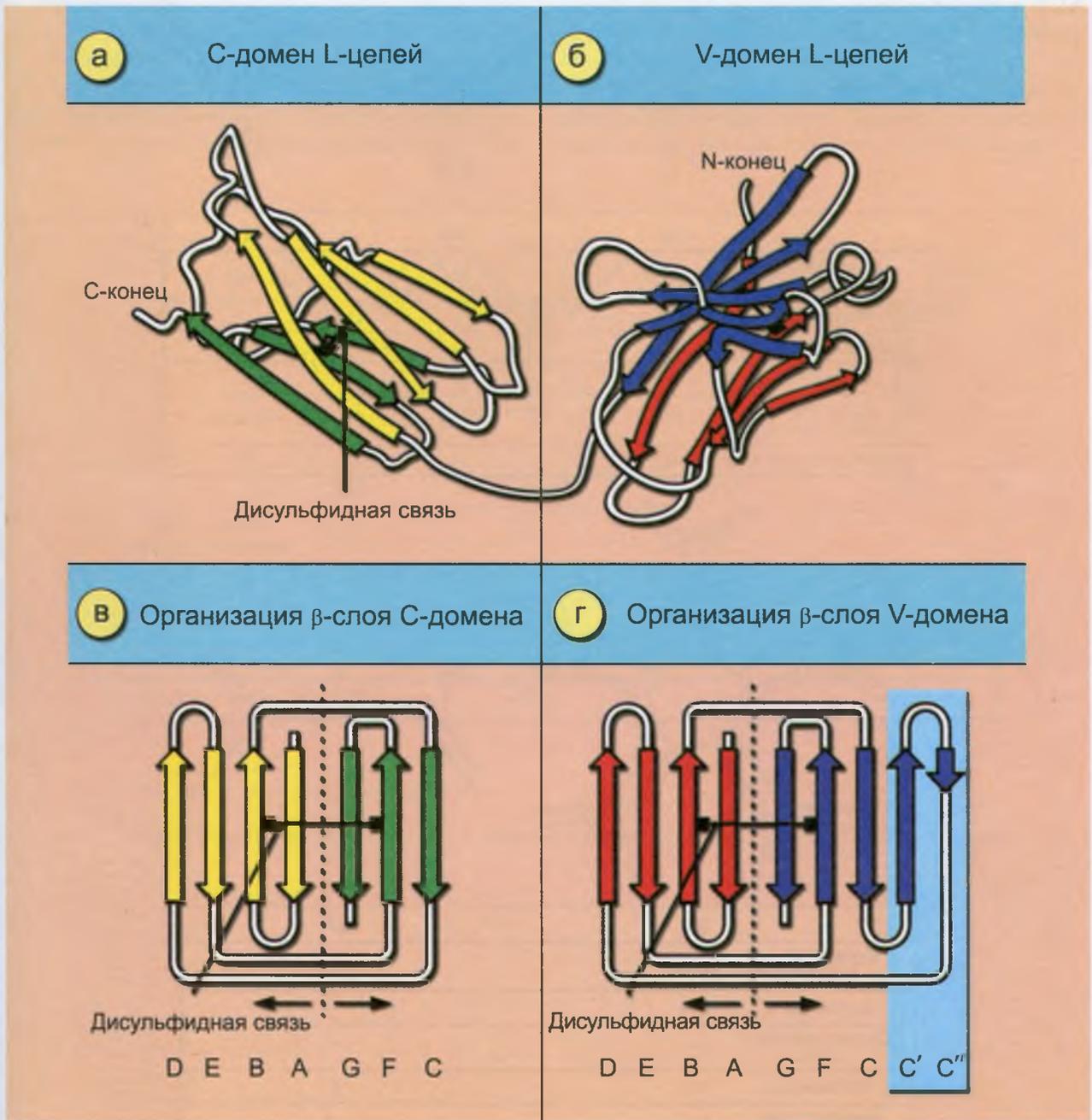
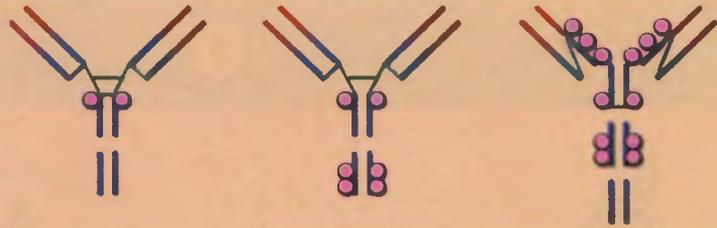


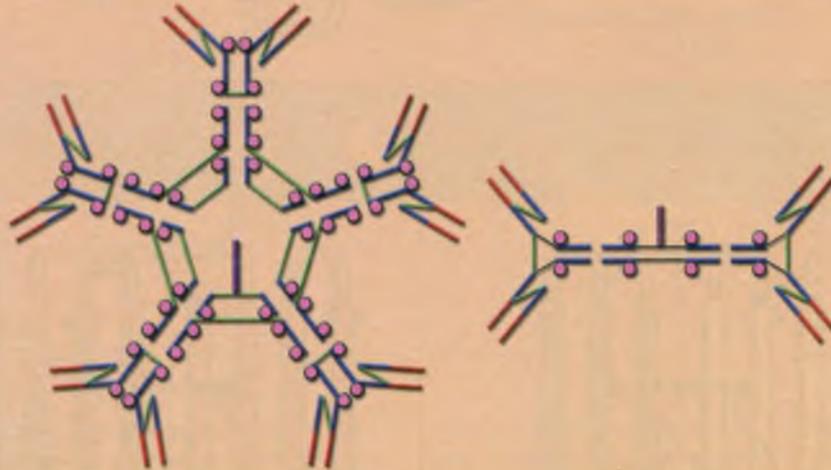
Рис. 167. Схема структуры иммуноглобулиновых доменов (на примере доменов L-цепей)

Вверху — трёхмерная структура доменов: а — константного (С-домена), б — переменного (V-домена) (по Schiffer M. и др., 1975); внизу — двумерная структура тех же доменов (соответственно в и г) (по Williams, Barclay, 1978).

Цветом контрастированы β-слои, расположенные в разных плоскостях (спереди и сзади). V-домен содержит на два β-слоя больше, чем С-домен. С-домен может быть охарактеризован как «4 слоя + 3 слоя», V-домен — «4 слоя + 5 слоёв». Показана локализация дисульфидных связей между слоями В и F.



	IgG	IgD	IgE
Молекулярная масса, кД	146	164	188
Активация C'	+	-	=
Взаимодействие с FcR	+	-	+
Валентность	2	2	2
Концентрация в сыворотке, мг/мл	14	0,03	0,0005
Время полужизни, сут	8-23	3	2,5



	IgM	IgA
Молекулярная масса, кД	970	335
Активация C'	+++	-
Взаимодействие с FcR	-	+
Валентность	5	4
Концентрация в сыворотке, мг/мл	1,5	3,5
Время полужизни, сут	5	6

Рис. 168. Изотипы (классы) иммуноглобулинов

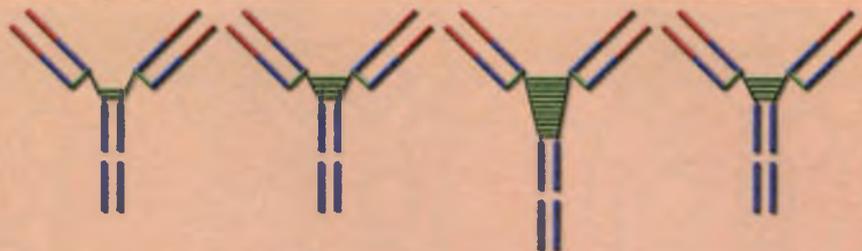
Представлена схема строения иммуноглобулинов пяти основных изотипов.

2.1. Антигенраспознающие молекулы и их лиганды

Красными линиями обозначены V-домены, синими — С-домены, зелёными — дисульфидные связи. Розовые кружки — сайты гликозилирования. IgG, IgD и IgE представляют собой иммуноглобулины-мономеры. IgA является димером, IgM — пентамером; в их составе содержится дополнительная

J-цепь (от *joining*), показана в виде фиолетовой линии. Н-цепи IgM и IgE содержат четыре С-домена, Н-цепи остальных изотипов — три С-домена.

Под схемами даны молекулярная масса, валентность, концентрация молекул в сыворотке крови и ряд функциональных характеристик.



	IgG	IgG2	IgG3	IgG4
Число связей между Н-цепями	2	4	11	4
Связывание С'	++	+/-	+++	-
Взаимодействие с FcR	++	-	++	+/-
Концентрация в сыворотке, мг/мл	9	3	1	0,5
Время полужизни, сут	23	23	8	23

Рис. 169. Субтипы (подклассы) IgG

Представлены схема строения IgG четырёх субтипов и основные характеристики этих молекул.

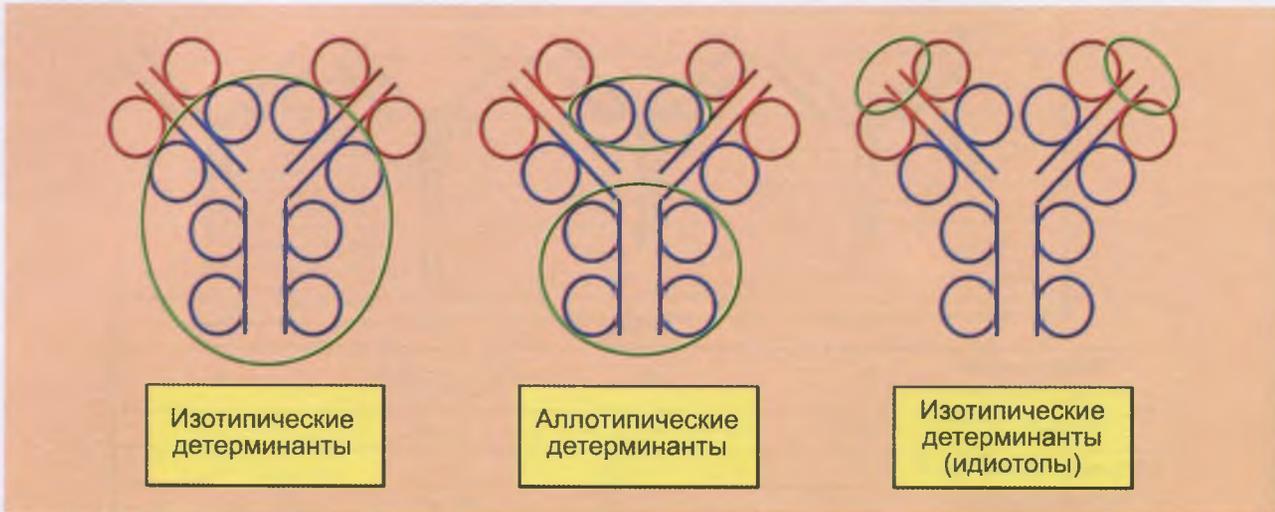


Рис. 170. Локализация антигенных детерминант, характеризующих изотипию, аллотипию и идиотипию иммуноглобулинов

Показана локализация антигенных детерминант трёх типов. Изотипические детерминанты специфичны для разновидностей H- и L-цепей. Они локализуются в их C-доменах (в случае H-цепей — преимущественно в CH2 и CH3). Эти детерминанты позволяют различать κ- и λ-типы L-цепей и γ-, δ-, μ-, α- и ε-классы H-цепей и, соответственно, классы/изотипы иммуноглобулинов (соответственно, IgG, IgD, IgM, IgA, IgE). Изотипические детерминанты позволяют различать также субтипы γ- и α-изотипов (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1, IgA2). Все изотипические детерминанты сосуществуют в каждом организме.

Аллотипические детерминанты отражают генетический полиморфизм полипептидных цепей иммуноглобулинов, являясь аллельными продуктами полиморфных генов. Аллотипы используют в качестве генетических маркёров. Примером аллотипических детерминант являются аллельные варианты систем Gm и Inv (или Km), локализующиеся в γ- и κ-цепях соответственно.

Идиотипические детерминанты находятся в активных центрах (антигенсвязывающих участках) антител, т.е. соединены с V-доменами, и служат маркёрами индивидуальных антител.

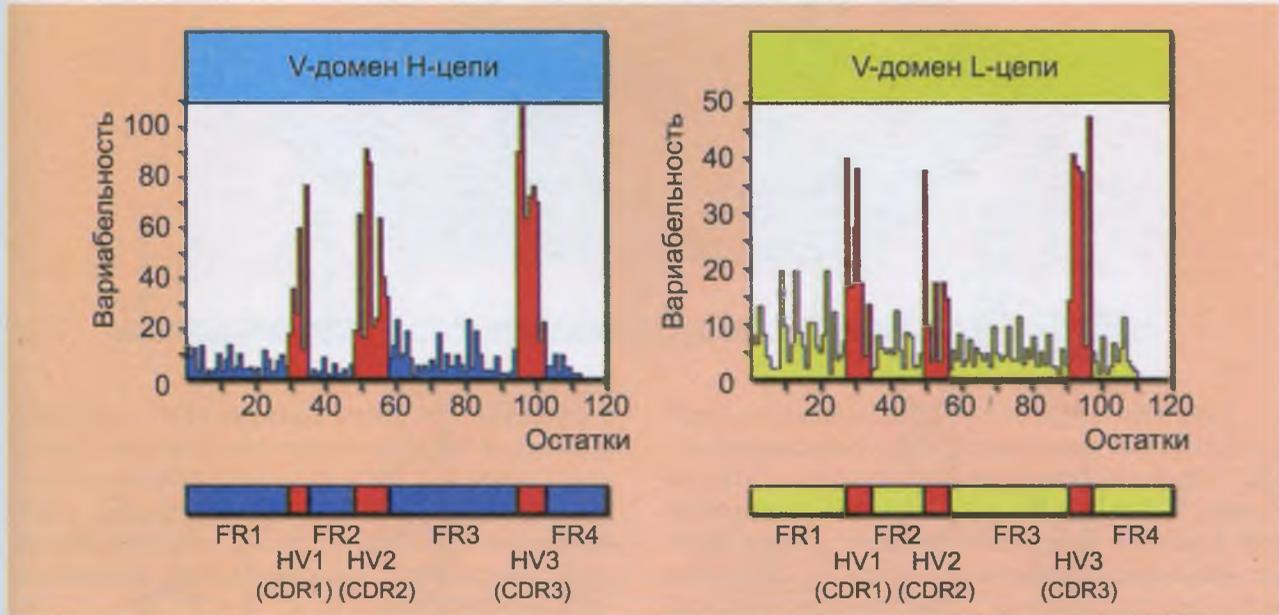


Рис. 171. Локализация гиперварибельных участков, определяющих разнообразие антигенсвязывающих участков антител, в V-доменах Н- и L-цепей

На графиках представлено число вариантов аминокислотных остатков, выявленное в каждой позиции V-доменов цепей L и H. В определённых участках молекул регистрируется значительное превышение уровня variability по сравнению с их остальной частью. Эти участки называют гиперварибельными — HV (от *hypervariable*), или CDR (от *Complementarity-determining region*), а

остальную часть молекул — каркасом — FR (от *Framework region*). В V-доменах Н- и L-цепей имеется по три гиперварибельных участка — HV1, HV2 и HV3 (CDR1, CDR2, CDR3). В L-цепях они занимают позиции 28–35, 49–57 и 91–98, в Н-цепях — 30–36, 48–58 и 94–103. Локализация гиперварибельных участков отмечена на схемах под графиками (по Kabat E.A. и др., 1977).

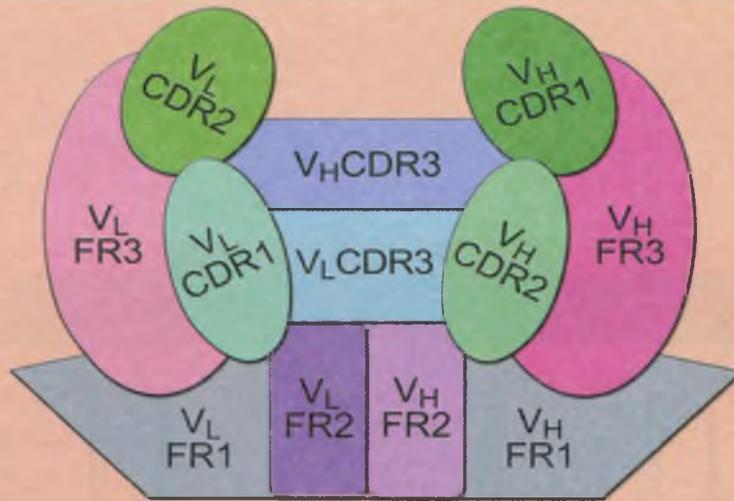


Рис. 172. Вклад различных участков V-доменов Н- и L-цепей в построение антигенсвязывающего центра антител

В схематической форме представлено взаимное расположение каркасных (FVR) и гипервариабельных (определяющих комплементарность, CDR) регионов V-доменов Н- и L-цепей иммуноглобулинов в составе антигенсвязывающего центра антител. Наиболее вариабельные участки — CDR3 обеих цепей располагаются на дне антигенсвязывающей полости, CDR1 и CDR2 формируют её стенки,

а каркасные последовательности (FR1-3) образуют периферию антигенсвязывающего центра. Именно использование CDR в качестве структурной основы антигенсвязывающей полости придает её конфигурации то беспрецедентное разнообразие, которое обеспечивает средство антител к огромному разнообразию эпитопов.

Условные обозначения: см. рис. 171.

Свойство	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgM	IgD	IgA1	IgA2	IgE
Активация комплемента	++ (клас.)	+ (клас.)	+++ (клас.)	-	+++ (клас.)	-	+ (альт.)	-	-
Взаимодействие с Fc-рецепторами	FcγRI, II, III	-	FcγRI, II, III	FcγRI, II ±	-	-	FcαR	FcαR	FcεR (ТК)
Транспорт через плаценту и слизистые оболочки	Плацента +++	Плацента +	Плацента ++	Плацента ±	Слизистые +	-	Слизистые +++	Слизистые ++	-

Рис. 173. Биологические свойства иммуноглобулинов (антител) разных изотипов

Отражены основные свойства Ig, опосредуемые структурами их С-доменов.

Клас. и альт. — классический и альтернативный пути активации компонентов системы комплемента соответственно. FcγI, II, III — типы Fcγ-

рецепторов (см. рис. 175), ТК — тучные клетки, экспрессирующие рецептор Fcε.

Меняющийся спектр цвета, как и количество знаков +, — выраженность указанного свойства.

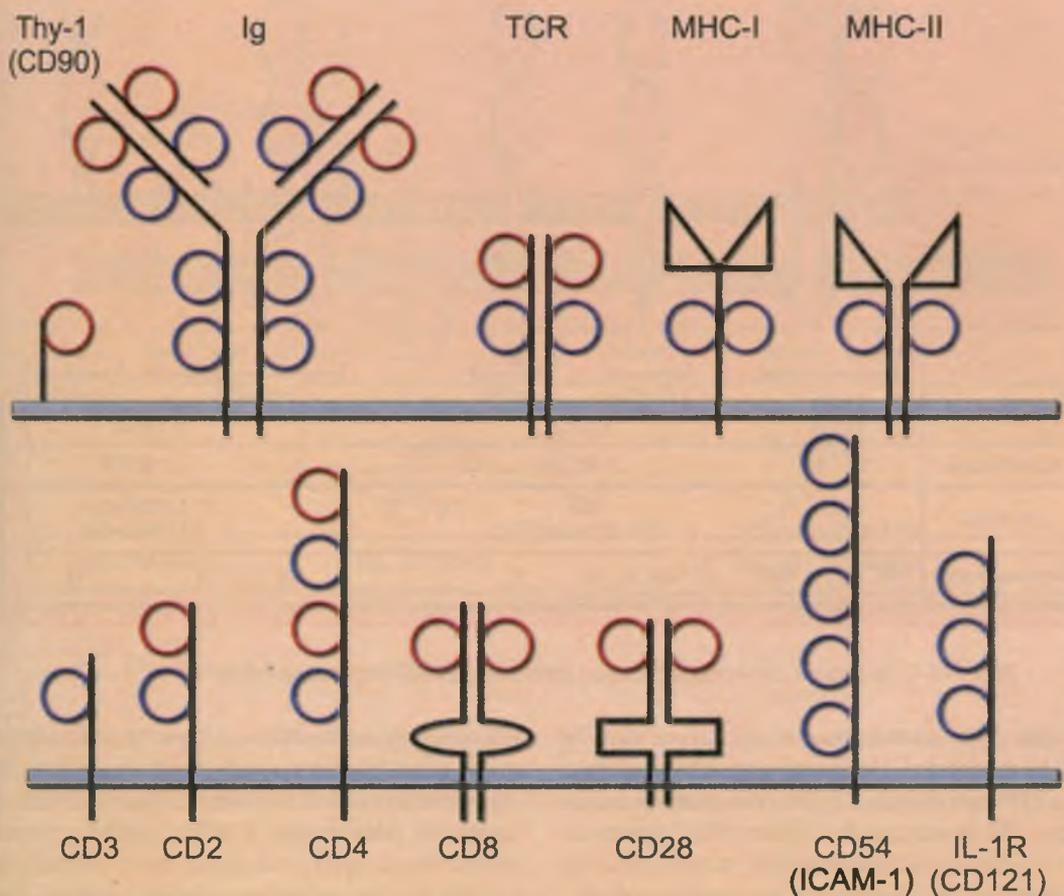


Рис. 174. Суперсемейство иммуноглобулинов

Суперсемейство включает белки (~500), объединенные по строению доменов, структурно сходных с доменами иммуноглобулинов. Представлены некоторые (наиболее важные с иммунологической точки зрения) белки суперсемейства. В зависимости от числа β -цепей их относят к С-типу (4+3 β -слоя)

или к V-типу (4+5 β -слоев). На рисунке иммуноглобулиноподобные домены изображены в виде кружков (V — красные, С — синие). В составе некоторых молекул иммуноглобулиноподобные домены соседствуют с доменами, относящимися к другим семействам (на рисунке им придана иная конфигурация).

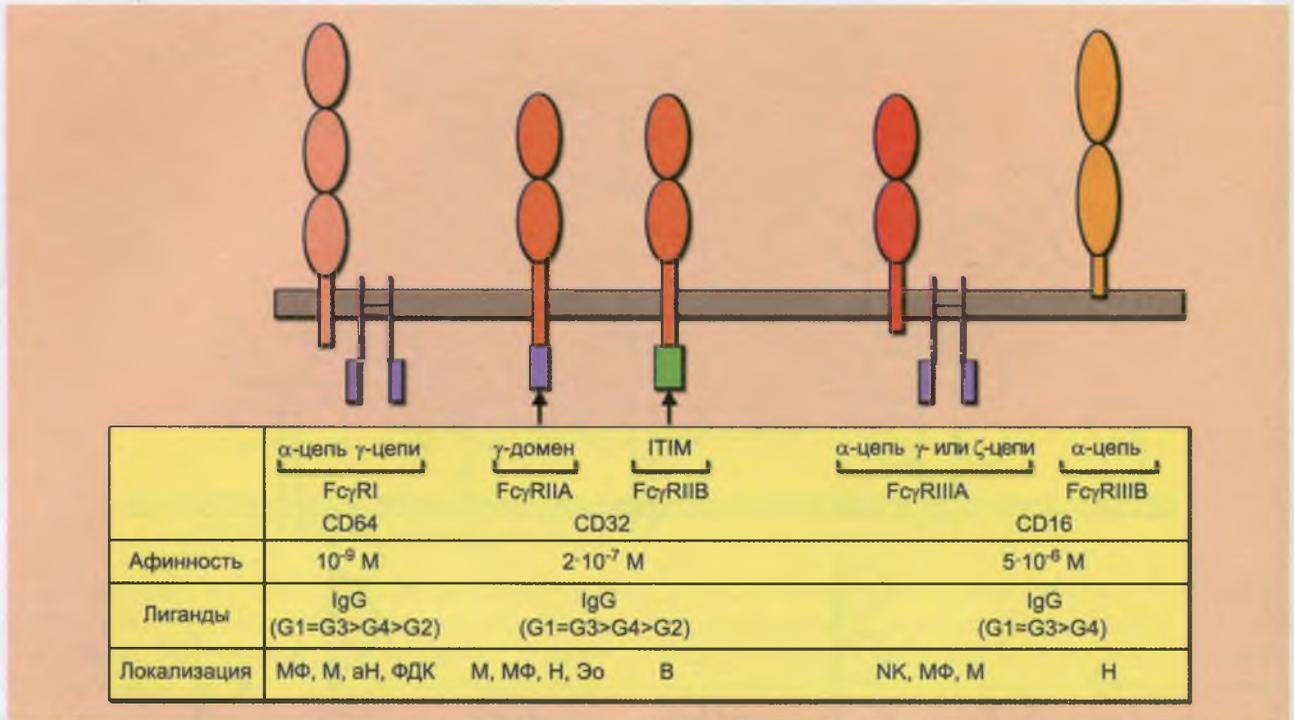


Рис. 175. Строение и свойства основных разновидностей Fcγ-рецепторов

Fcγ-рецепторы различаются по строению и сродству к Fc-части IgG, а также специфичности к различным субтипам IgG. FcγRI содержит в своём составе две полипептидные цепи, из которых α-цепь отвечает за связывание IgG, а γ-цепь — за передачу сигнала (эту функцию осуществляет внутриклеточный γ-домен). Рецепторы типа FcγRII образованы единственной цепью. В зависимости от структуры их внутриклеточной части различают две разновидности этих рецепторов — FcγRIIA и FcγRIIB; в первом случае во внутриклеточной части содержится γ-домен, во второй — последовательность ITIM. Эти особенности определяют функцию рецепторов: FcγRIIA передает стимулирующий, а FcγRIIB — ингибирующий сигнал. FcγRIII также существует в двух вариантах. Вариант FcγRIIIA, подобно FcγRI, содержит IgG-связывающую α- и сигнальную γ- (или ζ-) цепи. FcγRIIIB не обладает сиг-

нальной функцией: его единственная α-цепь закреплена в фосфолипидный слой мембраны и лишена цитоплазматической части. Внеклеточные домены α-цепей рецепторов и единственных цепей FcγRII относятся к суперсемейству иммуноглобулинов.

Условные обозначения: овальными символами обозначены домены, принадлежащие к суперсемейству Ig; ITIM — ингибирующая последовательность иммунорецепторов, содержащая тирозин (см. рис. 300). В нижней части рисунка в строке «Лиганды» в скобках представлены последовательности субтипов IgG, расположенных по убыванию их сродства к данному типу FcγR. Клетки, на которых локализуются Fcγ-рецепторы: Н — нейтрофил, М — моноцит, МФ — макрофаг, Эо — эозинофил, НК — естественный киллер (НК-клетка), В — В-лимфоцит, ФДК — фолликулярная дендритная клетка, буква «а» означает активированные клетки.

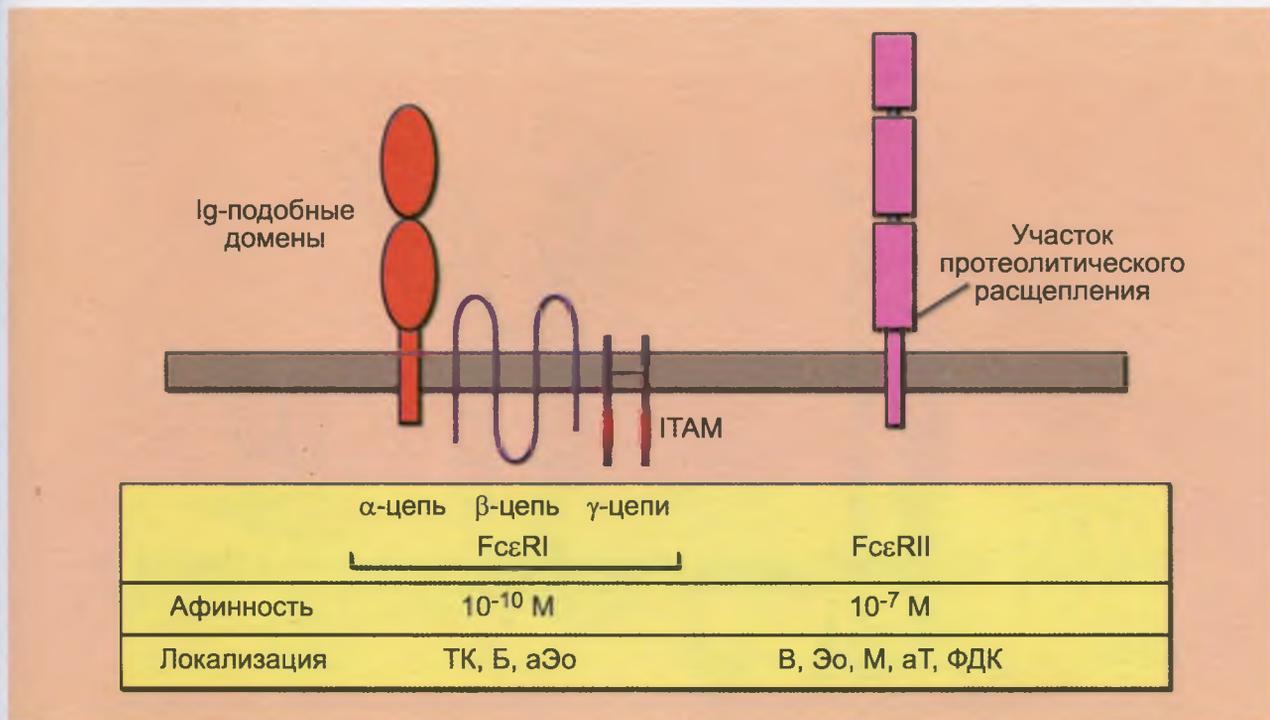


Рис. 176. Строение и свойства Fcε-рецепторов

Известны две разновидности Fcε-рецепторов, отличающиеся по структуре, сродству к Fc-части IgE и по биологической роли. FcεI-рецептор построен аналогично FcγRIIIA, но имеет дополнительную β-цепь, четырёхкратно пронизывающую мембрану. Этому рецептору принадлежит основная роль в запуске дегрануляции ТК — ключевого со-

бытия в развитии реакций гиперчувствительности немедленного типа. FcεII-рецептор структурно не имеет сродства к FcεI-рецептору. Его функциональное назначение полностью не раскрыто; он играет роль в регуляции синтеза IgE.

Условные обозначения: см. рис. 175; ТК — тучная клетка; Б — базофил.

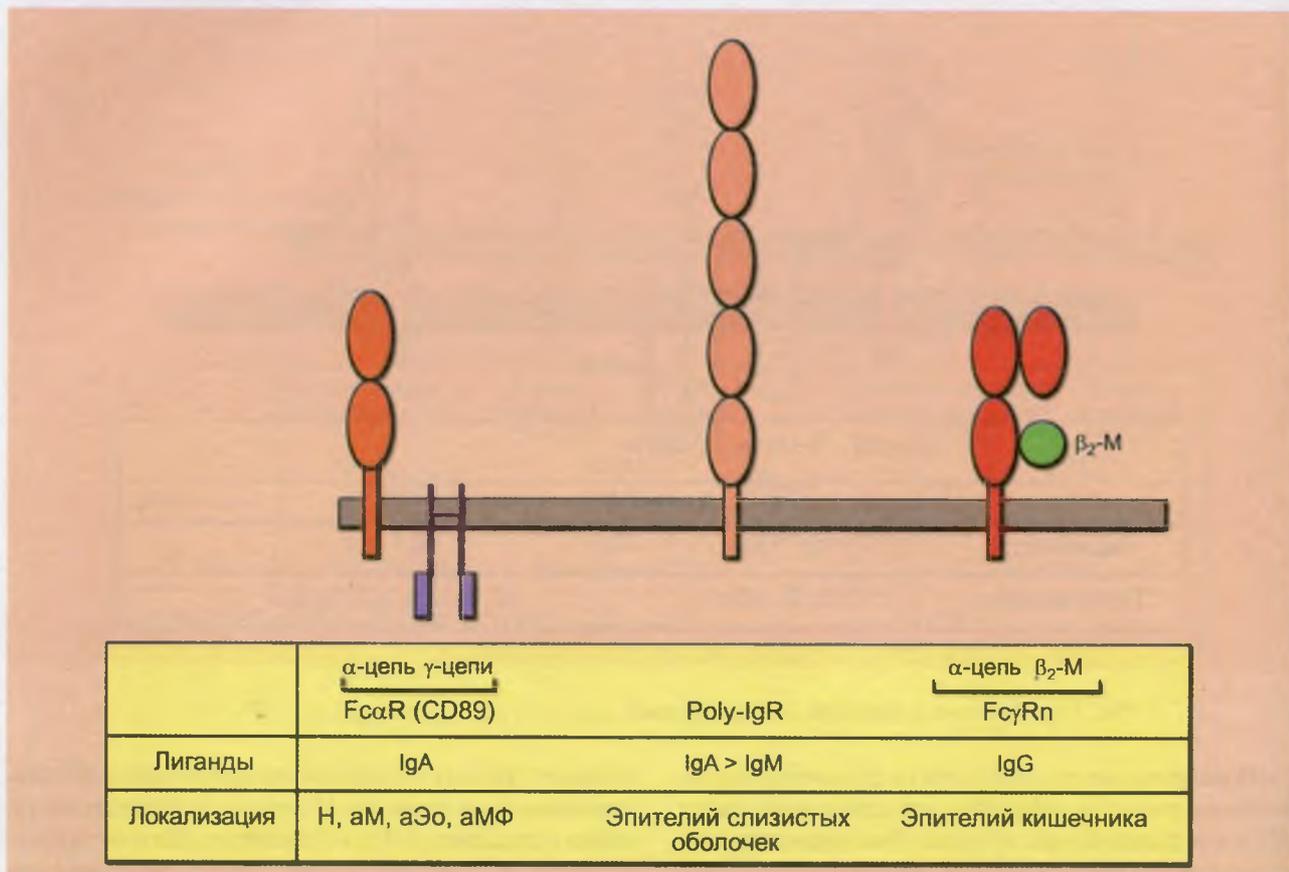


Рис. 177. Fc α -рецептор и Fc-рецепторы, ответственные за транспорт иммуноглобулинов

Fc α -рецептор структурно сходен с рецепторами Fc γ RIIIA и Fc ϵ IR; его α -цепь принадлежит к суперсемейству Ig. Его функция практически не изучена. Рецептор Poly-IgR предназначен для транспорта полимерных иммуноглобулинов (IgA, IgM) через стенку слизистых оболочек. Его фрагмент, связанный с этими молекулами, обозначается как секреторный компонент (SC). Рецептор Fc γ Rn отвечает

за транспорт IgG, поступающего в кишечник ребёнка с молозивом или молоком, а затем — через кишечную стенку в кровотоки ребёнка.

По структуре он аналогичен молекулам MHC класса I (см. рис. 210–211) и содержит в своем составе β_2 -микроглобулин, нековалентно связанный с α -цепью.

Условные обозначения: см. рис. 175.

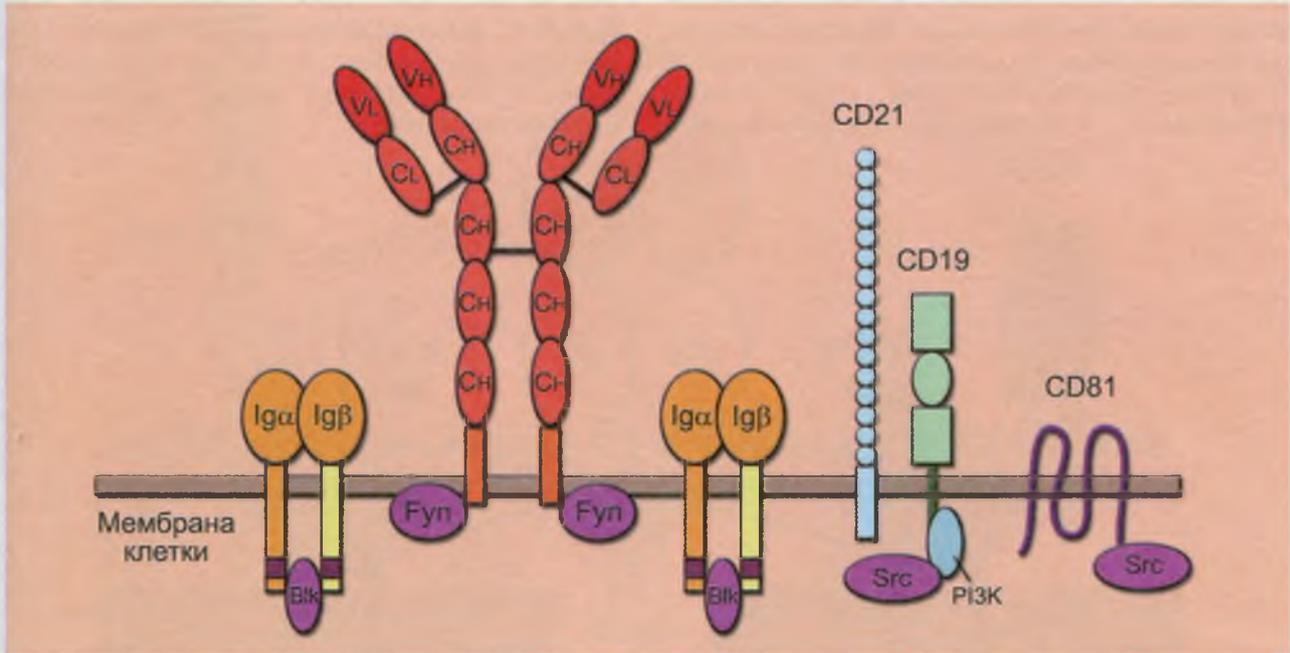


Рис. 178. Схема В-клеточного рецептора и связанных с ним молекул

BCR обеспечивает специфическое связывание АГ и обуславливает клональную принадлежность В-клетки. Основным компонентом BCR является молекула мембранного иммуноглобулина (на наивных В-клетках — мономерный IgM и IgD). Рецептор отличается от антител соответствующей специфичности наличием трансмембранного и цитоплазматического участков. Сигнальную функцию рецептора выполняют два гетеродимера Igα/Igβ (CD79A/CD79B), цитоплазматическая часть которых связана с Src-тирозинкиназами Fyn, Lyn и Btk (см. рис. 303).

и с киназой Syk. Вспомогательными структурами BCR являются молекулы CD19, CD21 и CD81, существенно усиливающие активность сигнала, генерируемого BCR. С молекулой CD19 связаны Src-тирозинкиназы Lyn и Fyn, а также липидная киназа PI3K, что определяет её сигнальную функцию. CD21 является рецептором для компонента комплемента C3d (CR2), участвующим в распознавании комплексов АГ-АТ-C3b (см. рис. 309). Молекула CD81 четырёхкратно пронизывает мембрану; она также связана с Src-киназами.

2.1.2. АНТИГЕНРАСПОЗНАЮЩИЕ РЕЦЕПТОРЫ Т-КЛЕТОК

Открытые значительно позже антител, антигенраспознающие молекулы Т-клеток охарактеризованы менее детально, чем иммуноглобулины-антитела. Это обусловлено также отсутствием растворимых форм этих молекул, что существенно затрудняет их изучение. Термин TCR используют в двух смыслах — для обозначения всего рецептор-

ного комплекса Т-клеток (по аналогии с BCR) и его антигенспецифической составляющей — димера $\alpha\beta$ или $\gamma\delta$ (их аналогом в BCR служит мембранный иммуноглобулин). Структурно TCR устроены значительно проще, чем иммуноглобулины, и по доменному составу соответствуют L-цепям последних.

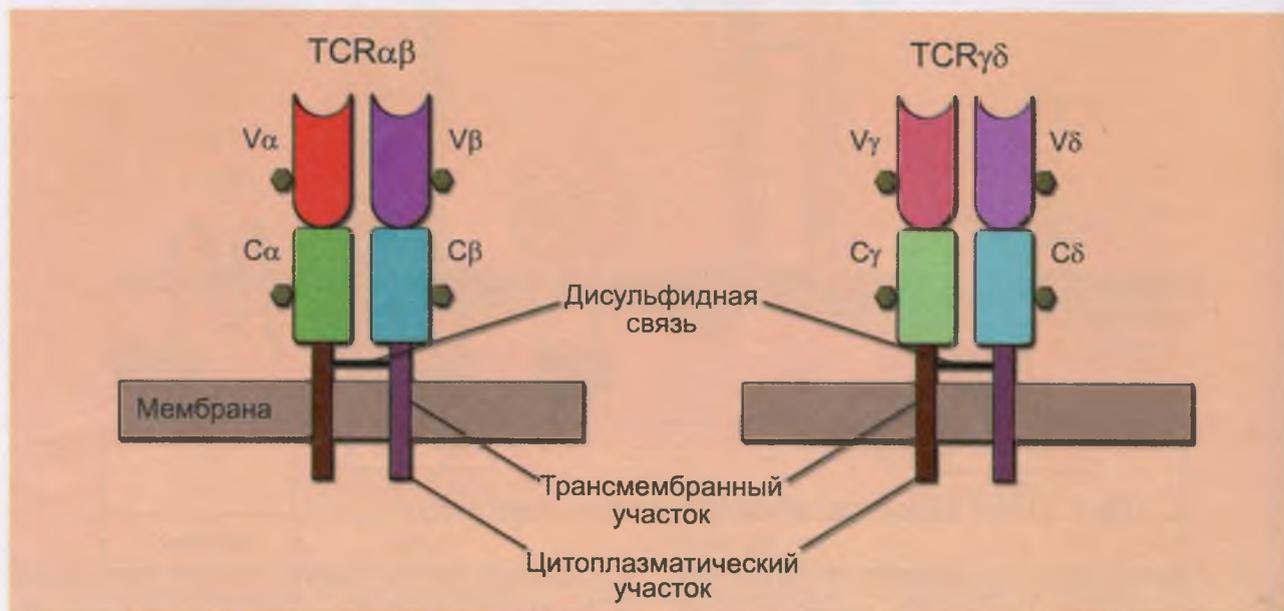


Рис. 179. Строение антигенраспознающих молекул Т-клеточных рецепторов

Димеры $\alpha\beta$ и $\gamma\delta$ имеют аналогичное строение. Внеклеточный участок каждой полипептидной цепи содержит по два домена — наружный (N-концевой) V-домен и расположенный ближе к мембране C-домен. V-домен содержит участок, распознающий антигенный пептид и прилежащую к нему

часть молекулы МНС. Каждый домен имеет по участку гликозилирования (отмечены шестиугольниками). Непосредственно над мембраной цепи соединены дисульфидной связью. Рецепторы содержат также трансмембранный (положительно заряженный) и короткий цитоплазматический участки.

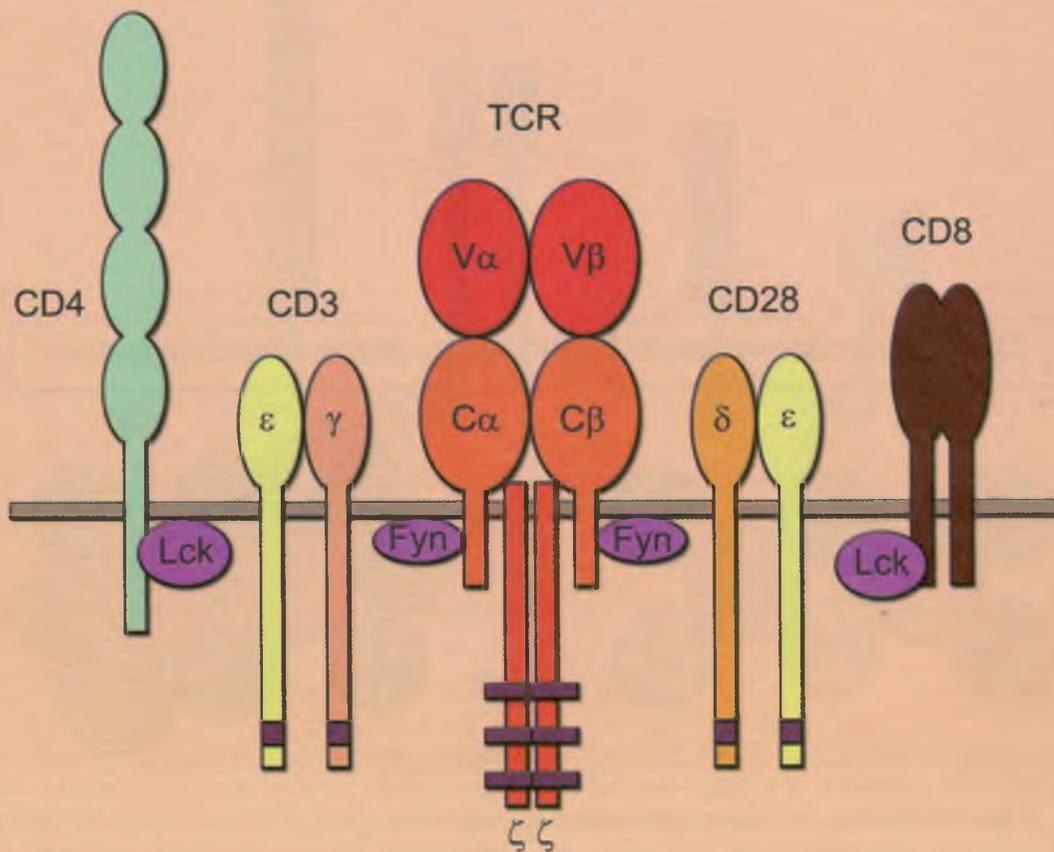


Рис. 180. Схема Т-клеточного рецептора и связанных с ним молекул

Антигенраспознающий комплекс Т-клеток включает TCR и связанные с ним молекулы. Основным компонентом TCR служит димер (на приведенном примере — $\alpha\beta$), который выполняет антигенраспознающую функцию. Кроме того, рецепторный комплекс содержит вспомогательные молекулы четырех типов, объединенные в три димера — $\gamma\epsilon$, $\gamma\epsilon$ и $\zeta\zeta$. Первые два обозначаются как CD3. Между α -и β -цепями и между ζ -цепями имеются дисульфидные связи. γ - и ϵ -цепи, а также δ - и ϵ -цепи связаны нековалентно.

В цитоплазматической части вспомогательных цепей содержится последовательность ITAM — ключевая структура для передачи сигнала (см. рис. 300—

301) — по одной в γ -, δ - и ϵ -цепях и по три в ζ -цепях (обозначены темно-фиолетовым цветом). С TCR связана тирозинкиназа Fyn семейства Src. TCR типа $\gamma\delta$ имеет такое же строение и отличается от TCR $\alpha\beta$ только составом антигенраспознающего димера.

Коррецепторы CD4 и CD8 не являются интегральной частью TCR. Обычно они отсутствуют на клетках, несущих TCR $\gamma\delta$. На мембране TCR $\alpha\beta^+$ -клеток связь коррецепторов с TCR устанавливается в процессе презентации АГ. Их функция состоит в повышении сродства рецептора к комплексу пептид-молекула МНС. Цитоплазматические части обоих коррецепторов нековалентно связаны с Src-тирозинкиназой Lck. Подробнее о коррецепторах см. рис. 182.

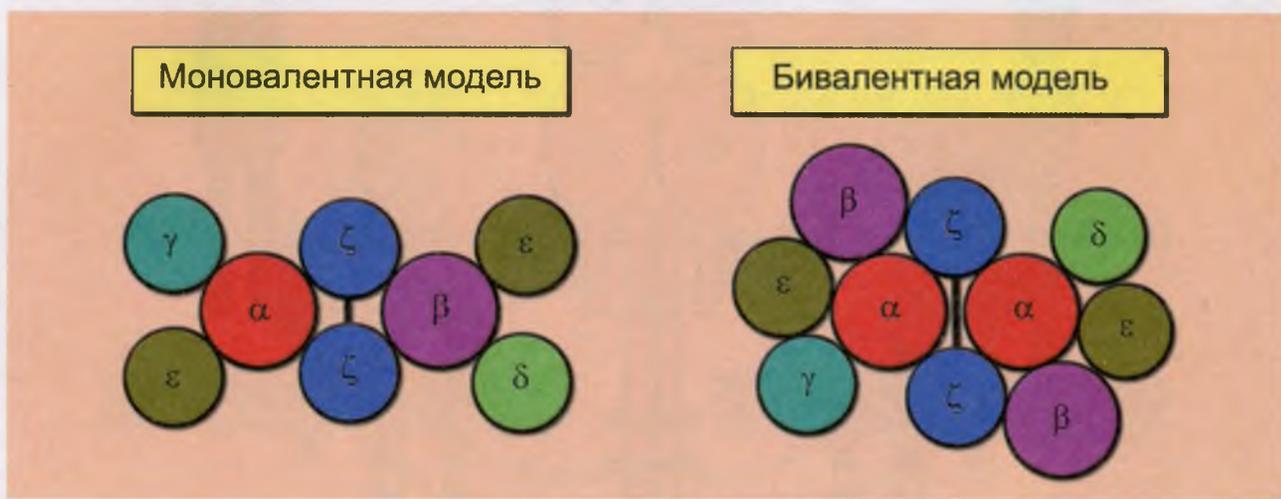


Рис. 181. Модели строения Т-клеточного рецептора

Допускается несколько вариантов строения TCR. Согласно моновалентной модели в составе комплекса содержится по одному димеру $\alpha\beta$ (или $\gamma\delta$), $\gamma\epsilon$, $\delta\epsilon$ и $\zeta\zeta$ (не следует путать γ - и δ -цепи антигенраспознающего димера TCR и вспомогательных молекул комплекса CD3). В соответствии с бива-

лентной теорией комплекс содержит два димера $\alpha\beta$ (или $\gamma\delta$).

Согласно модели (наиболее широко принятой) один из димеров $\alpha\beta/\gamma\delta$ связан с димером $\gamma\epsilon$, другой — с димером $\delta\epsilon$, тогда как димер $\zeta\zeta$ связан с обоими димерами $\alpha\beta/\gamma\delta$.

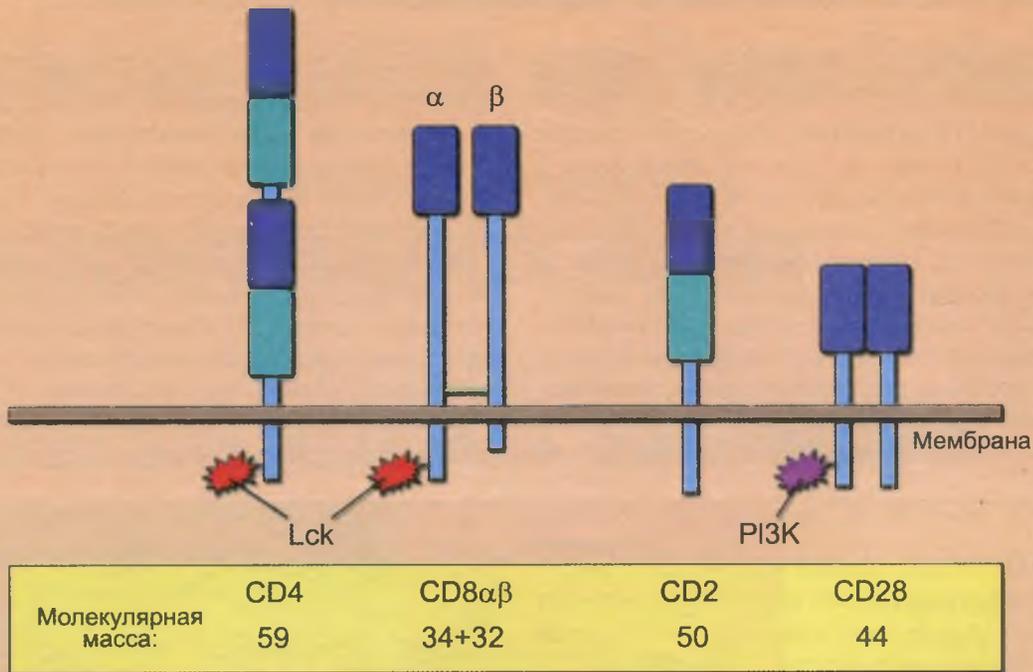


Рис. 182. Вспомогательные молекулы Т-лимфоцитов

Вспомогательные молекулы способствуют процессу распознавания АГ, но, являясь мономорфными, не могут осуществлять его самостоятельно. Наиболее важные вспомогательные молекулы Т-клеток относятся к суперсемейству иммуноглобулинов (см. рис. 174). Молекулы CD4 и CD8 называют корецепторами; они обладают сродством к молекулам МНС классов I и II и, соответственно, повышают сродство рецептора к комплексу пептид-молекула МНС.

Будучи связаны с тирозинкиназами Lck, корецепторы принимают участие в формировании внутриклеточного сигнала, хотя и не имеют последовательностей ITAM. CD4 — мономер, цитоплазматическая часть которого содержит четыре домена — по два V- и C-типов. CD8 — димер; на цитотоксических Т-лимфоцитах он экспрессируется в виде гетеродимера с цепями α (взаимодействует с МНС-I) и β. Обе цепи по одному V-домену. На части Т-лимфоцитов слизистой оболочки кишечника CD8 экспрессируется в виде гомодимера αα. В обоих случаях полипептидные цепи соединены дисульфидной связью.

CD2 (LFA-2) — молекула адгезии, содержащая по одному домену V- и C-типа. Молекула не связана с киназами и не является сигнальной. Она играет роль при формировании иммунного синапса между Т-лимфоцитом и антигенпрезентирующей клеткой или клеткой-мишенью. Её лигандом является молекула CD58 (LFA-3).

CD28 — основная костимулирующая молекула Т-клетки (см. рис. 297–299), гомодимер полипептидных цепей, содержащих домены V-типа. Цитоплазматическая часть молекулы связана с липидной киназой PI3K. Лигандами для CD28 служат молекулы CD80 и CD86 антигенпрезентирующих клеток. Костимулирующий сигнал, который поступает в Т-клетку через CD28, является обязательным дополнением к сигналу, возникающему при распознавании АГ Т-клеткой через TCR: только сочетание этих сигналов вызывает активацию Т-клетки.

Условные обозначения: тёмно-синим окрашены Ig-подобные домены V-типа, зелёным — домены C-типа. Звёздчатые структуры означают тирозинкиназы. Дисульфидные связи помечены зелёными линиями.

2.1.3. ГЕНЫ АНТИГЕНРАСПОЗНАЮЩИХ МОЛЕКУЛ И ИХ ПЕРЕСТРОЙКА

Потребность в формировании миллионов вариантов молекул антител и TCR для распознавания всего спектра антигенных детерминант может быть выполнена лишь при условии присутствия в организме соответствующего числа генов, кодирующих вариабельные домены антигенраспознающих молекул, что существенно превосходит весь наличный арсенал генов зародышевых клеток. В реальности число V-генов антигенсвязывающих белков в зародышевых клетках составляет несколько сотен. Проблема решается на уровне соматических клеток путем формирования соответствующей степени разнообразия V-генов в ходе развития

лимфоцитов. Этот процесс называют перестройкой, или реаранжировкой, V-генов. В случае В-лимфоцитов дополнительным инструментом формирования разнообразия V-генов является резко усиленный мутагенез этих генов в ходе иммунного ответа. Гены, кодирующие константные домены (С-гены), не подвергаются перестройке, но в В-клетках в занимаемом С-генами участке хромосом также происходят структурные изменения, обуславливающие последовательность пространственного сближения различных С-генов с V-генами, что обеспечивает смену изоформ синтезируемых иммуноглобулинов.

Сегмент V-гена и другие характеристики	Гены иммуноглобулинов			Гены Т-клеточного рецептора			
	Гены L-цепей		Гены H-цепей	Гены TCR $\alpha\beta$		Гены TCR $\gamma\delta$	
	V κ	V λ	V H	V α	V β	V γ	V δ
Вариабельный (V)	40 (18)	71 (30)	129 (45)	54 (45)	65 (41)	15 (6)	3
Формирующий разнообразие (D)	-	-	12	-	2	-	3
Соединительный (J)	4	4	14	61	14	5	4
Локализация (номер хромосомы)	2p	11q	14q	14q	7q	7p	14q (внутри V α -гена)
Размер участка (тыс пар оснований)	Около 100	98	957	1000	620	160	60

Рис. 183. Характеристика V-генов антигенраспознающих структур

Представлены основные характеристики семи известных вариабельных генов, определяющих формирование антигенраспознающих структур лимфоцитов. В строке «Вариабельный (V)» указано число зародышевых V-генов соответствующих типов; в скобках отмечено количество функционирующих ге-

нов (остальные — псевдогены). В соответствующих строках выделено число сегментов D (где они есть) и J, которые участвуют в формировании зрелого V-гена. Указан размер участка на соответствующих хромосомах, занимаемый сегментами, из которых в процессе реаранжировки формируется зрелый V-ген.

2.1. Антигенраспознающие молекулы и их лиганды

Схема локуса *IGHV* человека. Хромосома 14q – 967 тыс пар оснований



Схема локуса *IGKV* человека. Хромосома 2p



Схема локуса *IGLV* человека. Хромосома 22q



Рис. 184. Структура локусов *IG* человека, кодирующих тяжёлые цепи иммуноглобулинов

Показано строение генетических участков и их фрагментов, из которых формируются зрелые V-гены Ig. В каждом комплексе имеется лидирующий (L) участок, несколько V- и J-сегментов, а в генах *IGH* — также D-сегменты. С 3' конца к J-сег-

ментам примыкают константные (C-) гены. В комплексе генов L-цепей имеется три тандема Jλ — Cλ, тогда как в комплексах генов H- и κ-цепей кластеры J-сегментов предшествуют единственному C-гену.

Схема локуса *TRAV/TRDV* ($TCR\alpha$ и δ) человека. Хромосома 14q – 1000 тыс пар оснований



Схема локуса *TRBV* ($TCR\beta$) человека. Хромосома 7q – 620 тыс пар оснований



Схема локуса *TRGV* ($TCR\gamma$) человека. Хромосома 7p – 160 тыс пар оснований



Рис. 185. Структура локусов *TR* человека, кодирующих T-клеточный рецептор

Отражено строение генетических участков, из фрагментов которых строятся зрелые гены *TCR*. Оно аналогично строению соответствующих участков, содержащих гены *IG*. D-сегменты содержатся только в генах *TRB* и *TRD*. Ген *TRDV* является фрагментом гена *TRAV*, поскольку находится внутри не-

го. Vα-сегменты локализируются правее (с 5'-конца) комплекса *TRD*-генов, тогда как J-сегменты и Cα-ген — левее его (с 3'-конца). В комплексах *TRB* и *TRG* содержится по два C-гена, перед каждым из которых локализируются кластеры J-сегментов, а в гене *TRB* — также D-сегментов.

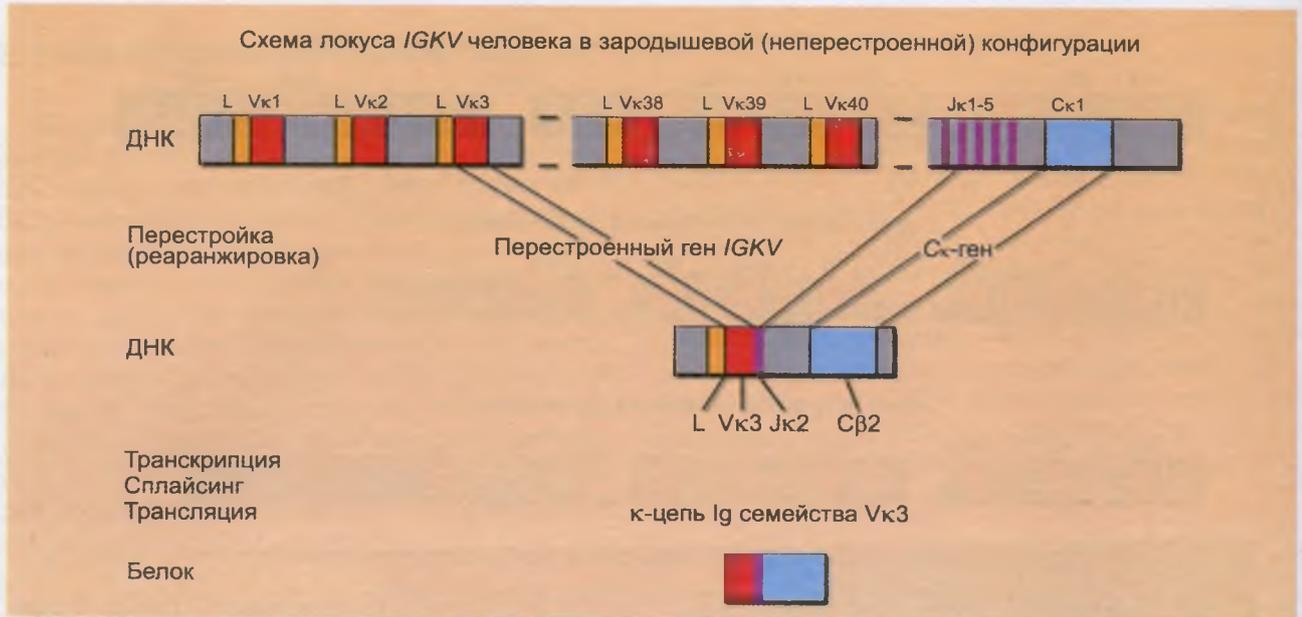


Рис. 186. Схема перестройки V-генов Ig на примере генов к-цепи

Суть реаранжировки V-генов состоит в том, что изымаются участки между произвольно выбранными сегментами V и J, в результате чего названные сегменты сближаются. Так, из элементов зародышевых генов формируется зрелый V-ген. Он подвергается транскрипции.

Образующаяся мРНК подвергается сплайсингу; при этом удаляются участки, кодируемые L-сегментом, а также локусы между продуктами V- и C-генов. Процессированная РНК транслируется в виде полипептидной цепи, содержащей V- и C-домены.

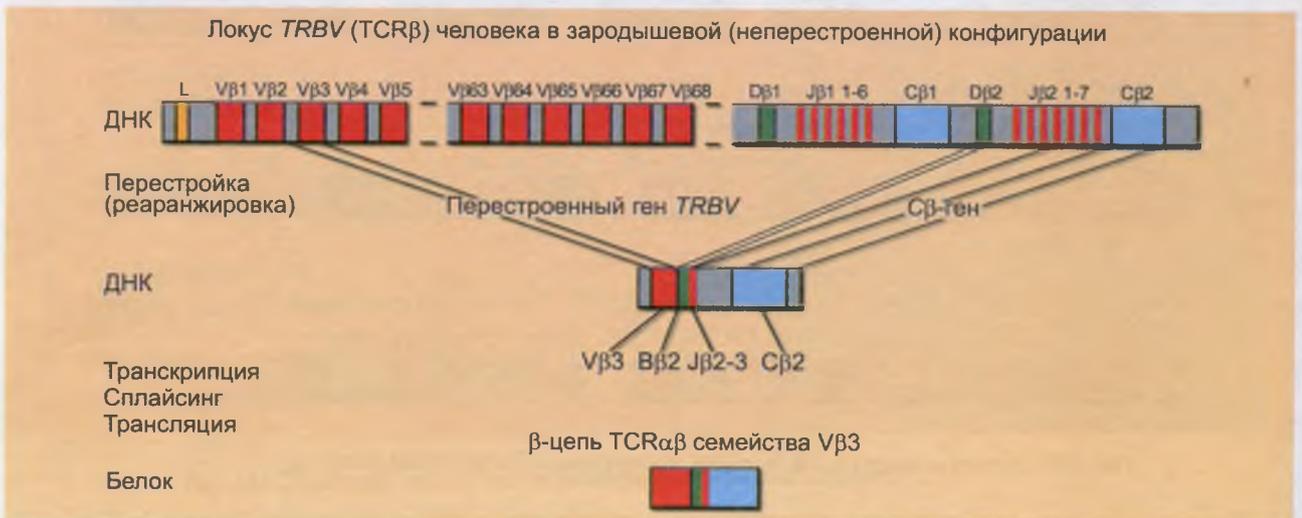


Рис. 187. Схема перестройки V-генов TCR на примере генов β -цепи

Перестройка генов *TRB* происходит в принципе так же, как перестройка гена *IGK* (см. рис. 186).

Отличие состоит в наличии в зародышевом *TRB*-гене D-сегментов и во включении одного из них в состав зрелого гена.

СОСТАВ РЕКОМБИНАЦИОННОГО КОМПЛЕКСА

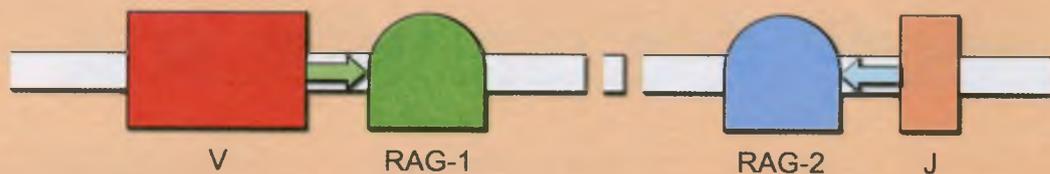
1. Рекомбиназы RAG-1 и RAG-2 (димеризуются в процессе перестройки V-генов) – ответственны за осуществление двунитевых разрывов ДНК
2. ДНК-лигаза IV – ответственна за сшивку разрывов ДНК
3. ДНК-зависимая протеинкиназа – ответственна за обеспечение «разрешения» шпилек (повторные одностранные разрывы ДНК в участках ее временного воссоединения)
4. Терминальная дезоксирибонуклеотидилтрансфераза (TdT) – ответственна за нематричный синтез олигодезоксирибонуклеотидов (формирование N-вставок)
5. Белки Ku70 и Ku86, образующие гетеродимер, – ответственны за сближение фрагментов ДНК в зоне перестройки гена

Рис. 188. Рекомбинационный комплекс

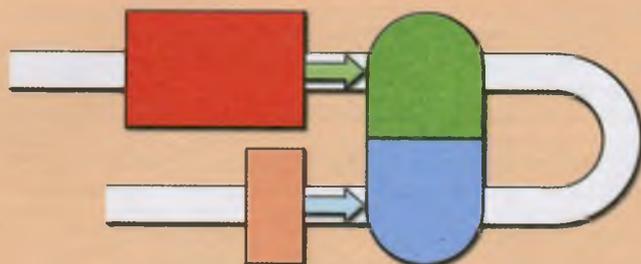
Сигналом к перестройке V-генов антигенраспознающих рецепторов В- и Т-клеток служит экспрессия генов рекомбинационного комплекса, обеспечивающего основные события на уровне перестраиваемых V-генов и прилегающих генетических сегментов. Комплекс включает ферменты, катализирующие одно- и двунитевые разрывы ДНК,

их сшивание, нематричную достройку свободных концов нитей ДНК, а также белки, способствующие сближению пространственно разъединённых фрагментов ДНК. Включение экспрессии генов рекомбинационного комплекса обусловлено действием дифференцировочных факторов (в случае Т-клеток — факторов семейства Notch).

Исходная конфигурация сегментов V и D. Экспрессия RAG-1 и RAG-2



Димеризация RAG-1/RAG-2 и формирование петли



Формирование разрывов ДНК, шпилек и сигнального кольца

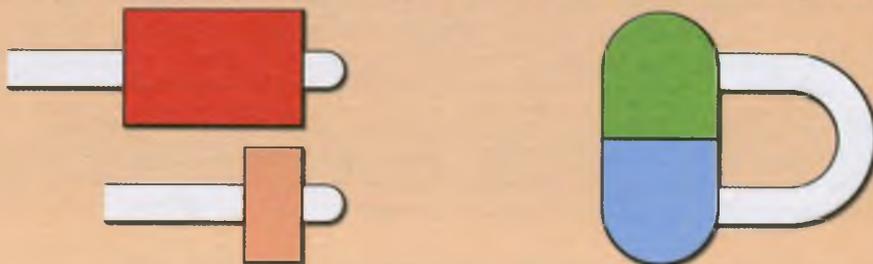


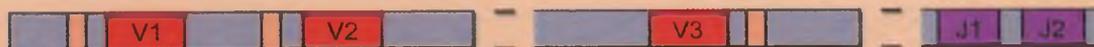
Рис. 189. Роль рекомбиназ RAG-1 и RAG-2 в начальных событиях перестройки V-генов

Процесс реаранжировки начинается с экспрессии генов RAG-1 и RAG-2. Ферменты RAG-1 и RAG-2 присоединяются к случайно выбранным местам рядом с сегментами, которым предстоит войти в состав зрелого V-гена. Затем они димеризуются, что определяет формирование петли. После этого происходят разрывы двунитевой ДНК между сайтом связывания фермента и соответствующим сегментом. Свободные концы нитей сшиваются при участии ДНК-лигазы IV с образованием шпильки. Затем под влиянием эндонуклеазы происходит повторный разрыв нити ДНК в шпильке и

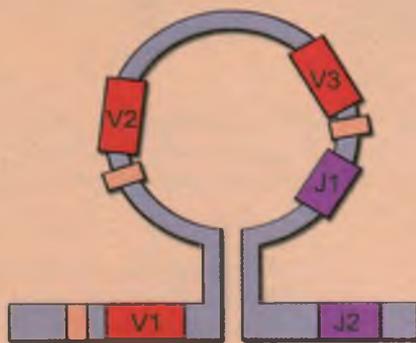
попарное воссоединение (лигирование) нитей двуспиральной ДНК как в сегментах, которые войдут в состав зрелого V-гена (информационная последовательность), так и в удаляемом участке (сигнальная последовательность).

Это становится возможным благодаря «подтягиванию» друг к другу ранее разъединённых участков, которое происходит с участием димера Ku70/Ku86. Этот процесс («разрешение» шпильки) происходит с участием ДНК-зависимой протеинкиназы. В результате формируется зрелый V-ген и сигнальное кольцо (см. рис. 190).

V-ген в зародышевой конфигурации



Рearанжировка V-гена. Формирование петли



Перестроенный V-ген

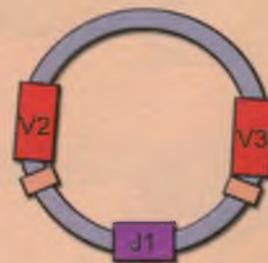
Сигнальное кольцо
(удаляется)

Рис. 190. Перестройка $V\lambda$ -гена: формирование зрелого $V\lambda$ -гена и удаление сигнального кольца

Рearанжировка V-генов антигенраспознающих структур сопровождается сближением генетических сегментов. Этот процесс обеспечивается определенной организацией пространства между V-генами и генетическими сегментами (J, D). Справа (с 3'-конца) ко всем V-генам примыкают три участка ДНК со строго детерминированной последовательностью: гептамер (состава 5'САСАГТГ3'), спейсер, состоящий из 23 пар оснований, и нонамер (состава 5'АСААААСС3'). К J-сегменту слева (с 5'-конца) примыкает гептамер, далее (влево) следует спейсер, содержащий 12 пар оснований, и нонамер. В случае генов, кодирующих H- и λ -цепи, к гептамеру при V-гене примыкает спейсер, содержащий 23 пары оснований, а к гептамеру соединительных сегментов (J в случае λ -цепи, D в случае H-цепи) — спейсер, содержащий 12 пар оснований; в случае гена к-цепи имеет место противоположное расположение 23- и 12-членных спейсеров, отражающих последователь-

ности сегментов: для к-цепи — 7–12–9 — 9–23–7, для λ -цепи — 7–23–9 — 9–12–7. В случае генов H-цепи ситуация усложняется наличием трёх генов/сегментов, подлежащих соединению (V-D-J). В этом случае цифровое правило принимает вид: 7–23–9 — 9–12–7 — 7–12–9 — 9–23–7. На рисунке воспроизведена перестройка гена λ -цепи.

При формировании петли гептамеры, прилегающие к V-гену и соединительным сегментам, узнают друг друга и взаимодействуют по принципу комплементарности, поскольку они представляют собой палиндромы (т.е. последовательности, читаемые от 3'-конца и от 5'-конца, комплементарны друг другу, например САСАГТГ и ГТГАСАС). То же можно сказать и о нонамерах. В результате такого взаимодействия сегменты, которые не войдут в состав зрелого V-гена, включаются в петлю и удаляются в составе сигнального кольца, а избранные V- и J-сегменты оказываются сближенными и образуют зрелый V-ген.

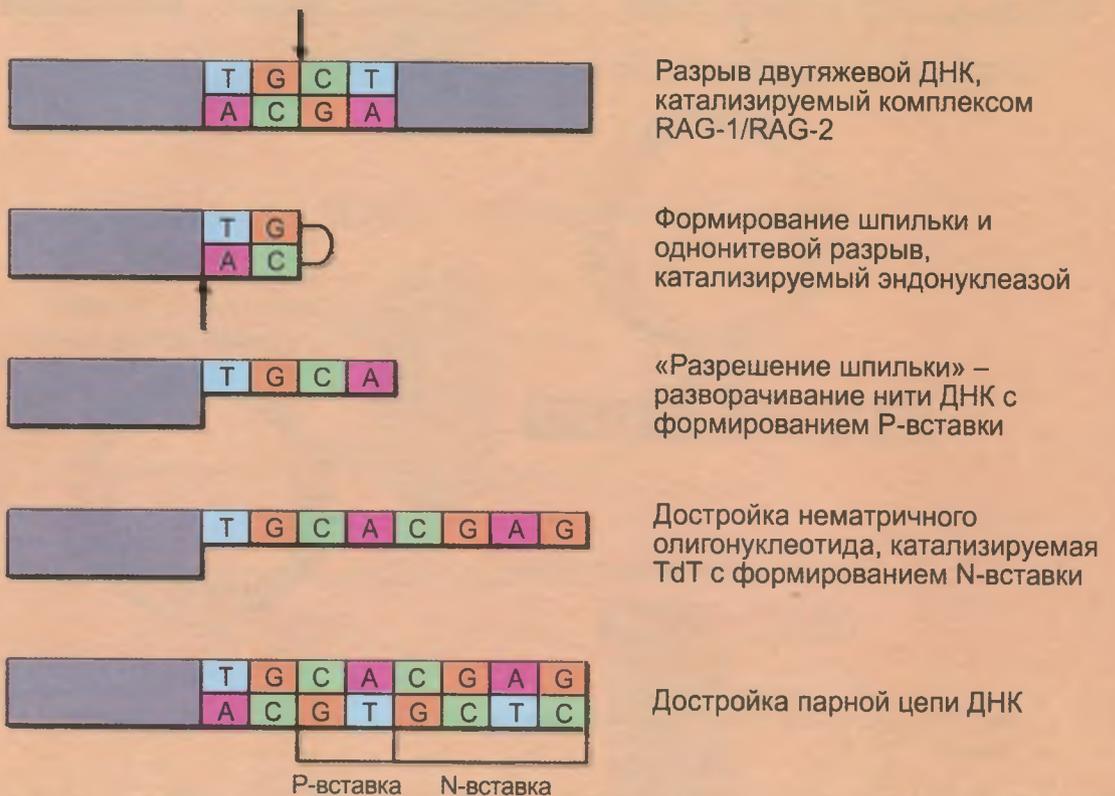


Рис. 191. Образование Р- и N-вставок при реаранжировке V-генов

В процессе реаранжировки происходит образование двух типов вставок — Р (*palindromic*) и N (*non-template*).

Первые формируются в результате развёртывания нити ДНК в шпильку после одностороннего разрыва. В результате рядом с исходной последовательностью оказывается палиндромная — компле-

ментарная первой, но выстроенная в обратном порядке. N-вставки являются результатом катализируемого ферментом терминальной дезоксирибонуклеотидилтрансферазы (TdT) образования нематричного олигонуклеотида. Оба типа вставок повышают число вариантов формирующихся V-генов.

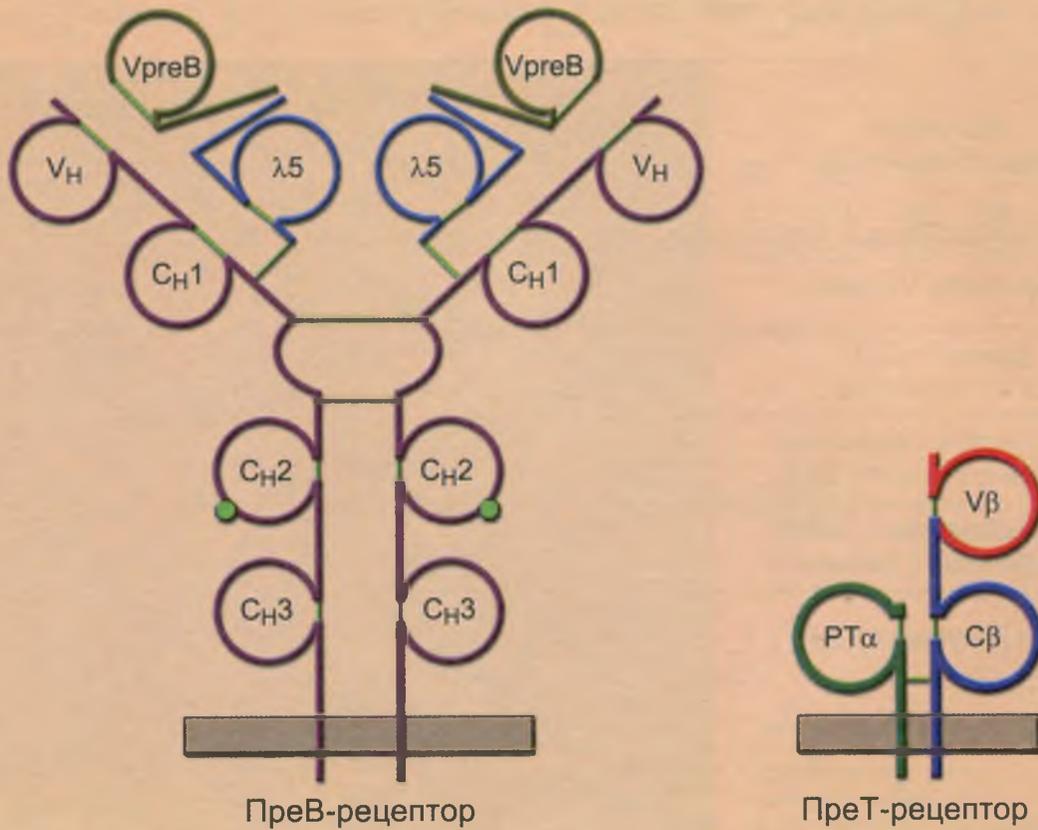


Рис. 192. Схема строения преВ- и преТ-рецепторов

В процессе развития В- и Т-лимфоцитов последовательно осуществляется реаранжировка V-генов двух типов полипептидных цепей, входящих в состав антигенраспознающих рецепторов. В В-клетках сначала перестраиваются V-гены H-цепей, затем — L-цепей, в αβТ-клетках — сначала V-гены β-цепей, затем — α-цепей. После перестройки первой очереди V-генов происходит проверка осуществления этого процесса. Тестом на успешность является способность синтезируемой полипептидной цепи (H или β) взаимодействовать с суррогатными молекулами, заменяющими полипептидную цепь второго типа, V-ген которой ещё предстоит перестроить (соответственно, L и α), а также способ-

ность формирующегося при этом рецептора-предшественника встраиваться в мембрану клетки. В случае В-клеток в качестве такой суррогатной цепи выступает молекула, содержащая домены VpreB и λ5, в случае Т-клеток — молекула PTα. И та и другая молекулы являются мономорфными (т.е. не имеют варибельного домена). В случае нормальной сборки преВ- и преТ-рецепторов и их встраивания в мембрану клетки без участия какого-либо лиганда поступает сигнал, который обеспечивает дальнейшее развитие лимфоцитов, состоящее во включении второй очереди реаранжировки — перестройки V-генов второй полипептидной цепи (L в В-клетках и α в Т-клетках).

Источник вариабельности	В-клеточный рецептор (иммуноглобулины)		Т-клеточный рецептор $\alpha\beta$	
	H-цепи	L-цепи (κ/λ)	α -цепь	β -цепь
Варианты V-генов	45	18/30	45	41
Варианты D- и J-сегментов	14; 12	4/4	61	14; 2
Неточность разрывов- соединений нити ДНК	+	+	+	+
Использование 3 рамок считывания D-сегмента	+	—	—	++
N- и P-нуклеотиды	++	+	+	++
Комбинация цепей	10^7		10^{11}	
Общая вариабельность	10^{14}		10^{18}	
Соматический мутагенез (при иммунном ответе)	+		—	

Рис. 193. Источники и степень вариабельности антигенраспознающих рецепторов В- и Т-клеток

Представлены показатели, характеризующие исходную вариабельность зародышевых генов и генетических сегментов, из которых строится зрелый V-ген антигенраспознающих рецепторов В- и Т-клеток (соответственно BCR и TCR), реализа-

цию механизмов, способствующих повышению вариабельности V-генов в процессе их перестройки и соматического мутагенеза, а также суммарные оценки вариабельности BCR и TCR.

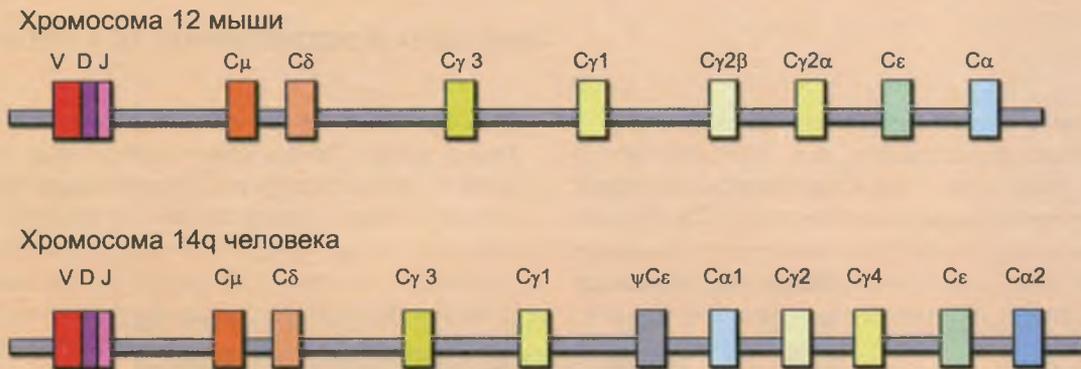


Рис. 194. Локализация константных генов иммуноглобулинов на хромосоме

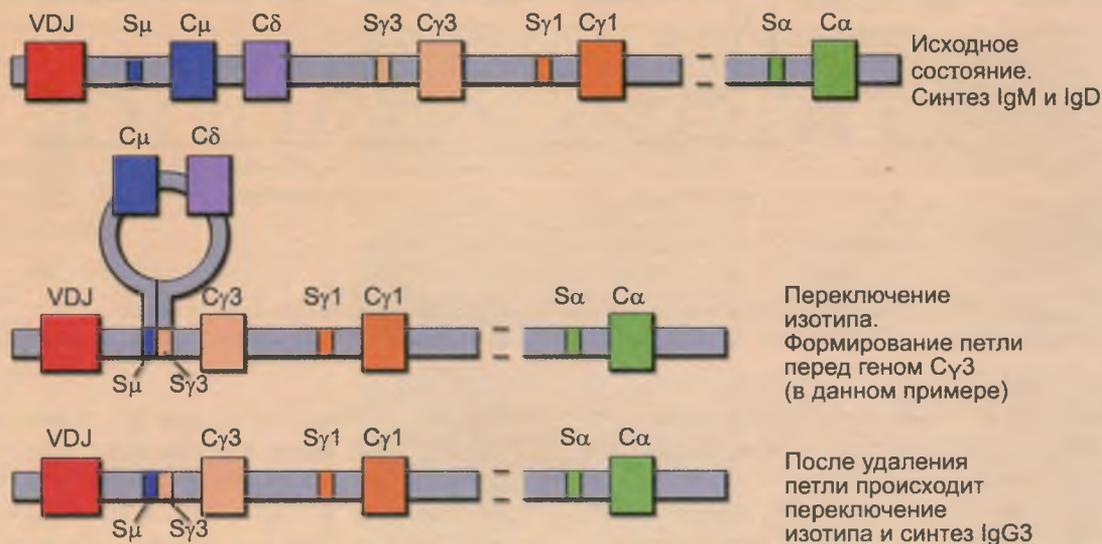


Рис. 195. Молекулярно-генетические основы переключения изотипов

Около 5'-конца каждого С-гена (кроме Cδ) находится S-участок (от *switch*), ответственный за переключение изотипов иммуноглобулинов. Под влиянием цитокинов и сигналов от Т-хелперов в S-участке С-гена, кодирующего тот изотип, на который будет переключен синтез, происходят изменения: перестройка хроматина и его деметилирование делают участок доступным для ферментов и S-участок подвергается мультимеризации. Далее

осуществляется сближение мультимеризованного участка с Sμ (т.е. с S-участком перед геном Cμ, который экспрессируется первым). При этом формируется петля. Участки, фланкирующие её, становятся мишенями для действия эндонуклеаз. В результате петля удаляется, а С-ген, S-участок которого был вовлечен в процесс переключения, экспрессируется, что определяет синтез иммуноглобулина соответствующего изотипа.

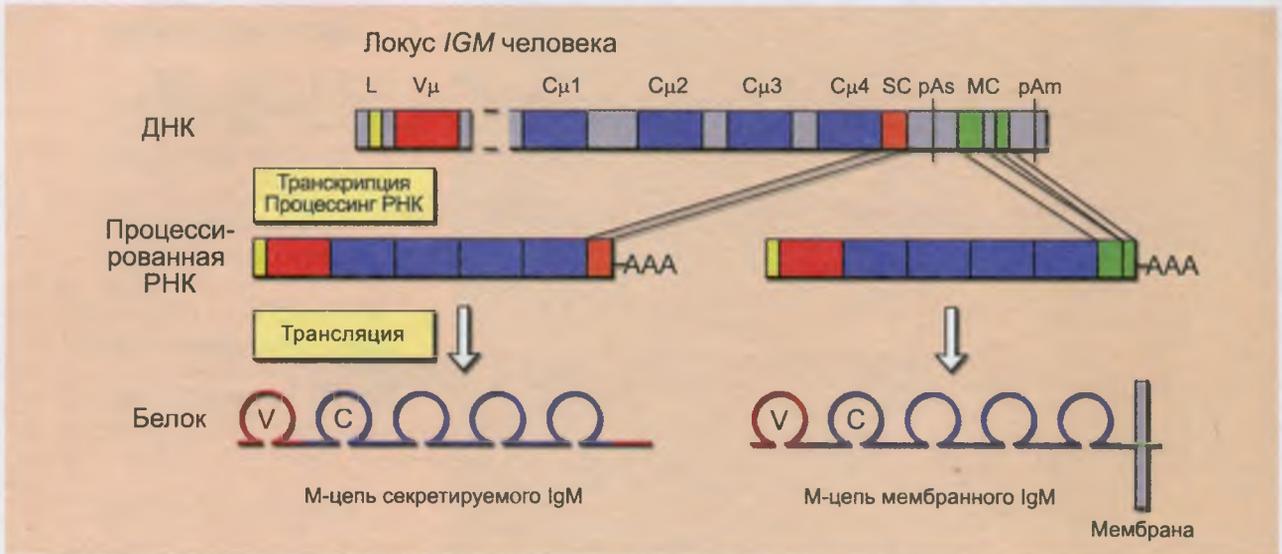


Рис. 196. Переключение синтеза иммуноглобулинов с мембранного на секреторный тип (на примере μ -цепи)

С 3'-конца к С-генам иммуноглобулинов при-
мыкает сегмент *S* (*secretory*), за которым следует два
сегмента *M* (*membraneous*). Сегмент *SC* кодирует
С-концевой участок растворимого Ig (антитела),
сегмент *MC* — С-концевой участок мембранного Ig
(рецептора).

После *SC* и второго сегмента *MC* находятся
участки поли-А, завершающие процесс транскрип-
ции. При синтезе мембранного Ig считываются все
эти участки, после чего транскрипция завершается
благодаря появлению участка поли-А после второ-
го сегмента *MC*. Процессинг мРНК приводит к

удалению участка, кодируемого сегментом *SC*.
Образующийся белок содержит гидрофобную по-
следовательность, кодируемую сегментом *MC*, что
позволяет ему встраиваться в мембрану. Пере-
ключение на синтез растворимых антител в про-
цессе дифференцировки плазматических (антите-
лообразующих) клеток приводит к тому, что терми-
нирующая последовательность поли-А образуется
после участка *SC*, поэтому транскрипции сегмен-
тов *MC* не происходит. Образуется РНК, кодиру-
ющая растворимый белок-антитело, лишенный ги-
дрофобной последовательности.

2.1.4. АНТИГЕНЫ И ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С АНТИТЕЛАМИ

АГ называют макромолекулы (как правило, продукты чужеродной генетической информации), способные индуцировать иммунный ответ. В большинстве случаев это белки, реже — полисахариды. Учение об АГ сложилось в период, когда был известен единственный вариант иммунного ответа — гуморальный, эффекторным продуктом которого являются антитела.

Способность взаимодействовать с антителами рассматривалась как обязательное свойство АГ. Антитела использовали как инструмент изучения свойств АГ, в частности их специфичности. В этом разделе рассмотрены свойства АГ, изученные в реакциях гуморального иммунного ответа, и рассмотрены основные закономерности взаимодействия АГ — антитело.

Свойство	Для BCR	Для TCR
Чужеродность	Пропорциональна эволюционному расстоянию между организмом-источником антигена и отвечающим организмом	Чужеродным должен быть пептид, но не молекула МНС
Иммуногенность	Определяется способностью активировать АПС и Т-хелперы или непосредственно В-клетки. Химическая природа — белки и полисахариды	Определяется возможностью высщепления пептида и его способностью встраиваться в молекулы МНС. Химическая природа — белки и липиды
Специфичность	Определяется комплементарностью эпитопа по отношению к активному центру mlg. Имеет клональную основу	Определяется комплементарностью пептида и прилегающего к нему участка МНС по отношению к связывающему участку TCR. Имеет клональную основу

Рис. 197. Основные факторы антигенности молекул, распознаваемых В- и Т-клетками

Условные обозначения: BCR — антигенраспознающий рецептор В-лимфоцитов; TCR — антигенраспознающий рецептор Т-лимфоцитов; АРС (*Antigen-presenting cells*) — антигенпредставляющая

клетка; МНС (*Major histocompatibility complex*) — главный комплекс гистосовместимости; mlg — мембранный иммуноглобулин.

Химическая природа	Белки и их комплексы с другими веществами. Для В-клеток – также полисахариды
Молекулярная масса	Для гуморального ответа – чем выше, тем эффективнее ответ
Комплексность (число эпитопов)	Чем больше, тем эффективнее ответ
Доза	Оптимальна промежуточная доза
Путь введения	Подкожный > внутрибрюшинный > внутривенный > per os
Физико-химическое состояние	Корпускулярная форма предпочтительнее растворимой. Денатурация повышает иммуногенность
Чужеродность	Гуморальный ответ тем выше, чем больше отличие от аутологических молекул
Способность связываться с МНС	Обязательна и для клеточного, и для гуморального (Т-зависимого) ответа
Наличие адъюванта	Адъюванты усиливают ответ за счет стимуляции антигенпрезентирующих клеток и пролонгирования действия антигена

Рис. 198. Факторы, определяющие иммуногенность молекул

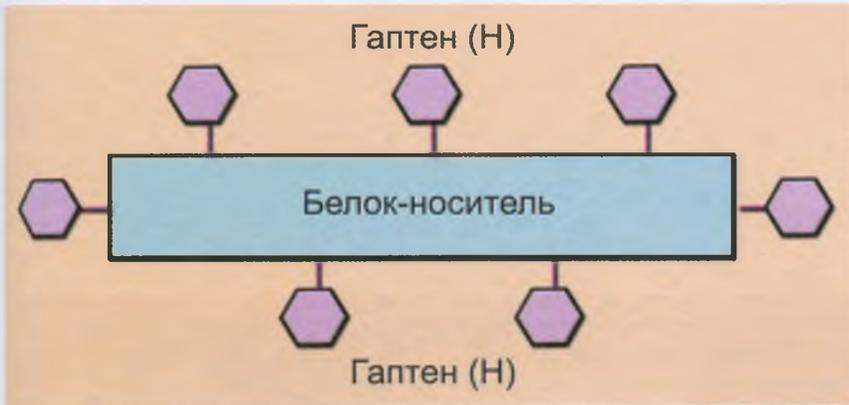


Рис. 199. Дифференцирование специфичности и иммуногенности с помощью модельных антигенов

К. Landsteiner синтезировал конъюгаты белков с низкомолекулярными (обычно циклическими) молекулами. Последние были обозначены как гаптены (*hapten* — H), а белок, с которым их связывали, — белком-носителем (*schlepper*). При иммунизации животных образующиеся антитела были направлены преимущественно против гаптена. Однако в свободном виде гаптены не способны индуцировать образование антител, т.е. лишены иммуногенности. Это свойство связано с белком-носителем. Позже, после установления роли взаимодействия В- и Т-клеток при гуморальном иммунном ответе, было

установлено, что гаптен распознается антигенраспознающими рецепторами (BCR) В-клеток, тогда как Т-клетки распознают с помощью своих рецепторов TCR пептидные эпитопы, выщепляемые из белка-носителя в процессе его обработки В-клеткой и встраиваемые в молекулы МНС класса II (см. рис. 215). В наивных молекулах роль гаптенных могут выполнять как фрагменты белковой молекулы (см. рис. 201–203), так и любые комплексированные с ними молекулы — углеводы, нуклеиновые кислоты, липиды и даже химические группы неорганической природы, включая металлы.

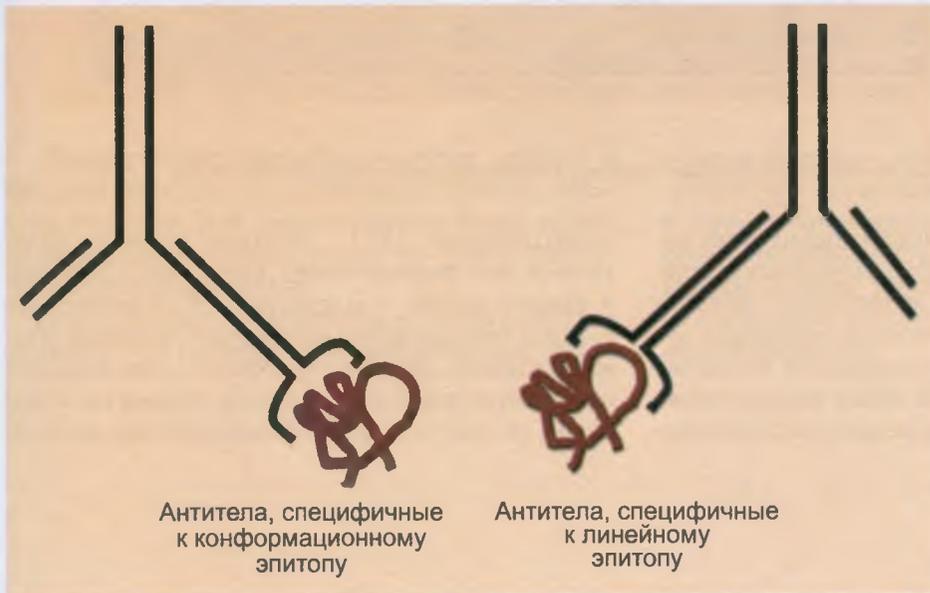


Рис. 200. Линейные и конформационные эпитопы и распознающие их антитела

Конформационный эпитоп образован аминокислотными остатками, локализующимися на разных участках белковой молекулы, сближенными при формировании третичной структуры (конфор-

мации). Линейные детерминанты образованы непрерывным участком пептида. Такое разделение эпитопов распространяется преимущественно или исключительно на белковые АГ.

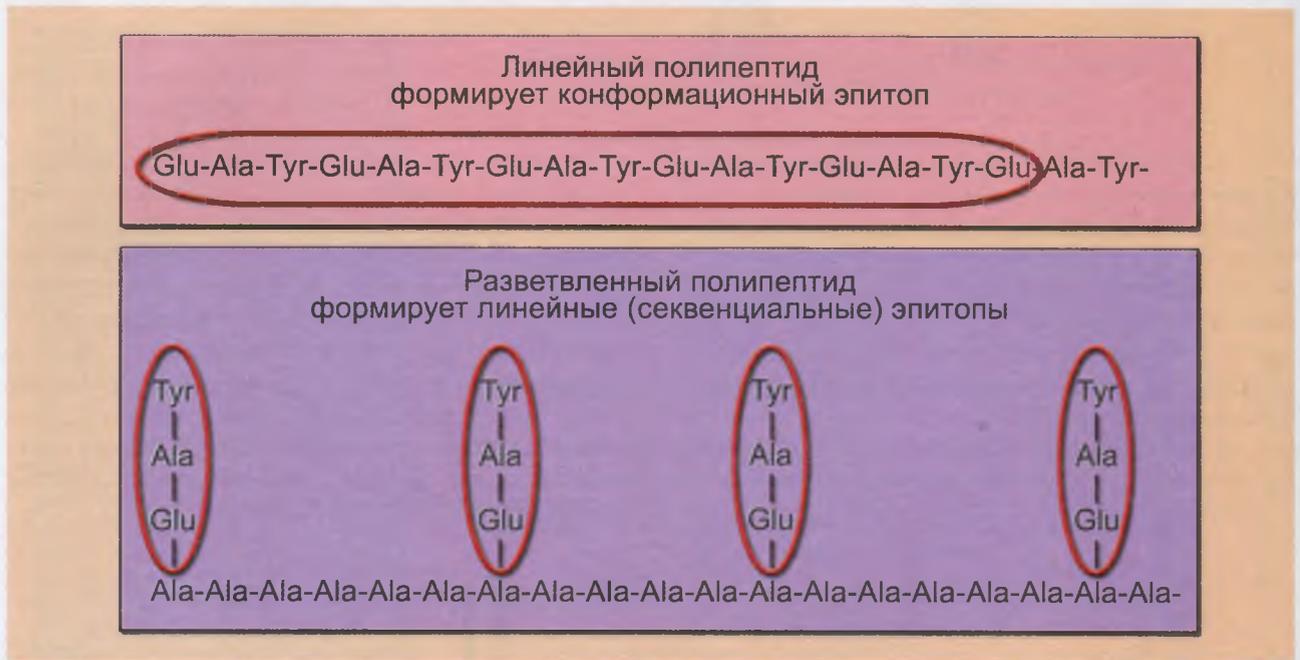


Рис. 201. Линейные и конформационные эпитопы модельных синтетических пептидов

Полипептиды, составленные из одних и тех же аминокислотных остатков, но различающиеся по структуре (линейные или разветвлённые), формируют линейные и конформационные эпитопы в зависимости от взаимного расположения остатков. В полипептиде, образованном одной непрерывной цепью, формируются конформационные эпитопы,

захватывающие 15–17 остатков (размер, достаточный для формирования вторичной структуры, в данном случае — α -спирали). В разветвлённом пептиде боковые ветви формируют линейные (секвенциальные) эпитопы. Антитела, образующиеся при иммунизации этими двумя типами полипептидов, не дают между собой перекрёстных реакций.

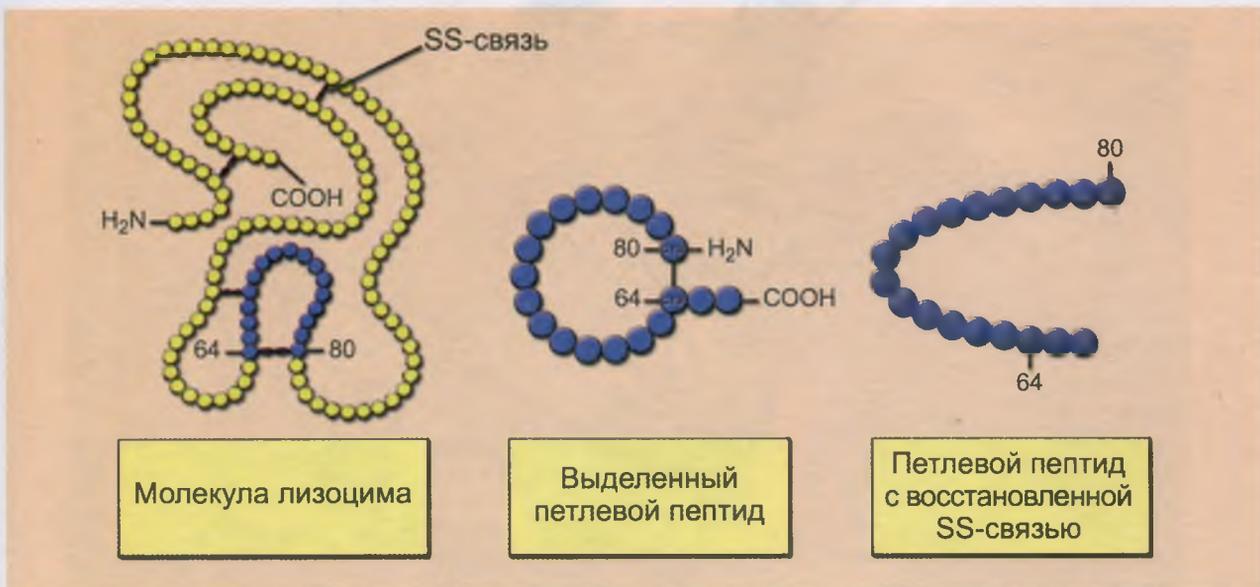


Рис. 202. Важность трёхмерной структуры в формировании эпитопа

Формирование конформационного эпитопа в белковой молекуле рассмотрено на примере молекулы лизоцима. В её составе имеется петля, содержащая аминокислотные остатки 64–80 и скреплённая дисульфидной связью.

Значительная часть антител к целой молекуле лизоцима нейтрализуется изолированным фраг-

ментом лизоцима, содержащим петлю. Разрыв дисульфидной связи, формирующей петлю, приводит к утрате нейтрализующей способности. Иначе говоря, специфичность эпитопа определяется его конфигурацией, третичной структурой белка, что обуславливает его принадлежность к конформационным эпитопам.

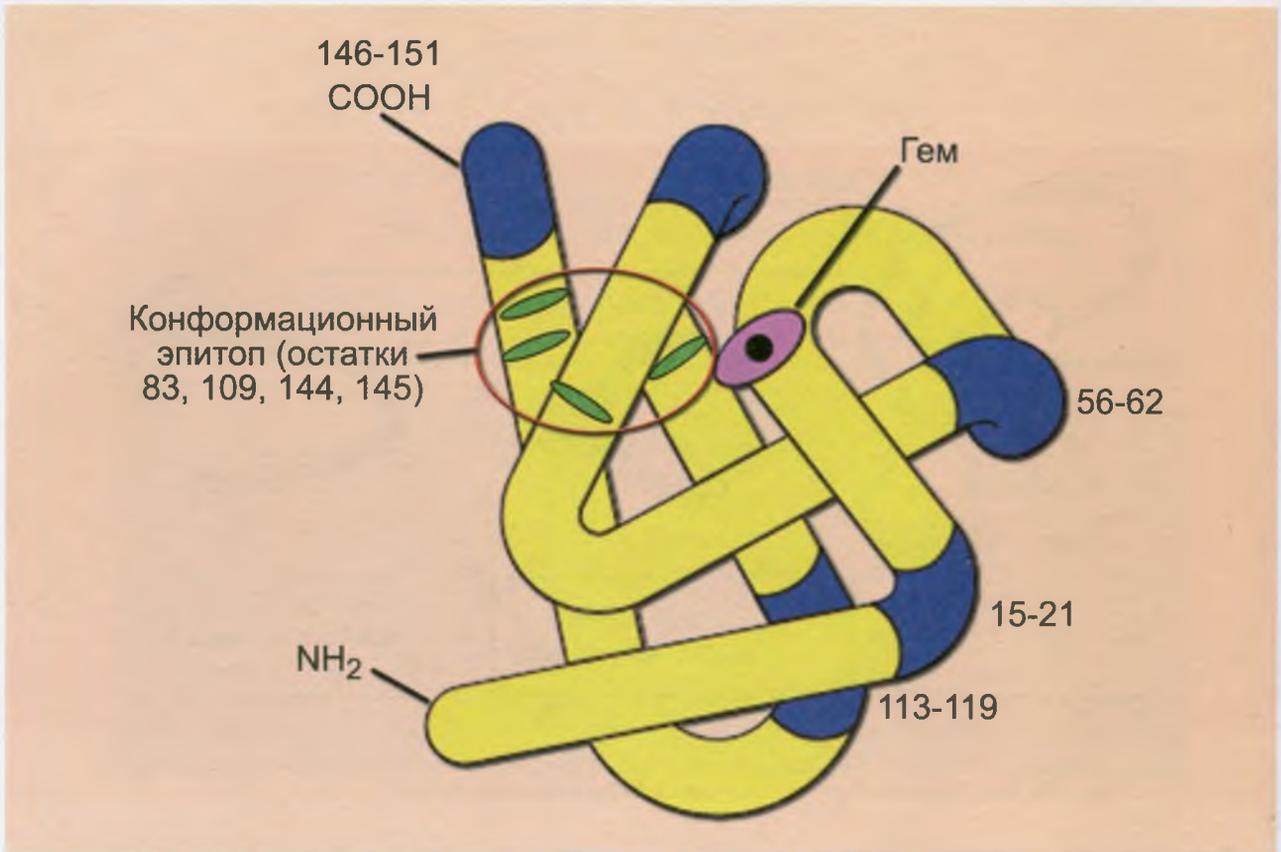


Рис. 203. Линейные и конформационные эпитопы, демонстрируемые на примере молекулы миоглобина кашалота

В молекуле миоглобина кашалота имеется несколько эпитопов. Некоторые из них определяются линейной последовательностью аминокислот, другие формируются лишь при образовании третичной структуры, т.е. зависят от конформации молекулы. В последнем случае остатки, входящие в состав эпи-

топа, в развёрнутой конфигурации белка могут быть удалены друг от друга. На рисунке помечено четыре линейных эпитопа (синим) и один конформационный, сформированный остатками 83, 109, 144 и 145 (зелёным помечены остатки, эпитоп обведён красной линией) (Atassi M.Z., Kazim A.L., 1978).

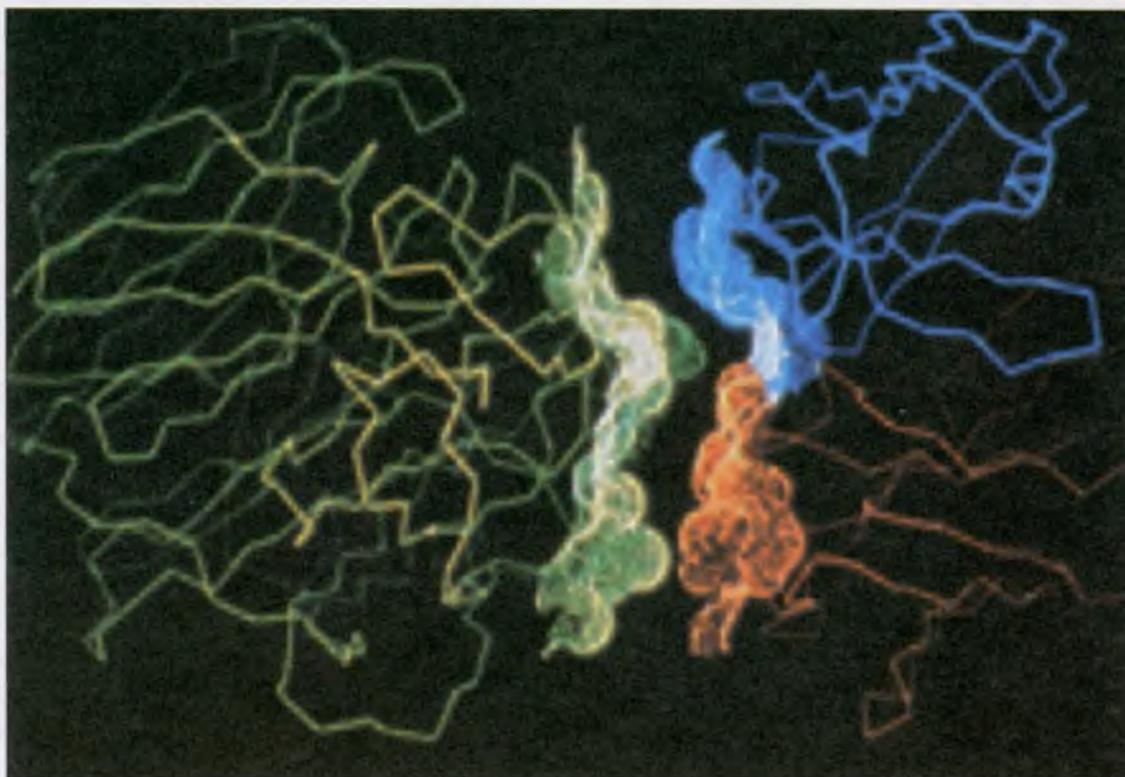


Рис. 204. Комплементарность антигенного эпитопа и активного центра антитела

Компьютерное моделирование взаимодействия молекулы одного из АГ вируса гриппа со специфическими антителами (Colman P.M., Tulip W.P., 1993).

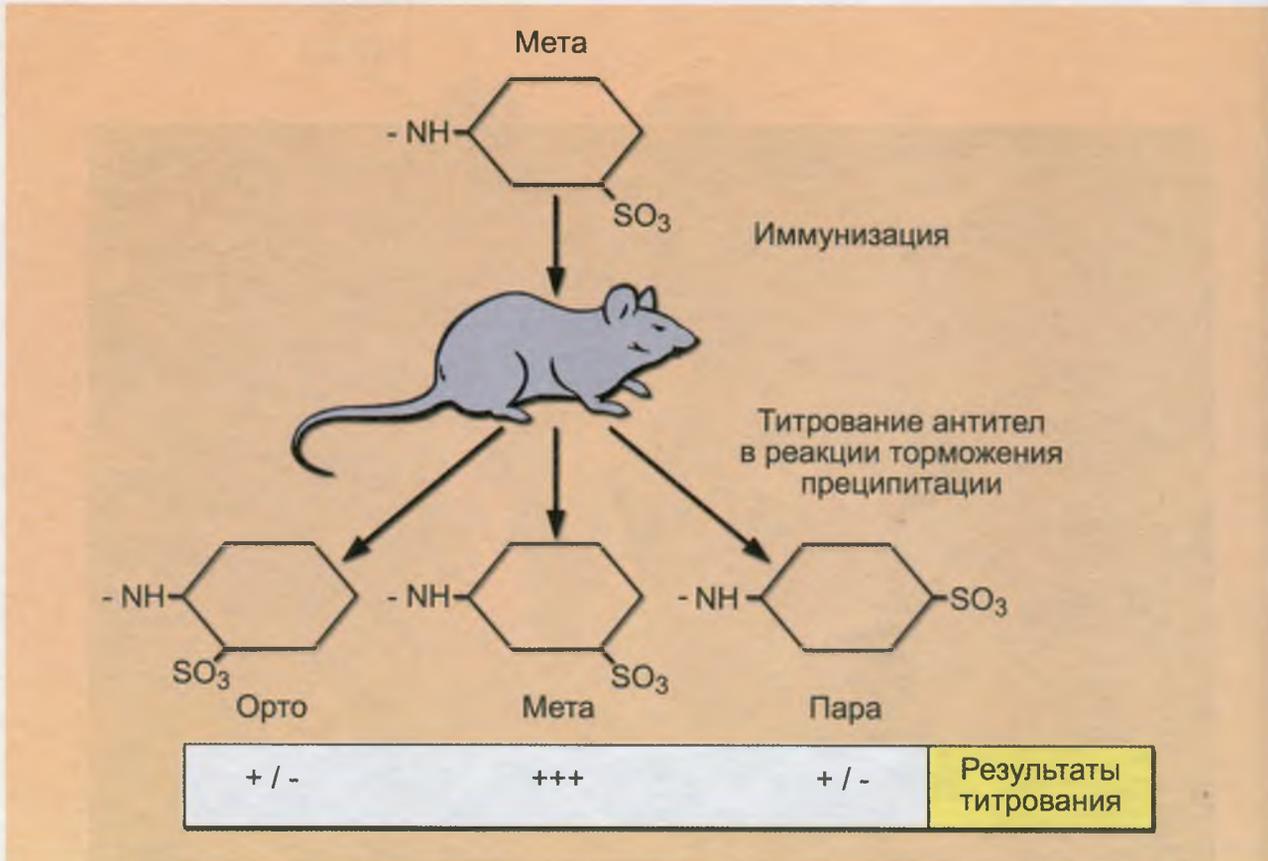


Рис. 205. Распознавание антителами структурных различий эпитопов (на примере азобензольного гаптена) в зависимости от положения замещающей группы

Антитела, индуцированные против конкретного гаптена (мета-изоформы сульфаниловой кислоты), различают пространственные изомеры данного гаптена. Сильное взаимодействие (регистрируемое по подавлению преципитации конъюгата

мета-изомера сульфаниловой кислоты с белком-носителем) наблюдается с гомологичным гаптенем (мета-изомером), тогда как орто- и пара-изомеры дают лишь следовую реакцию.

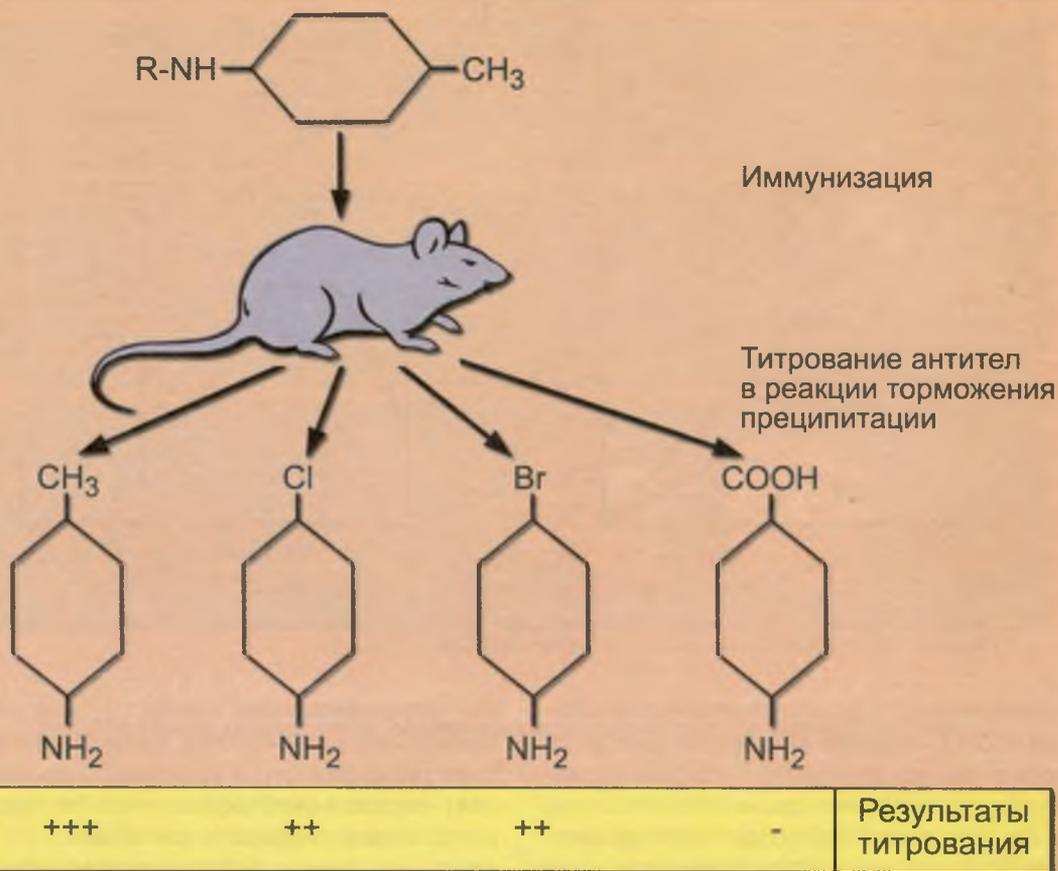


Рис. 206. Распознавание антителами структурных различий эпитопов в зависимости от химической природы замещающей группы

Антитела, индуцированные против бензольного гаптена, вызывают сильную перекрёстную реакцию с молекулами, в которых группа CH_3 замеще-

на атомами галогенов, но не реагирует с гаптенем, в котором вместо CH_3 расположена карбоксильная группа.

$$\text{а) } [Ab \cdot H] = k_a [Ab] [H];$$

$$k_a = \frac{[Ab \cdot H]}{[Ab] [H]} M^{-1};$$

$$k_d = 1/k_a M.$$

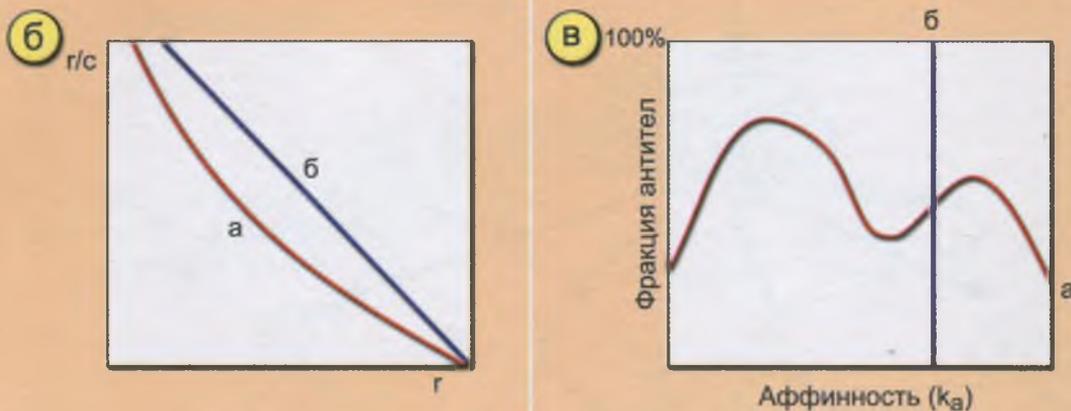


Рис. 207. Аффинность антител как мера их сродства к антигену

Взаимодействие АГ и антител подчиняется закону действия масс (S. Arrhenius). Взаимодействие антител с моновалентными лигандами — гаптенами может быть определено уравнением, описывающим этот закон (а). Коэффициент k_a (константа связывания) отражает степень сродства (аффинности — от *affinity*) антитела к гаптену/АГ. Иногда бывает удобно выражать сродство обратной величиной — константой диссоциации (K_d), выражаемой в молях.

Для анализа взаимодействия АГ и антитела, оценки аффинности и степени гетерогенности антител по этому показателю используют координаты Скэтчарда (Skatchard), применимые для анализа любых взаимодействий типа рецептор — лиганд (б). По оси абсцисс при этом откладывают величину r , а по оси ординат — отношение r/c , где r — число молекул антигена/гаптена, связавшегося с одной молекулой антитела; c — концентрация свободного АГ (в случае гаптена обозначается как $[H]$). Если антитела гомогенны по аффинности (например,

это моноклональные антитела), результаты взаимодействия описываются прямой линией. Её наклон (коэффициент b уравнения линейной регрессии) служит мерой аффинности антител, а точка пересечения линии с осью абсцисс — мерой валентности (число антигенсвязывающих участков антител, которое в случае IgG-антител равно 2, а в случае IgM-антител — 5). В случае гетерогенности антител (например, при использовании иммунной сыворотки) график складывается из нескольких линий регрессии, которые при объединении дают кривую линию.

При анализе распределения антител по аффинности (в) получают кривые различной формы (на данном рисунке представлена двугорбая кривая, отражающая гетерогенность антител по аффинности с двумя максимумами). Моноклональные антитела гомогенны по всем показателям. В частности, они имеют идентичную аффинность, которая может быть отмечена положением на оси абсцисс.

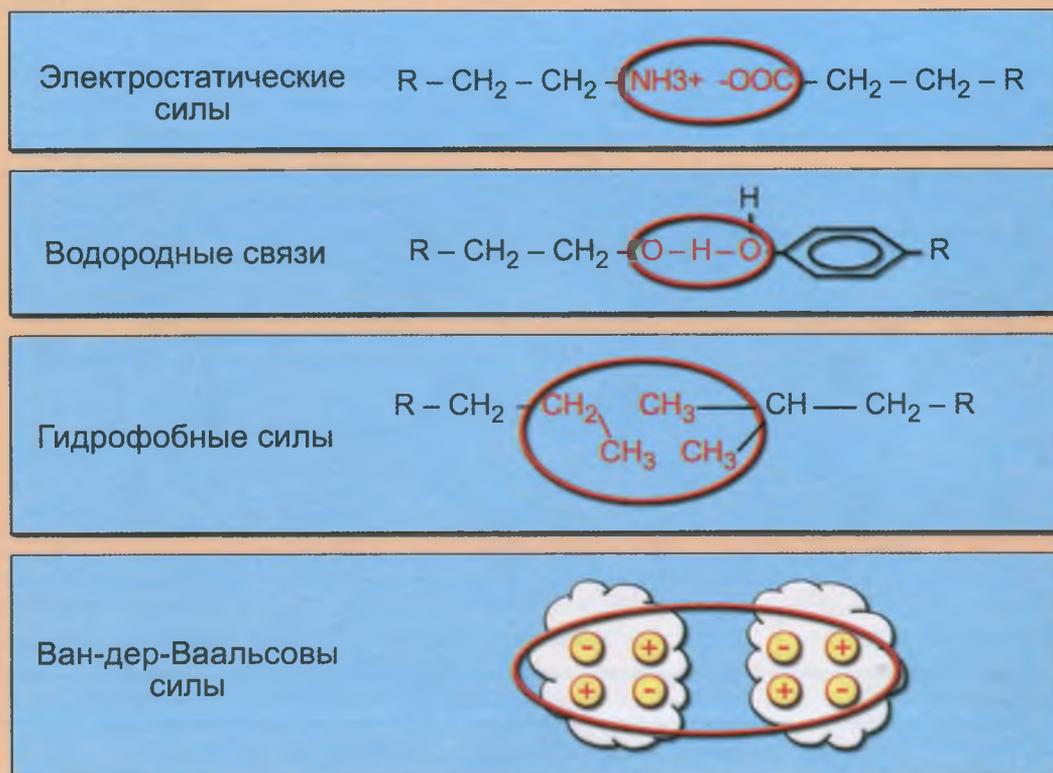


Рис. 208. Нековалентные связи, обеспечивающие взаимодействие антигена с антителом

Во взаимодействии антигенного эпитопа с активным центром антитела участвуют 4 типа нековалентных химических связей.

Ионные связи — образуются противоположно заряженными химическими группами, чаще всего карбоксилем (COO^-) и аминогруппой (NH_3^+). Вариант — полярные взаимодействия за счёт образования диполей (наведённых зарядов).

Водородные связи — формируются за счёт образования водородного мостика между двумя химическими группами (обычно гидроксилами).

Гидрофобные взаимодействия формируются гидрофобными группами (CH_3 и т.д.), сближающимися вследствие энергетических преимуществ их взаимодействия друг с другом по сравнению с водой.

Взаимодействия Ван-дер-Ваальса основаны на квантово-механической взаимосвязи электронных облаков. Интенсивность взаимодействий 1–2 убывает пропорционально квадрату расстояния между участвующими группами; интенсивность Ван-дер-Ваальсовых взаимосвязей снижается пропорционально седьмой степени расстояния.

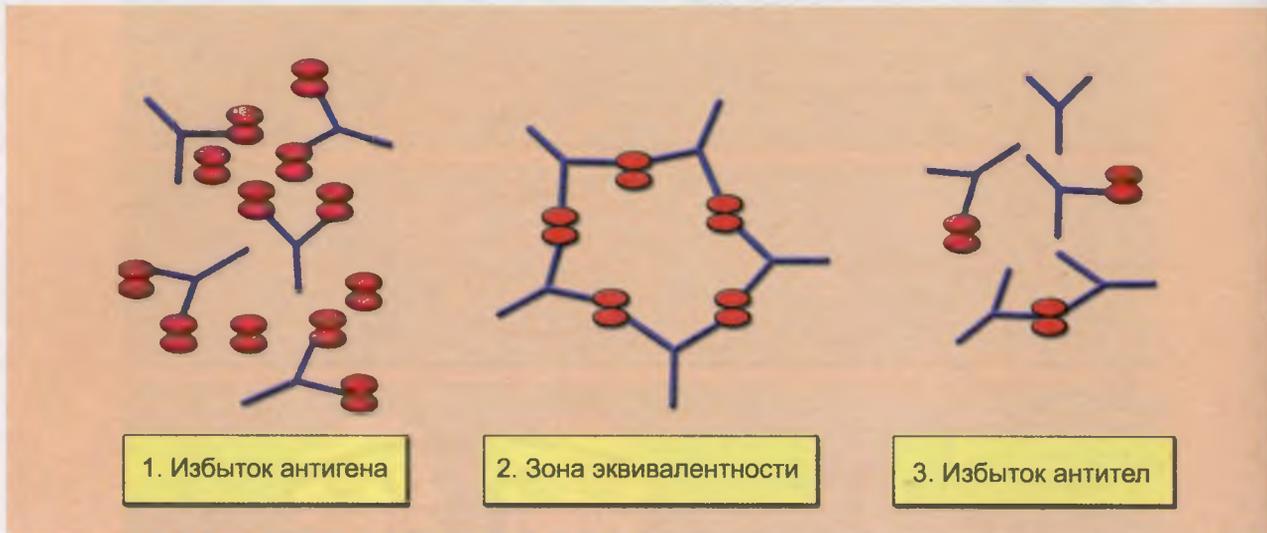


Рис. 209. Иммунные комплексы при разных соотношениях антигена и антител

Варианты взаимодействий АГ–антитело проиллюстрированы на примере двухвалентных АГ и антител. В случае избытка АГ (1) каждый активный центр антитела связывается с разными АГ, причём в АГ занята только одна валентность. В результате крупные комплексы не образуются. В условиях равновесия (2) формируется решётка: оба эпитопа АГ взаимодействуют с разными анти-

телами и оба активных центра связываются с разными АГ. В результате формируются нерастворимые комплексы, включающие по несколько молекул АГ и антитела. При избытке антител (3) лишь немногие из них имеют возможность взаимодействовать с несколькими АГ. Мультимолекулярные комплексы не образуются.

2.1.5. ГЛАВНЫЙ КОМПЛЕКС ГИСТОСОВМЕСТИМОСТИ, ЕГО ПРОДУКТЫ И ИХ РАСПОЗНАВАНИЕ Т-КЛЕТОЧНЫМ РЕЦЕПТОРОМ

В отличие от В-лимфоцитов, распознающих антигенные эпитопы в составе нативных молекул АГ, Т-лимфоциты не способны распознавать свободные АГ. TCR различают фрагменты пептидных или липидных молекул, встроенные в специализированные молекулы — продукты генов МНС. При Т-клеточном распознавании эти фрагменты выступают в качестве антигенных эпитопов. В результате оказывается, что требования, предъявляемые к АГ с точки зрения Т- и В-клеток, существенно разли-

чаются. При гуморальном иммунном ответе, в котором наряду с В-клетками участвуют Т-лимфоциты (в качестве хелперных клеток), эти требования суммируются, а при клеточном иммунном ответе имеет значение лишь тот способ распознавания, который присущ Т-клеткам. В разделе охарактеризованы гены МНС и их продукты, рассмотрены процесс встраивания пептидов в молекулы МНС и особенности распознавания АГ Т-клетками $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -типов.

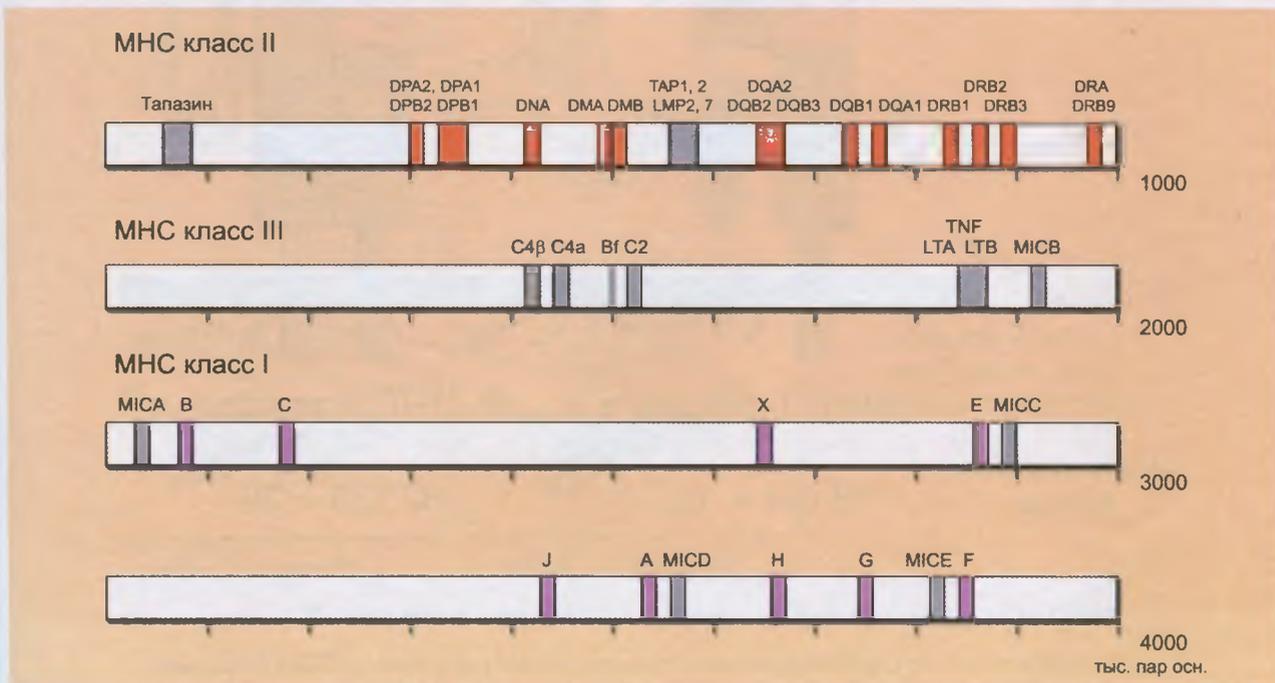


Рис. 210. Карта генов главного комплекса гистосовместимости на примере комплекса HLA человека

МНС человека именуется комплексом HLA (от *Human leukocyte antigens*). Он локализуется на хромосоме 6 и содержит гены трёх классов. Продукты генов класса I экспрессируются на всех клетках организма, распознаются цитотоксическими Т-лимфоцитами при участии корецептора CD8 (см. рис. 293); продукты генов (АГ) класса II экспрессируются на профессиональных антигенпредставляющих клетках (макрофагах, дендритных клетках, В-лимфоцитах), распознаются

хелперными Т-клетками при участии корецептора CD4 (см. рис. 293) индуцируют реакции гуморального иммунитета; гены класса III контролируют некоторые компоненты системы комплемента, цитокины семейства фактора некроза опухоли и стрессорные белки MIC (A–E), распознаваемые NK-клетками.

Оранжевым отмечена локализация генов МНС класса II, розовым — генов МНС класса I, серым — других генов комплекса.

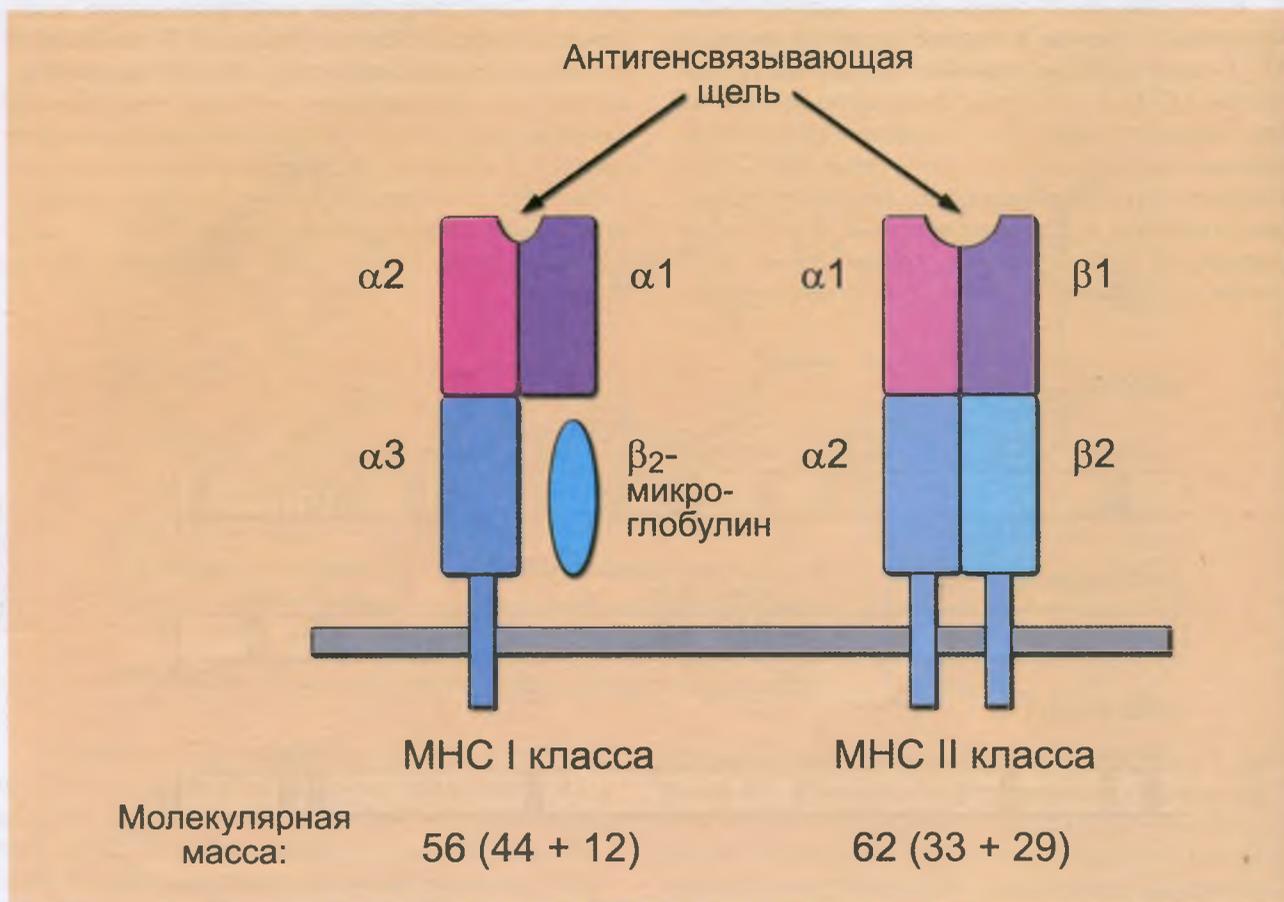
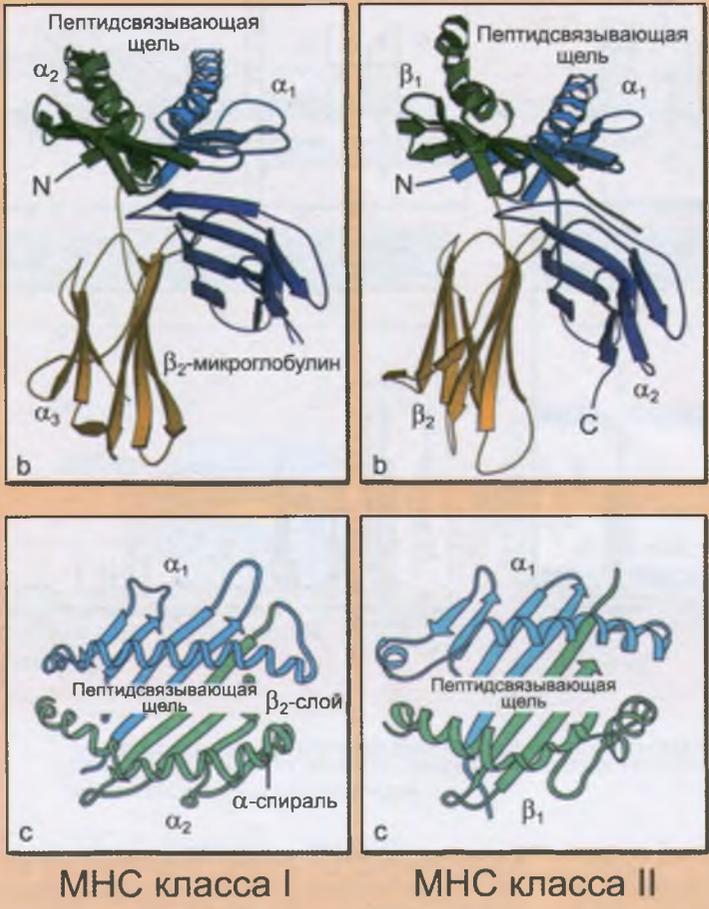


Рис. 211. Схема строения молекул главного комплекса гистосовместимости

Молекула МНС класса I (α-цепь) содержит три домена, из которых два (α1 и α2) формируют щель для включения антигенного пептида. Дополнительная полипептидная цепь — β2-микροглобулин — с локусом МНС не связана. Домен α3- и β2-микροглобулин относятся к суперсемейству иммуноглобулинов.

Молекула МНС класса II содержит две полипептидные цепи (α и β) по два домена каждая (α1 и α2; β1 и β2 соответственно). Щель для связывания антигенного пептида сформирована наружными доменами обеих цепей (α1 и β1). Домены, прилежащие к мембране (α2 и β2), относятся к суперсемейству иммуноглобулинов.



Модель строения молекул МНС; вид сбоку

Модель строения молекул МНС; вид сверху на пептидсвязывающую щель

МНС класса I

МНС класса II

Рис. 212. Трёхмерные модели строения молекул главного комплекса гистосовместимости

Представлены созданные на основе рентгено-структурного анализа трёхмерные модели структуры пептидсвязывающей щели. В молекуле МНС класса I она образована доменами $\alpha 1$ и $\alpha 2$ одной

полипептидной цепи, в молекуле МНС класса II — доменами двух полипептидных цепей — $\alpha 1$ α -цепи и $\alpha 1$ β -цепи (по Vjorkman и др., 1987).

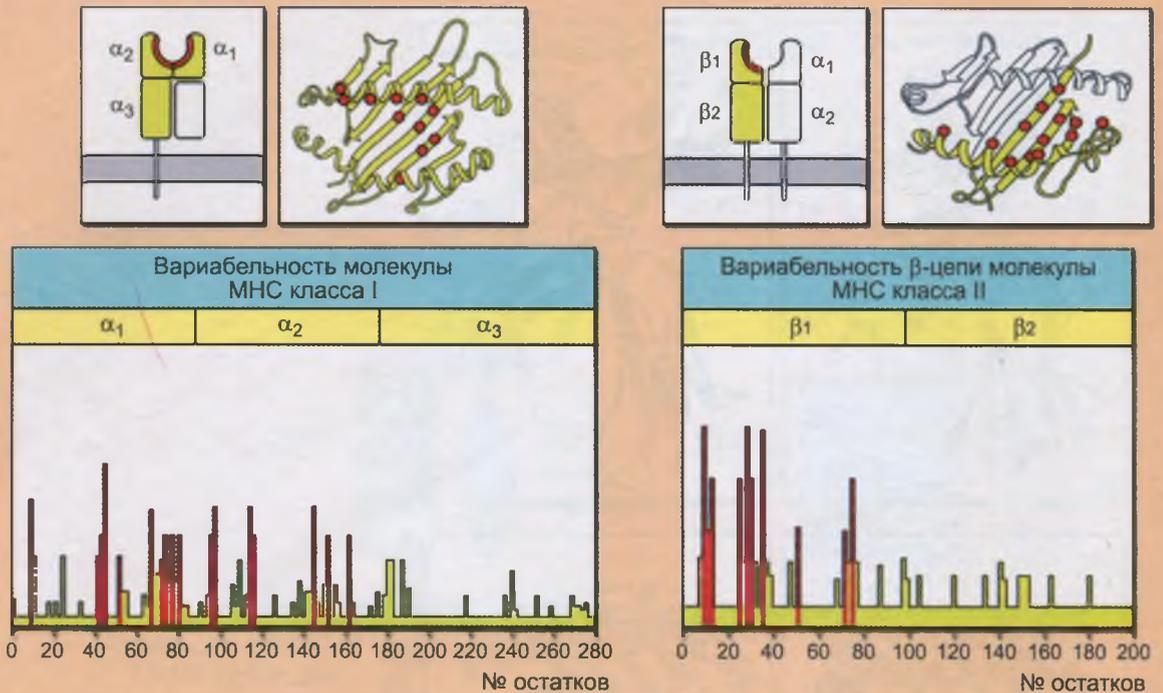


Рис. 213. Локализация варибельных остатков в молекулах главного комплекса гисто-совместимости классов I и II

Варьирующие аминокислотные остатки сосредоточены в участках молекул МНС, формирующих пептидсвязывающую щель. В молекуле МНС класса I они равномерно распределены по всей щели,

а в молекуле МНС класса II сосредоточены в её части, образованной β-цепью. α-цепь не полиморфна (по Janeway С.А. и др., 2005).

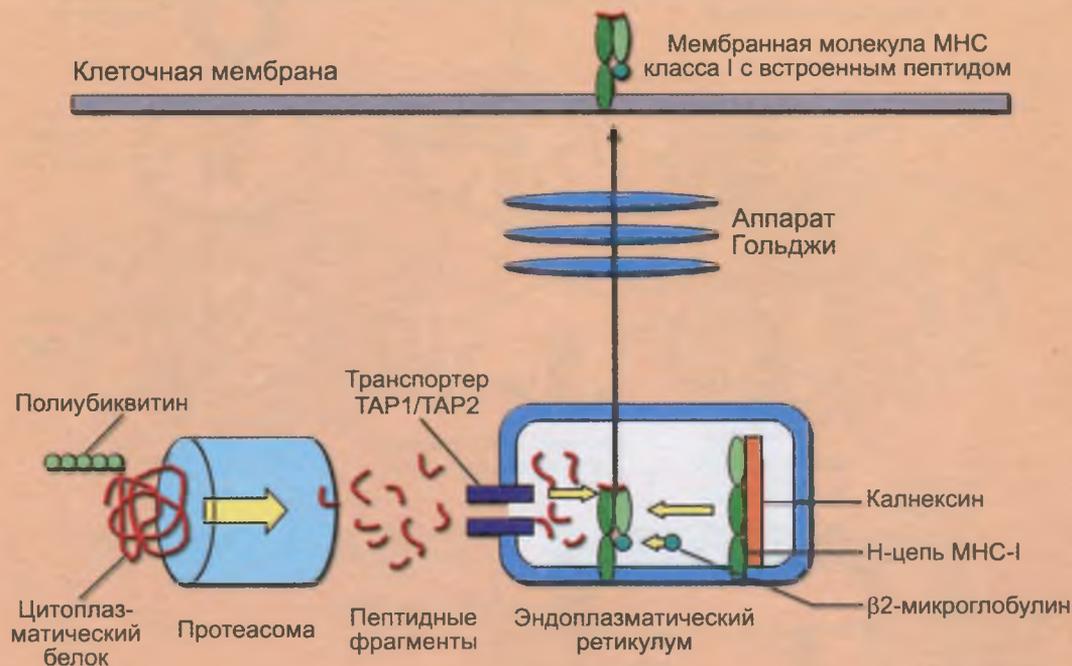


Рис. 214. Процессинг молекул главного комплекса гистосовместимости класса I и цитоплазматических пептидов

Синтез молекул МНС класса I и встраивание в них пептидных фрагментов цитоплазматических белков осуществляются в эндоплазматическом ретикулуме. Белки цитозоля, связавшие убиквитин, поступают в протеасомы, в которых они расщепляются на пептидные фрагменты. Пептиды перемещаются из цитозоля в ЭР с помощью транспортной системы ТАР (от *Transporter associated with antigen processing*), образованной белками ТАР-1 и ТАР-2, которые кодируются генами МНС класса I (см. рис. 210). В эндоплазматическом ретикулуме непрерывно происходит синтез молекулы МНС

класса I. α -цепь молекулы удерживается в нужной конфигурации с помощью шаперона калнексина. После присоединения β 2-микроглобулина калнексин перестаёт быть связанным с молекулой и к ней присоединяются другие шапероны — калретикулин и тапазин (на схеме не показано). После встраивания пептида шапероны отделяются от полностью собранной молекулы, которая приобретает стабильную конформацию.

Готовая молекула в составе мембраны перемещается в аппарат Гольджи и выносится на поверхность клетки.

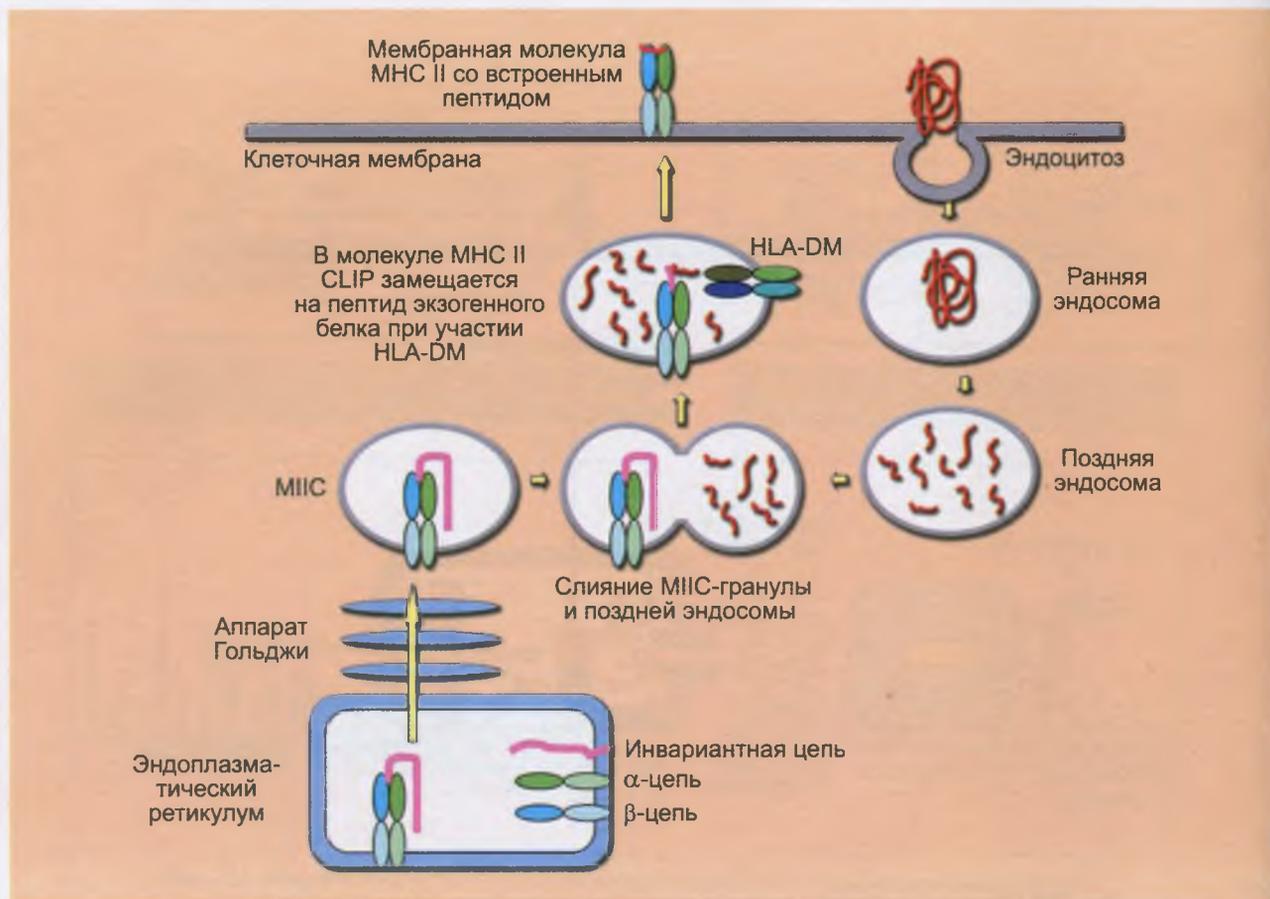


Рис. 215. Процессинг молекул главного комплекса гистосовместимости класса II и экзогенных пептидов

Полипептидные цепи молекул МНС класса II синтезируются в эндоплазматическом ретикулуме антигенпрезентирующей клетки и встраиваются в его мембрану. При сборке молекулы в неё включается третья цепь — Ii (инвариантная) для стабилизации структуры молекулы. Фрагменты мембраны ретикулума, содержащие эти молекулы, отщуриваются и образуют компартмент молекул МНС класса II — (MIIC — *MHC class II compartment*). Параллельно происходит формирование эндосом за счёт эндоцитоза клеткой молекул её окружения (среди них могут присутствовать чужеродные субстанции — АГ). По мере погружения эндосомы внутрь клетки (превращение ранней эндосомы в позднюю) происходит закисление её содержимого и активация катепсинов, которые расщепляют поглощённые белки до пептидных фрагментов.

Поздние эндосомы сливаются с вышеупомянутыми гранулами MIIC, содержащими молекулы МНС класса II. Катепсины расщепляют Ii-цепь таким образом, что в составе молекулы МНС-II остаётся пептид, заполняющий пептидсвязывающую щель — CLIP (*Class II associated invariant-chain peptide*). Замещение CLIP пептидами из содержимого везикулы происходит при участии инвариантной молекулы HLA-DM, которая катализирует выход CLIP из щели и поступление в неё антигенного пептида. Гранулы, содержащие встроенные в мембрану полностью собранные молекулы МНС класса II, перемещаются к поверхности клетки. Содержимое гранул выводится наружу, а мембрана объединяется с клеточной мембраной, в результате чего молекулы МНС класса II оказываются на поверхности клетки.

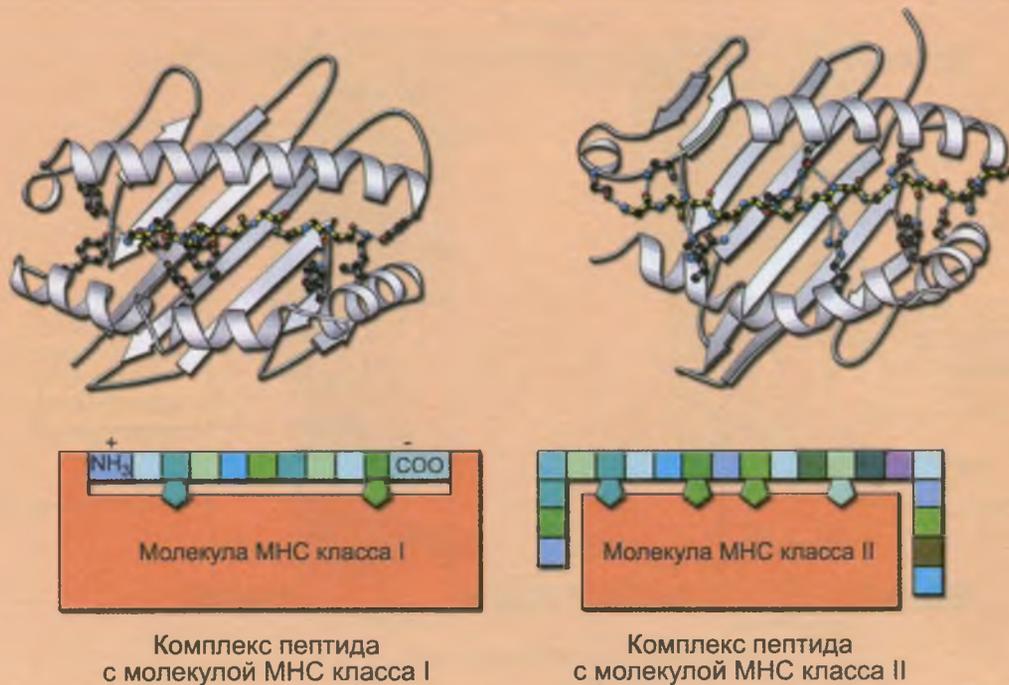


Рис. 216. Схема расположения пептида в молекулах главного комплекса гистосовместимости

В верхнем ряду представлены трёхмерные модели пептидсвязывающих щелей молекул МНС классов I и II с встроенными в них пептидами. В нижнем ряду — схемы, иллюстрирующие расположение

пептидов в щели — закрытой (в молекулах класса I) или открытой (в молекулах класса II). Указаны остатки, заякоренные в основание щели (два в молекуле класса I, четыре — в молекуле класса II).

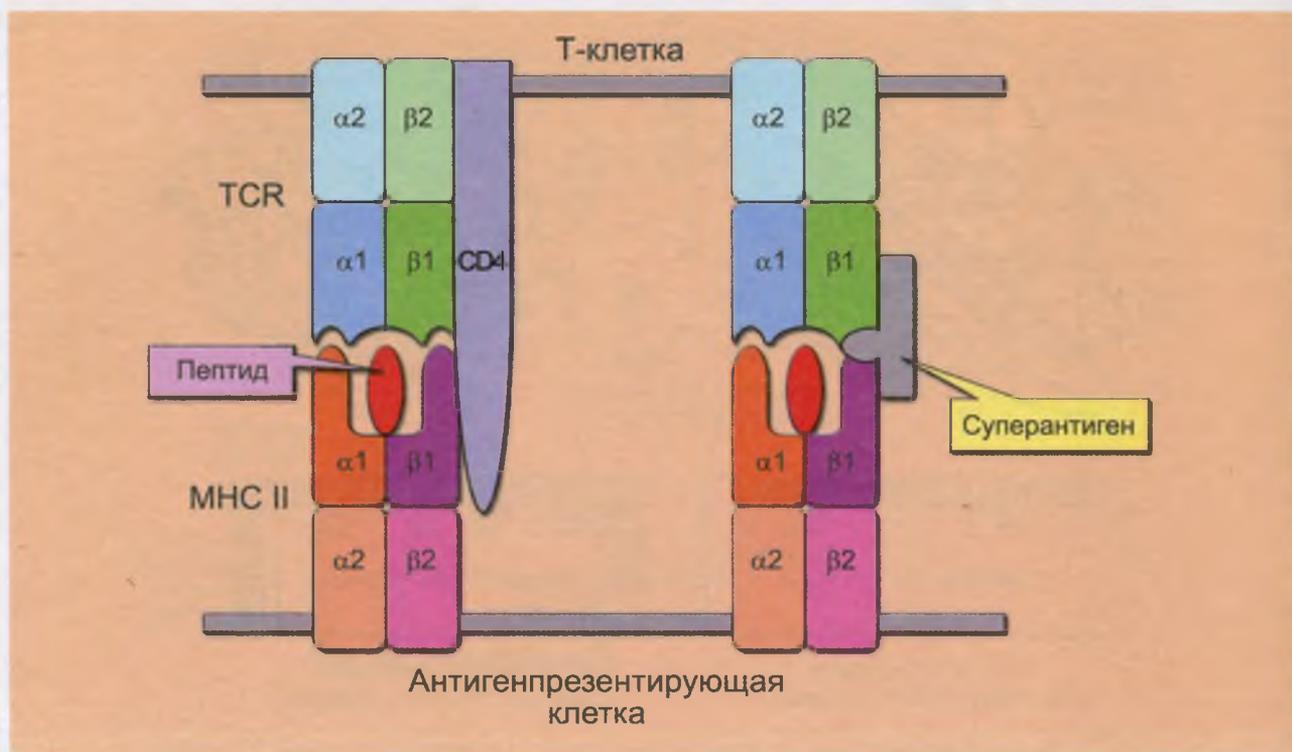


Рис. 217. Стерические основы распознавания Т-клетками комплекса МНС-антигенный пептид и суперантигенов

Пространственное соответствие между антигенраспознающим рецептором Т-лимфоцита, антигенным пептидом и молекулой МНС антигенпредставляющей клетки, несущей пептид (на рисунке — слева). Молекула корецептора CD4 участвует в распознавании, взаимодействуя с молекулой МНС класса II, к которой он обладает сродством. Особенности определения суперантигена, который не встраивается в пептидсвязывающую щель молекулы МНС класса II, а соединён с его боковой поверхностью (на рисунке — справа). Распознавание рецептором CD4⁺ Т-клетки осуществляется по сродству к суперантигену β1-цепей, относящихся к некоторым семействам. Таким образом, если комплекс антигенного пептида с молекулой МНС класса II определяется отдельными клонами Т-клеток, то суперантигены (целиком, а не расщеплённые до пептидов) распознаются группами клонов данного семейства β-цепей.

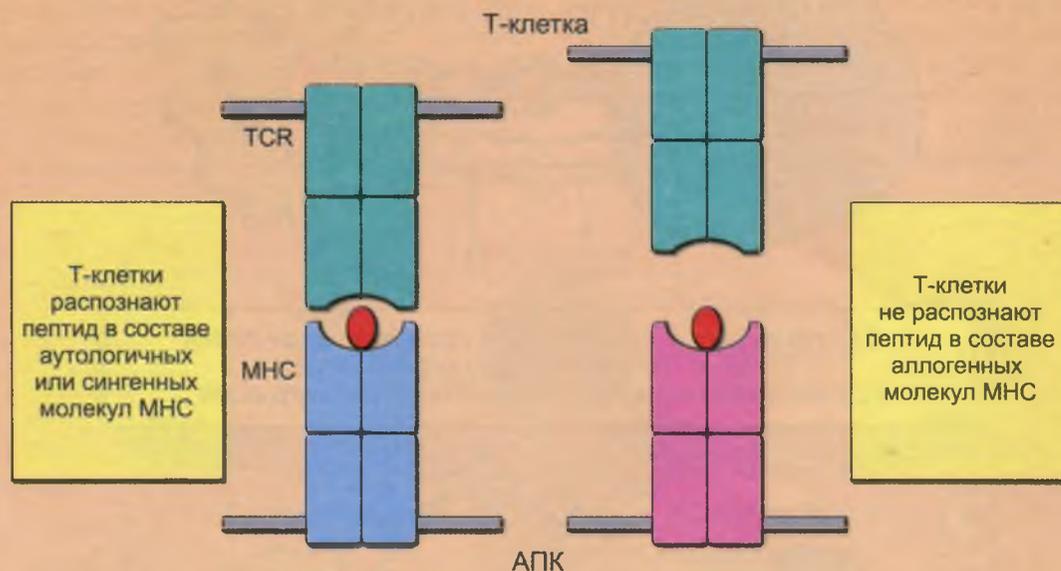
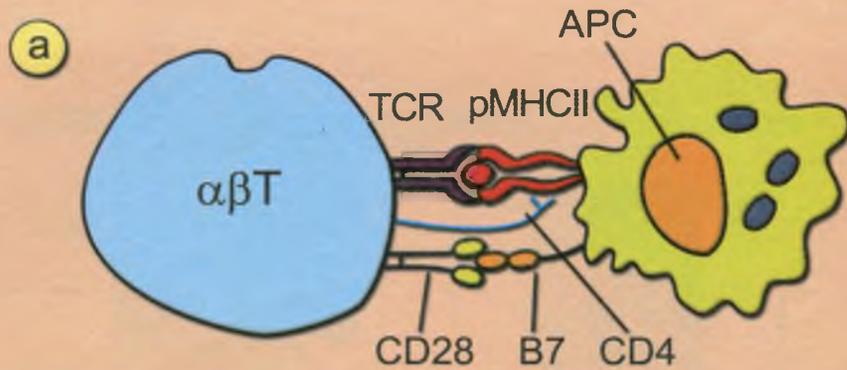


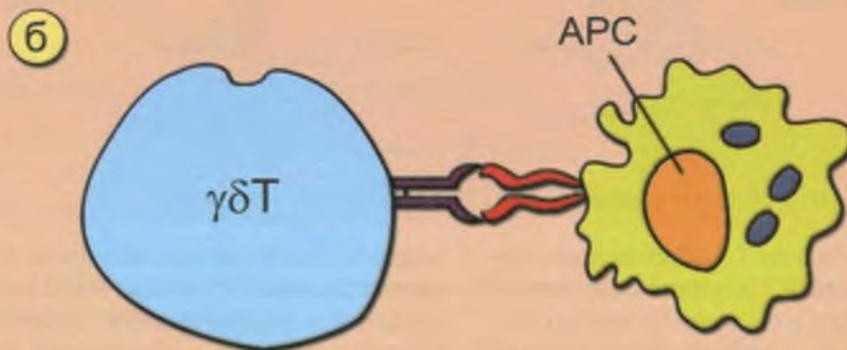
Рис. 218. МНС-ограничение (рестрикция) Т-клеточного распознавания

Условием распознавания Т-клетками комплексов пептид-молекула МНС является сингенность молекул МНС. Пептиды в составе аллогенных (чужеродных, относящихся к тому же виду) молекул не распознаются. Это ограничение (рестрикция) связано с тем, что ТСR с участием корецепторов распознаёт как антигенный пептид, так и прилега-

ющий к нему участок молекулы МНС (двойное распознавание). Наличие МНС-рестрикции обусловлено положительной селекцией клонов Т-клеток в тимусе, при которой поддерживается жизнеспособность только тех клонов Т-клеток, которые распознают аутологичные (сингенные) молекулы МНС (см. рис. 245–246).



а
 $\alpha\beta$ Т-клетка распознает пептид в составе классических молекул МНС с участием корецептора. Для индукции активации обязательна коstimуляция



б
 $\gamma\delta$ Т-клетка распознает неклассические молекулы МНС – Т10 и Т22. Пептид не распознается. Костимуляция не играет роли

Рис. 219. Особенности распознавания Т-клеточными рецепторами $\alpha\beta$ - и $\gamma\delta$ -типов

Отражены основные особенности распознавания АГ Т-клетками $\alpha\beta$ - (а) и $\gamma\delta$ -типов (б) с учётом роли пептида и молекулы МНС в зависимости от корецепторов и коstimулирующих молекул. В силу

недостаточной изученности распознающей способности $\gamma\delta$ Т-клеток представлен лишь один вариант (определение неклассических молекул МНС), для которого получены точные сведения.

2.2. КЛЕТОЧНЫЕ ОСНОВЫ АДАПТИВНОГО ИММУНИТЕТА

В отличие от врождённого иммунитета, реализуемого преимущественно миелоидными клетка-

ми, функции адаптивного иммунитета осуществляются лимфоидными клетками.

2.2.1. ЛИМФОИДНЫЕ ОРГАНЫ И ЛИМФОЦИТЫ: ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА

Возникновение адаптивного иммунитета в эволюции было сопряжено с формированием системы специализированных органов (для реализации врождённого иммунитета специализированные органы не требуются; достаточно органов кровотока). В связи с преобладанием лимфоцитов эти

органы называются лимфоидными. Выделяют первичные (центральные) и вторичные (периферические) лимфоидные органы, а также лимфоидные структуры барьерных тканей. Вторичные лимфоидные органы связаны путями, по которым перемещаются (рециркулируют) лимфоидные клетки.

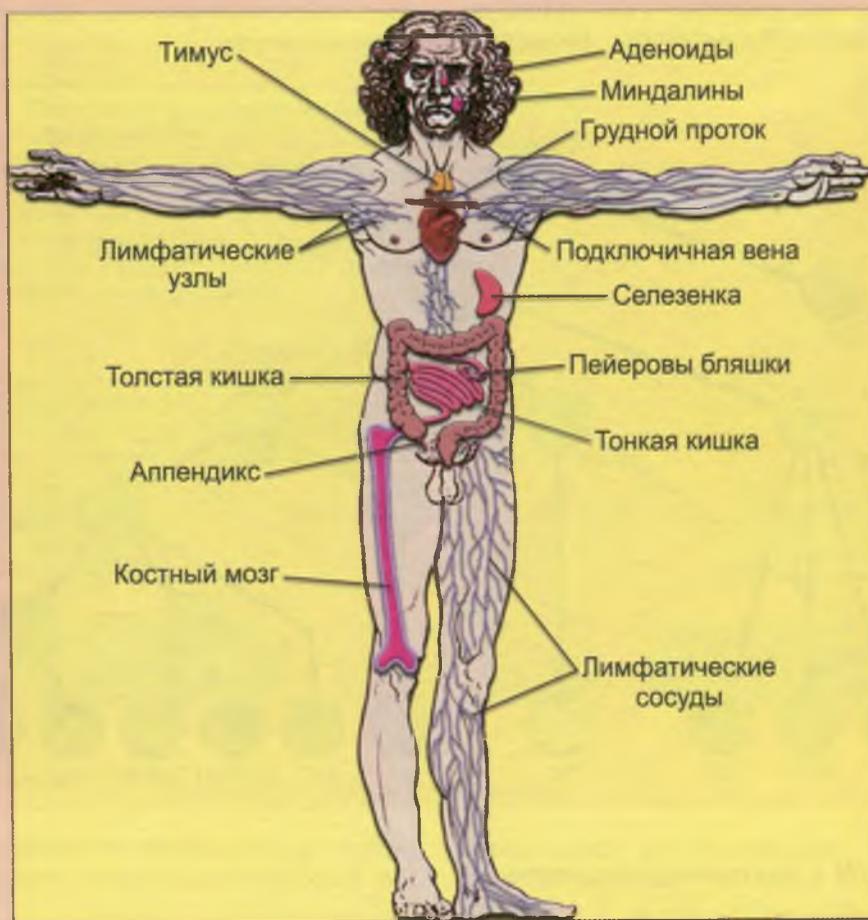


Рис. 220. Иммунная система человека

В центральных лимфоидных органах происходит созревание лимфоцитов. У млекопитающих центральным лимфоидным органом является только тимус, в котором происходит развитие Т-лимфоцитов, а у птиц — также сумка Фабриция, в которой образуются В-лимфоциты. Центральным лимфоидным органом считается также костный мозг, в котором формируются все лимфоциты, кроме Т-клеток. Однако функции костного мозга шире: он служит местом, в котором происходит развитие других клеток крови. В нём также локализуются клетки памяти и происходят события, связанные с запуском вторичного иммунного ответа. В ограниченной степени функции центрального лимфоидного органа выполняет лимфоидная ткань кишечника, в которой реализуются определённые этапы развития некоторых субпопуляций Т-клеток; у жвачных в кишечнике завершают своё развитие В-лимфоциты. Вторичные

лимфоидные органы предназначены для осуществления иммунного ответа, поскольку в них в ограниченном пространстве сосредоточены клетки, необходимые для включения и развития иммунного ответа, в частности имеются условия для улавливания конкретных клонов Т-лимфоцитов, а также для взаимодействия Т-лимфоцитов с дендритными клетками и В-лимфоцитами. Несмотря на количественное преобладание, лимфоциты являются транзиторными компонентами лимфоидных органов; их постоянным элементом является соединительнотканная строма, создающая условия для привлечения лимфоцитов из циркуляции (дифференцированно в разные отделы органа) и обеспечения их выживаемости. На схеме указаны основные лимфоидные и кроветворные органы и пути циркуляции клеток иммунной системы — кровеносные и лимфатические сосуды.

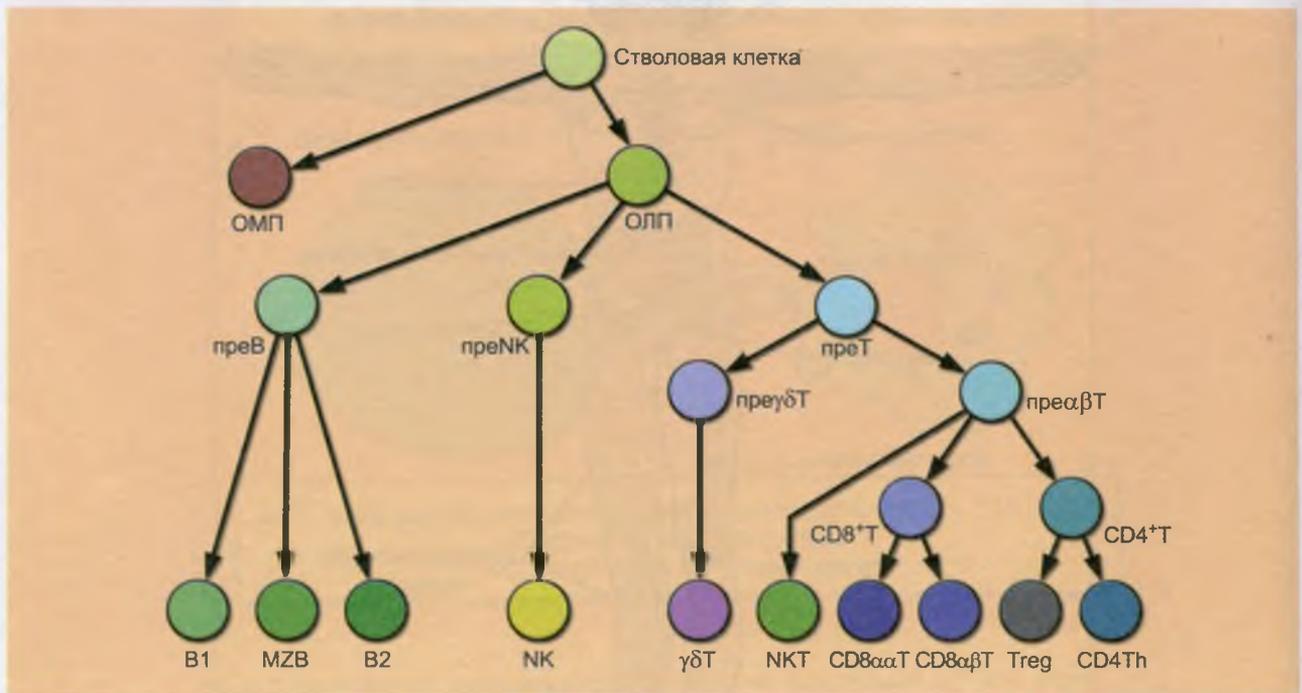


Рис. 221. Схема развития лимфоцитов

Все лимфоидные клетки происходят от кроветворной стволовой клетки. Обособление лимфоидного ряда связано с дифференцировкой общего лимфоидного предшественника, от которого происходят три основные линии лимфоидных клеток — В, NK и Т. В пределах каждой из этих линий существуют субпопуляции (указаны для В- и Т-клеток). Представлены только субпопуляции, возникающие в ходе нормальной дифференцировки (без воздействия АГ), которые называют естественными. Субпопуляции, формирующиеся в ходе иммунного ответа, называют адаптивными (описаны для Т-лимфоцитов; см. рис. 346). Хотя на схеме лимфоидный и миелоидный ростки традиционно противопоставлены друг другу, имеются свидетельства их

сложных взаимопревращений (например, развития В-лимфоцитов из миелоидных клеток).

Условные обозначения: ОМП — общий миелоидный предшественник; ОЛП — общий лимфоидный предшественник; клетки-предшественники различных линий отмечены приставкой «пре»; при обозначении всех типов клеток опущено слово «клетка»; MZB — В-клетки маргинальной зоны; NK — естественный киллер (NK-клетка); $\gamma\delta$ T — Т-клетки, несущие рецептор (TCR) $\gamma\delta$ -типа; $\alpha\beta$ T — Т-клетки, несущие рецептор $\alpha\beta$ -типа; CD8 $\alpha\alpha$ — Т-клетки, несущие корецептор CD8 $\alpha\alpha$; CD8 $\alpha\beta$ CTL — цитотоксические Т-лимфоциты, несущие корецептор CD8 $\alpha\beta$; CD4Th — CD4⁺ Т-хелперы; Treg — регуляторные Т-клетки.

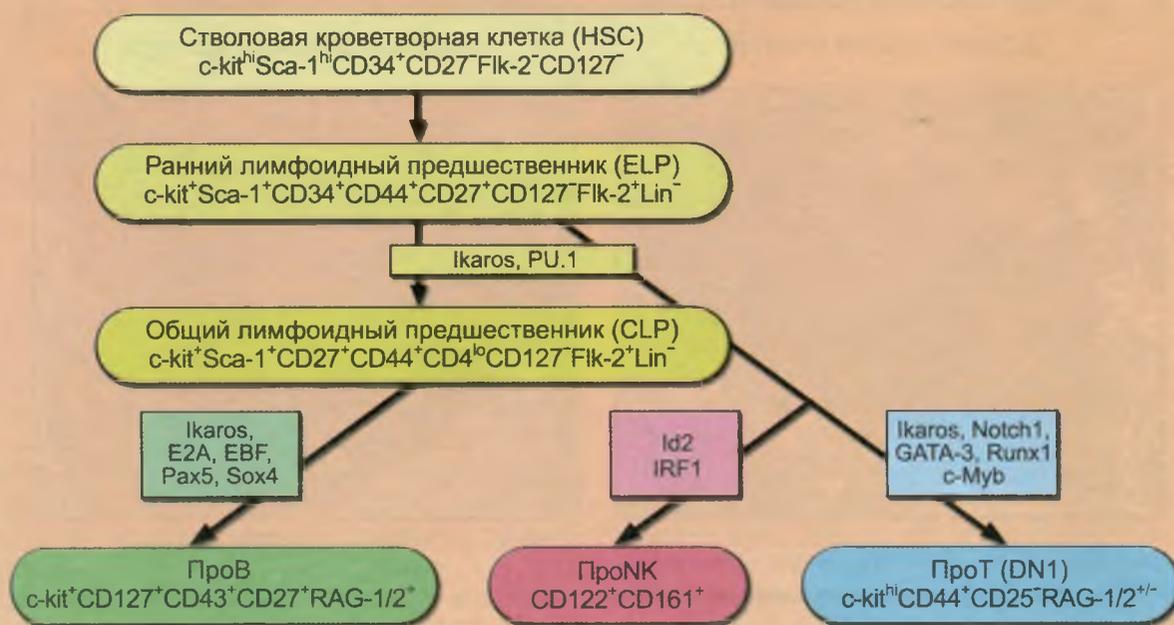


Рис. 222. Ранние этапы дифференцировки лимфоцитов

Представлено развитие лимфоидных клеток до начала формирования антигенраспознающих рецепторов.

Указаны мембранные маркёры и дифференцировочные факторы, определяющие развитие основных рядов лимфоидных клеток. Хотя родоначальной клеткой всех лимфоцитов является общий

лимфоидный предшественник — CLP (*Common lymphoid progenitor*), на схеме в качестве предшественника Т- и NK-клеток указан еще более ранний клеточный тип — ELP (*Earliest lymphoid progenitor*), поскольку именно эта клетка мигрирует в тимус, где даёт начало не только лимфоидным, но и миелоидным клеткам.

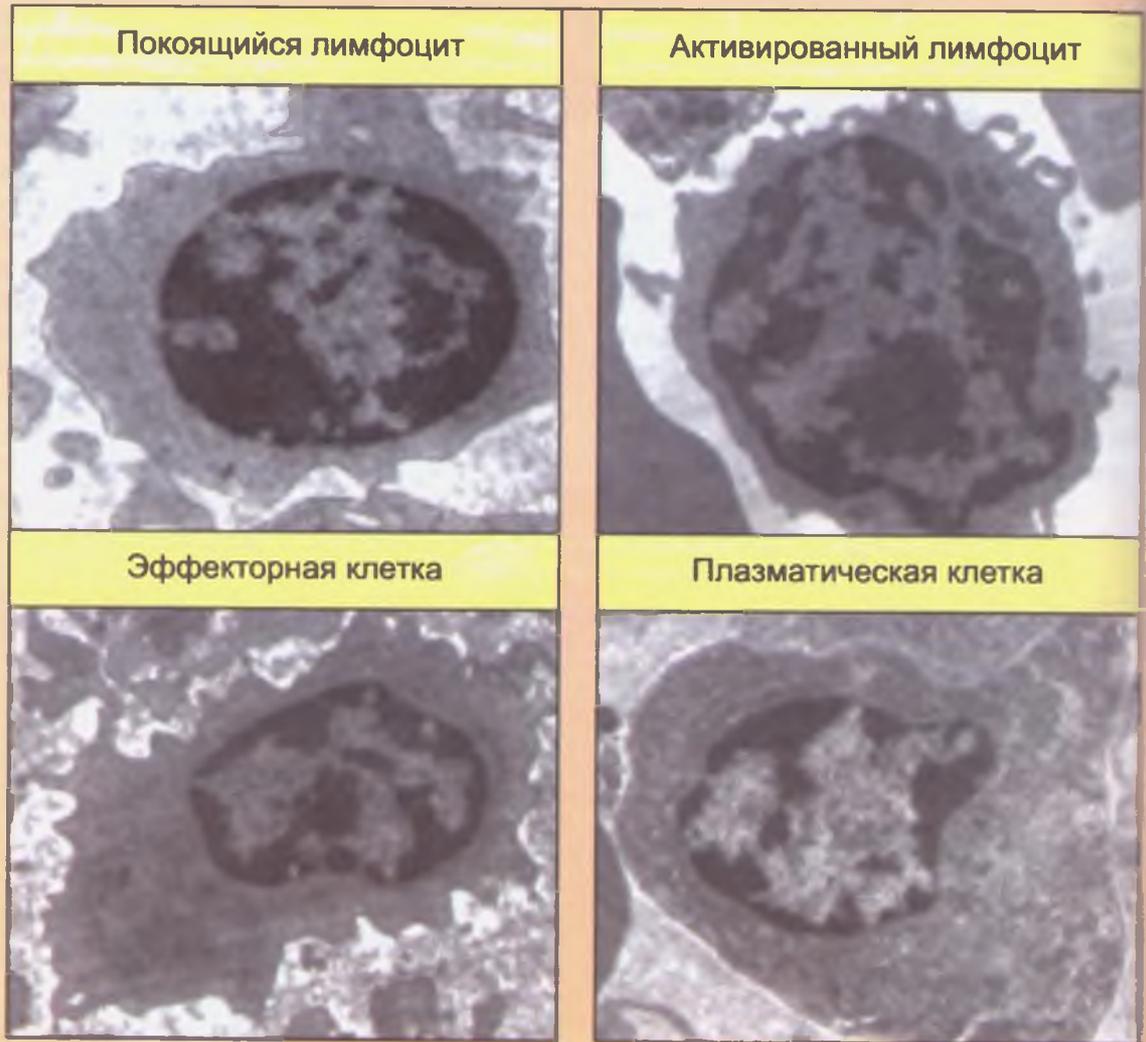


Рис. 223. Морфология лимфоидных клеток

Данные электронной микроскопии. Покоящийся лимфоцит (Т- или В-типы морфологически не определяются) — малый лимфоцит с конденсированным ядром, слабо развитой цитоплазмой без ЭР. Лимфобласт (Т или В), образующийся в ходе дифференцировки лимфоцитов, а также при активации покоящегося лимфоцита АГ, представляет собой большой лимфоцит с крупным ядром, со-

держащим диффузный хроматин и ядрышки. Эффекторный Т-лимфоцит и плазматическая (антителообразующая) клетка имеют развитую цитоплазму с многочисленными митохондриями и развитым ретикуломом, который особенно развит в плазматических клетках, секретирующих антитела. Ядро содержит диффузный хроматин и ядрышки.

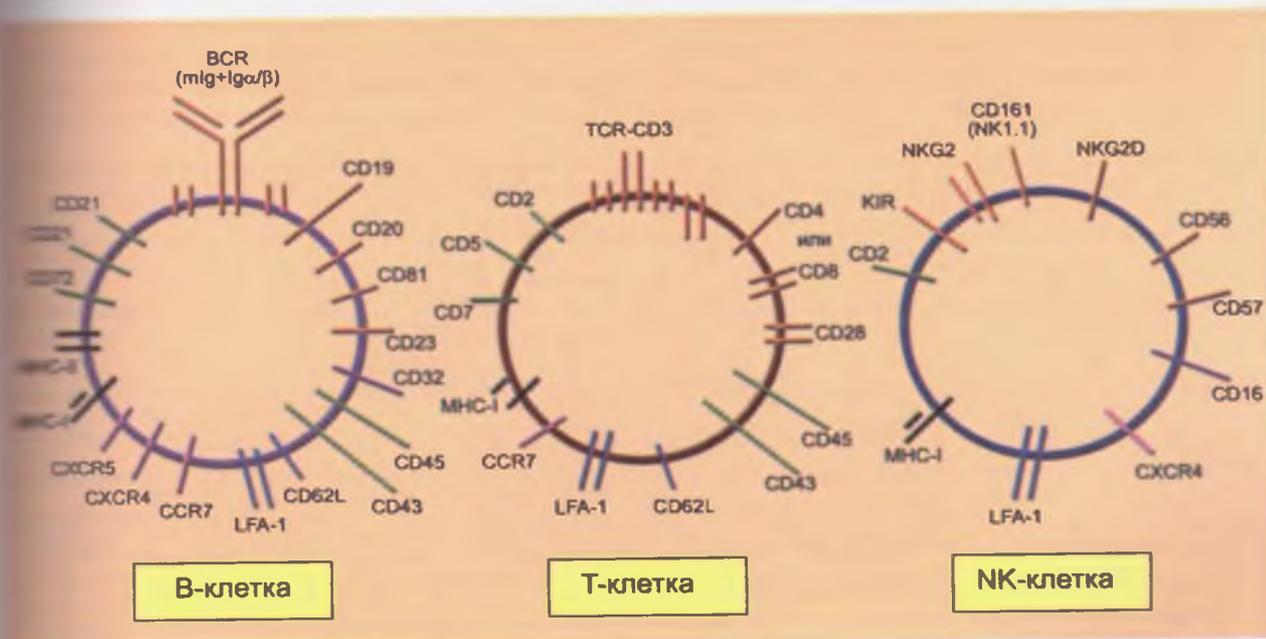


Рис. 224. Функционально важные и маркёрные мембранные молекулы основных популяций лимфоцитов

Красным цветом обозначены антиген- и МНС-распознающие рецепторы, а также другие молекулы, связанные с распознаванием и костимуляцией, синим цветом — молекулы адгезии, чёрным — молекулы МНС, фиолетовым — Fc-рецепторы, розовым — хемокиновые рецепторы, зелёным — прочие молекулы.

Условные обозначения: CD (*clusters of differentiation*) — кластер дифференцировки; BCR (*B-cell receptor*) — В-клеточный рецептор; TCR (*T-cell*

receptor) — Т-клеточный рецептор; mIg (*membrane immunoglobulin*) — мембранный иммуноглобулин; LFA (*Lymphocyte function antigen*) — α L β 2-интегрин; МНС (*Major histocompatibility complex*) — молекула главного комплекса гистосовместимости; NKG (*Natural killer gene*) — лектины NK-клеток, распознающие молекулы МНС и их аналоги; CCR (*CC-chemokine receptor*) — рецептор для CC-хемокинов; CXCR (*CXC-chemokine receptor*) — рецептор для CXC-хемокинов.

2.2.2. В-ЛИМФОЦИТЫ И ИХ РАЗВИТИЕ

В-лимфоциты представляют одну из трёх главных ветвей лимфоидных клеток. У человека и большинства млекопитающих они развиваются в костном мозгу. Здесь происходит главное событие В-лимфопоэза — перестройка V-генов иммуноглобулинов и экспрессия на мембране антигенраспознающего рецептора — BCR. После элиминации

аутоспецифических клонов В-лимфоциты развиваются из костного мозга в периферический иммунной системы. Гетерогенность В-лимфоцитов обусловлена не только различиями специфичности BCR (они определяют клональную структуру популяции), но и другими свойствами В-клеток, определяющими их принадлежность к трём субпопуляциям.



Изоотипы иммуноглобулинов	Обычно IgM (M>>G)	(M>G)	IgM/IgD, IgG, IgA, IgE (G>M)
Дополнительный маркёр	CD5 (на B1a), CD11b		CD23
Перестройка генов Ig	Используется ограниченное число V-сегментов	Многообразие частично ограничено	Используются все механизмы генерации разнообразия
N-вставки	Мало или нет	Есть	Много
Соматический мутагенез	Отсутствует	?	Есть
Синтез антител	Спонтанный	Индукцированный	Индукцированный
Локализация	В серозных полостях	В маргинальных зонах (MZ) селезенки	Во вторичных лимфоидных органах, крови
Обновление	Самоподдержание	Замещение новообразованными клетками	Длительный срок жизни
Память	+/-	++	?

Рис. 225. Субпопуляции В-лимфоцитов

Выделяют три главные субпопуляции В-лимфоцитов — B1-, B2- (обычные В-) и В-клетки маргинальной зоны. B1-клетки разделяют на подклассы B1a (CD5⁺) и B1b (CD5⁻), сходные по своим свойствам. На схеме указаны дифференцировочные факторы, контролирующие развитие субпопуляций В-клеток; в таблице приведены их основные отличительные свойства. B1-клетки и В-клетки маргинальной зоны участвуют в первой линии иммунной защиты и фактически относятся к факторам врождённого иммунитета (см. рис. 368). B2-клетки относятся к подсистеме адаптивного иммунитета, являясь основными клетками гуморального иммунного ответа.

Выделяют три главные субпопуляции В-лимфоцитов — B1-, B2- (обычные В-) и В-клетки маргинальной зоны. B1-клетки разделяют на подклассы B1a (CD5⁺) и B1b (CD5⁻), сходные по своим свойствам. На схеме указаны дифференцировочные факторы, контролирующие развитие субпопуляций В-клеток; в таблице приведены их основные отличительные свойства. B1-клетки и В-клетки маргинальной зоны участвуют в первой линии иммунной защиты и фактически относятся к факторам врождённого иммунитета (см. рис. 368). B2-клетки относятся к подсистеме адаптивного иммунитета, являясь основными клетками гуморального иммунного ответа.

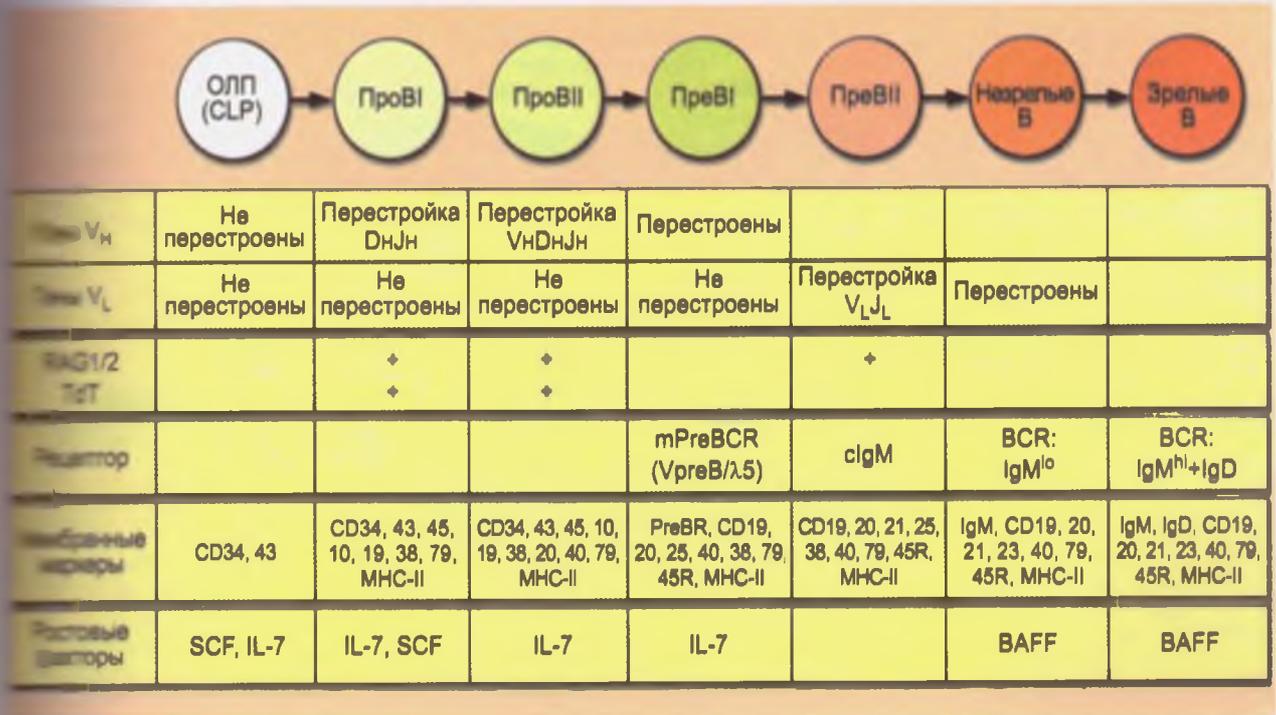


Рис. 226. Развитие В-лимфоцитов

Основу разделения процесса дифференцировки В-клеток на этапы положена оценка состояния генов иммуноглобулинов и стадии экспрессии антигенраспознающего рецептора BCR. На схеме отражены также изменения наиболее важных ядерных и мембранных молекул в процессе созревания В-лимфоцитов, а также ростовые факторы, определяющие их пролиферацию. Данные получены при изучении В2-лимфоцитов, однако в основных чертах они справедливы также для В1- и МЗВ-клеток.

Условные обозначения: DHJH, VHДHJH — стадии перестройки VH-гена BCR; VLJL — пере-

стройка VL-гена BCR; TdT (*Terminal desoxynucleotidyl transferase*) — терминальная дезоксирибонуклеотидил-трансфераза (фермент, ответственный за нематричный синтез олигонуклеотидов); RAG (*Recombinase activation gene*) — гены комбинационного комплекса, ответственного за включение процесса перестройки рецепторных генов; BAFF (*B-cell activating factor belonging to the TNF family*) — цитокин семейства фактора некроза опухоли, ответственный за выживаемость зрелых В-клеток; SCF (*Stem cell factor*) — фактор стволовых клеток.

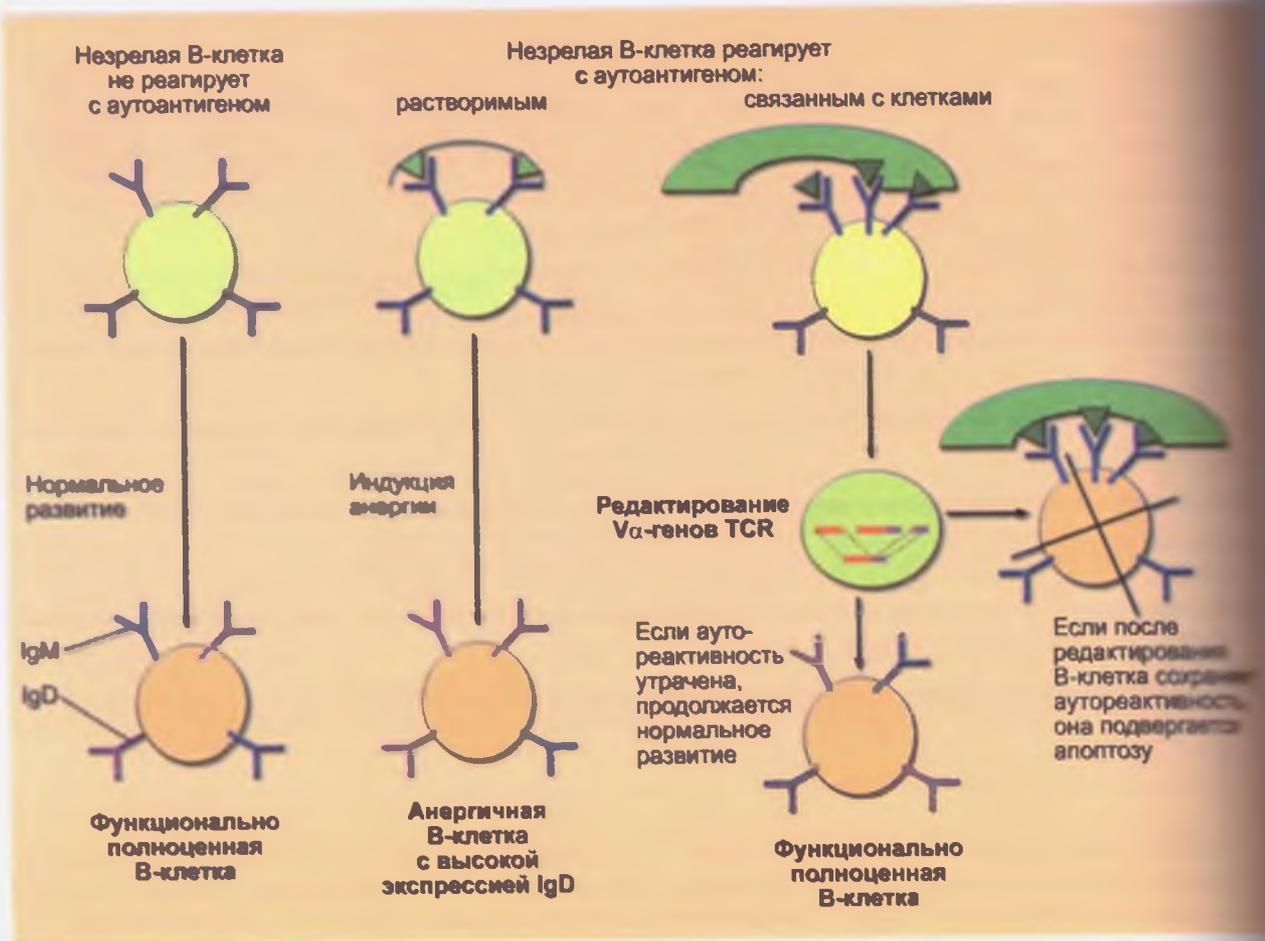


Рис. 227. Отрицательная селекция В-лимфоцитов в костном мозгу

Известно два механизма выбраковки аутореактивных В-клеток: индукция анергии (обычно в ответ на реакцию незрелых В-клеток с растворимыми аутоантигенами) и апоптоз (при распознавании тканевых аутоантигенов).

Для анергичной В-клетки характерно более высокое соотношение мембранных иммуноглобулинов IgD/IgM, чем для реактивной В-клетки.

Развитию апоптоза предшествует этап повторного редактирования V-генов иммуноглобулинов. В результате обычно формируется новый ген, продукт которого лишен способности узнавать аутоантигены. В этом случае клетка, изменившая специфичность своего рецептора, выживает, а в случае сохранения аутореактивности клетка подвергается апоптозу.

ТИМУС И РАЗВИТИЕ Т-ЛИМФОЦИТОВ

Способность формирования Т-лимфоцитов, отличающаяся от всех остальных клеток крови, состоит в зависимости от эпителиального микроокружения. В связи с этим для полноценного развития Т-лимфоцитов необходима их миграция в тимус, который имеет эпителиальную строму.

В тимус мигрируют ранние лимфоидные предшественники с широкими дифференцировочными потенциалами, из которых внутри тимуса в

наибольшей степени реализуется способность к дифференцировке в Т-клетки. В тимусе происходит основное событие Т-лимфопоэза — формирование TCR, а после его экспрессии — селекция клонов тимоцитов и их дифференцировка с формированием естественных (не зависящих от действия АГ) субпопуляций. Т-клетки, созревшие в тимусе, эмигрируют в периферический отдел иммунной системы.

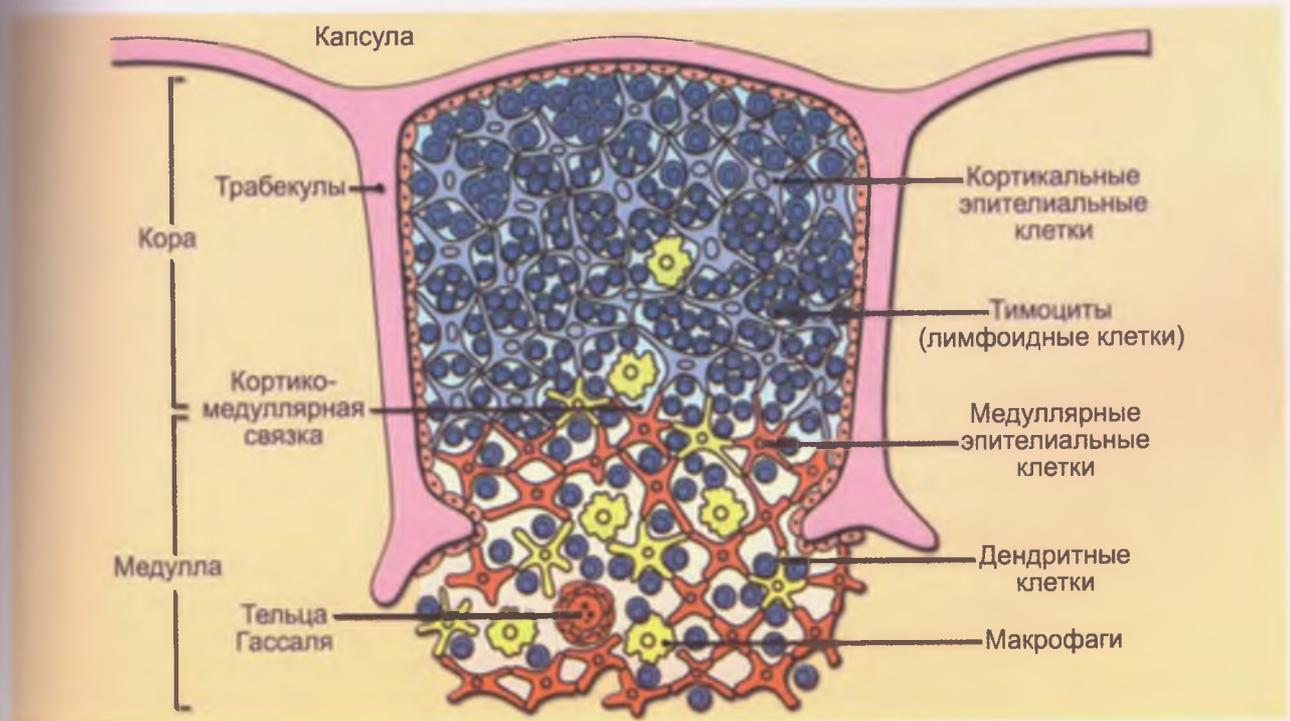


Рис. 228. Схема строения тимуса

Тимус — лимфоэпителиальный орган. Он рассматривается как центральный орган иммунитета, поскольку в нём происходит развитие Т-лимфоцитов, но не осуществляются собственно иммунные (защитные) процессы. Тимус окружен капсулой, от которой внутрь органа отходят трабекулы, делящие его на дольки. Помимо обычной соединительнотканной стромы тимус имеет эпителиальный ретикулярный каркас, который заполнен лимфоидными клетками (timoцитами), происходящими из костного мозга. Костномозговое происхождение имеют также ДК и МФ тимуса. В тимусе имеются корковый (кортикальный) и мозговой (медулляр-

ный) слой; в корковом слое дополнительно выделяют субкапсулярный (наружный) слой и кортико-медуллярную связку. Последняя служит воротами тимуса, через которые поступают кровеносные сосуды, а также нервы. Кортикальные и медуллярные тимоциты отличаются степенью зрелости и мембранным фенотипом. Эпителиальные клетки коры и мозгового слоя также отличаются свойствами и способностью секретировать цитокины и активные пептиды. В медуллярном эпителии присутствуют тельца Гассалья (структуры, похожие на срез луковицы, в которых происходит ороговение клеток). (По Janeway С.А., 2005.)

Внеэпителиальное (периваскулярное) пространство

Клетки стромы

Эндотелий сосудов

Фибробласты

Клетки костномозгового происхождения

Макрофаги

Тучные клетки

В-лимфоциты

Эпителиальное пространство

Эпителиальные клетки (ТЭК)

ТЭК субкапсулярной зоны

ТЭК корковой зоны (в том числе клетки-няньки)

ТЭК мозговой зоны (в том числе клетки телец Гассаля)

Нелимфоидные клетки костномозгового происхождения

Миоидные клетки (медуллярная зона)

Макрофаги

Дендритные клетки (медуллярная зона)

Лимфоидные клетки (тимоциты)

CD4⁻CD8⁻ тимоциты (субкапсулярные)CD4⁺CD8⁺ тимоциты (кортикальные)CD4⁺CD8⁻ и CD4⁻CD8⁺ тимоциты (медуллярные)*Рис. 229.* Клетки тимуса и их локализация

Гистогенетически тимус представляет собой трёхслойный орган. Он имеет: 1) соединительнотканную строму, формирующую трабекулы, сосудистую сеть и периваскулярное пространство; 2) эпителиальный ретикулум, формирующий эпителиаль-

ное пространство, и 3) заселяющие его лимфоидные клетки — тимоциты, а так-же другие клетки костномозгового происхождения (ДК, МФ, МФ, миоидные клетки), вероятно, как и тимоциты, дифференцирующиеся в тимусе.

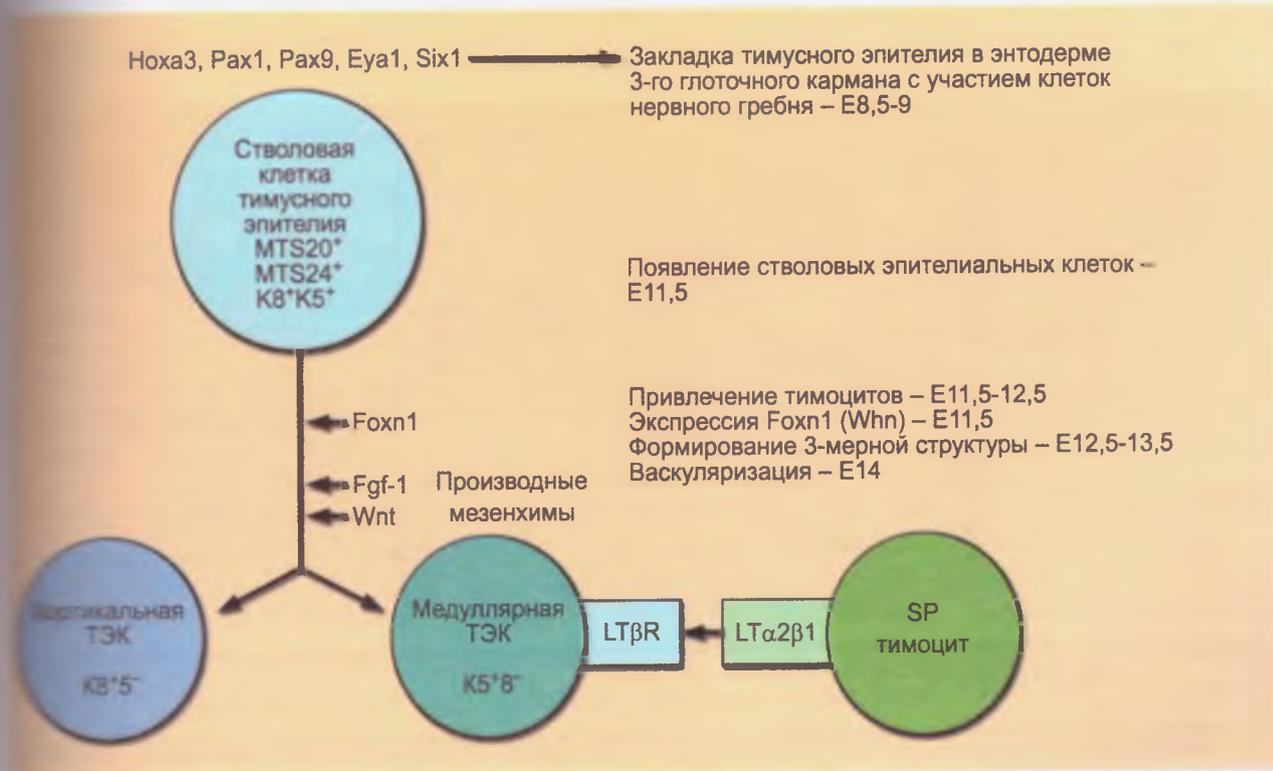


Рис. 230. Развитие тимусного эпителия

Отражена дифференцировка кортикальных и медуллярных ТЭК с указанием их маркёров (в кружках, соответствующих клеткам) и дифференцировочных факторов (выше стволовой клетки и справа от линии, означающей дифференцировку), наиболее важным из которых является Fcхn1 (его мутация ответственна за фенотип nude — голых бестимульных мышей). В правой части рисунка указаны основные события в процессе развития ТЭК с указанием сроков их реализации. Внизу справа схематически изображено взаимодействие между медуллярной ТЭК и одинарно положительным (SP — от *single positive*) тимоцитом, необходимое для самоорганизации медуллярного эпителия. Взаимодействие

реализуется с участием мембранного лимфотоксина α2β (LTα2β1), локализующегося на поверхности тимоцита, и его рецептора (LTβR), расположенного на поверхности медуллярной ТЭК.

Под формированием трёхмерной структуры понимается образование ретикулоэпителиального каркаса, способного привлечь тимоциты и обеспечить их развитие; трёхмерность служит условием экспрессии на ТЭК молекул МНС класса II и принципиально важна для полноценной дифференцировки тимоцитов.

Условные обозначения: ТЭК — тимусные эпителиальные клетки; буква E с цифрой — сутки эмбрионального развития мышей.

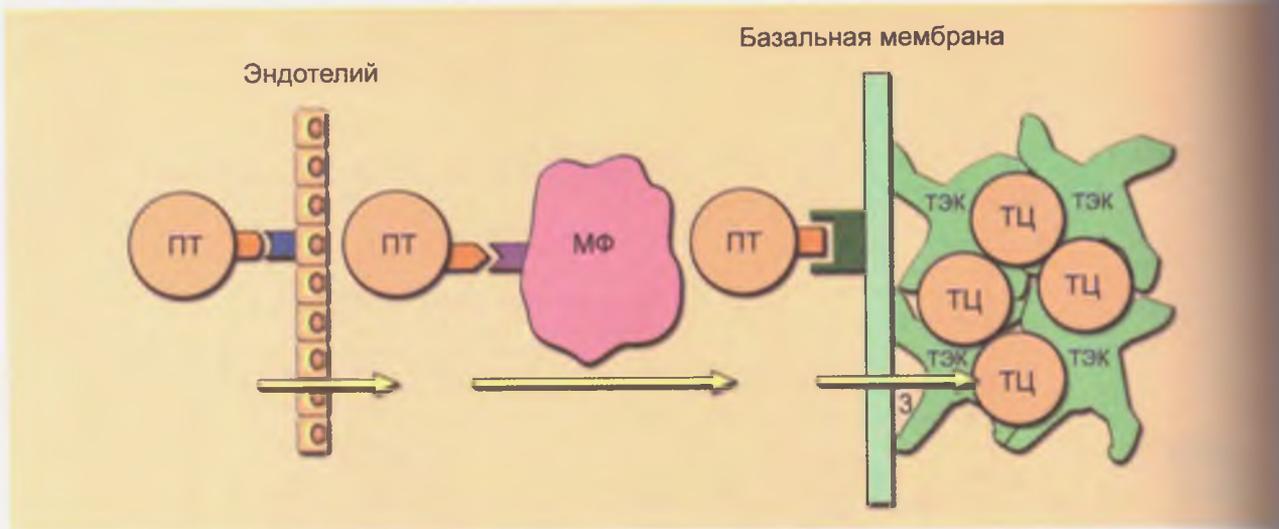


Рис. 231. Структура гемато-тимического барьера

В процессе миграции костномозговых клеток-предшественников тимоцитов из кровотока в кору тимуса они должны преодолеть три барьера:

- эндотелий сосудов;
- макрофагальный вал околососудистого пространства;
- базальную мембрану эпителиального пространства.

Эти барьеры в схематической форме отражены на рисунке. Условием успешного преодоления клетками названных барьеров является наличие на

их поверхности рецепторов к ключевым мембранным молекулам эндотелиальных и эпителиальных клеток, а также МФ. Пока выяснены отнюдь не все молекулярные механизмы взаимодействия клеток-предшественников с компонентами тимического барьера.

Миграция клеток в мозговую часть тимуса требует преодоления тканевых барьеров.

Условные обозначения: ПТ — клетка-предшественник тимоцитов; МФ — макрофаг; ТЦ — тимоцит; ТЭК — эпителиальная клетка тимуса.

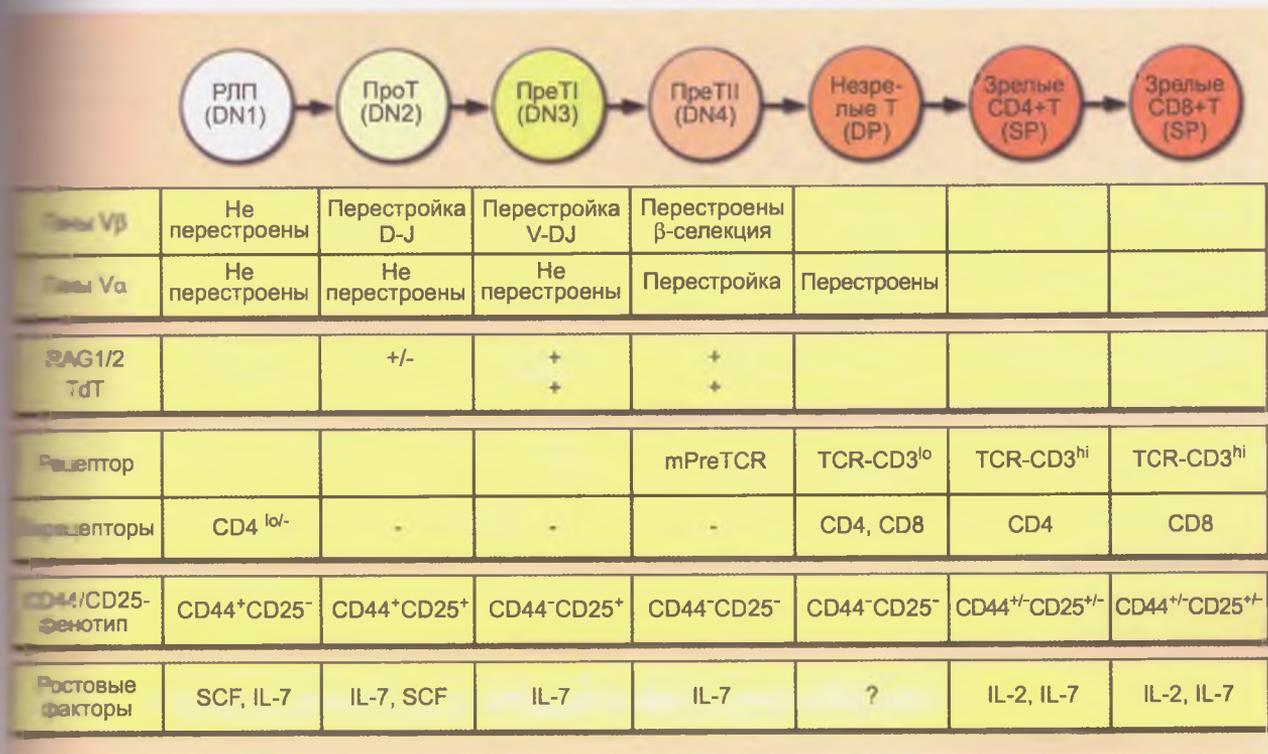


Рис. 232. Развитие Т-лимфоцитов

Схема аналогична приведённой выше схеме развития В-лимфоцитов (см. рис. 226). В основу разделения развития Т-лимфоцитов на этапы положено состояние рецепторных V-генов и экспрессии TCR, а также корецепторов и других мембранных молекул. Приведены ключевые характеристики фенотипа и ростовых факторов развивающихся Т-клеток.

Принятые обозначения стадий развития Т-клеток определяются экспрессией корецепторов: DN (от *double-negative*) — двойные отрицательные, CD4⁻CD8⁻, DP (от *double-positive*, CD4⁺CD8⁺) — двойные положительные, SP (от *single-positive*) —

одинарно положительные, CD4⁺CD8⁻ и CD4⁻CD8⁺. Деление DN-timoцитов на стадии DN1, DN2, DN3 и DN4 основывается на характере экспрессии молекул CD44 и CD25.

Другие условные обозначения: SCF (от *Stem cell factor*) — фактор стволовых клеток, lo (в индексе) — (*low*), т.е. низкий уровень экспрессии. Стадии реаранжировки: D-J — предварительный этап, соединение сегментов D и J (только в генах β - и δ -цепей TCR, см. рис. 187), V-DJ — завершающий этап, соединение зародышевого V-гена с объединённым сегментом DJ.

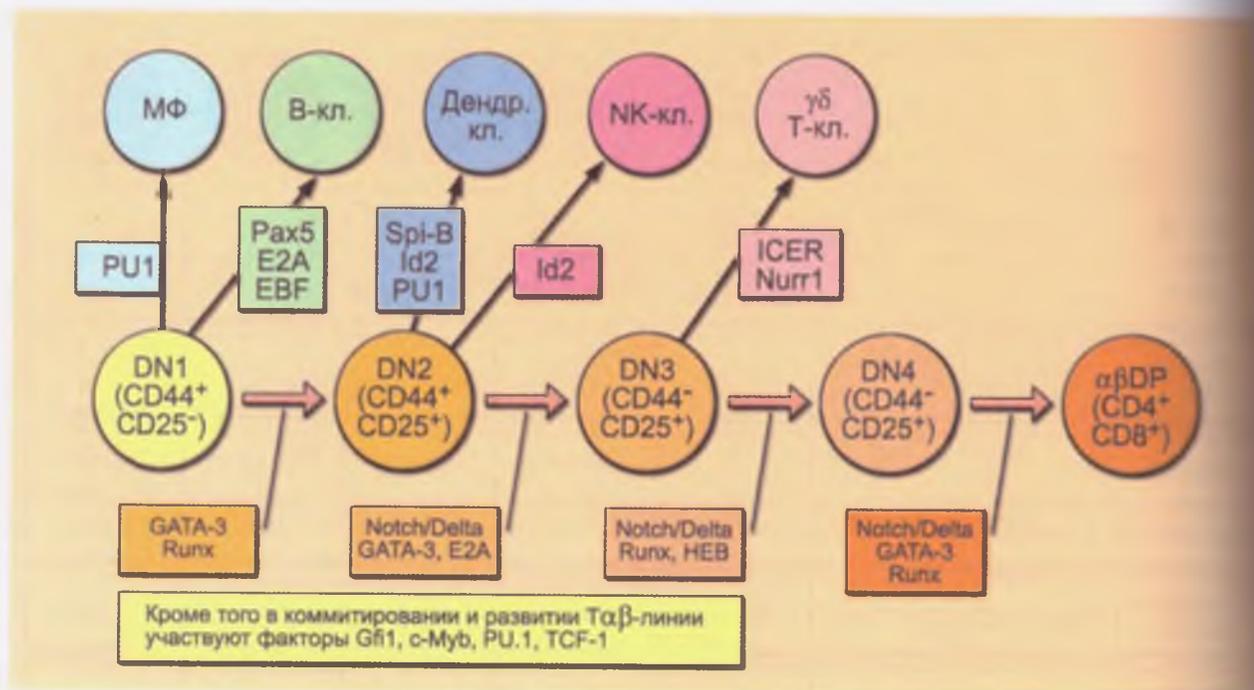


Рис. 233. Полипотентность ранних тимических предшественников и роль дифференцировочных факторов в выборе пути развития их потомков

В тимус мигрируют ранние лимфоидные предшественники (ELP) — клетки, находящиеся на более ранней стадии развития, чем общий лимфоидный предшественник CLP (см. рис. 222). Это, в частности, проявляется способностью ELP дифференцироваться как в лимфоидные, так и в миелоидные клетки. По мере развития тимоцитов в тимусе эта полипотентность сужается и затем утрачивается. Клетки последовательно теряют способность дифференцироваться в МФ, В-лимфоциты, ДК и естественные киллеры.

Далее исчерпывается возможность превращения клеток-предшественников в $\gamma\delta$ Т-клетки и сохраняется лишь способность дифференцироваться

в $\alpha\beta$ Т-лимфоциты. На схеме указаны стадии, на которых происходит утрата способности развиваться в различные клетки иммунной системы, а также дифференцировочные факторы, ответственные за различные направления дифференцировки ELP и их потомков, в частности за различные этапы развития $\alpha\beta$ Т-клеток. Благодаря полипотентности костномозговых клеток-предшественников, заселяющих тимус, они способны обеспечить развитие не только самих Т-лимфоцитов, но и клеток, участвующих в их дифференцировке и селекции, в частности ДК.

Условные обозначения: МФ — макрофаги; см. также рис. 222, 232.

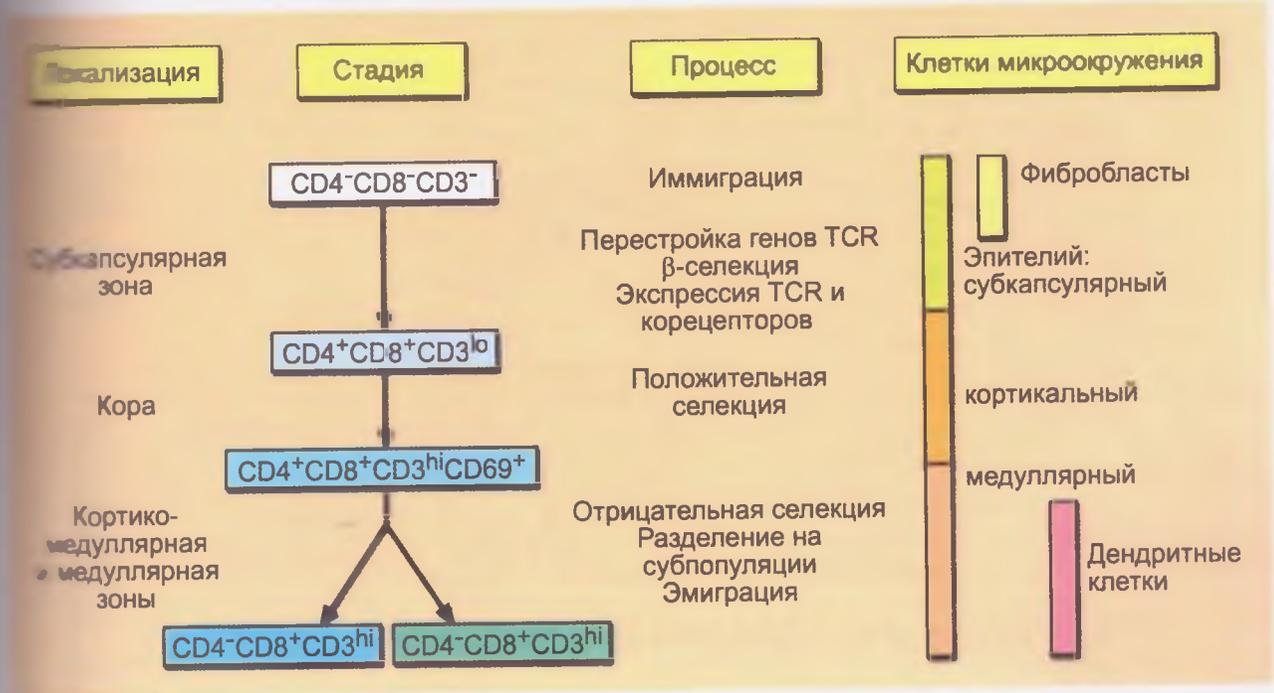


Рис. 234. Основные стадии развития тимоцитов, процессы, в которых они участвуют, и клетки тимусного микроокружения

Показаны основные стадии развития тимоцитов, участки тимуса, в которых они реализуются (слева), процессы, с которыми связаны эти стадии (в средней части рисунка), и клетки микроокруже-

ния, ответственные за реализацию соответствующих этапов развития (справа).

Условные обозначения: см. рис. 232.

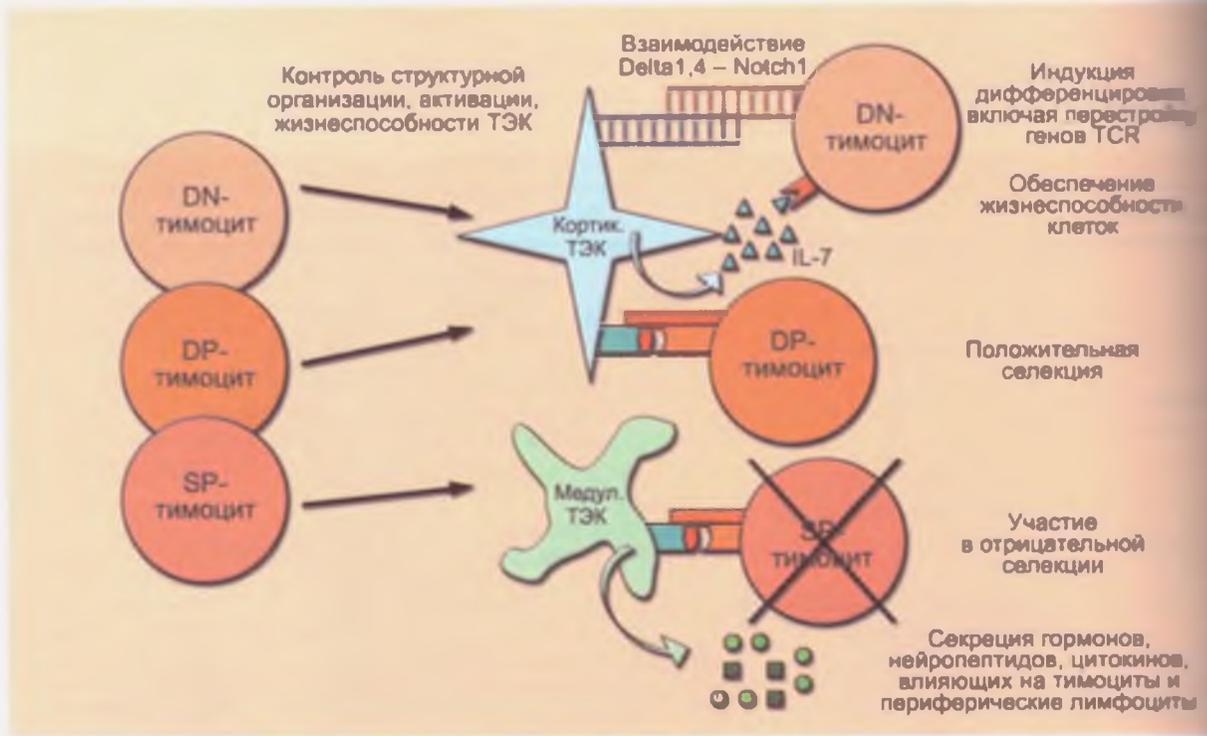


Рис. 235. Взаимодействие эпителиальных и лимфоидных клеток тимуса

Между эпителиальными и лимфоидными клетками тимуса существует двунаправленный обмен сигналами, важными для развития, структурной организации и поддержания жизнеспособности клеток обоих типов. Наиболее полно изучено влияние эпителиальных клеток на тимоциты, отражённое в правой части рисунка. На DN- и DP-timoциты влияют кортикальные, на SP-timoциты — медуллярные ТЭК. Кортикальные ТЭК служат источником контактных сигналов для DN- и DP-timoцитов, в первую очередь через взаимодействие Notch-лиганд (*Delta-like* или *Jagged*) — Notch-рецептор (см. рис. 239). Кроме того, кортикальные ТЭК выделяют гуморальные факторы, которые поддерживают жизнеспособность, определяют направление миграции, вызывают пролиферацию и являются кофакторами дифференцировки тимоцитов. Для DN-клеток наиболее важным гуморальным продуктом ТЭК является IL-7, для DP-timoцитов природа гуморальных факторов не установ-

лена. После появления TCR (начиная со стадии DP-timoцитов) наиболее важным фактором воздействия ТЭК на тимоциты становится презентация эндогенных пептидов на молекулах MHC (в ряду с ДК). Медуллярные ТЭК выделяют штирины и гормоны, необходимые для поддержания выживаемости и активации SP-timoцитов; продуцируемые ими пептидные гормоны влияют также на периферические Т-лимфоциты (см. рис. 255).

Воздействие тимоцитов на ТЭК (отражено в левой части рисунка) изучено значительно слабее. Тимоциты являются источником дифференцировочных и других морфогенетических факторов, которые играют роль в развитии ТЭК и структурной организации тимусного эпителия. Среди путей воздействия тимоцитов на ТЭК наиболее полно изучены эффекты фактора Foxp1, а также мембранного лимфопоэтина (см. рис. 230).

Условные обозначения: см. рис. 232.

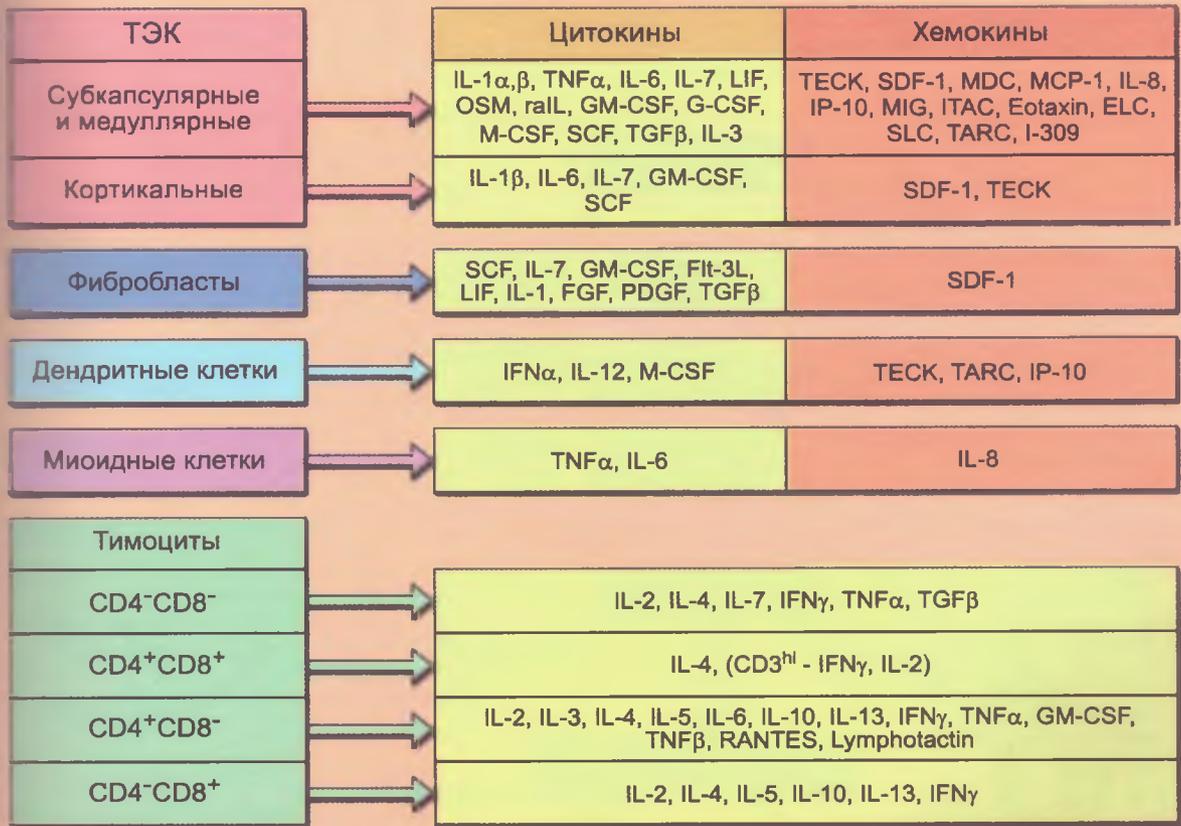


Рис. 236. Источники цитокинов в тимусе

Основными источниками цитокинов в тимусе являются среди эпителиальных клеток — субкапсулярные и медуллярные ТЭК, среди лимфоидных клеток — SP-тимоциты фенотипа CD4⁺CD8⁻. Цитокины тимуса взаимодействуют между собой, образуя малую цитокиновую сеть тимуса, относительно автономную от системной цитокиновой сети организма.

Условные обозначения: SP (*single positive*) — односторонне положительные (зрелые) тимоциты; IL — интерлейкины; IFN — интерфероны; TNF (*Tumor necrosis factor*) — фактор некроза опухоли; TGF

(*Transforming growth factor*) — трансформирующий фактор роста; CSF (*Colony-stimulating factor*) — колониестимулирующие факторы. GM — гранулоцитарно-макрофагальный, G — гранулоцитарный, M — моноцитарно-макрофагальный; FGF (*Fibroblast growth factor*) — фактор роста фибробластов; PDGF (*Platelet-derived growth factor*) — фактор роста из тромбоцитов; OSM (*oncostatin M*) — онкостатин M; LIF (*Leukemia-inhibiting factor*) — лейкемия-ингибирующий фактор; RANTES (*Regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted*) — β -интегрин CCL5; FLT-3L — лиганд FLT3 (*Fms-like tyrosine kinase 3*).

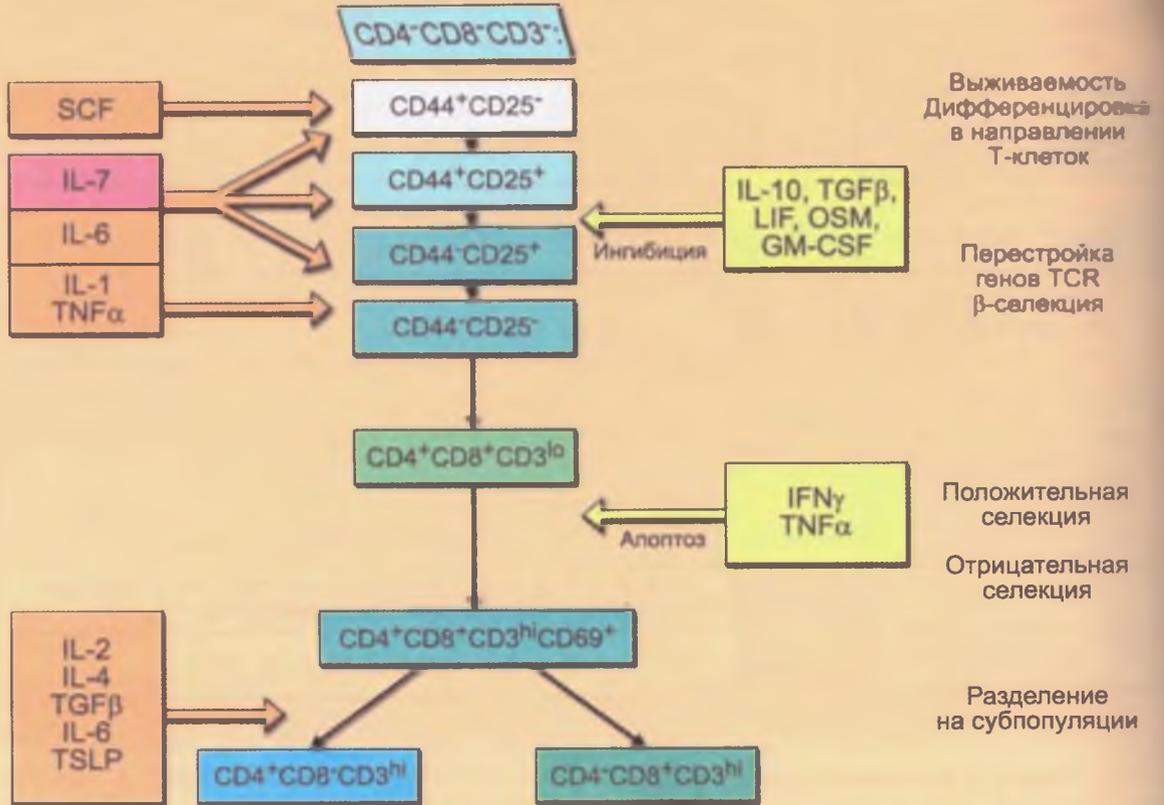


Рис. 237. Участие цитокинов в развитии тимоцитов

Многие процессы, связанные с дифференцировкой Т-клеток в тимусе, опосредуются цитокинами, хотя их роль, как правило, является вспомогательной (наибольшее значение придаётся контактным взаимодействиям клеток). Цитокины, особенно IL-7, важны для контроля выживаемости и пролиферации DN ($CD4^-CD8^-$)-timoцитов; IL-7 служит также кофактором дифференцировки, ответственным за включение перестройки V- (прежде всего V γ -) генов. Альтернативную роль выполняют

цитокины семейства IL-6 — LIF и онкостатин, а также супрессорные цитокины IL-10 и TGF β , которые оказывают на этом этапе ингибирующее действие. Роль цитокинов на стадии DP-клеток не ясна. Допускается вероятность их участия в контроле баланса пролиферации и апоптоза тимоцитов в процессе селекции. Определённый вклад вносит ряд цитокинов на этапе разделения тимоцитов на субпопуляции.

Условные обозначения: см. рис. 236.

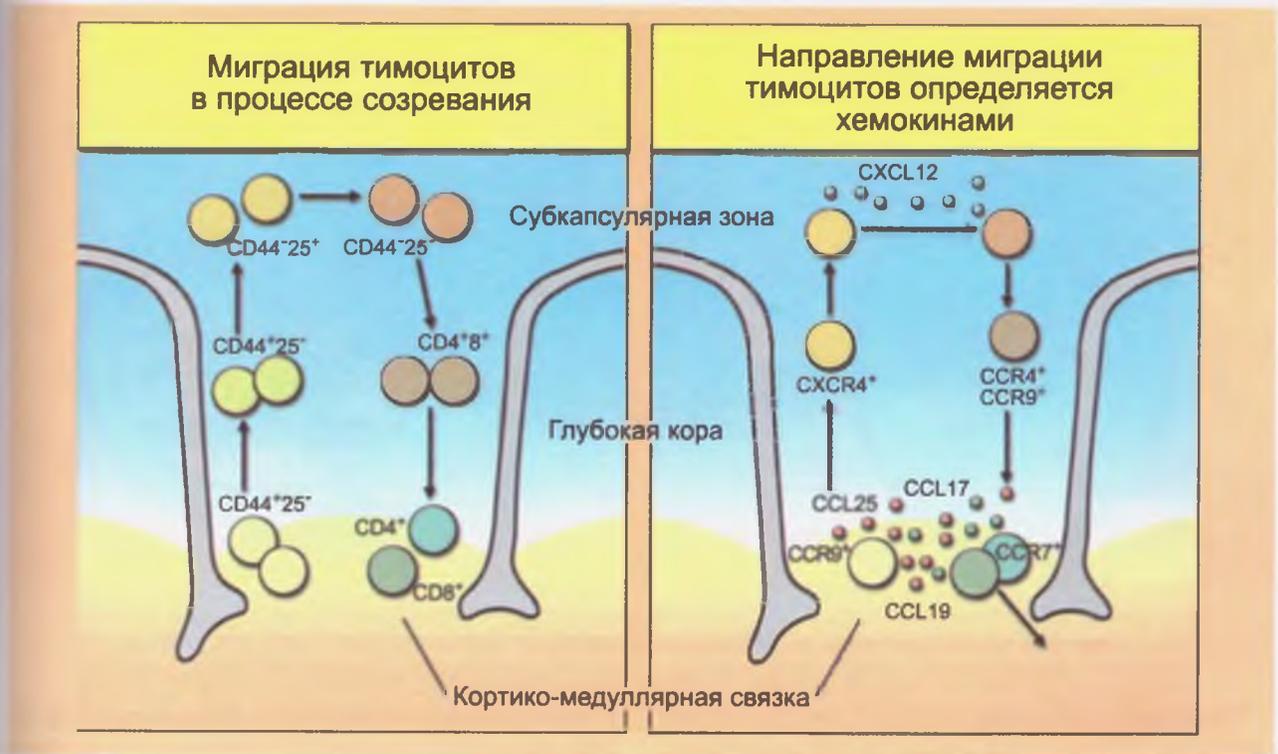


Рис. 238. Миграция тимоцитов в процессе дифференцировки и её хемокиновый контроль

На левой части рисунка отражено созревание клеток в процессе их перемещения внутри тимуса. Костномозговые клетки-предшественники проникают в тимус в кортико-медуллярной связке. Отсюда они перемещаются в направлении поверхности дольки (субкапсулярной зоны), проходя стадии развития от DN1 ($CD44^+CD25^-$) до DN3 ($CD44^+CD25^+$) (см. рис. 232, 233). При этом в них происходит перестройка V-генов β -цепи (TRB). В субкапсулярной зоне завершается изменение генов TCR, соответствующее стадии DN4 ($CD44^+CD25^-$). На возвратном пути от наружного слоя коры к кортико-медуллярной связке тимоциты продолжают стадию DP ($CD4^+CD8^+$), подвергаясь селекции и дифференцировке на субпопуляции.

Зрелые SP ($CD4^+CD8^-$ и $CD4^-CD8^+$)-timoциты покидают тимус. Направление миграции тимоцитов определяется сменой хемокиновых рецепторов, которые реагируют на хемокины, вырабатываемые в разных отделах тимуса, и тем самым направляют миграцию клеток (правая часть рисунка). Хемокины обозначают буквами CCL и CXCL с номером; буква L означает лиганд, а CXС или СС — принадлежность, соответственно, к α - или β -хемокинам. На рисунке им соответствуют кружки разного цвета. Рецепторы для хемокинов обозначают буквами CCR или CXCR с номером; буква R означает рецептор, CXС и СС — типы хемокинов (α и β), которые распознаются рецептором, указанным в обозначении клетки.

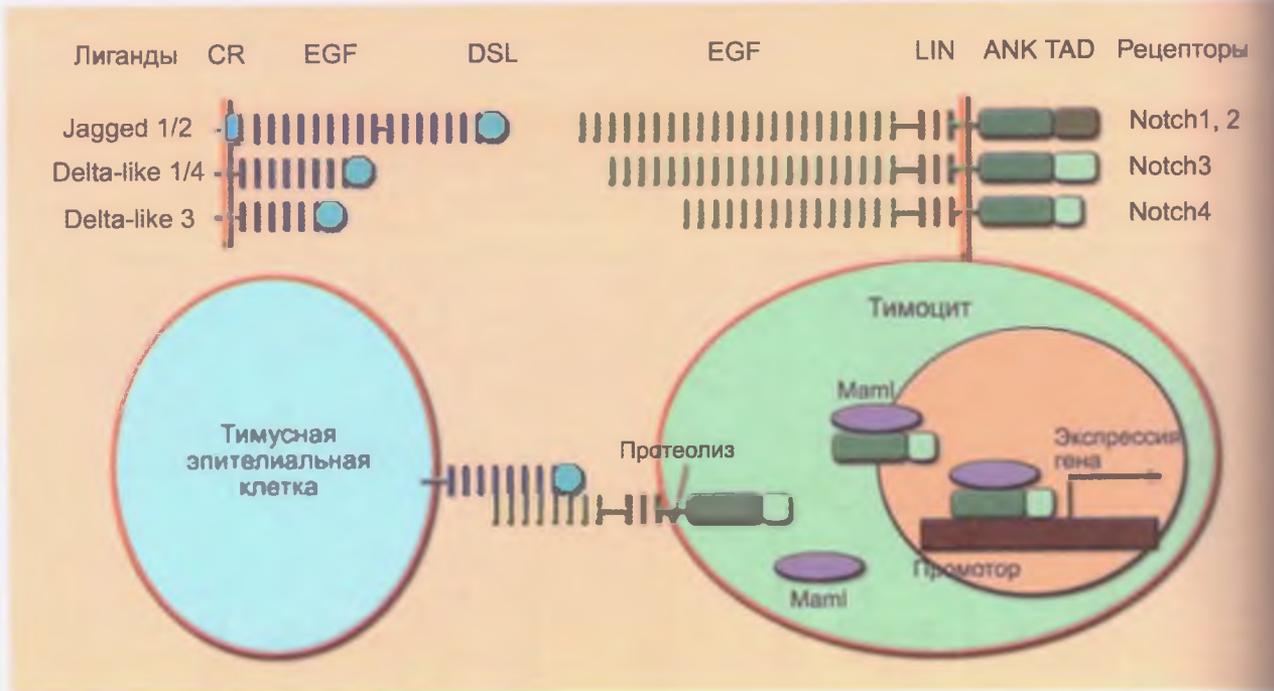


Рис. 239. Notch-рецепторы, их лиганды и сигнализация

Важнейшим источником дифференцировочных сигналов для тимоцитов служат Notch-рецепторы, подразделяемые на Notch1, 2, Notch3 и Notch4. Все они экспрессируются на поверхности тимоцитов, являясь трансмембранными белками. Внеклеточная часть образуется повторами, гомологичными эпидермальному фактору роста (*Epidermal growth factor, EGF*), число которых варьирует в указанных вариантах Notch-рецепторов. Непосредственно к клеточной мембране примыкает участок, обозначаемый как LIN (гомолог соответствующего фактора *Caenorabditis elegans*). Цитоплазматическая часть рецептора содержит домены ANK (*Ankyrin*) и TAD (*Transactivation domain*). Лиганды Notch-рецепторов локализуются на эпителиальных клетках (ТЭК). Различают два основных варианта Notch-лигандов — Jagged (1 и 2) и Delta-like (1, 3 и 4). Они также содержат EGF-повторы (разное число в разных вариантах молекул) во внеклеточной части. Снаружи

к ним примыкает домен DSL (*Delta-Serrate-Lag-2*). В Jagged-лиганде между EGF-повторами и мембраной локализуется домен CR (как и LIN — гомолог соответствующего фактора *C. elegans*). Цитоплазматическая часть Notch-лиганда короткая и лишенная какой-либо функциональной активности. Взаимодействие лиганда с рецептором имеет гомотипический характер (т.е. подобное реагирует с подобным) и осуществляется с участием EGF-повторов. Связывание рецептора с лигандом активирует металлопротеиназы, которые обуславливают разрыв полипептидной цепи между участками LIN и ANK непосредственно под мембраной. Освобождающийся внутриклеточный фрагмент ANK-TAD присоединяет фактор Maml (*Mastermind-like protein*) и образующийся комплекс выступает в роли транскрипционного фактора: он мигрирует в ядро, где связывается с ДНК в промоторной части генов, которые вслед за тем экспрессируются.

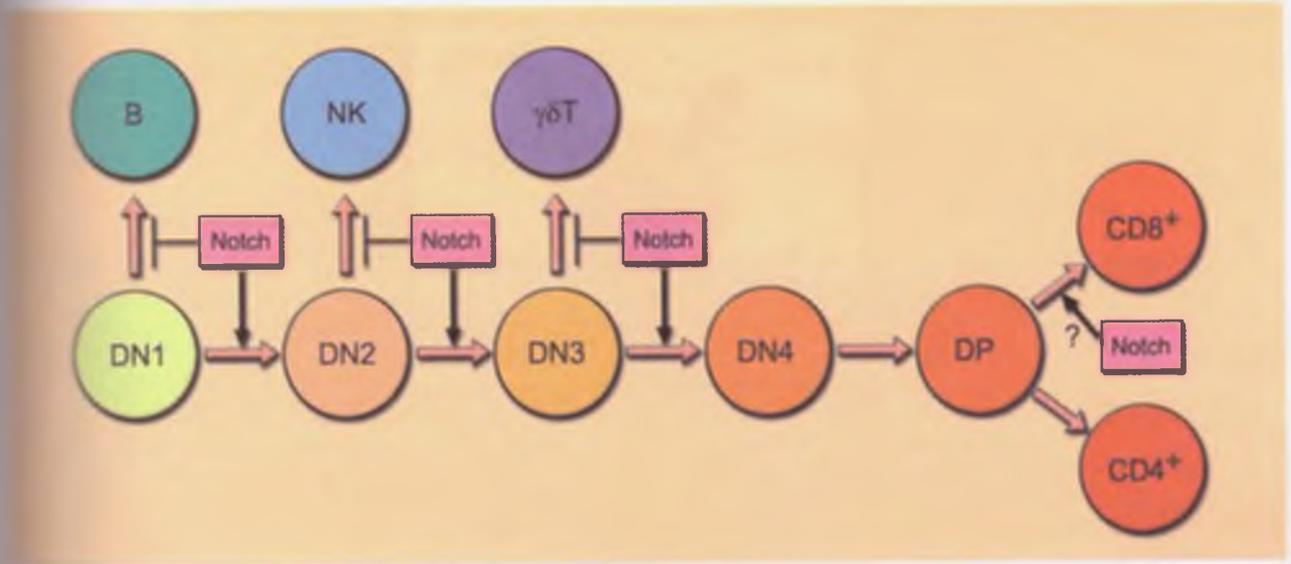


Рис. 240. Роль Notch-рецепторов в обеспечении развития Т-клеток в тимусе

На тимоцитах экспрессированы Notch-рецепторы, на ТЭК — Notch-лиганды, как Delta-like, так и Jagged (названия рецепторов и лигандов происходят от обозначений гомологичных генов дрозофилы). Через рецепторы поступают дифференцирующие сигналы, определяющие ранние этапы дифференцировки — последовательные переходы DN⁺ (CD4⁻CD8⁻) клеток от 1-й до 4-й стадии. В частности, Notch-сигналы являются основными индукторами перестройки V-генов TCRαβ, которая

осуществляется на этих стадиях. В то же время через Notch-рецепторы поступают сигналы, блокирующие альтернативные пути дифференцировки клеток-предшественников в B-, NK- и γδT-лимфоциты (см. рис. 233). Notch-рецепторы участвуют также в развитии CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток, однако мнение о том, что Notch-рецепторы способствуют избирательной дифференцировке CD8⁺ Т-клеток, не находит должного подтверждения.

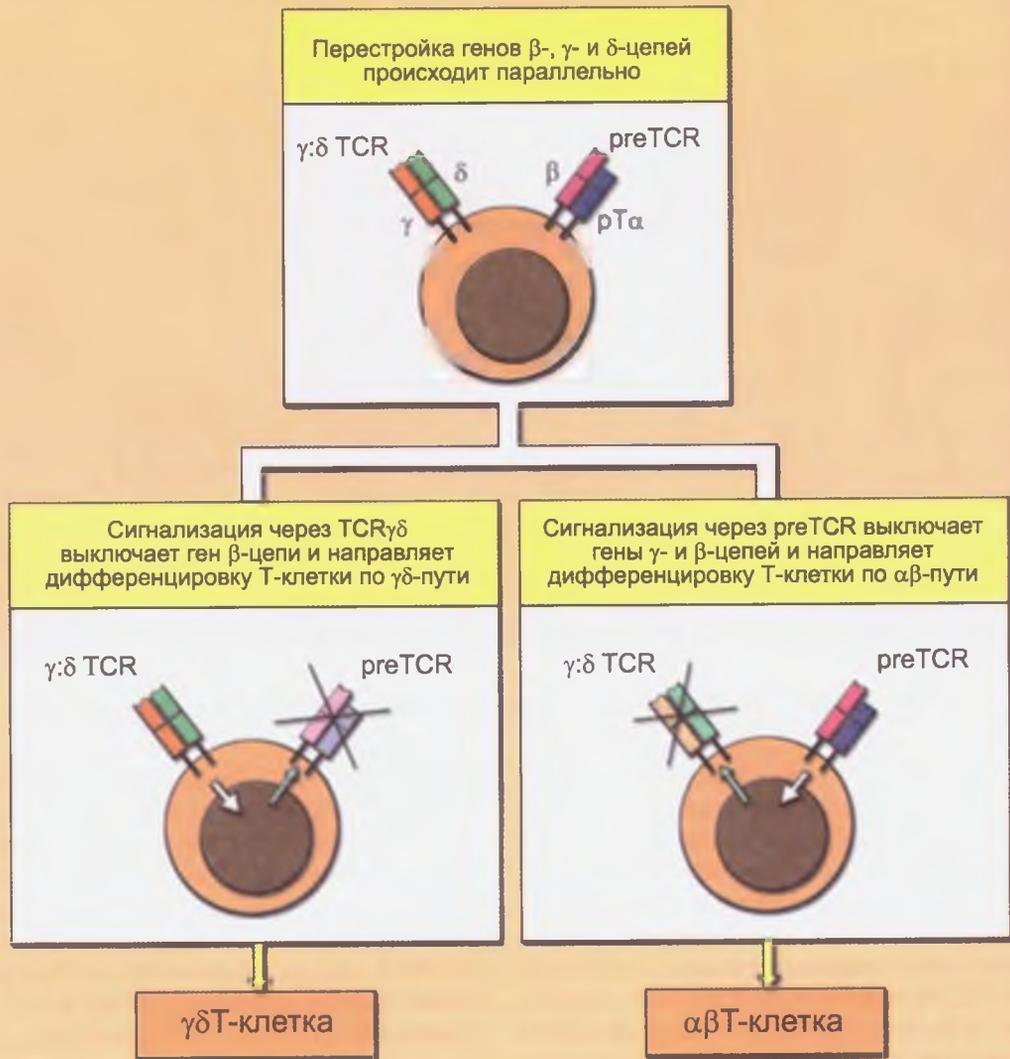


Рис. 241. Выбор пути $\alpha\beta/\gamma\delta$ -дифференцировки Т-клеток

Выбор пути дифференцировки тимоцитов в $\gamma\delta$ Т- или $\alpha\beta$ Т-клетки зависит от рецептора, который передаст сигнал в клетку. Сигнализация через TCR $\gamma\delta$ -типа определяет дальнейшее развитие по типу $\gamma\delta$ Т-клетки, передача информации через преTCR

(комплекс β -цепи и суррогатной α -цепи — $\rho\alpha$ см. рис. 192) служит сигналом к перестройке V-гена на α -цепи и дальнейшему развитию в качестве $\alpha\beta$ Т-клетки. Механизмы, определяющие первенство того или другого сигнала, до конца не выяснены

Отдел иммунной системы	V γ -семейство	Срок миграции
Кожа	Человек - V γ 3 Мышь - V γ 5	Рано в эмбриогенезе
Язык, легкие, репродуктивный тракт	Человек - V γ 4 Мышь - V γ 6	Рано в эмбриогенезе
Селезенка, лимфатические узлы	Человек - V γ 2 Мышь - V γ 1, V γ 4	Поздно в эмбриогенезе, у взрослых
Кишечник, селезенка, лимфатические узлы	Человек - V γ 5 Мышь - V γ 7	Поздно в эмбриогенезе, у взрослых

Рис. 242. V γ -семейства $\gamma\delta$ T-клеток, локализующихся в различных отделах иммунной системы

Субпопуляция $\gamma\delta$ T-клеток в различных отделах иммунной системы представлена клетками, рецепторы которых содержат различные продукты реаранжировки. Особенно чётко это проявляется в семействах V-доменов γ -цепей. У человека в коже присутствуют T-клетки, содержащие в составе TCR продукт семейства V γ 3, в репродуктивном, респираторном трактах и языке — V γ 4, в кишечнике —

V γ 5, во вторичных лимфоидных органах — V γ 2 и V γ 5. У мыши наблюдается другое, но столь же чёткое распределение $\gamma\delta$ T-клеток по семействам их V γ -домена. Выселение из тимуса V γ 3⁺- и V γ 4⁺-клеток происходит на относительно ранних этапах эмбриогенеза, дислокация V γ 2⁺- и V γ 5⁺-клеток — на его поздних стадиях. $\gamma\delta$ T-клетки в указанных регионах лимфоидной ткани самоподдерживаются.

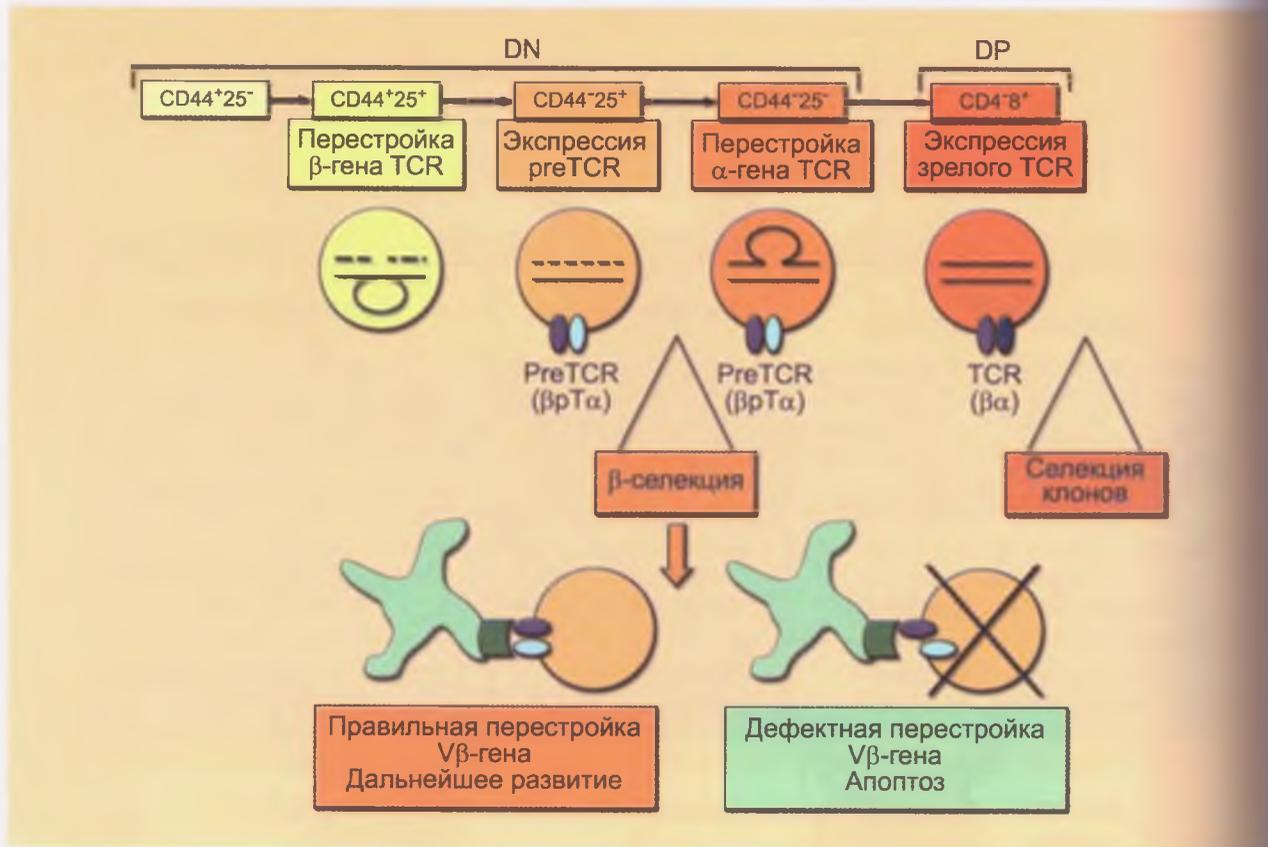


Рис. 243. Дифференцировка и селекция тимоцитов на разных этапах формирования антигенраспознающего рецептора

В верхней части схемы представлены стадии дифференцировки DN- и DP-timoцитов. Под дифференцировочным рядом схематически показаны этапы перестройки генов TCR: штриховая линия соответствует генам в зародышевой конфигурации (многочисленные сегменты), линия с петлей — процессу перестройки гена, непрерывная линия — перестроенному гену, верхняя линия — α-гену, нижняя — β-гену. На тех же схемах представлена экспрессия на клеточной мембране димеров — преTCR (предшественника TCR, содержащего зрелую β-цепь и суррогатную α-цепь — см. рис. 192) и зрелого TCR. После этапа экспрессии преTCR происходит β-селекция, назначение которой —

контроль правильности сборки молекулы: некорректная перестройка Vβ-гена препятствует формированию и экспрессии молекулы преTCR, что приводит к апоптозу клетки, тимоциты с успешно реализованной перестройкой гена Vβ и нормальной экспрессией преTCR поддерживаются β-селекцией, что проявляется в сохранении жизнеспособности и продолжении перестройки V-гена и дифференцировки клетки (отражено на нижних схемах).

После осуществления перестройки Vα-гена происходит экспрессия зрелого димера αβTCR, после чего сформированные клоны TCR подвергаются селекции.

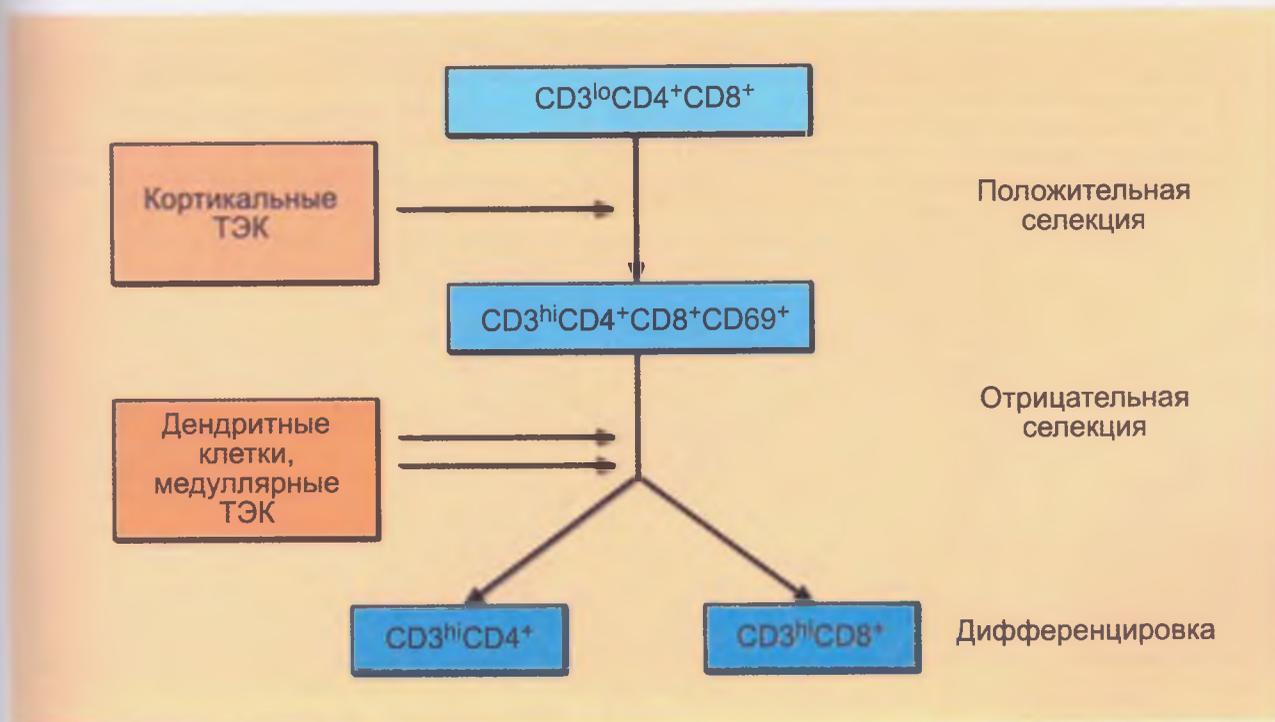


Рис. 244. Связь селекции и дифференцировки в процессе развития тимоцитов

DP ($CD4^{+}CD8^{+}$)-timoциты с низкой экспрессией комплекса TCR-CD3 становятся объектом положительной селекции, направленной на отбор клеток, способных распознавать аутологичные молекулы MHC (вне зависимости от содержащихся в них пептидов). Фактором селекции являются кортикальные ТЭК, несущие молекулы MHC классов I и II. Признаком успешной положительной селекции является усиление экспрессии TCR-CD3 и индукция экспрессии молекулы CD69. На следующем этапе в тесной взаимосвязи происходят два события: дифференцировка тимоцитов на субпопуля-

ции фенотипов $CD4^{+}$ и $CD8^{+}$ и их отрицательная селекция, т.е. выбраковка тимоцитов путём индукции апоптоза клонов, распознающих аутологичные комплексы пептид-молекула MHC и потому потенциально агрессивных в отношении собственных клеток. Факторами отрицательной селекции являются ДК и медуллярные ТЭК, экспрессирующие молекулы MHC и костимулирующие молекулы.

Условные обозначения: $CD3^{lo}$, $CD3^{hi}$ — соответственно низкая (*low*) и высокая (*high*) экспрессия рецепторного комплекса; ТЭК — эпителиальные клетки тимуса.

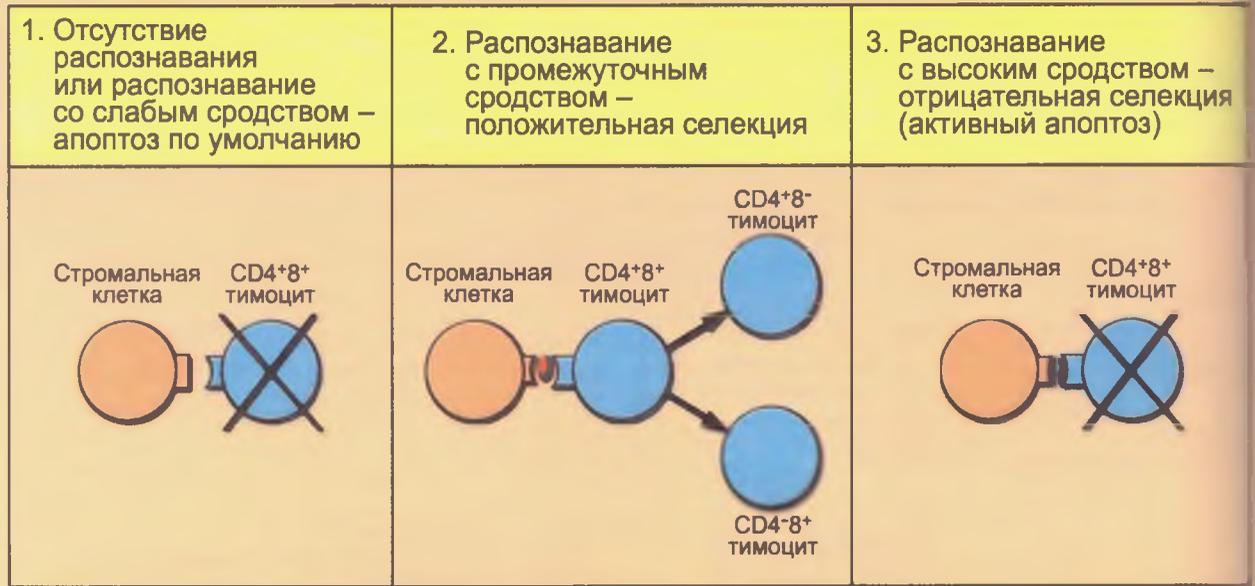


Рис. 245. Селекция клонов тимоцитов. Связь с особенностями распознавания комплекса аутологичный пептид — МНС

Назначение селекции тимоцитов состоит в удалении ненужных и опасных клеток. Ненужными являются Т-клетки, не способные распознавать комплекс пептидов с аутологичными молекулами МНС (т.е. несущие рецептор, не обладающий средством к этому комплексу или имеющий слишком низкое средство к нему), опасными — Т-клетки, имеющие слишком высокое средство к комплексам аутологичных пептидов с аутологичными молекулами МНС. Выбраковка ненужных Т-клеток происходит на этапе положительной селекции: в связи с отсутствием распознавания комплекса пептид-МНС в тимоцит не поступает сигнал, пре-

дотвращающий развитие апоптоза. Выбраковка опасных Т-клеток происходит на этапе отрицательной селекции, когда в результате определения тимоцитом аутологичного пептида в составе аутологичной молекулы МНС в клетке включается апоптотический сигнал. В результате двух этапов селекции сохраняются тимоциты, способные определять аутологичные пептиды в составе аутологичных молекул МНС с промежуточной аффинностью. На периферии эти клетки распознают чужеродный пептид в составе аутологичных молекул МНС в силу перекрёстной реактивности, которая очень сильно выражена у TCR.

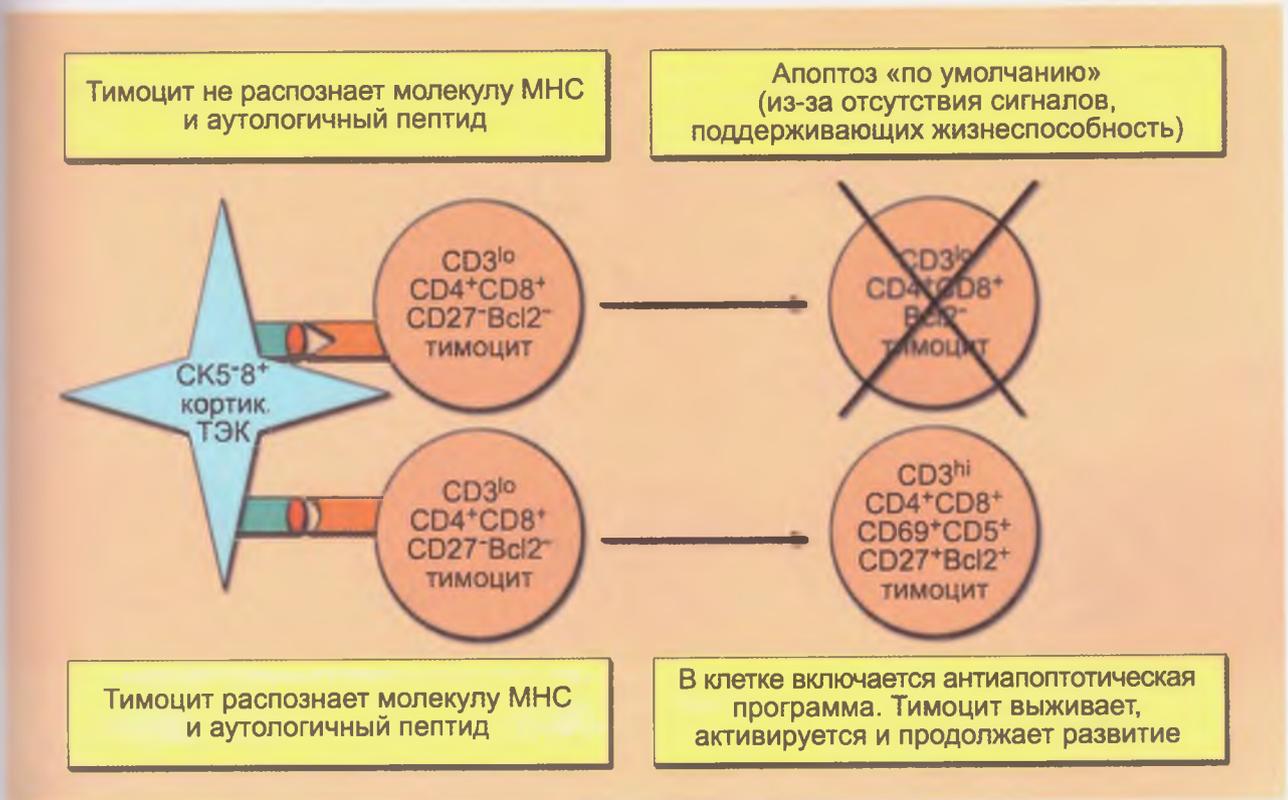


Рис. 246. Положительная селекция тимоцитов

Показаны следствия наличия или отсутствия распознавания тимоцитами комплекса аутологичного пептида с молекулами МНС эпителиальных клеток коры тимуса (кортикальные ТЭК). Указан

фенотип кортикальных ТЭК, осуществляющих положительную селекцию тимоцитов, а также изменения мембранного фенотипа тимоцитов, происходящие в ходе положительной селекции.

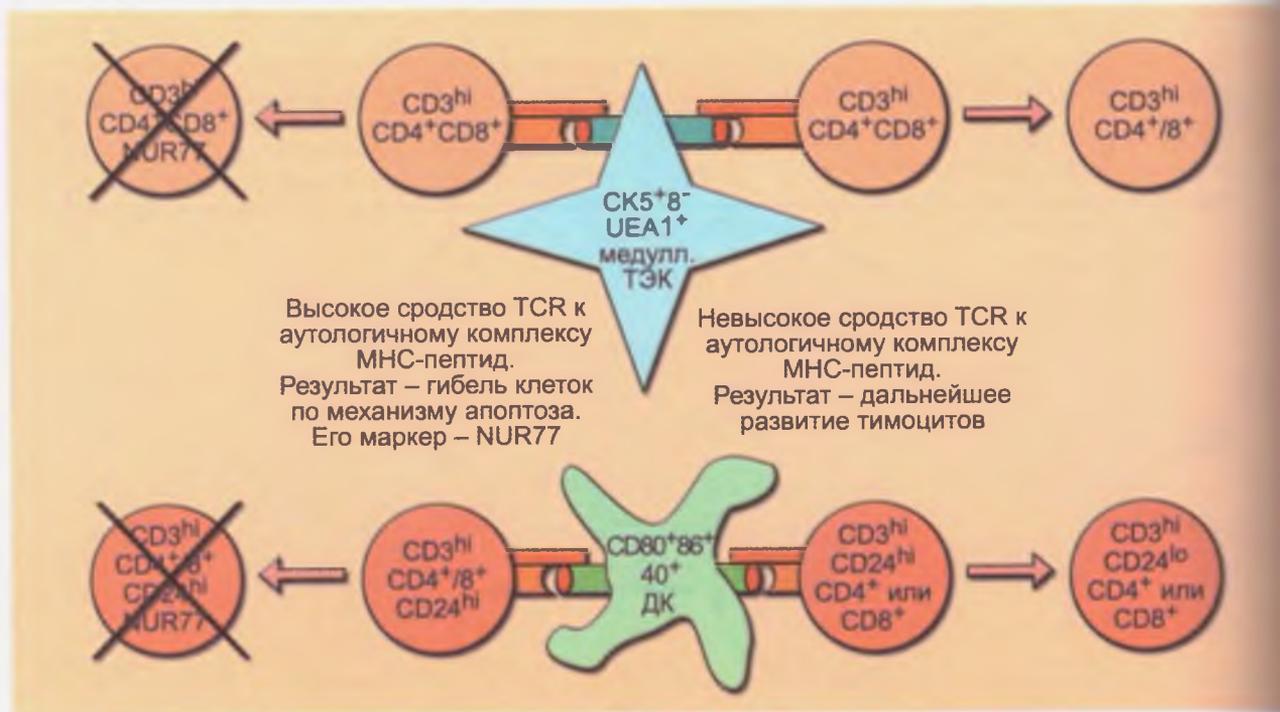


Рис. 247. Отрицательная селекция тимокитов

Представлено два уровня отрицательной селекции. На первом этапе в качестве объекта селекции выступают DP (CD4⁺CD8⁺)-тимокиты, а действующим агентом служат медуллярные ТЭК, экспрессирующие рецептор к лектину *Ulex europeus*. Последствием избегания апоптоза является дифференцировка DP-тимокитов в SP-клетки (CD4⁺ и

CD8⁺). На втором уровне отбору подлежат SP-тимокиты, а фактором селекции являются ДК. В клетках, избежавших апоптоза, снижается экспрессия CD24.

При обоих вариантах отрицательной селекции в тимокитах, подвергающихся апоптозу, экспрессируется фактор NUR77.

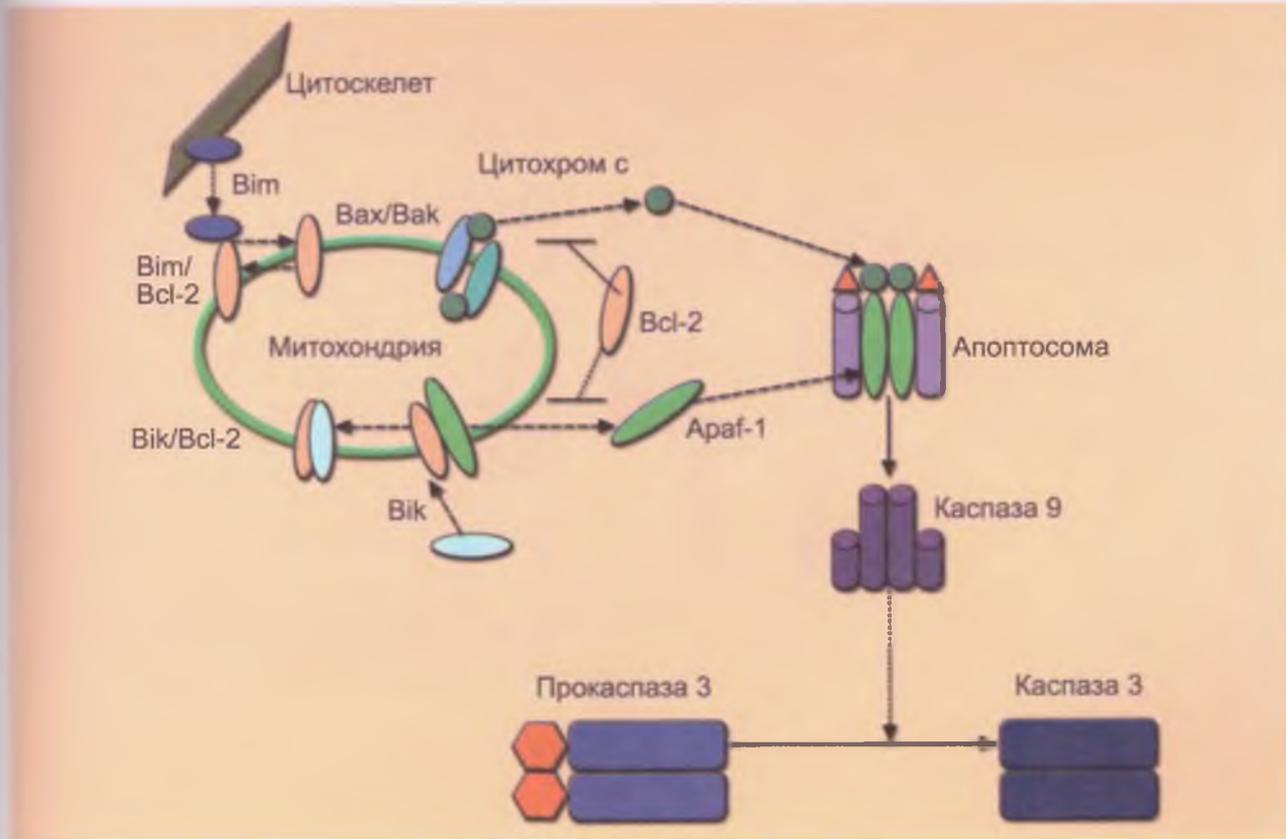


Рис. 248. Митохондриальный механизм включения апоптоза

Апоптоз (программированная гибель клеток) — важнейший механизм элиминации ненужных организму клеток и осуществления селекции в процессе развития лимфоцитов (в том числе тимоцитов). В зависимости от механизмов его запуска выделяют митохондриальный (эндогенный) и рецепторный (экзогенный) апоптоз. Запуск митохондриального апоптоза определяется балансом про- и противоапоптотических факторов семейства Bcl-2 в митохондриях. Сам Bcl-2, а также «длинная» форма фактора Bcl-X (Bcl-XL) являются противоапоптотическими факторами, а Bax, Bim, Bik, Bak и т.д. — проапоптотическими факторами. Развитие апоптоза или защита от него зависят от соотношения этих факторов в мембране митондрий. Включение программы митохондриального апоптоза индуцируется определёнными сигналами из цитоскелета, в результате чего мобилизуется фактор Bim, который димеризуется с молекулой Bcl-2 митохондриальной мембраны, нейтрализуя её антиапоптотический потенциал. Фактор Bik формирует димер с молекулой Bcl-2, которая до того находилась в составе димера

Bcl-2/Araf-1, локализуемого в структуре мембраны митондрий. Вытесненный фактор Araf-1 поступает в цитозоль. Факторы Bik и Bax формируют димеры, образующие пору в митохондриальной мембране, через которую из митондрии в цитозоль поступает цитохром с. Araf-1 связывает цитохром с, и к этому комплексу подсоединяется димер прокаспазы 9. Формирующаяся надмолекулярная структура называется апоптосомой. В составе апоптосомы прокаспаса 9 превращается в активную каспазу 9 путём аутокаталитического отщепления N-концевого участка. Каспазы — это сериновые протеазы, разрывающие полипептидную связь после остатка Asp (отсюда их название). Выделяют инициаторные и эффекторные каспазы. Каспаза 9 относится к инициаторным каспазам. Она (как и другие инициаторные каспазы) отщепляет фрагменты эффекторных каспаз (чаще всего каспазы 3), переводя их в активную форму.

Митохондриальная форма апоптоза играет основную роль в процессах морфогенеза, в том числе при положительной селекции Т-лимфоцитов.

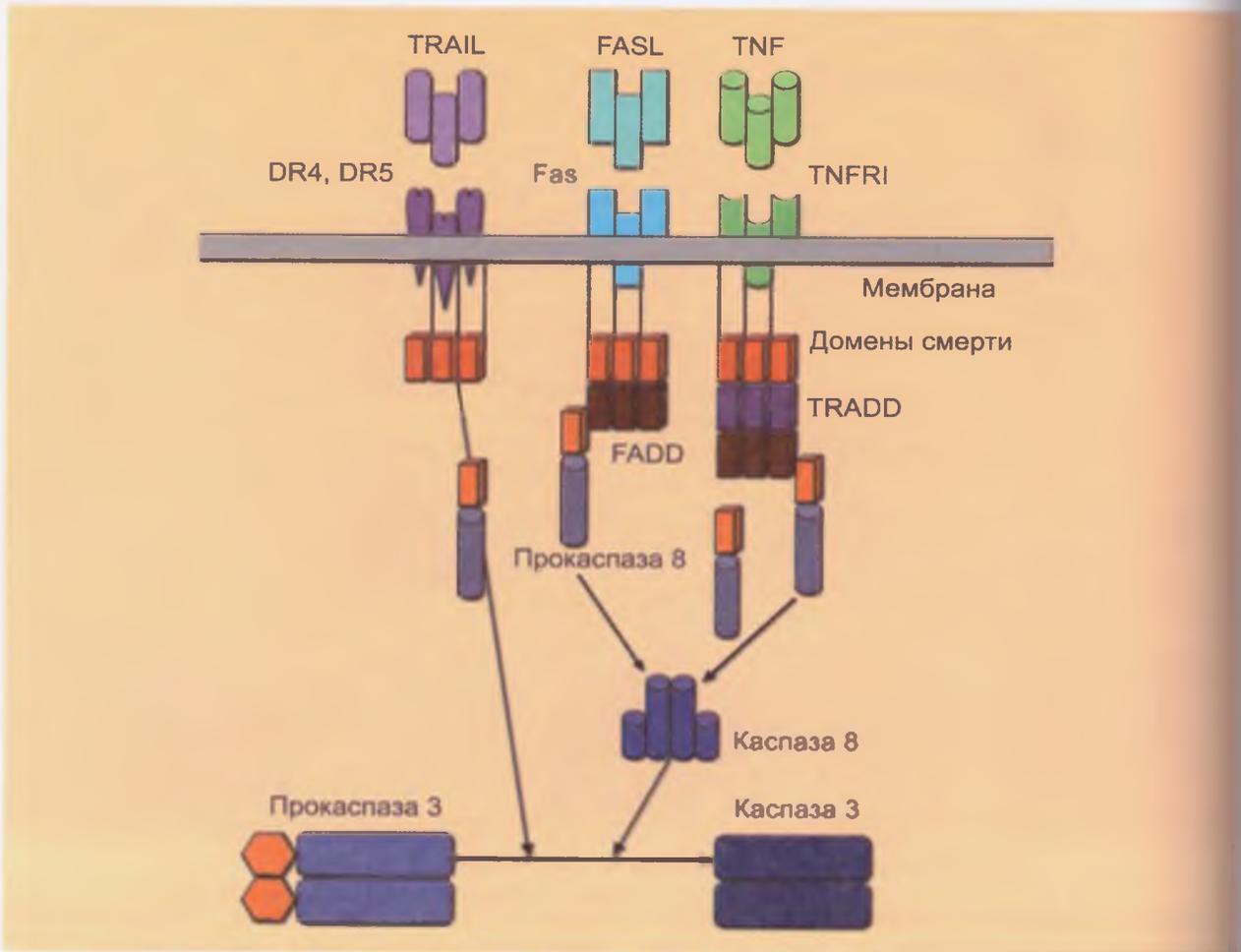


Рис. 249. Рецепторный механизм включения апоптоза

Включение апоптоза под влиянием внешних факторов (рецепторный апоптоз) обеспечивают рецепторы DR (от *death receptor*). Они относятся к семейству рецепторов фактора некроза опухоли (TNFR). Известно 5 разновидностей молекул группы DR — Fas (DR1), TNFRI (DR2), DR3-DR6. Их лигандами являются мембранные или растворимые молекулы семейства TNF — соответственно FasL, TNF, TRAIL (для DR4 и DR5) и TL1A (для DR3 и DR6). Рецепторы DR в цитоплазматической части содержат домен смерти DD (*death domain*), активация которого и запуск апоптотического сигнала происходят при условии тримеризации рецептора, вызываемой связыванием лигандов. Тримеризация рецепторов и их цитоплазматического DD придаёт последним способность взаимодействовать с гомологичным внутриклеточным доменом FADD (*Fas-associated death domain*). При

связывании TNF с рецепторами TNFRI DD последнего он взаимодействует с доменом TRADD (*TNF-related death domain*), а последний — с FADD. При этом FADD приобретает сродство к гомологичному участку некоторых инициаторных прокаспаз, в типичном случае — прокаспазы 8. Связывание приводит к аутокаталитическому отщеплению гомолога DD и формированию активной каспазы 8, способной активировать каспазу 3 и другие эффекторные каспазы. Так, в некоторых клетках каспаза 8 может также включать митохондриальный путь апоптоза через активацию фактора Bid.

Рецепторная форма апоптоза свойственна зрелым лимфоцитам при их взаимодействии с лигандами апоптоза, локализующимися на активированных клетках, а также с АГ, цитокинами и т.д. Рецепторный апоптоз используется при отрицательной селекции тимоцитов и незрелых В-клеток.

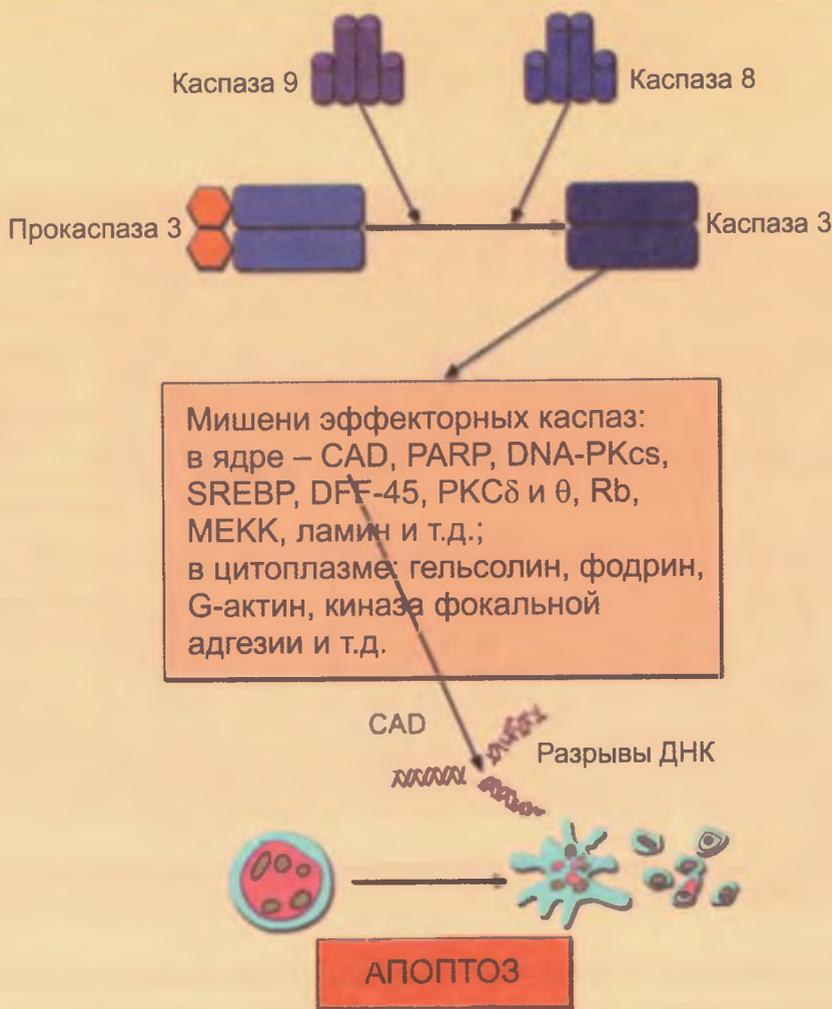


Рис. 250. Эффекторная фаза апоптоза

Инициаторные каспазы индуцируют активацию эффекторных каспаз, из которых наиболее важной является каспаза 3. Как и инициаторные каспазы, она является гомодимером. Её активация сводится к отщеплению N-концевого фрагмента, блокирующего её активность. Каспаза 3 и другие эффекторные каспазы имеют многочисленные молекулы-мишени, локализующиеся в ядре и цитоплазме. Расщепление этих мишеней определяет многообразные изменения морфологии и функции клетки, которые проявляются в процессе апоптоза. Основной мишенью эффекторных каспаз является

$Ca^{2+}Mg^{2+}$ -зависимая эндонуклеаза — CAD (от *caspase-activated DNase*). Этот фермент обуславливает разрывы ДНК между нуклеосомами. Конечным результатом многообразных изменений в клетке является её гибель, как полагают, наступающая в результате истощения энергетических ресурсов, которые тратятся на неэффективную репарацию разрывов ДНК. Гибель по механизму апоптоза проявляется в сморщивании клетки, конденсации хроматина, образовании отростков клеточной мембраны и, наконец, фрагментации ядра и всей клетки с образованием апоптотических тел.

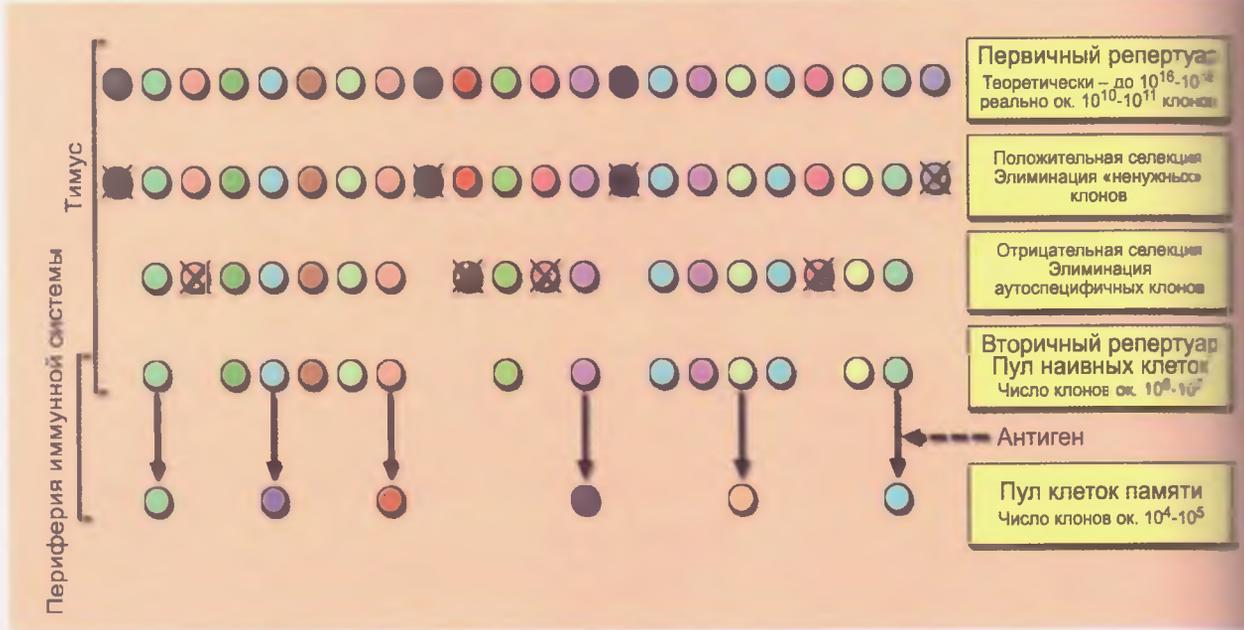


Рис. 251. Клональная структура популяции лимфоцитов. Становление антигенраспознающего репертуара Т-клеток

В результате реаранжировки V-генов TCR, основанной на случайных процессах, формируется первичный антигенраспознающий репертуар, характеризующийся очень высокой избыточностью и присутствием потенциально аутоагрессивных клонов. Положительная и отрицательная селекция устраняют эти недостатки путём индукции апоптоза тимоцитов, не способных различать пептиды в составе молекул МНС, а также аутоагрессивных тимоцитов. Таким образом, создаётся вторичный антигенраспознающий репертуар. Однако и этот репертуар имеет существенный недостаток: он не согласован с реальным спектром АГ, на которые

предстоит реагировать иммунной системе организма. Поправка, устраняющая этот дефект, осуществляется путём формирования комплекса Т-клетки памяти, который создаётся в первые годы жизни в ответ на поступление в организм «актуальных» АГ (см. рис. 398). Число клонов Т-клеток памяти несколько порядков ниже, чем число клонов наивных Т-клеток, но численность клеток в каждом клоне существенно выше для клеток памяти, причём она тем выше, чем чаще происходило поступление соответствующего АГ в организм. Таким образом, только репертуар Т-клеток памяти адекватен реальным потребностям организма.

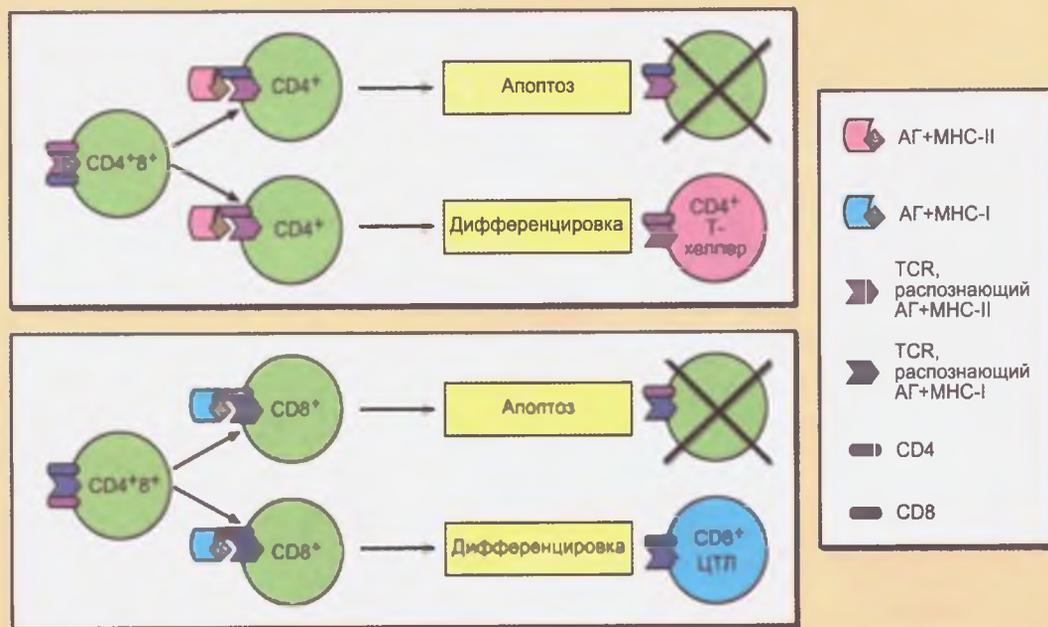


Рис. 252. Схема дифференцировки CD4⁺ и CD8⁺ Т-лимфоцитов (селекционная модель)

Селекционная модель дифференцировки $\alpha\beta$ Т-клеток на субпопуляции CD4⁺- и CD8⁺- клеток предполагает спонтанную или индуцированную утрату DP-timoцитами экспрессии одного из корецепторов (CD4 или CD8) с последующим отбором клеток на совместимость корецептора и рецептора (TCR). TCR обладает специфичностью в отношении не только пептида, но и прилегающей части молекулы МНС (см. рис. 218) класса I или II. Если рецептор распознаёт пептид и молекулу МНС класса I, он совместим с корецептором CD8, также обладающим средством к молекуле МНС класса I.

Если на тимоците, несущем такой TCR, сохраняется экспрессия CD8, клетка выживает, если на ней остаётся корецептор CD4 (несовместимый по специфичности с TCR), клетка погибает. Аналогично, тимоцит, несущий TCR, который распознаёт пептид и часть молекулы МНС класса II, сохраняется лишь в том случае, если на нём экспрессируется CD4, но не CD8.

На рисунке совместимые рецептор и корецептор окрашены оттенками одного цвета — синего (в случае распознавания МНС класса I) или розового (в случае распознавания МНС класса II).

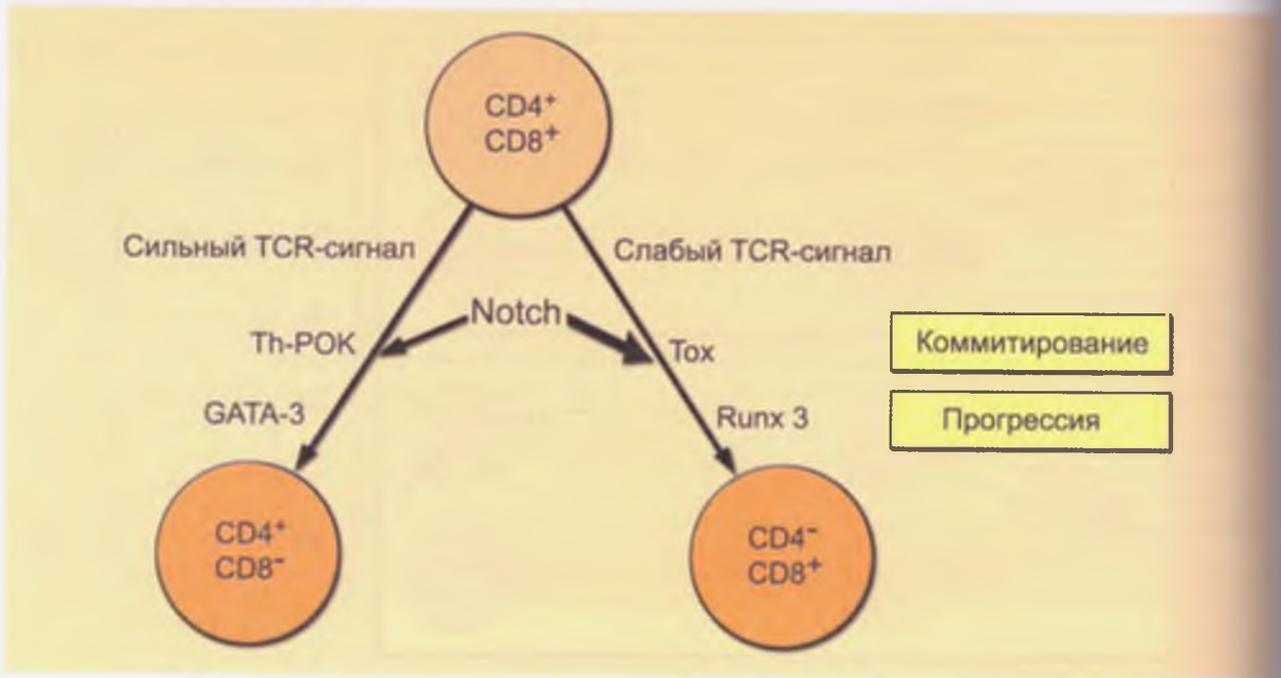


Рис. 253. Контроль дифференцировки субпопуляции $\alpha\beta$ -Т-клеток дифференцировочными факторами

Преобладавшие ранее представления о преимущественно случайном, стохастическом характере дифференцировки $CD4^+$ - и $CD8^+$ -клеток сменились представлениями о детерминированности этого процесса. Выделяют 3 этапа, определяющих развитие Т-клеток в направлении $CD4^+$ - и $CD8^+$ -клеток. Первый этап основан на интенсивности сигнала, поступающего в DP ($CD4^+CD8^+$)-тимоцит через TCR. Лигандами при этом служат ком-

плексы эндогенный пептид-МНС эпителиальных клеток. Второй этап (коммитирование) связан с включением эндогенных дифференцировочных факторов Th-POK или Tox; на этом этапе проявляют своё действие сигналы, посылаемые через Notch-рецептор. На третьем этапе (прогрессия) действующими факторами являются транскрипционные факторы GATA-3 (для $CD4^+$ -клеток) и Runx 3 (для $CD8^+$ -клеток).

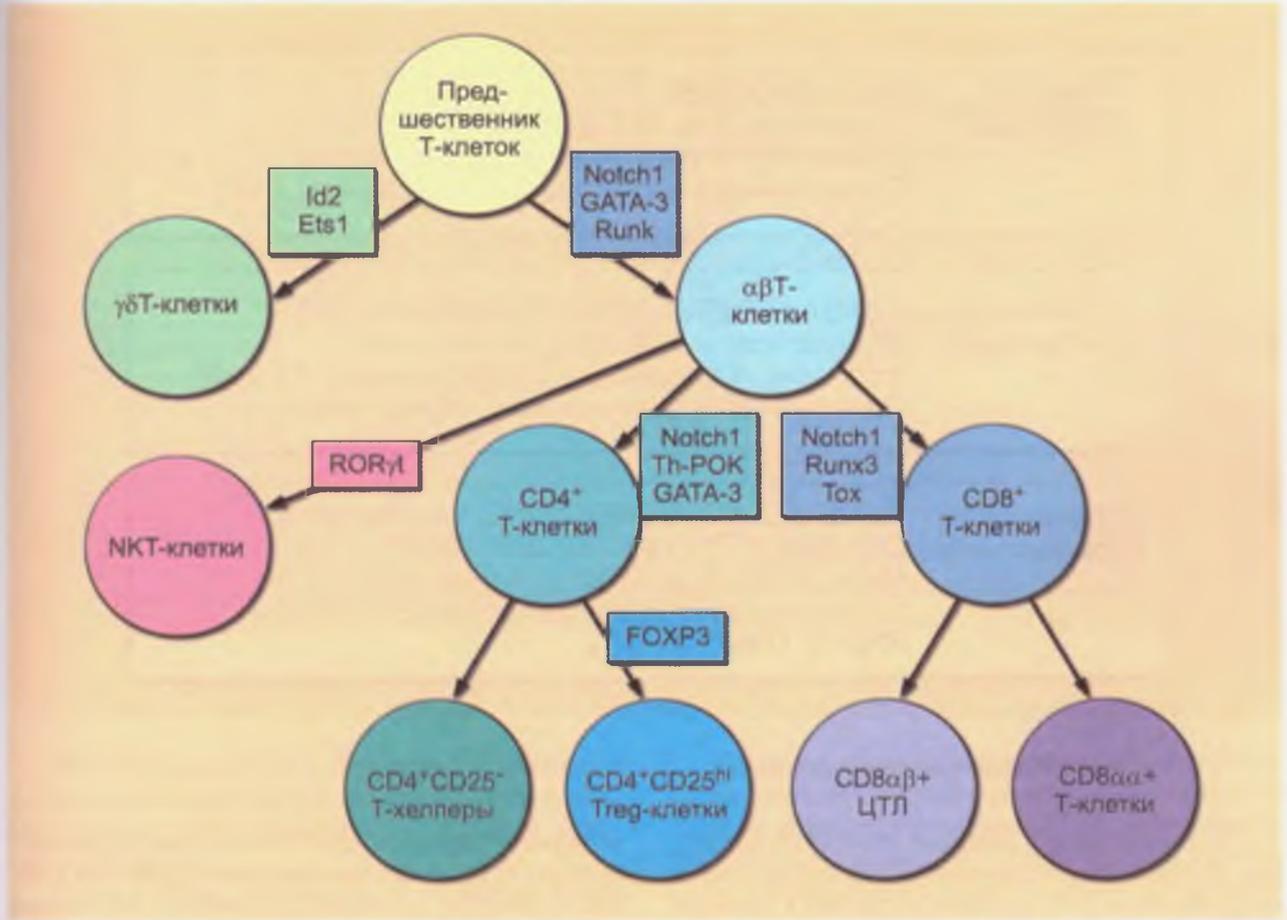


Рис. 254. Естественные субпопуляции Т-лимфоцитов и их дифференцировочные факторы

Схема дифференцировки Т-лимфоцитов с несколькими уровнями бифуркации: $\gamma\delta$ Т/ $\alpha\beta$ Т, далее для $\alpha\beta$ Т-клеток — NKT/остальные Т, для последних — $CD4^+$ / $CD8^+$, для $CD4^+$ — Th/Treg, для

$CD8^+$ — $CD8\alpha\beta$ / $CD8\alpha\alpha$. Показаны также дифференцировочные факторы, ответственные за все линии развития.

Тимулин (Thymulin)	AcEAKSQGGSD 9 остатков, м.м. 847 Д. Активность проявляется при условии связывания Zn^{++} . Содержание в циркуляции – пикограммы в мл.
α_1-тимозин (α_1 -thymosin)	AcSDAAVDTSSSEINNKDZKEKKEVVEEAEN 28 остатков, м.м. 3108 Д. N-концевой фрагмент протимозина α (113 остатков, 12,5 кД). Содержание в циркуляции – нанограммы в мл.
Тимопозтин (Thymopoietin)	AcSEFZEDPSVZTKEKZKSEZVANNVTZPA GEGRRKDYYVVEZYQHZTAVKR 49 остатков, м.м. 5562 Д. Активность полностью воспроизводится пентапептидом RKDVY (Тимопентин)

Рис. 255. Основные гормоны тимуса

Представлено три наиболее изученных пептидных фактора, секретируемые субкапсулярными и медулярными ТЭК, которые поступают в кровоток и функционируют в качестве гормонов. Указана их

первичная структура (для обозначения аминокислотных остатков использован однобуквенный код), число остатков, молекулярная масса и примерный уровень их концентраций в сыворотке крови.

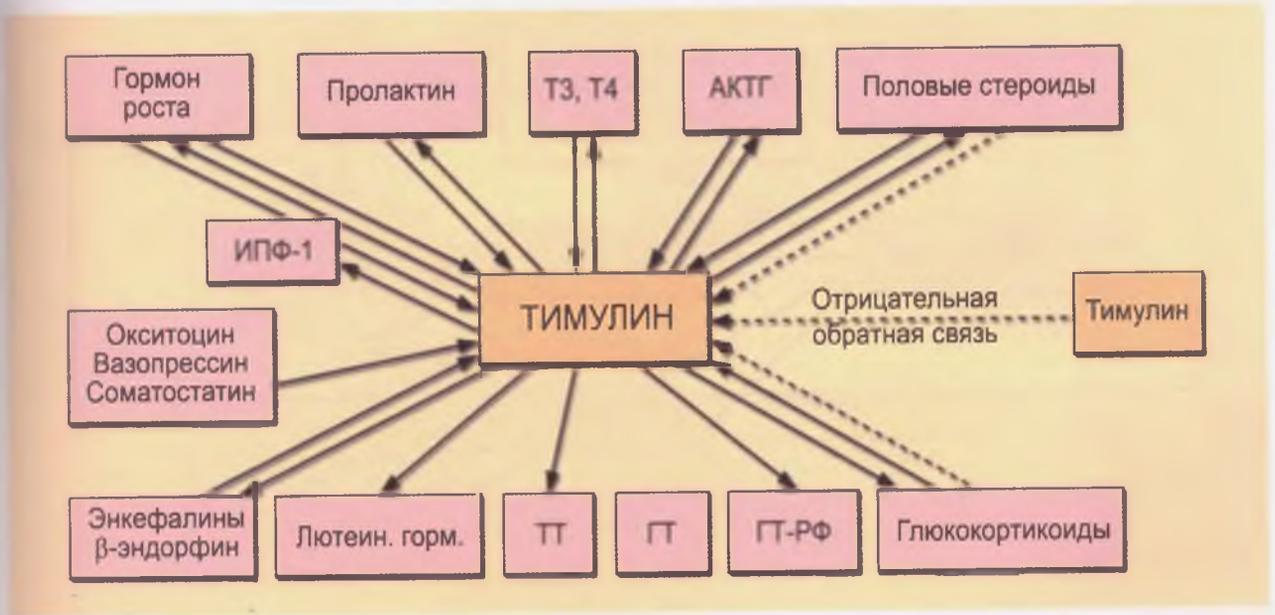


Рис. 256. Взаимосвязь тимулина с нетимусными гормонами и нейропептидами

Многообразные связи тимулина с пептидными и стероидными гормонами свидетельствуют о принадлежности этого пептидного фактора к эндокринной системе.

Как и в случае многих других гормонов, выработка тимулина регулируется по принципу отрицательной обратной связи.

Условные обозначения: прямые линии отражают усиливающее, штриховые — ингибирующее действие на выработку гормонов; АКТГ — аденокортикотропный гормон; ТТ — тиреотропный гормон; ЛГ — гонадотропный гормон; ГТ-РФ — гонадотропного гормона релизинг-фактор; Т3 — 3-йодтиронин; Т4 — тироксин; ИПФ-1 — инсулиноподобный фактор-1.

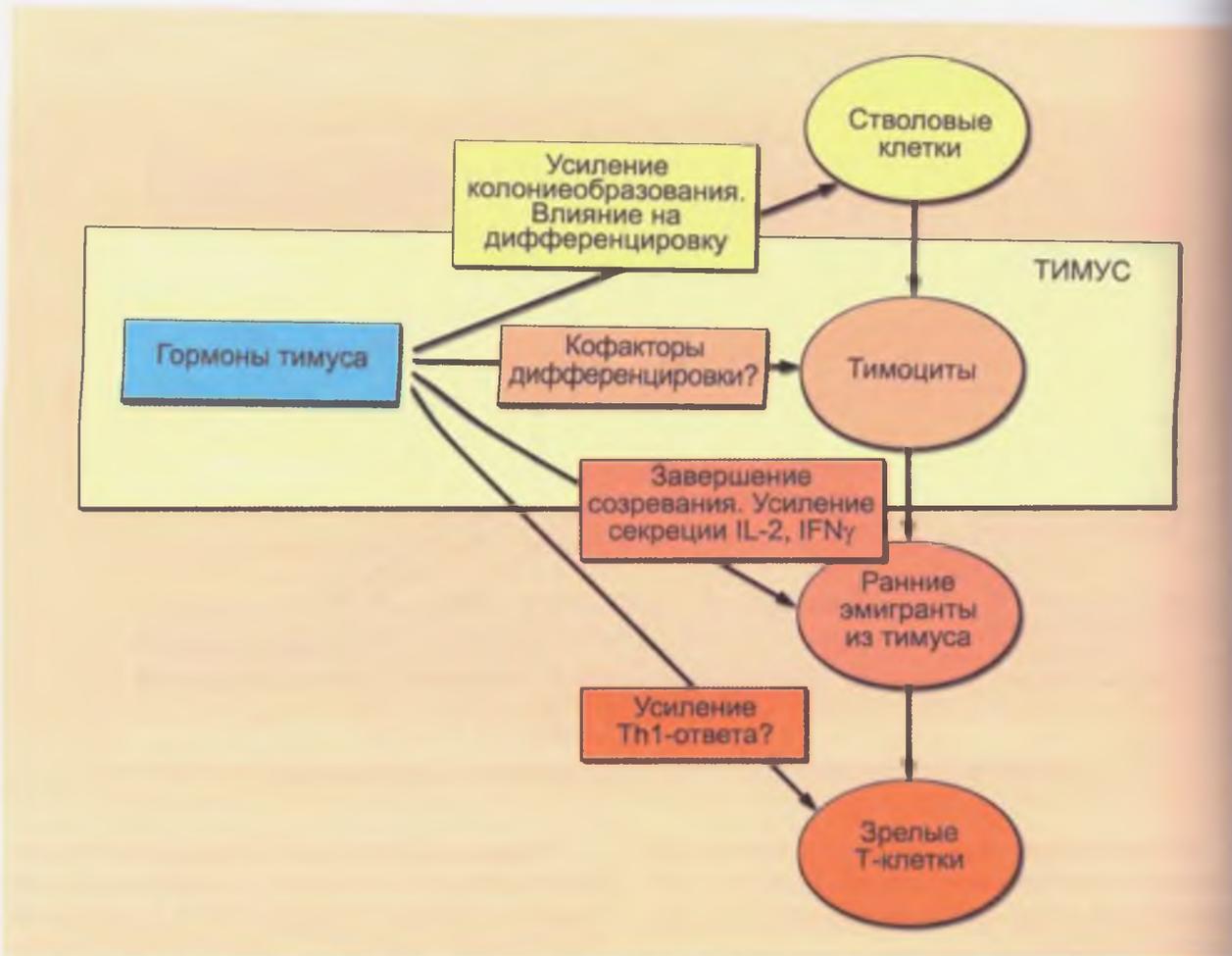


Рис. 257. Действие гормонов тимуса на лимфоциты Т-ряда и на стволовые клетки

Хотя пептидные гормоны тимуса (см. рис. 255) были описаны ранее других факторов, определяющих развитие Т-лимфоцитов, конкретные сведения о мишенях и механизмах их действия минимальны. Существующие факты позволяют считать, что гормоны тимуса влияют на разные этапы развития Т-клеток: дотимусный, внутритимусный и

посттимусный. Полагают, что в тимусе они играют второстепенную роль, выполняя функцию кофакторов. Наиболее важным является действие гормонов тимуса на Т-клетки, недавно эмигрировавшие из тимуса: гормоны тимуса являются агентами, ответственными за дозревание Т-клеток на периферии.

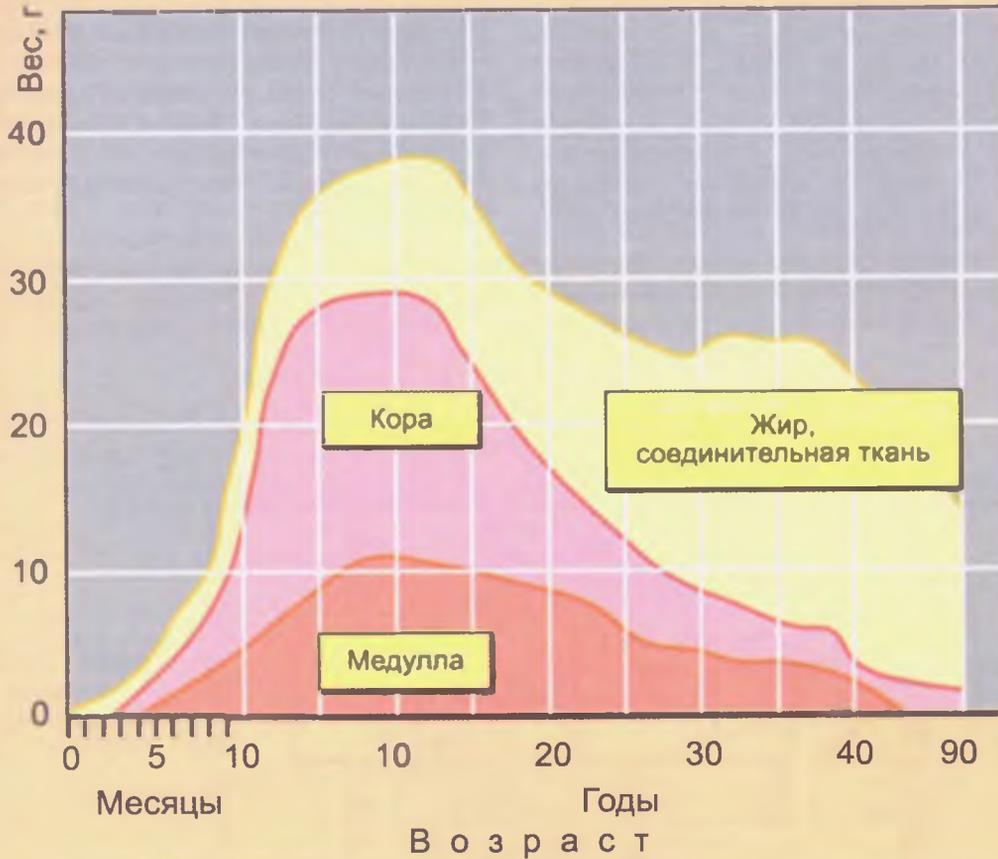


Рис. 258. Возрастные изменения массы тимуса у человека

Масса тимуса достигает наибольшей величины в возрасте 5–13 лет. Его атрофия начинается с периода полового созревания.

Процесс раньше затрагивает кору, чем мозговое вещество. После 40 лет масса этих частей тимуса уменьшается примерно в 10 раз. Одновременно нарастает количество жира и соединительной тка-

ни, что маскирует уменьшение размера и массы функциональной части органа (у человека, но не у мыши, у которой происходит истинная атрофия тимуса).

Старение тимуса сопровождается ослаблением секреции тимулина и уменьшением числа Т-клеток, эмигрирующих из тимуса на периферию.

2.2.4. ПЕРИФЕРИЧЕСКИЙ ОТДЕЛ ИММУННОЙ СИСТЕМЫ. ВТОРИЧНЫЕ ЛИМФОИДНЫЕ ОРГАНЫ

Периферический отдел иммунной системы включает вторичные лимфоидные органы, иммунологически значимые компоненты барьерных тканей и пути рециркуляции лимфоцитов. Вторичные лимфоидные органы — лимфатические узлы, селезёнка, пейеровы бляшки, представляют собой инкапсулированные органы с упорядоченной структурой, содержащей участки, в которых избирательно локализуются Т- и В-лимфоциты и области со смешанным клеточным составом. Структура и клеточный состав лимфоидных орга-

нов определяется соединительнотканной строкой в различных зонах которой временно локализуя рециркулирующие лимфоциты. Автономный отдел периферической иммунной системы образуют лимфоидные скопления и диффузные лимфоциты барьерных тканей, непосредственно контактирующие с АГ внешней среды. Несмотря на определённую автономность отдельных органов иммунной системы она функционально едина, что в значительной степени обусловлено непрерывной рециркуляцией лимфоцитов.

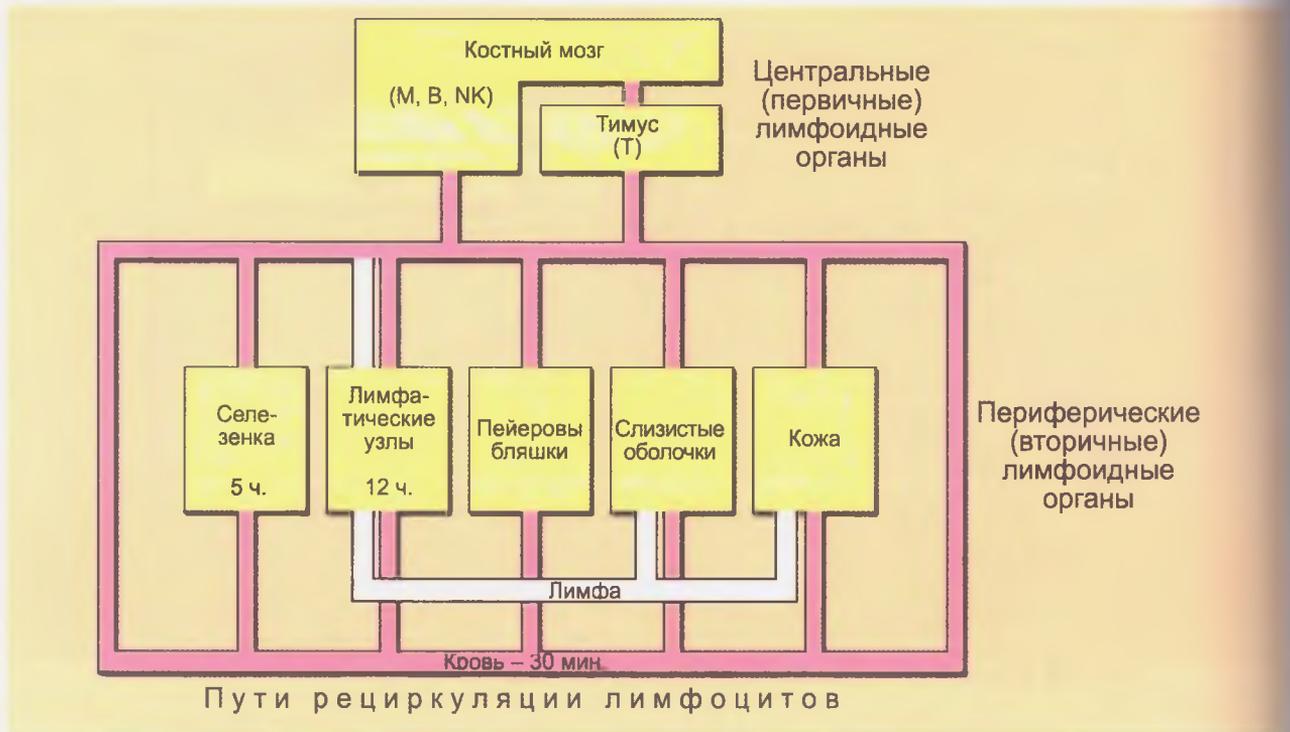


Рис. 259. Организация лимфоидной системы и перемещение лимфоцитов. Условные обозначения: М — миелоидные клетки, НК — естественные киллеры (НК-клетки), В — В-лимфоциты, Т — Т-лимфоциты. Указана длительность пребывания рециркулирующих лимфоцитов в селезёнке, лимфатических узлах и периферической крови

Клетки иммунной системы развиваются в центральных (первичных) лимфоидных органах, к которым относят тимус и костный мозг (последний помимо миело- и лимфопоэза выполняет ряд других функций). Все клетки иммунной системы развиваются в костном мозгу и лишь Т-лимфоциты нуждаются в микроокружении тимуса в связи с наличием в нём эпителиальной составляющей. Предшественники Т-лимфоцитов мигрируют из

костного мозга в тимус, в котором осуществляют их развитие. После завершения созревания лимфоцитов они покидают центральные лимфоидные органы и перемещаются (с кровотоком) в периферический отдел иммунной системы. Этот отдел образован вторичными (периферическими) лимфоидными органами, лимфоидными клетками и структурами барьерных тканей, а также кровеносными и лимфатическими путями, которые объеди-

няют эти органы и ткани. В периферическом отделе иммунной системы реализуется функция иммуноцитов. Для деятельности миелоидных клеток структурная организация в виде тканей и органов не является обязательной. Лимфоидные клетки, наоборот, осуществляют свою функцию только в составе организованных структур, поэтому органы периферического отдела иммунной системы являются по преимуществу лимфоидными. К ним относятся лимфатические узлы, которые дренируют определённые сегменты тела, собирая лимфу из барьерных тканей (кожа и слизистые оболочки). Другой лимфоидный орган — селезёнка — контролирует гематогенные пути. Лимфоидная ткань богато представлена в структурах, через которые поступает большая часть чужеродных агентов и субстанций. В коже преобладают диффузно распределённые иммуно-

циты, тогда как в слизистых оболочках наряду с ними имеются упорядоченные скопления лимфоидной ткани — одиночные лимфоидные фолликулы, в верхних дыхательных и пищеварительных путях — также миндалины, а в тонком кишечнике — пейеровы бляшки, образования, аналогичные по строению лимфатическим узлам. Определённое количество лимфоцитов присутствует в солидных органах, в особенности в печени (не отражено на схеме). Пути циркуляции делятся на кровеносные и лимфатические. По лимфатическим путям клетки поступают из барьеров в лимфатические узлы, а из них — в кровотоки. По кровеносным и лимфатическим сообщениям происходит рециркуляция лимфоцитов — выход клеток из органов в лимфу, переход с ней в кровотоки и возвращение через высокий эндотелий посткапиллярных венул в органы.

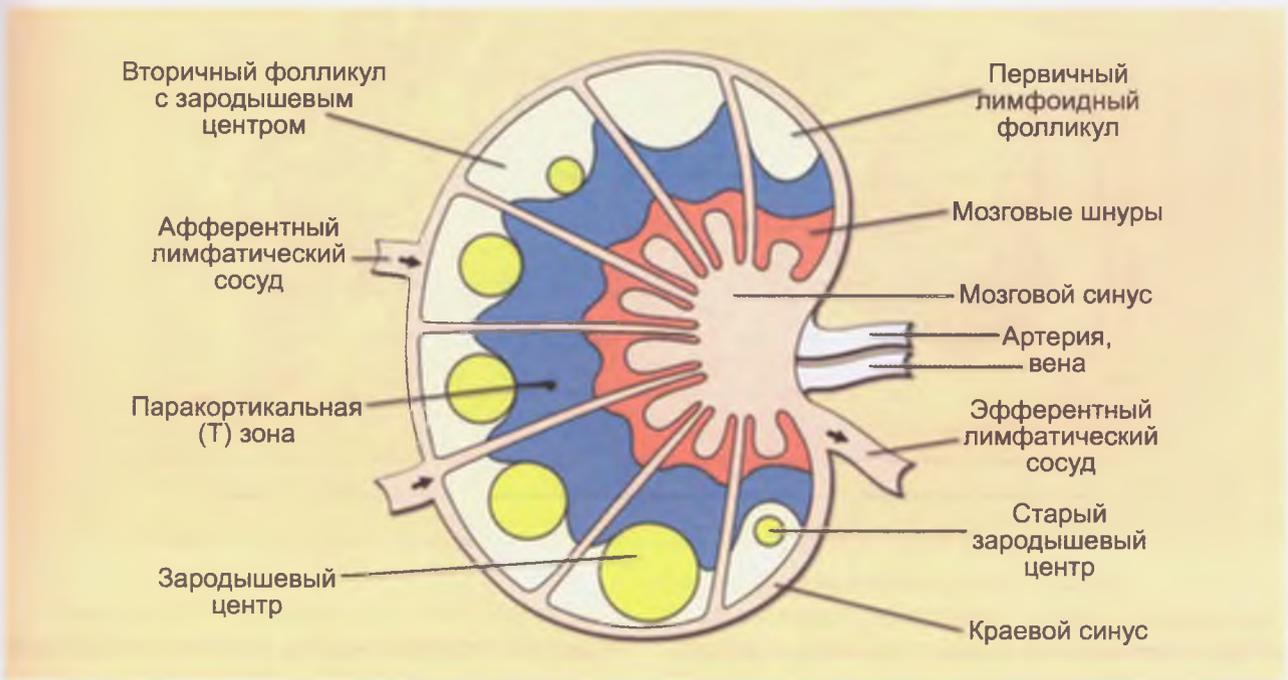


Рис. 260. Структура лимфатического узла

Лимфатический узел содержит кору и мозговое вещество. В коре выделяют зоны с избирательной локализацией В- (первичные фолликулы) и Т- (паракортикальная зона) лимфоцитов. НК-клетки практически отсутствуют в лимфатических узлах. Во время иммунного ответа в фолликулах формируются зародышевые центры, в которых наряду с В-клетками присутствуют Т-клетки (фолликул

становится вторичным). В медуллярных шнурах при этом накапливаются плазматические клетки. Афферентные лимфатические сосуды входят в узел со стороны коры, эфферентные выходят из ворот, т.е. с мозговой части узла. Соответственно, имеется два типа синусов — краевой и мозговой. И артерии, и вены локализуются в воротной части лимфатического узла (по Janeway С.А. и др., 2005).

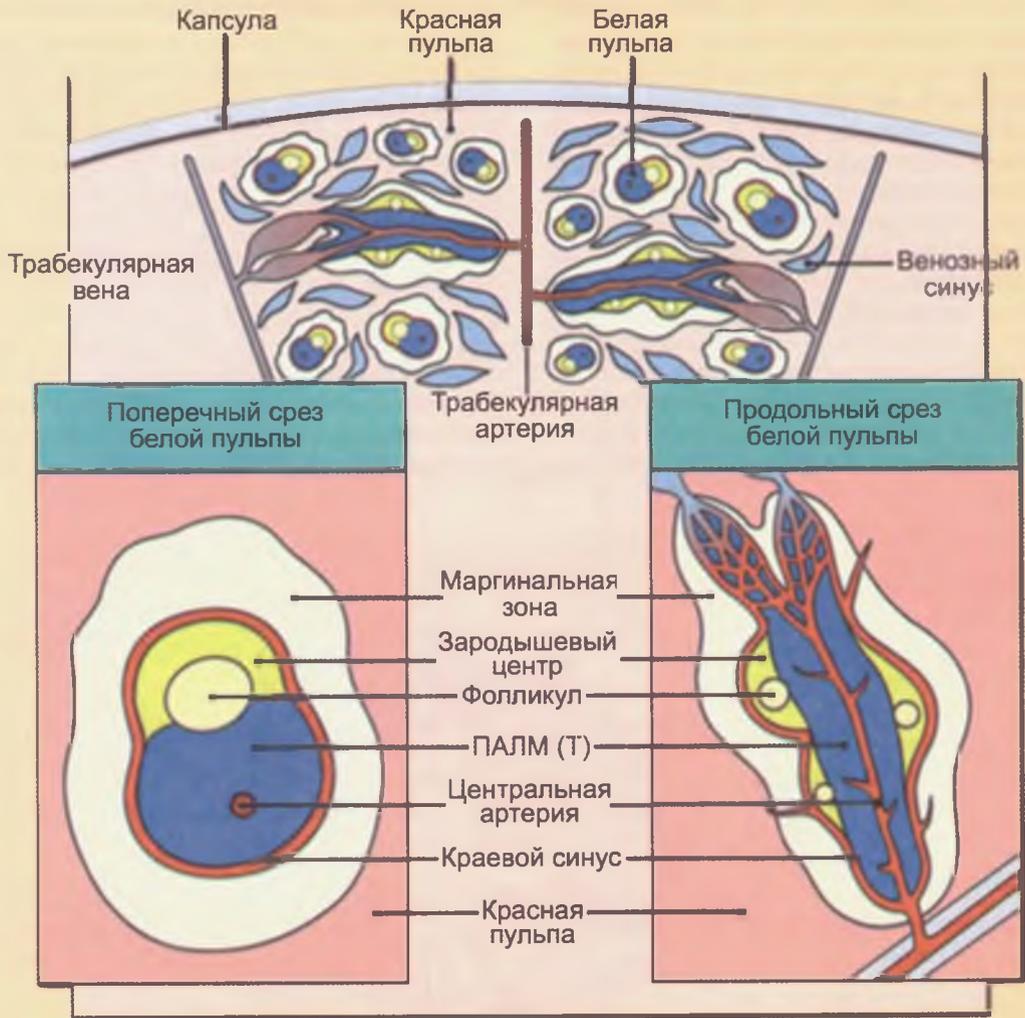


Рис. 261. Структура белой пульпы селезёнки

Белая пульпа селезёнки, являющаяся эквивалентом лимфатического узла, вкраплена в виде зёрен в более обширную красную пульпу. В-зона белой пульпы — первичный фолликул, который при иммунном ответе превращается во вторичный фолликул, содержащий зародышевый центр. Т-клетки сосредоточены в параартериальных лимфоидных муфтах (ПАЛМ).

Белую пульпу окружает маргинальная (краевая) зона, в которой присутствует особая субпопуляция

В-клеток — МЗВ-клетки (см. рис. 225). Лимфоциты поступают в ткань белой пульпы вместе с кровью, изливающейся в краевой (маргинальный) синус. Эфферентный отток осуществляется с венами, формирующимися из венозных синусов. Лимфатические сосуды в селезёнке отсутствуют (по Janeway С.А. и др., 2005).

Условные обозначения: ПАЛМ — парартериальная лимфоидная муфта; МЗВ — В-клетки маргинальной зоны.

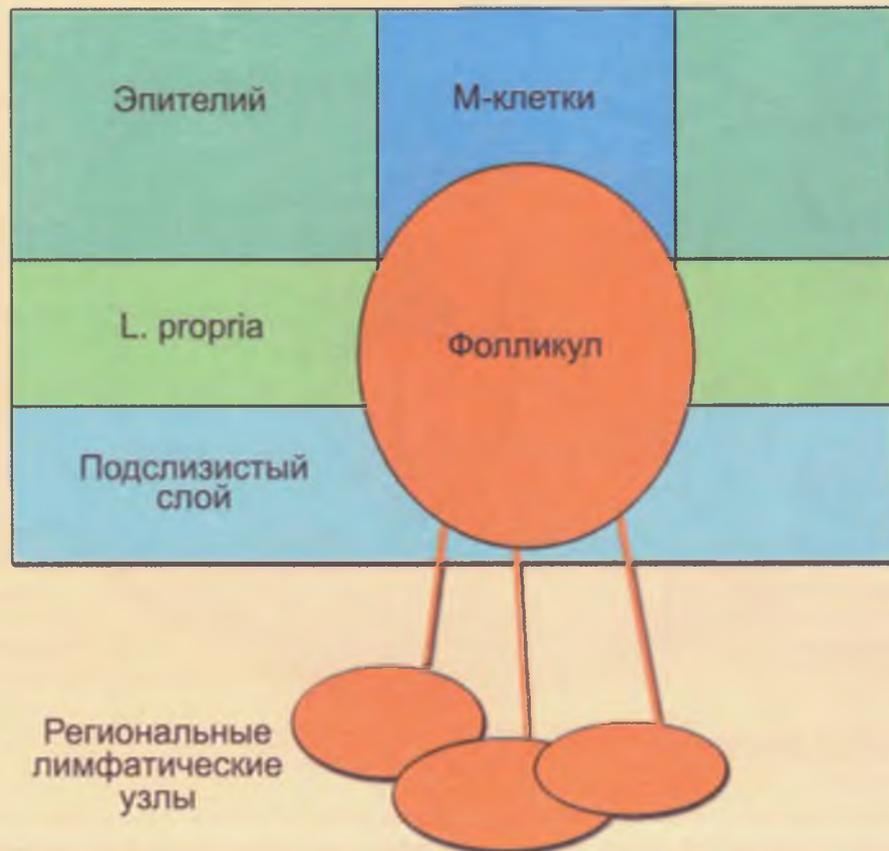


Рис. 262. Структура локального сегмента мукозального отдела иммунной системы

Иммунная система слизистых оболочек (мукозальная) представлена диффузной и структурированной составляющими. Диффузные клетки распределены в различных слоях барьерных тканей. Упорядоченная ткань представлена лимфоидными фолликулами, соединёнными с региональными лимфатическими узлами, лимфатическими сосудами. Наличие подобных комплексов позволяет говорить о мукозоассоциированной лимфоидной ткани (MALT, *Mucosa-associated lymphoid tissue*), которая имеется в кишечнике (GALT, *Gut-associated*

lymphoid tissue), носоглотке (NALT, *Nasopharynx-associated lymphoid tissue*), фаллопиевых трубах (FALT, *Fallopian tube-associated lymphoid tissue*) и может локализоваться (в зависимости от бактериальной нагрузки в онтогенезе) в бронхах (BALT, *Bronchus-associated lymphoid tissue*). Наиболее обильно структурированная лимфоидная ткань присутствует в слизистой оболочке кишечника, тогда как в слизистых дыхательного и репродуктивного трактов она или присутствует непостоянно, или отсутствует.

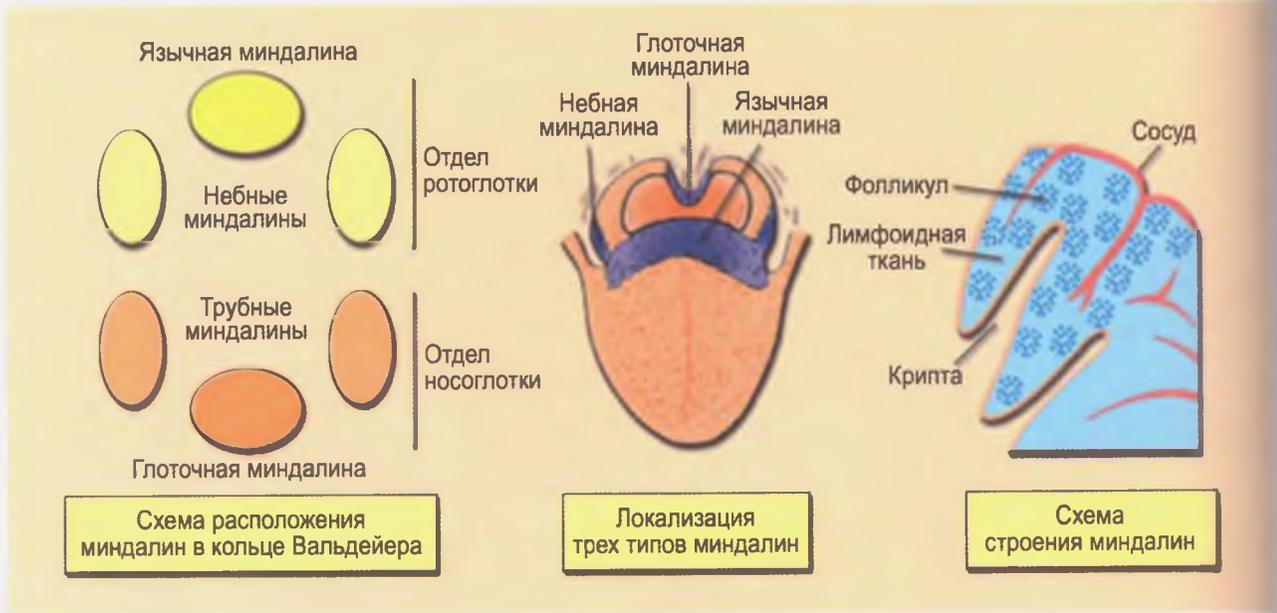


Рис. 263. Локализация и строение миндалин

Миндалины представляют собой неинкапсулированные скопления лимфоидной ткани под слизистой оболочкой вокруг крипт в верхних отделах пищеварительного и дыхательного трактов. У человека выделяют язычную, небную, глоточную и трубную миндалины. Небные и трубные миндалины — парные. Язычная и небные миндалины обра-

зуют ротоглоточный, а глоточная и трубные миндалины — носоглоточный отдел кольца Вальдейера — Пирогова. Основной формой организации лимфоидной ткани в миндалинах служат фолликулы, заселённые В-лимфоцитами. В межфолликулярном пространстве Т- и В-клетки соседствуют друг с другом.

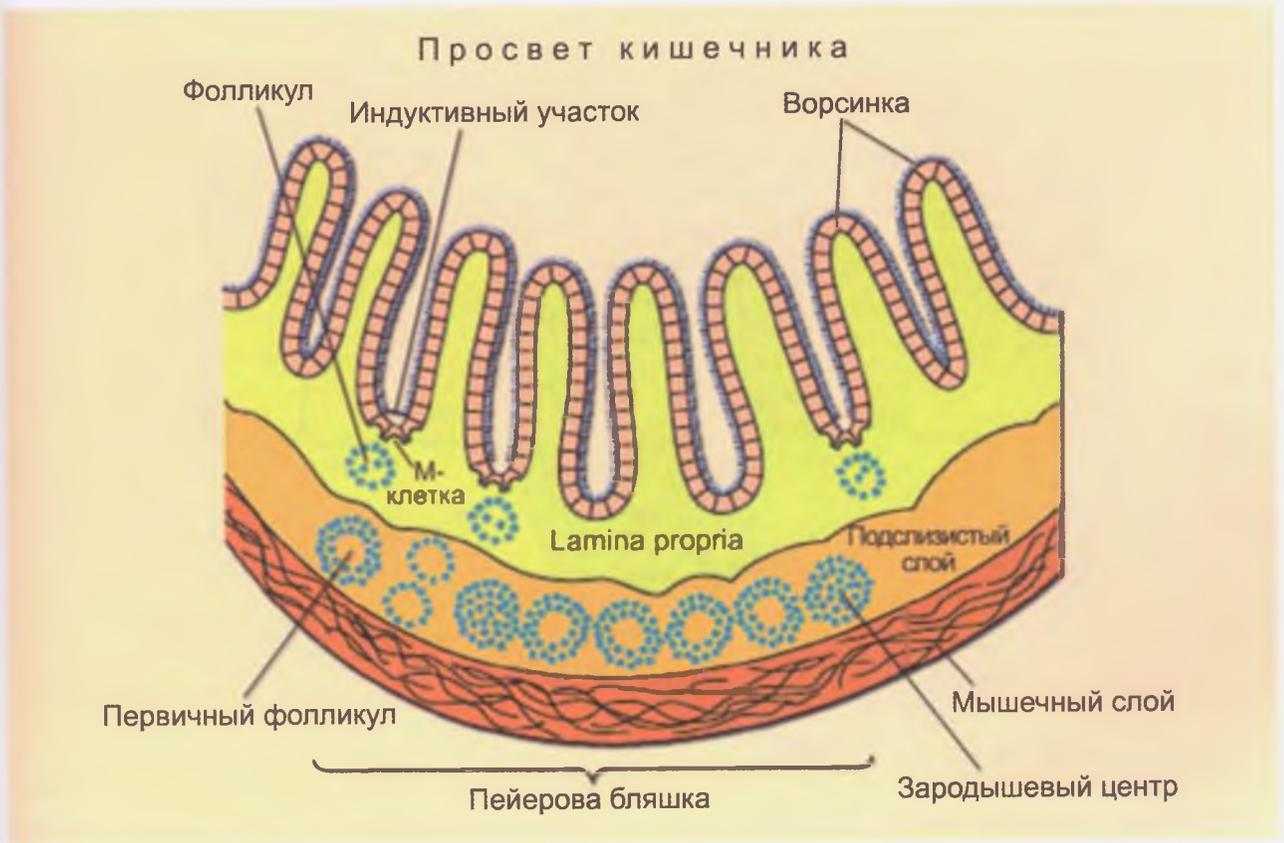


Рис. 264. Схема строения кишечной стенки

Среди барьерных тканей кишечника, особенно тонкая кишка, содержит наибольшее количество лимфоцитов, как в составе структурированной ткани, так и распределённых диффузно. В *lamina propria* содержатся единичные фолликулы. Свободные лимфоциты пронизывают подслизистый слой, *lamina propria*, а также слизистую оболочку.

В последней содержатся исключительно Т-лимфоциты и ДК, тогда как в более глубоких слоях присутствуют все типы иммуноцитов в соотношении, сходном с таковым в периферической крови (см. рис. 267). В подслизистом слое тонкой и толстой кишки локализуются пейеровы бляшки (модифицировано по Goldsby S. и др., 2005).

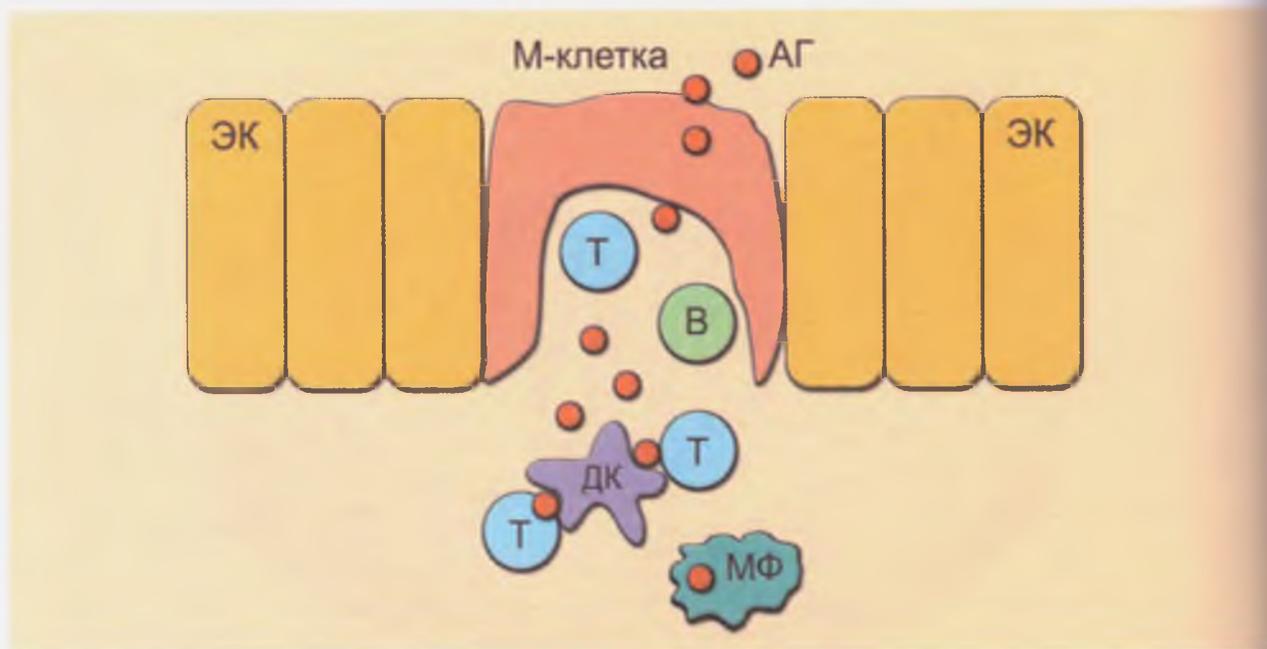


Рис. 265. М-клетка и её функции

М-клетки — специализированные эпителиальные клетки, выстилающие участок слизистой оболочки над лимфоидными образованиями (единичными фолликулами, пейеровыми бляшками). Эти клетки предназначены для перемещения чужеродного антигенного материала, молекул или целых микроорганизмов во внутреннюю среду макроорганизма. Этот транспорт представляет собой активный процесс. АГ контактируют с Т- и В-лимфо-

цитами, находящимися в кармане под М-клеткой (в пейеровой бляшке — в куполе), а также с антигенпредставляющими клетками, находящимися глубже. ДК, захватившие антиген, мигрируют в региональный лимфатический узел (см. рис. 289, 290).

Условные обозначения: ЭК — эпителиальная клетка; Т — Т-лимфоцит; В — В-лимфоцит; ДК — дендритная клетка; МФ — макрофаг.

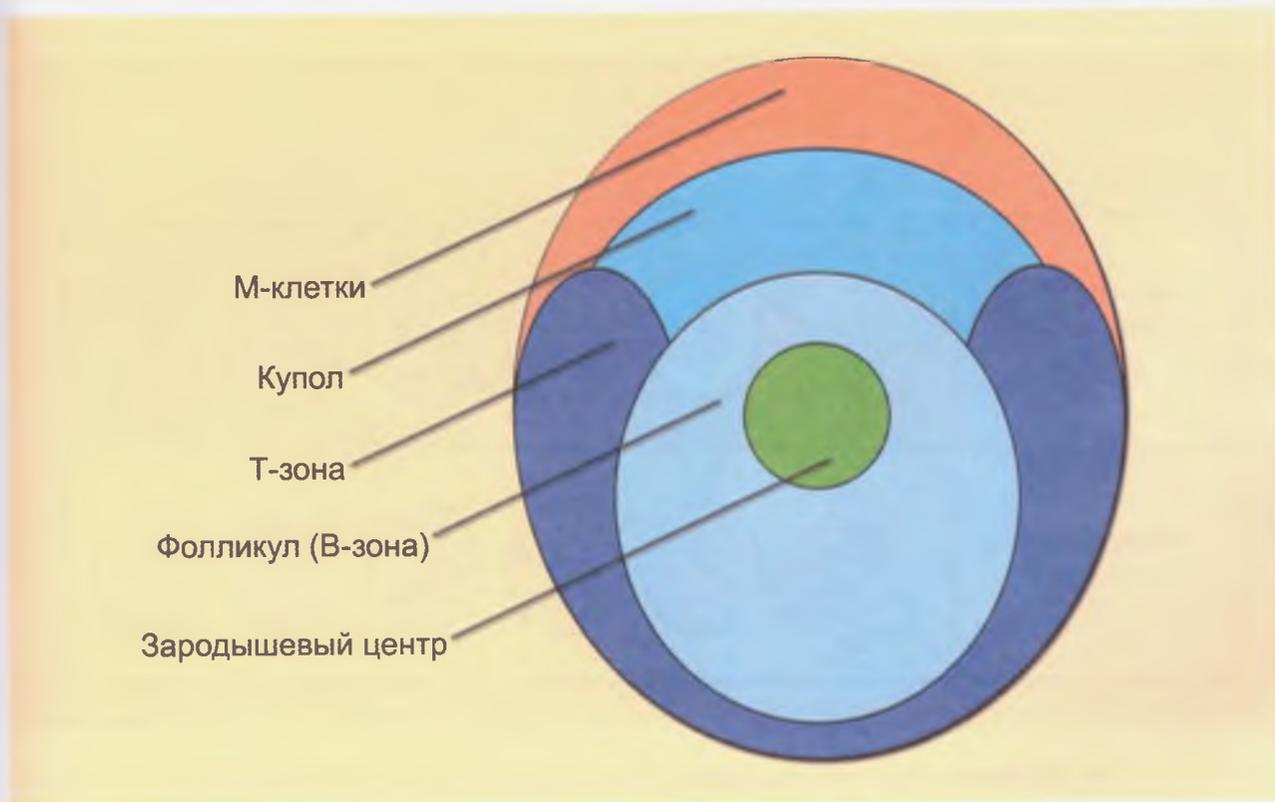


Рис. 266. Структура пейеровой бляшки

Пейеровы бляшки являются единственными инкапсулированными лимфоидными образованиями в барьерных тканях. Они присутствуют в слизистой оболочке кишечника: у мышей преимущественно в тонкой, у человека — в толстой кишке. По своей структуре пейеровы бляшки напоминают лимфатические узлы. В них также есть Т- и В-зоны. Последняя представлена фолликулами (обычно 5–7), по преимуществу вторичными, содержащими зародышевый центр. Основная особенность пейе-

ровых бляшек состоит в наличии купола — пространства, примыкающего к эпителию, который над бляшкой представлен специализированными М-клетками (см. рис. 265). В куполе присутствуют Т- и В-лимфоциты, а несколько глубже — ДК и МФ. В целом в пейеровых бляшках В-лимфоциты преобладают над Т-лимфоцитами, а среди последних — $CD4^+$ -клетки — над $CD8^+$ -клетками. Именно сюда в первую очередь поступают АГ из просвета кишечника.

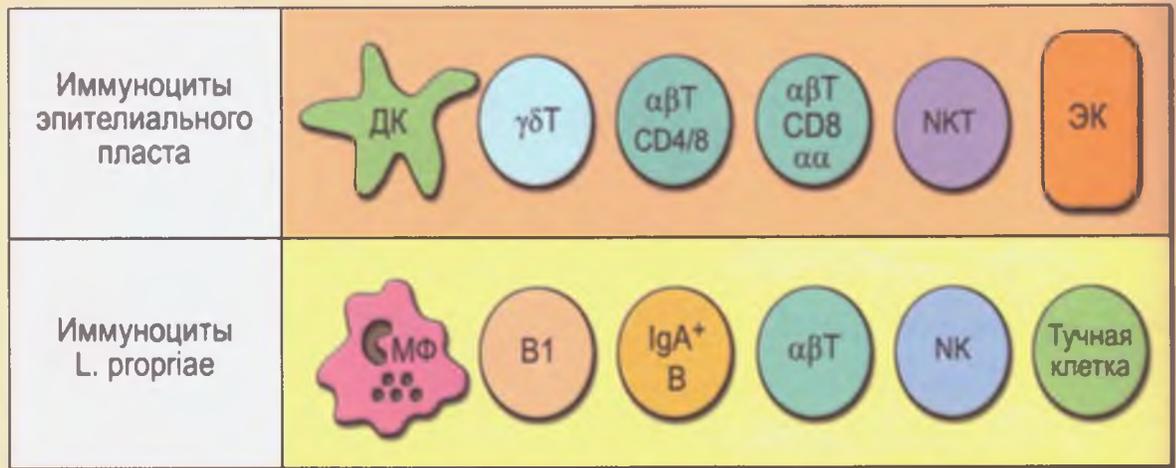


Рис. 267. Иммуноциты барьерных тканей

Клеточный состав популяции иммуноцитов в эпителиальном и субэпителиальном слоях барьерных тканей (кожи, слизистых оболочек) различен. Сами эпителиоциты в условиях внедрения патогенов приобретают некоторые черты МФ: фагоцитарную активность, секрецию цитокинов и даже способность представлять АГ. Наряду с эпителиальными клетками эпителиальный пласт содержит ДК и несколько разновидностей Т-лимфоцитов. Содержание $\gamma\delta$ Т-клеток здесь существенно выше, чем в периферической крови и вторичных лимфоидных органах, а $\alpha\beta$ Т-клетки представлены в основном $CD8^+$ Т-лимфоцитами. Часть этих клеток содержит гомодимерную форму $CD8(CD8\alpha\alpha^+$

Т-клетки). Субэпителиальный слой (дерма в коже, *lamina propriae* и подслизистый слой в слизистых оболочках) содержит более разнообразный спектр иммуноцитов, близкий таковому периферической крови, из которой эти клетки мигрируют. Обращает внимание значительное содержание ТК и своеобразии спектра В-лимфоцитов — высокий процент В1-клеток, а среди В2-клеток — преобладание лимфоцитов, несущих IgA-рецептор. НК-клетки присутствуют в субэпителиальном, а НКТ-клетки — преимущественно в эпителиальном слое.

Условные обозначения: ЭК — эпителиальная клетка; ДК — дендритные клетки; МФ — макрофаг. В обозначениях лимфоцитов опущено слово «клетка».

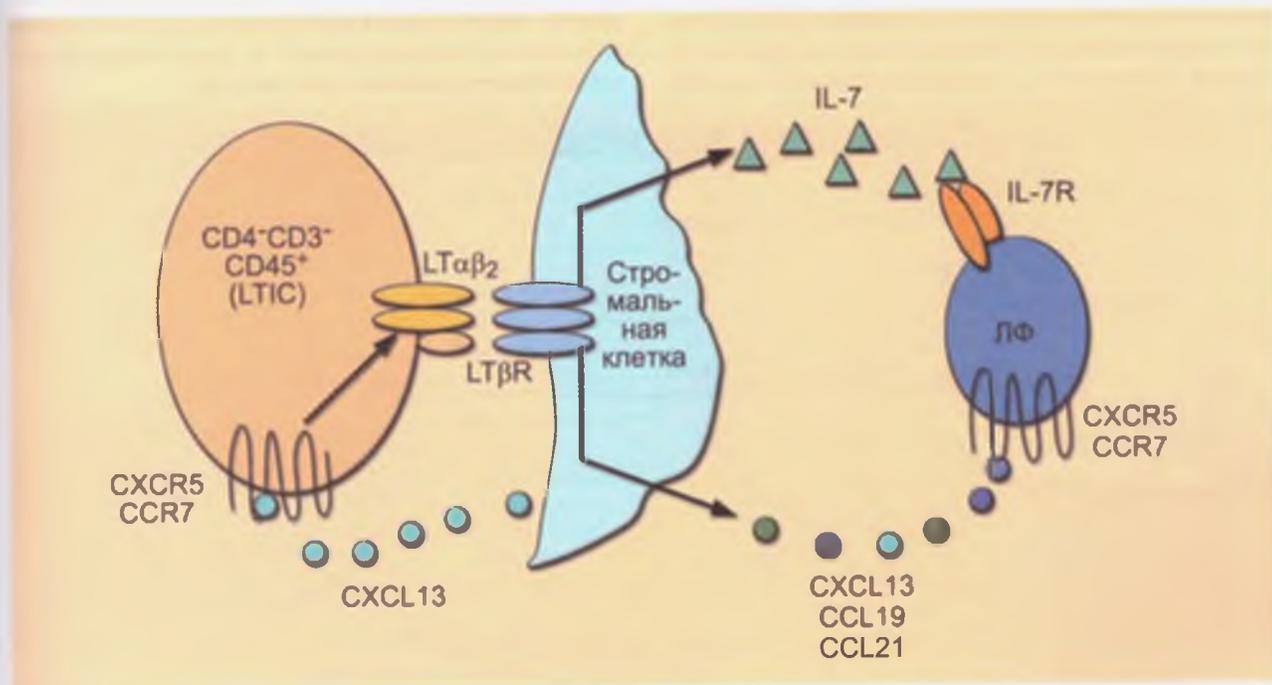


Рис. 268. Роль мембранного лимфотоксина в формировании лимфоидных органов

Стромальные клетки в закладке вторичных лимфоидных органов (прежде всего лимфатических узлов) экспрессируют рецептор LTβR для мембранного лимфотоксина αβ2 и продуцируют хемокин CXCL13 (BLC). Последнее обстоятельство обуславливает миграцию в закладки клеток — индукторов лимфоидной ткани — LTIC (*Lymphoid tissue inductor cells*), которые экспрессируют мембранный лимфотоксин и имеют мембранный фенотип CD45⁺CD4⁺CD3⁻CD19⁻. Взаимодействие лимфотоксина LTαβ2 с рецептором LTβR порождает сигналы, которые вызывают экспрессию генов IL-7 и хемокинов, привлекающих Т- и В-клетки,

что служит условием заселения органа лимфоцитами указанных типов. В последующем эта способность стромальных клеток поддерживается благодаря их взаимодействию с лимфоцитами (преимущественно с В-лимфоцитами), передающими в стромальную клетку сигналы, которые обеспечивают способность продуцировать хемокины и гомеостатические цитокины — факторы выживания Т- и В-клеток (см. рис. 277).

Условные обозначения: LTIC — клетка-индуктор лимфоидной ткани; ЛФ — лимфоцит; LT — лимфотоксин; CXCR, CCR7 — рецепторы для хемокинов; CCL9, CCL21, CXCL13 — хемокины и т.д.

2.2.5. МИГРАЦИЯ ЛИМФОЦИТОВ

Пребывание лимфоцитов в органах и структурах иммунной системы временно, поскольку они находятся в процессе непрерывной рециркуляции. Критическим этапом рециркуляции является возвращение клеток из кровотока в лимфоидные органы, обеспечивающее динамическое постоянство их состава. Этот процесс, называемый хомингом, обеспе-

чивается молекулами адгезии, которые позволяют клеткам преодолеть тканевые барьеры, а также хемокиновыми рецепторами, обеспечивающими реакцию на сигналы хемокинов, дифференцированно секретируемых клетками стромы различных отделов лимфоидных органов и, таким образом, направляющих движение лимфоцитов.

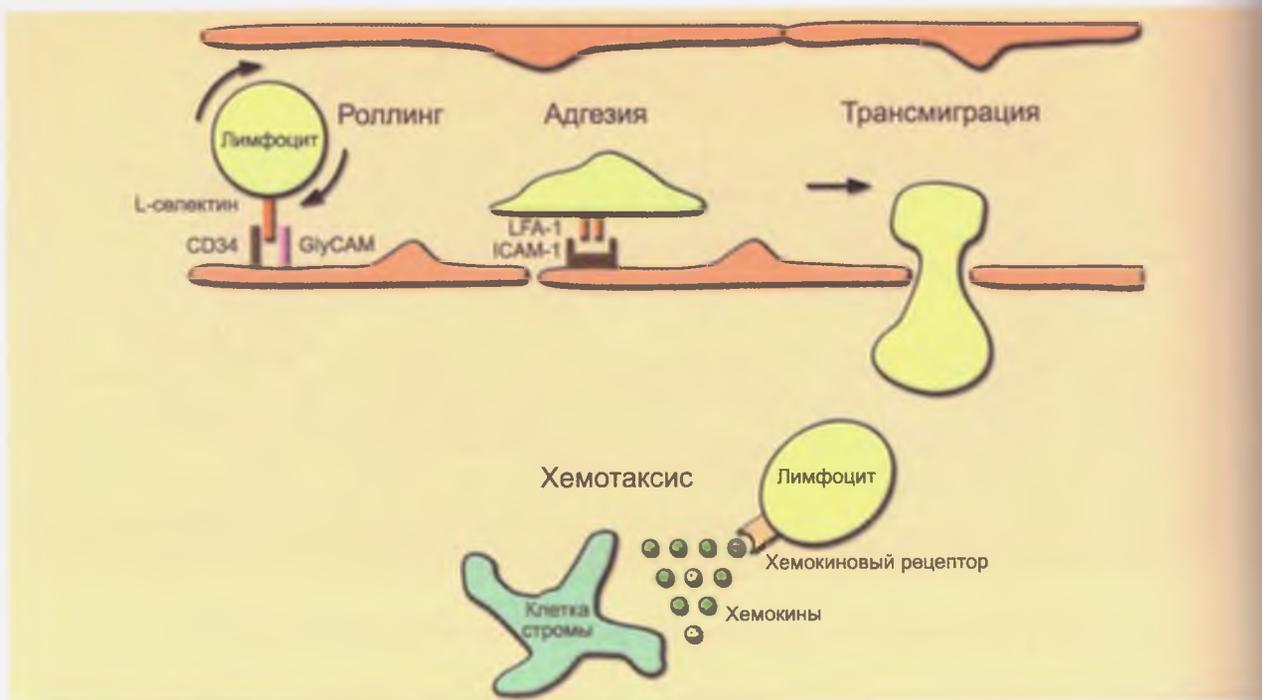


Рис. 269. Схема транссудистой миграции лимфоцитов

Миграция лимфоцитов из сосудистой сети в ткани подчиняется в принципе тем же закономерностям, что и миграция в воспалённую ткань фагоцитов. Разница состоит в том, что условием миграции миелоидных клеток-фагоцитов является предварительное действие провоспалительных цитокинов на эндотелий сосудов, индуцирующее экспрессию молекул адгезии, в то время как лимфоциты мигрируют через высокий эндотелий посткапиллярных венул вторичных лимфоидных органов, на клетках которого молекулы адгезии экспрессированы конститутивно. Условием эмиграции лимфоцитов является экспрессия ими селектина L (CD62L), называемого рецептором хоминга лимфоцитов, а также интегрина LFA-1 (CD11a/CD18). Селектин L взаимодействует с лигандами — молекулами CD34 и GlyCAM-1, которые называют адресинами эндотелиальной клетки. Слабое взаи-

модействие между этими молекулами обеспечивает качение (роллинг) лимфоцитов вдоль сосудистой стенки. Последующая взаимосвязь молекул LFA-1 лимфоцита с его рецептором ICAM-1 (CD54) на эндотелии обеспечивает прочную адгезию. Трансмиграция между эндотелиальными клетками обусловлена реакцией лимфоцитов, несущих рецептор CCR7, на выделяемый эндотелиальными клетками хемокин CCL19 (ELC). До этого момента Т- и В-лимфоциты мигрируют в ответ на одни и те же сигналы. Проникнув в ткани, эти клетки проникают в различные отделы лимфоидного органа, что определяется хемокинами, секретируемыми стромальными клетками этих отделов.

Условные обозначения: LFA (*Lymphocyte function antigen*) — интегрин $\alpha\text{L}\beta\beta$ (CD11a/CD18); ICAM (*Intercellular adhesion molecule 1*) — рецептор молекулы LFA-1.

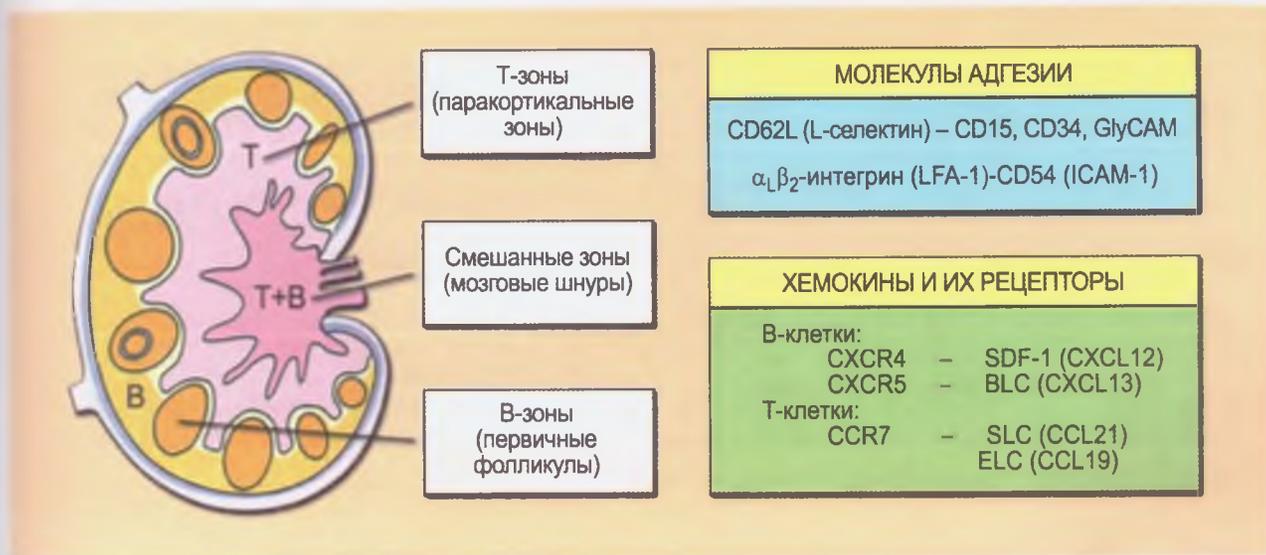


Рис. 270. Т- и В-клеточные зоны лимфатических узлов и факторы, обеспечивающие хоминг лимфоцитов

Проникновение лимфоцитов из кровотока во вторичные лимфоидные органы (в типичном случае — в лимфатические узлы) определяется взаимодействием адгезивных молекул лимфоцитов и их лигандов на поверхности эндотелиальных клеток — CD62L — CD34, CD15 или GlyCAM и LFA-1 — ICAM-1. Перемещение лимфоцитов разных классов в соответствующие зоны лимфоидного органа происходит посредством выделения стромальными клетками этих зон хемокинов и наличием на поверхности лимфоцитов соответствующих рецепторов. Стромальные клетки фолликулов выделяют хемокины CXCL12 (SDF-1) и CXCL13 (BLC), кото-

рые распознаются хемокиновыми рецепторами В-клеток CXCR4 и CXCR5 соответственно. ДК, локализующиеся в строме паракортикальной зоны, секретируют хемокины CCL19 (ELC) и CCL21 (SLC), различаемые рецептором Т-клеток CCR7. Это определяет направление миграции и локализацию Т- и В-лимфоцитов после их поступления в ткань лимфатического узла или пейеровой бляшки.

Условные обозначения: см. рис. 244; SDF-1 — *Stroma-derived factor 1*; BLC — *B-lymphocyte chemokine*; ELC — *EBI-1-ligand chemokine*; SLC — *Secondary lymphoid-tissue chemokine*; GlyCAM — *Glycosilated cell adhesion molecule*.

Незрелые дендритные клетки	Зрелые дендритные клетки
Хемокиновые рецепторы: CCR1, CCR2, CCR5, CCR6, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4	Хемокиновые рецепторы: CCR7, CXCR4, CXCR5
Миграция в барьерные зоны	Миграция в Т-зоны лимфоидных органов

Рис. 271. Мембранный фенотип определяет пути миграции дендритных клеток

ДК характеризуются набором экспрессируемых хемокиновых рецепторов, которые определяют их локализацию. Незрелые клетки несут хемокиновые рецепторы, которые определяют их миграцию из кровотока в барьерные ткани. Их дифференцировка в зрелые ДК сопровождается сменой хемокиновых рецепторов. При этом ДК покидают барьерные ткани и перемещаются во вторичные лимфоидные органы, где занимают

Т-зависимые зоны, клетки которых секретируют хемокины, распознаваемые их рецепторами. Эти миграции соответствуют изменению функциональных задач, выполняемых дендритными клетками на указанных стадиях развития: незрелые клетки поглощают и обрабатывают АГ, поступающие в организм через барьеры, а зрелые ДК представляют фрагменты этих АГ Т-клеткам во вторичных лимфоидных органах.

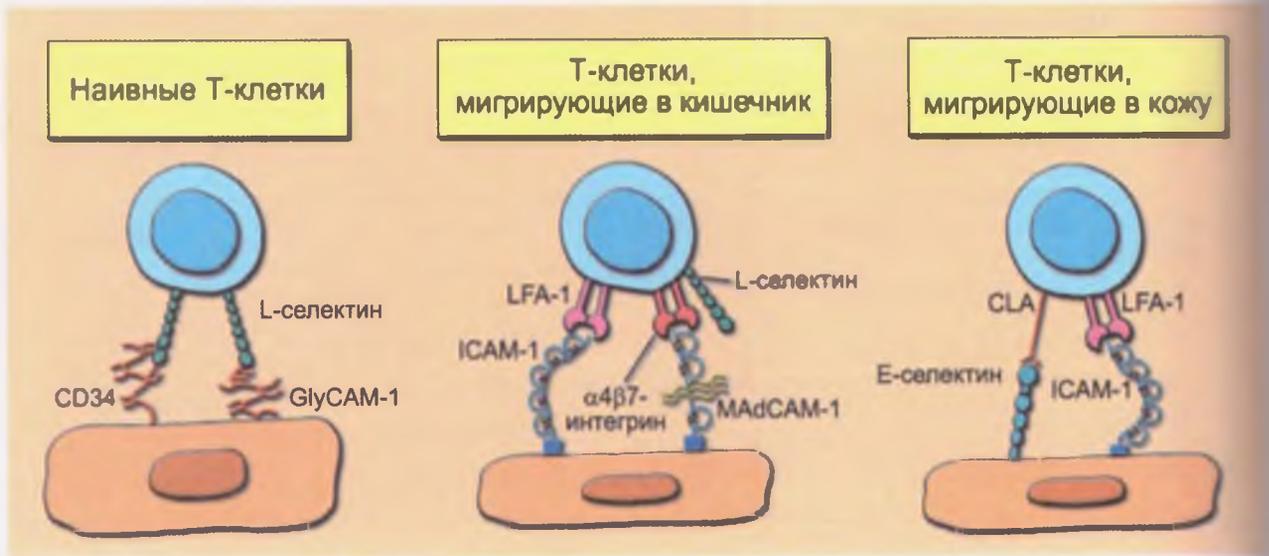


Рис. 273. Молекулы адгезии — рецепторы хоминга Т-лимфоцитов

Набор молекул адгезии — рецепторов хоминга на поверхности лимфоцитов определяет направление их миграции в различные отделы иммунной системы.

Мембранный селектин-L, экспрессируемый наивными Т-клетками, обеспечивает их миграцию в Т-зоны вторичных лимфоидных органов, поскольку высокий эндотелий посткапиллярных венул этих органов экспрессирует адрессины CD34 и GlyCAM, распознаваемые L-селектином. Экспрессия $\beta 2$ -интегрина LFA-1, участвующего в трансмиграции любых лимфоцитов, особенно важна для миграции эффекторных Т-клеток и Т-клеток памяти в барьерные ткани, особенно при наличии

в них воспаления, когда эндотелиальные клетки, активированные цитокинами, экспрессируют молекулу ICAM-1, служащую рецептором молекулы LFA-1. Для миграции в слизистую оболочку кишечника, но не других барьерных тканей, важна экспрессия на Т-клетках $\alpha 4\beta 7$ -интегрина, распознающего молекулу MadCAM на эндотелии сосудов кишечника. Рецептором хоминга эффекторных Т-клеток и Т-клеток памяти в кожу является селектин CLA (*cutaneous lymphocyte antigen*), различающийся E-селектин кератиноцитов.

Условные обозначения: см. рис. 269. GlyCAM — *Glycosilated cell-adhesion molecule*, MadCAM — *Mucosa-associated cell-adhesion molecule*.

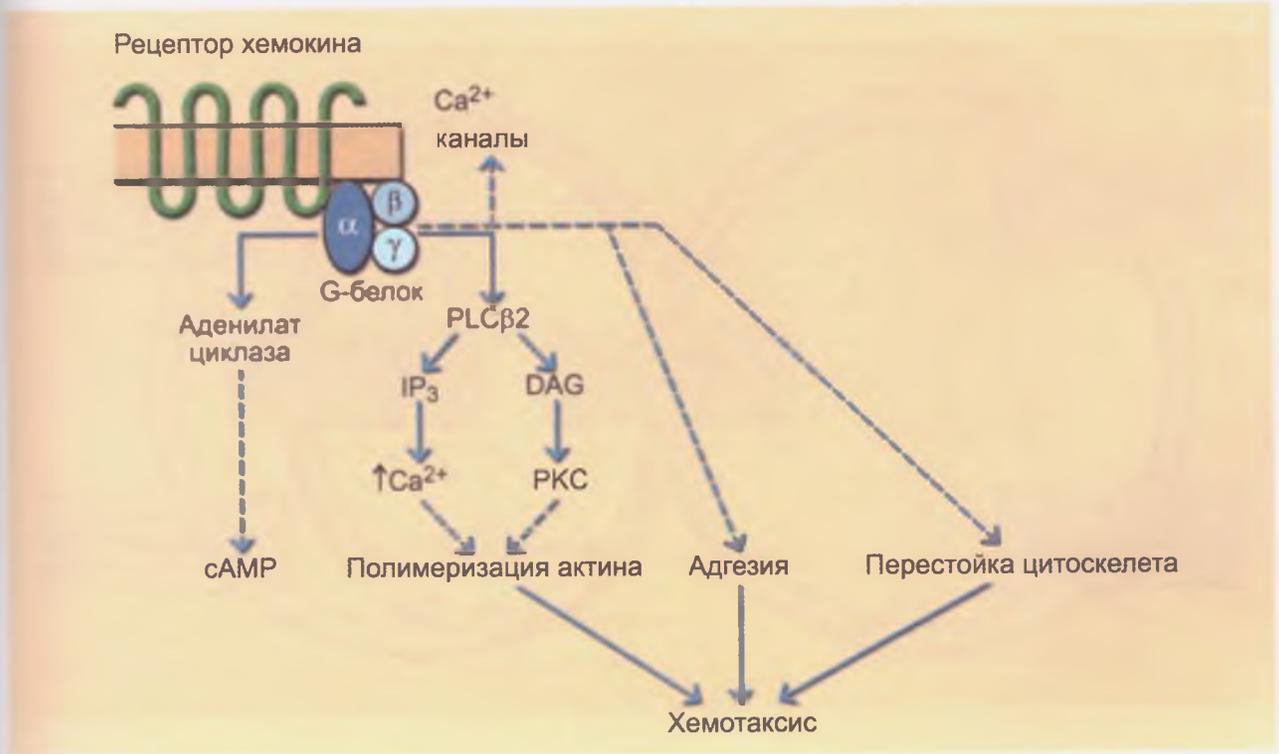


Рис. 274. Последствия сигнализации через хемокиновые рецепторы

Хемокиновые рецепторы, семикратно пронизывающие мембрану, связаны с белком G. Изменение конформации белка G приводит к его диссоциации на цепь α и димер $\beta\gamma$. α -цепь участвует в активации аденилатциклазы, что способствует накоплению цАМФ. Димер $\beta\gamma$ участвует в запуске процессов, приводящих к полимеризации актина и другим изменениям цитоскелета, а также усилению

экспрессии молекул адгезии, что обеспечивает хемотаксис, а также активацию клеток.

Условные обозначения: cAMP — циклический аденозинмонофосфат; PLCβ2 — фосфолипаза C, изоформа β2; IP₃ — инозитол 3-фосфат; DAG — диацилглицерин; PKC — протеинкиназа C; Ca²⁺ — повышение уровня внутриклеточных ионов Ca²⁺; Ca²⁺-каналы — кальциевые каналы.

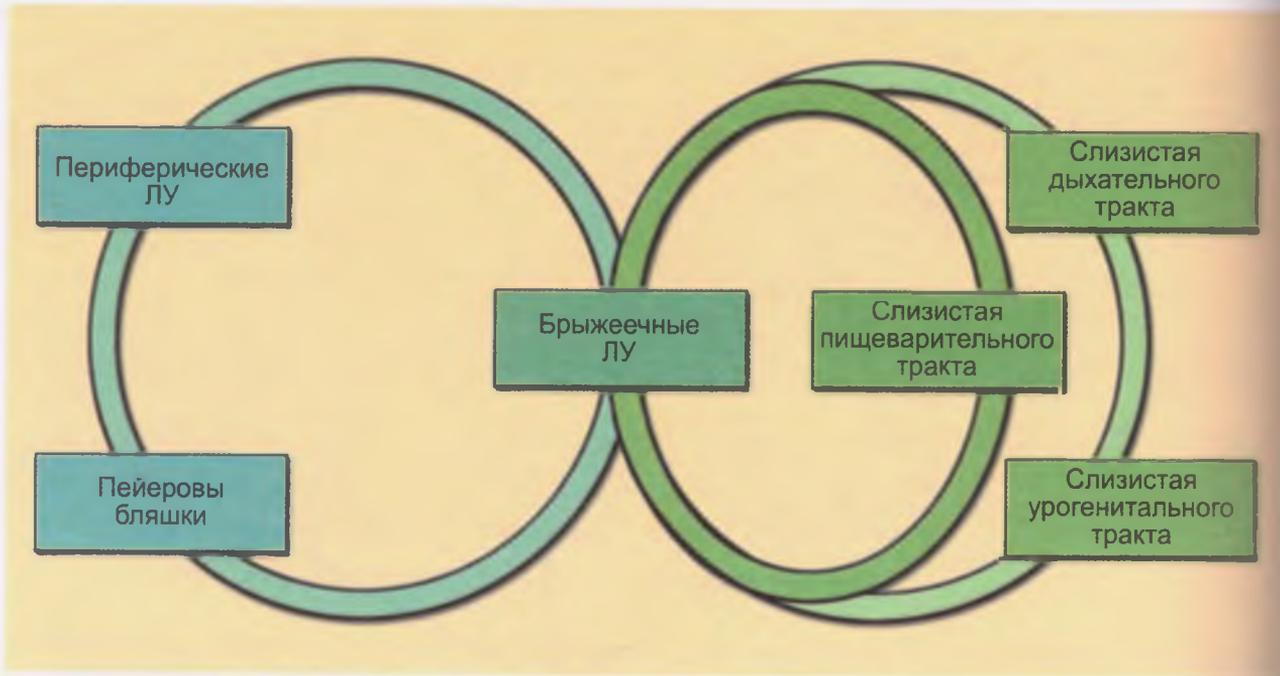


Рис. 275. Взаимоотношение кругов рециркуляции лимфоцитов

Различия путей миграции наивных и активированных/эффекторных лимфоцитов определили существование нескольких кругов их рециркуляции.

Представления о путях рециркуляции разработаны преимущественно для Т-лимфоцитов, составляющих основную массу рециркулирующих клеток. Автономность кругов рециркуляции отно-

сительна: они пересекаются в брыжеечных лимфатических узлах, в которые могут поступать и наивные, и эффекторные Т-клетки. Учитывая существование особых требований к рецепторному аппарату клеток для их поступления в слизистую оболочку кишечника (см. рис. 272, 273), иногда выделяют отдельный путь рециркуляции Т-клеток через кишечник.

2.2.6. ГОМЕОСТАЗ ЛИМФОИДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ

Под гомеостазом понимают постоянство тех или иных показателей и функций живых организмов. Численность клеток иммунной системы подвержена гомеостатическому контролю. Он особен-

но важен для таких динамических клеточных популяций, как популяции лимфоцитов, которые диффузно распределены в организме и непрерывно перемешаются.

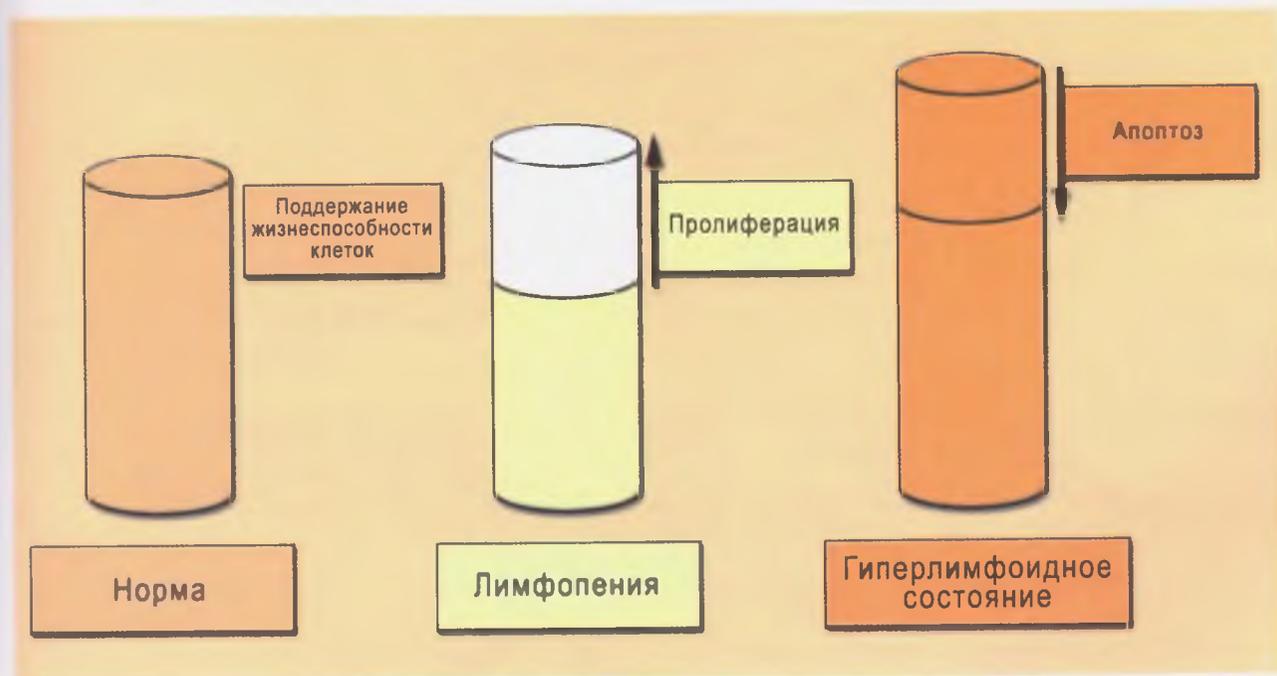


Рис. 276. Контроль заполнения лимфоцитарных ниш

В норме лимфоцитарные ниши полностью заняты клетками. В случае недостаточного заполнения пространств включается механизм гомеостатической пролиферации, в результате которого достигается наполнение ниши клетками. В случае

переполнения (например, при введении клеток извне или их чрезмерной пролиферации), когда клеткам не хватает ресурсов, необходимых для выживания, происходит гибель клеток по механизму апоптоза.

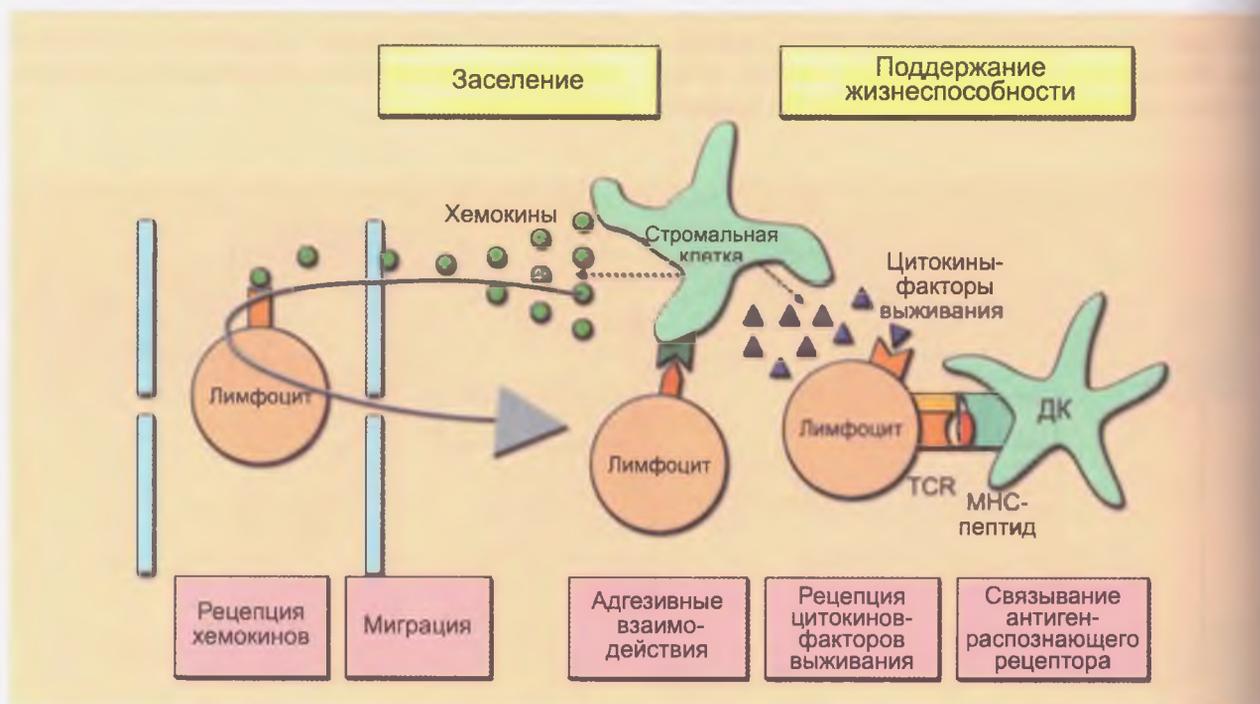


Рис. 277. Схема функционирования лимфоцитарной ниши

Лимфоцитарная ниша — это сумма участков в лимфоидных органах, способных привлекать и обеспечивать выживаемость лимфоцитов того или иного типа. Привлечение лимфоцитов в лимфоцитарную нишу и обеспечение их выживаемости достигается прежде всего секрецией стромальными клетками, формирующими микроокружение лимфоцитов в данных участках, соответствующих факторов. В качестве привлекающих факторов выступают хемокины (возможно, и другие хемоаттрактанты), для которых на поверхности лимфоцитов данного типа имеются рецепторы. Кроме этого для проникновения клеток в нишу требуется экспрессия ими молекул адгезии, которые позволяют клетке преодолеть барьер в виде сосудистой стенки и фиксироваться в нише за счёт адгезии на клетках стромы. Выживаемость обеспечивается наличием необходимых ресурсов. Помимо питательных веществ

и других жизненно необходимых материалов, которые поставляются с кровью, они включают специфические факторы (обычно цитокины), которые обеспечивают выживаемость клеток. Выживаемость Т-лимфоцитов обеспечивается не только гуморальными факторами, но и МНС-зависимыми контактными взаимодействиями с дендритной клеткой, представляющей Т-лимфоциту аутологичный пептид. В свою очередь способность стромальных клеток секретировать хемокины и обеспечивать мигрирующие клетки факторами выживания индуцируется и затем поддерживается в результате их взаимодействия с лимфоидными клетками (см. рис. 268).

Условные обозначения: ДК — дендритная клетка; TCR (*T-cell receptor*) — антигенраспознающий рецептор Т-клеток, МНС-пептид — комплекс молекулы главного комплекса гистосовместимости и пептидного фрагмента АГ.

2.2. Клеточные основы адаптивного иммунитета

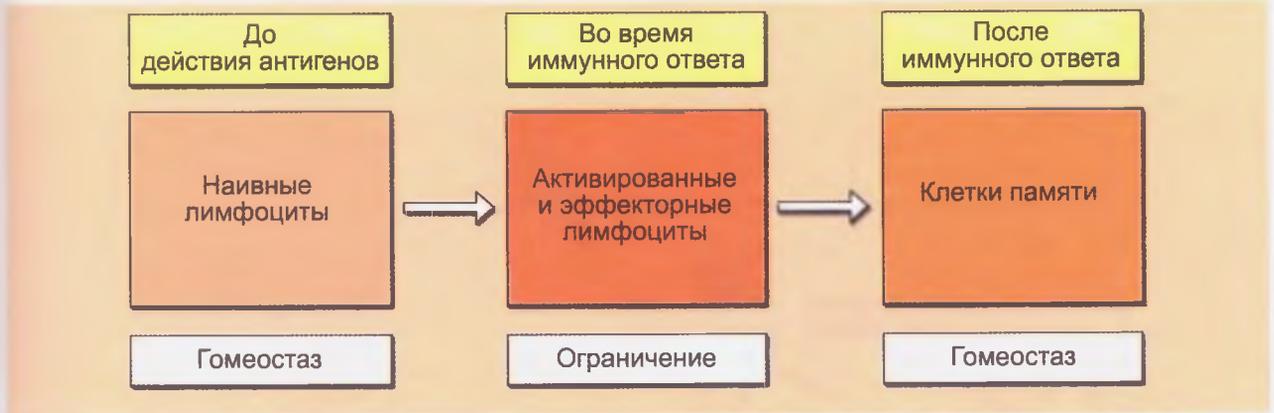


Рис. 278. Лимфоидные компартменты — объекты независимой регуляции и гомеостатического контроля

Контроль численности клеток в популяциях лимфоцитов осуществляется независимо для наивных клеток и клеток памяти, имеющих практически не перекрывающиеся ниши. Эффекторные клетки не подвержены гомеостатическому контролю: они должны погибнуть после завершения гене-

тически определённого срока их жизни, поскольку они нужны организму только в период осуществления иммунного ответа. В то же время в иммунной системе функционируют механизмы, ограничивающие продолжительность и интенсивность иммунного ответа.

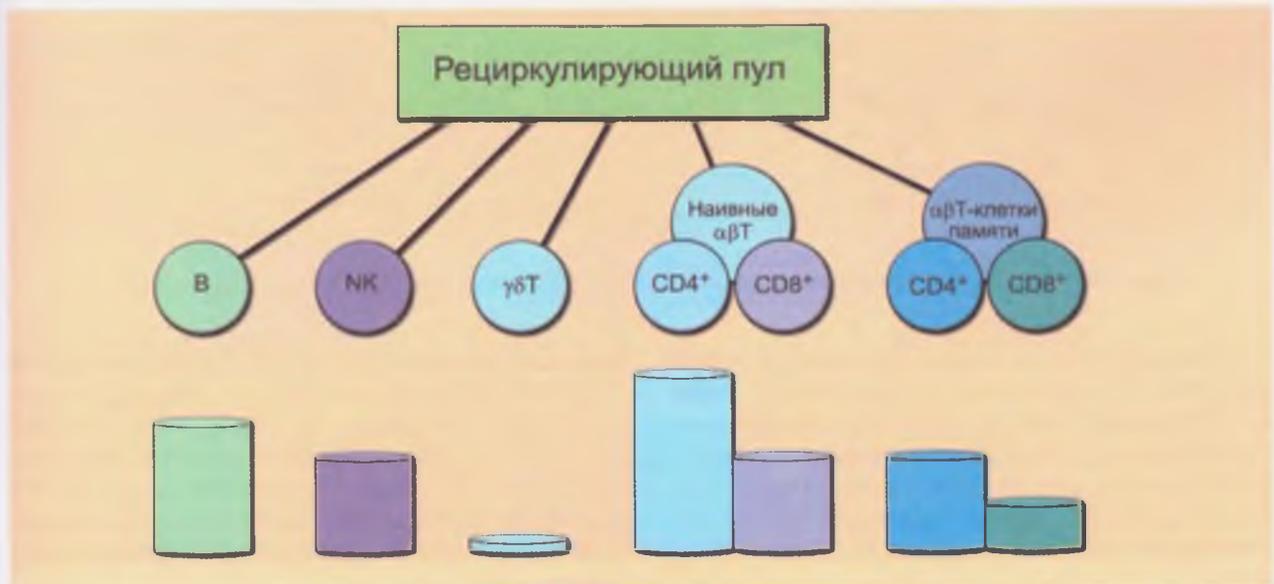


Рис. 279. Гомеостатическая регуляция основных разновидностей клеток лимфоидной ткани

Собственные ниши имеют и, следовательно, подчиняются автономному гомеостатическому контролю следующие популяции лимфоцитов: В-клетки, $\gamma\delta$ Т-клетки, наивные $\alpha\beta$ Т-клетки, $\alpha\beta$ Т-клетки памяти, NK-клетки. $CD4^+$ и $CD8^+$ субпопуляции $\alpha\beta$ Т-клеток обладают относительно авто-

номным гомеостатическим контролем: некоторые факторы гомеостаза являются общими для обеих субпопуляций, другие — специфичны для каждой из них. Особенности гомеостатической регуляции других субпопуляций $\alpha\beta$ Т-лимфоцитов, а также субпопуляций В-клеток пока не выяснены.

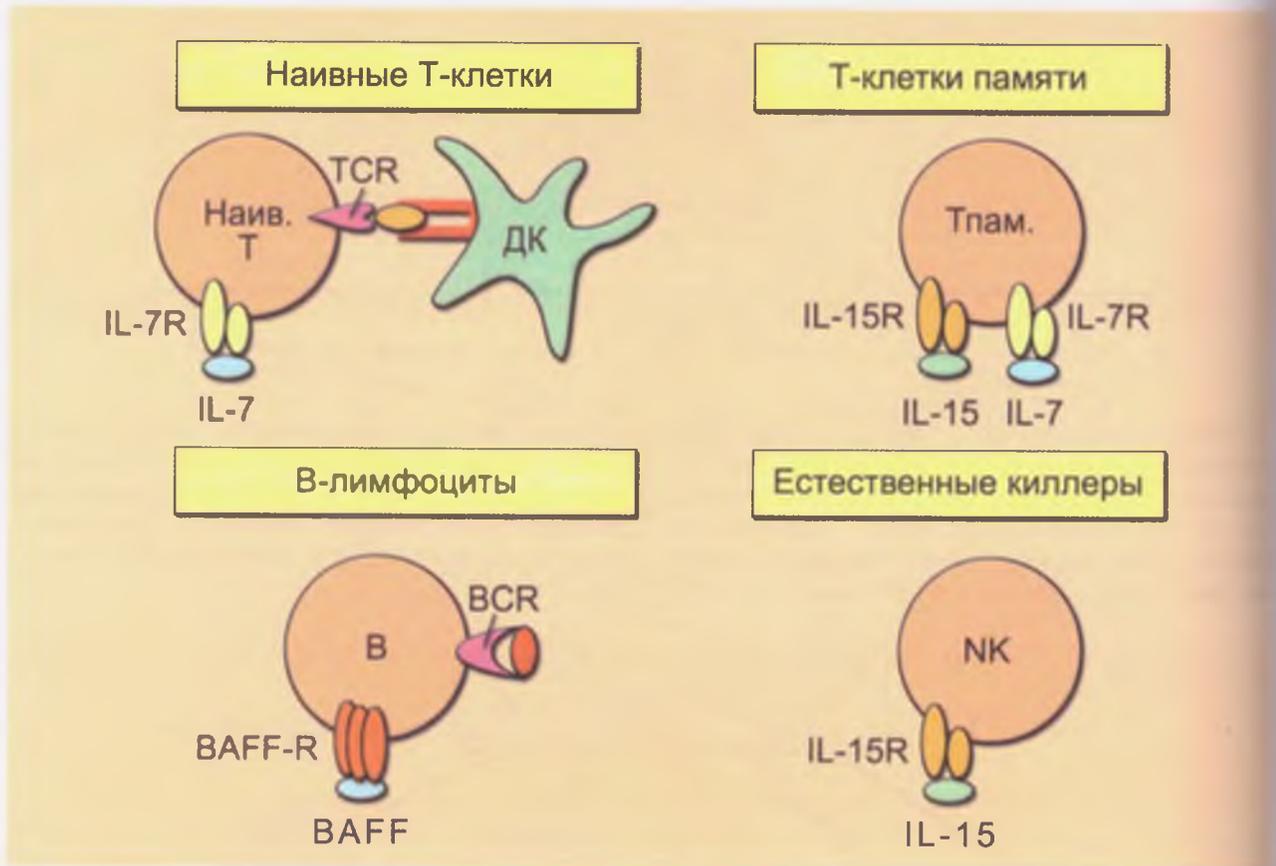


Рис. 280. Факторы, обуславливающие выживаемость и гомеостаз в популяциях Т-, В- и NK-клеток

Выживаемость и гомеостатический контроль различных типов лимфоцитов определяется разными факторами. Наиболее сложный комплекс факторов вовлечен в поддержание гомеостаза наивных Т-лимфоцитов. Он включает гуморальный фактор — IL-7 и контактное взаимодействие: распознавание аутологичного пептида в составе молекул МНС.

Для поддержания жизнеспособности В-клеток требуется воздействие гуморального фактора — цитокина BAFF и связывание BCR с неким (неиз-

вестным) лигандом. В случае Т-клеток памяти для сохранения жизнеспособности требуются только гуморальные факторы — IL-15 и IL-7 (см. рис. 39). Последний служит гомеостатическим фактором также для NK-клеток. Лимфоциты получают все перечисленные стимулы, необходимые для выживания, периодически, в период пребывания в своих нишах.

Условные обозначения: указаны рецепторы (обозначены буквой R) для гомеостатических цитокинов.

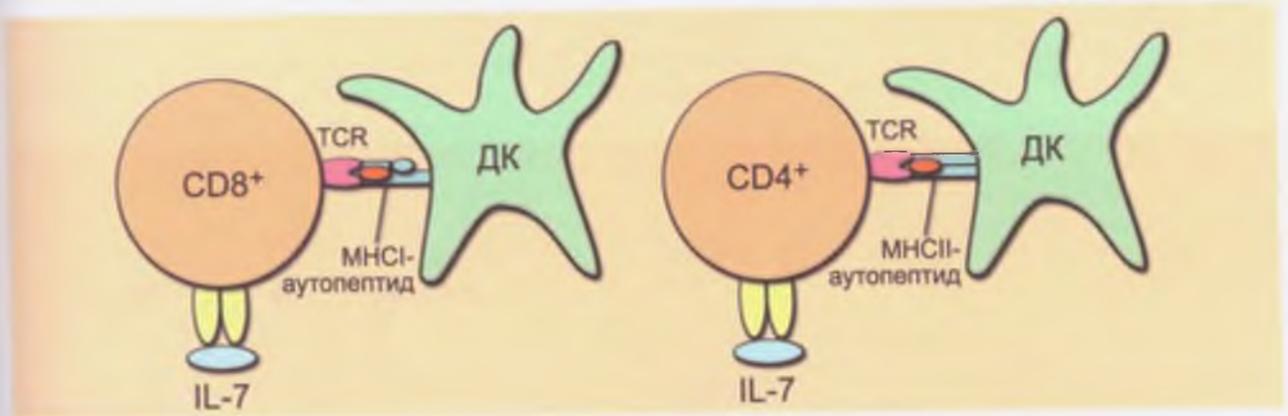


Рис. 281. Условия выживания $CD8^+$ и $CD4^+$ Т-клеток

Жизнеспособность Т-клеток поддерживается благодаря получению клетками двух сигналов. Один из них возникает при взаимодействии IL-7 с рецептором (IL-7R) на поверхности Т-клетки. Второй сигнал имеет контактную природу. Он генерируется в результате распознавания TCR аутологических пептидов в составе молекул MHC классов I (в случае $CD8^+$ Т-клеток) или II (в случае $CD4^+$

Т-клеток). Т-лимфоциты получают сигналы, поддерживающие их жизнеспособность, во время прохождения Т-зон вторичных лимфоидных органов в процессе рециркуляции. Отсутствие одного из сигналов приводит к апоптозу клеток. При дефиците IL-7 гибель Т-клеток происходит быстро, при дефиците контактных сигналов — в течение нескольких недель (для $CD4^+$ Т-клеток — до месяца).



Рис. 282. Реализация гомеостатического контроля численности Т-клеток через регуляцию выработки IL-7

Гомеостаз численности наивных Т-клеток обеспечивается участием IL-7, который секретируют стромальные клетки. Уровень его секреции регулируется по принципу обратной связи. При чрезмерном накоплении Т-клеток они индуцируют синтез

стромальными клетками TGFβ, который подавляет секрецию теми же клетками IL-7. Это приводит к гибели части Т-лимфоцитов. При снижении численности Т-клеток стимул к усилению выработки TGFβ устраняется и секреция IL-7 растворяется.

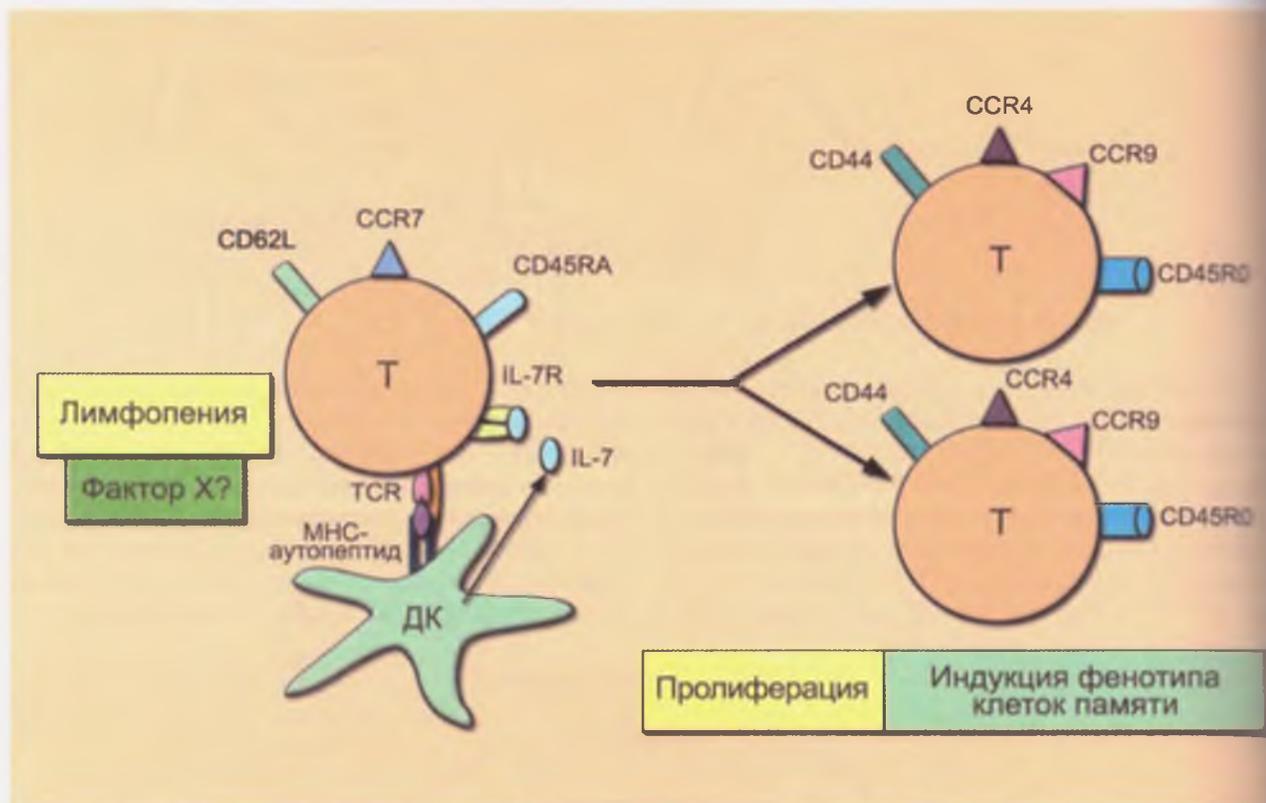


Рис. 283. Гомеостатическая пролиферация наивных Т-клеток сопряжена с приобретением фенотипа Т-клеток памяти

При снижении численности наивных Т-клеток (опустошение ниши) включается механизм гомеостатической пролиферации, направленный на восстановление числа клеток.

Гомеостатическая пролиферация запускается под влиянием тех же стимулов, которые обуславливают выживаемость наивных Т-клеток при их нормальном содержании, — связывания IL-7 с IL-7R и взаимодействия комплекса МНС-аутологичного пептида с TCR; не исключено участие дополнительного фактора, индуцируемого лимфопенией (на рисунке — фактор X). В процессе гомеостатической пролиферации происходит смена мембран-

ного фенотипа клеток — наивные Т-клетки приобретают фенотип эффекторных Т-клеток памяти, изменяется спектр молекул адгезии, хемокиновых рецепторов (см. рис. 272), изотип молекулы CD45 (вместо CD54RA экспрессируется молекула CD45R0). В отличие от клонспецифической индукции Т-клеток памяти при иммунном ответе, при гомеостатической пролиферации индукция фенотипа клеток памяти осуществляется поликлонально.

Условные обозначения: МНС-аутопептид — комплекс молекулы главного комплекса гистосовместимости и аутологичного пептида.

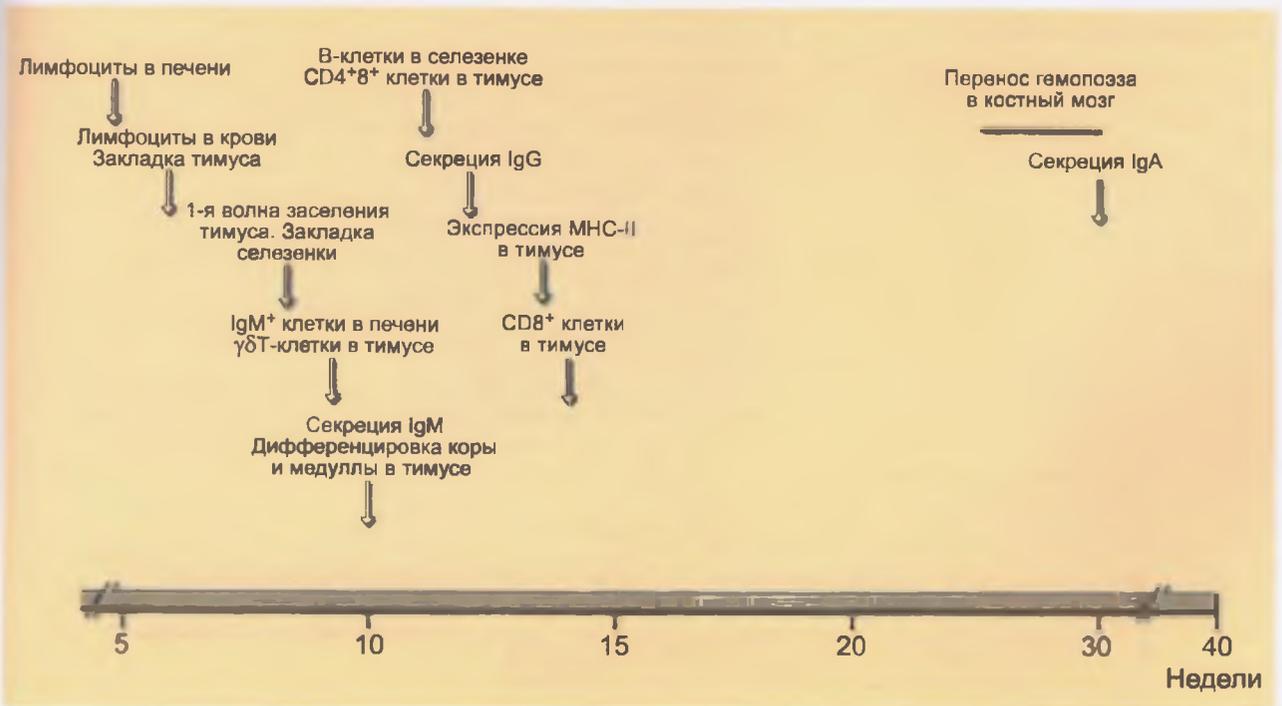


Рис. 284. Хронология развития лимфоидной системы человека в эмбриональном периоде

Показаны сроки проявления ряда ключевых событий в развитии иммунной системы в эмбриональном периоде у человека.

Все эти события укладываются в период между 5-й и 30-й (большая часть — между 5-й и 15-й) неделями развития.

2.3. ИММУННЫЙ ОТВЕТ

Выше были рассмотрены свойства и характеристики иммунной системы в покое, в отсутствие антигенной стимуляции. Однако система адаптивного иммунитета предназначена для реагирования на внедрение в организм чужеродных агентов. В отличие от врождённого иммунитета, реализуемого клетками, сформировавшимися в онтогенезе вне зави-

симости от агрессии патогенными микроорганизмами, адаптивный иммунитет формируется заново в ответ на каждую конкретную агрессию. При этой реакции вовлекаются практически только те клетки лимфоцитов, которые распознают поступившие в организм чужеродные АГ. Эта специфическая адресная реакция называется иммунным ответом.

2.3.1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ



Рис. 285. Основные события иммунного ответа

Вне зависимости от формы иммунного ответа его традиционно разделяют на индуктивную и эффекторную (продуктивную) фазы. В индуктивную фазу происходит представление АГ, т.е. передача информации об антигене от клеток врождённого иммунитета (антигенпрезентирующих клеток) инициаторам адаптивного иммунитета — Т-хелперам. Затем выбирается путь дальнейшего развития иммунного ответа по клеточному или гуморальному пути — через индукцию дифференцировки разновидностей Т-хелперов (Th1, Th2, Th17 и т.д.). Наконец, при участии этих Т-хелперов происходит

дифференцировка эффекторных иммуноцитов и параллельно — клеток памяти. Эффекторная фаза иммунного ответа состоит в реализации активности образовавшихся эффекторных клеток в форме клеточной или гуморальной иммунной защиты организма. Затем, благодаря включению регуляторных механизмов, иммунные реакции ограничиваются и прекращаются. Реализация активности клеток памяти осуществляется лишь при последующей встрече с АГ — при вторичном иммунном ответе, который протекает в принципе так же, как первичный, но развёртывается быстрее и реализуется эффективнее.

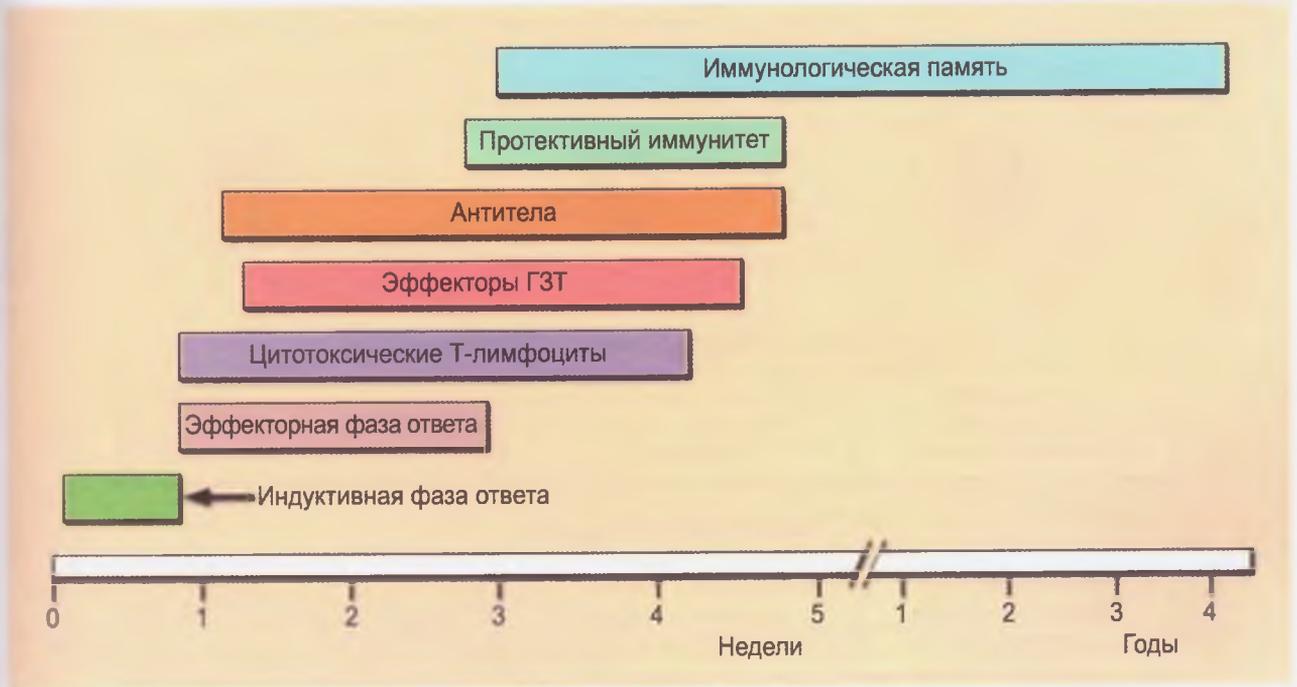


Рис. 286. Временная динамика проявлений адаптивной иммунной защиты при инфекции

Представлена временная динамика иммунного ответа в различных проявлениях и с разными последствиями. Индуктивная фаза ответа реализуется в первую неделю после поступления в организм АГ. Начиная с 5-х сут формируется эффекторная фаза ответа, которая продолжается около 2 нед. Образовавшиеся в этот период антитела и эффекторные клетки присутствуют в организме в количестве, достаточном для осуществления защиты, в течение 1,5–2 нед после завершения эффекторной стадии. Этот период соответствует фазе протективного им-

мунитета, который представляет собой не столько процесс, сколько состояние: благодаря наличию эффекторных факторов, выработанных ранее, организм устойчив к инфицированию данным патогеном. Становление иммунологической памяти завершается в эти же сроки (через 15–20 сут после поступления АГ) благодаря дифференцировке клеток памяти.

Наличие иммунологической памяти означает готовность к более эффективному ответу на повторное поступление патогена.

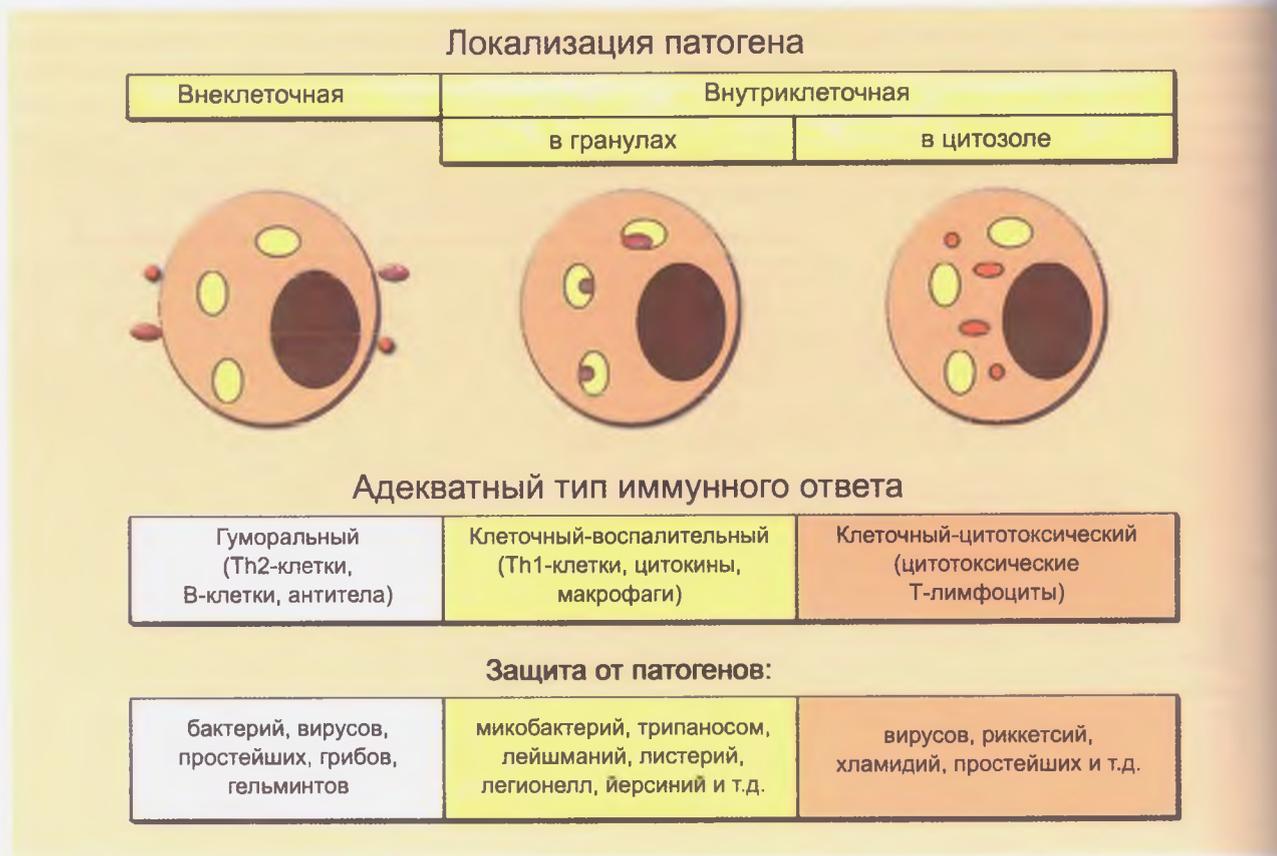


Рис. 287. Связь форм иммунной защиты с локализацией патогена

Различают три основных типа локализации патогена — внеклеточная и два варианта внутриклеточной: в цитозоле (цитоплазматическая) и в гранулах (эндосомальная).

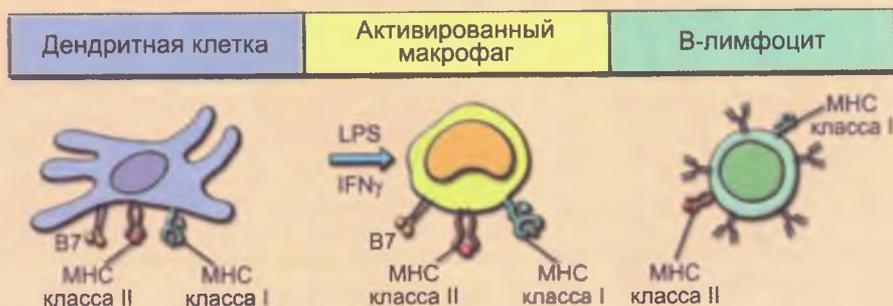
Расположение патогена определяет три типа иммунного ответа, направленные на формирование эффекторных механизмов, способных обеспечить защиту от комплексов указанной локализации. Внеклеточные соединения могут быть инактивированы и подготовлены антителами к приложению иных механизмов (фагоцитоз, действие комплемента и т.д.); адекватной формой им-

мунного ответа против таких патогенов является гуморальный иммунный ответ. Патогены, обитающие в гранулах (вследствие неэффективного фагоцитоза), могут быть убиты при условии активизации фагоцитирующих клеток, что достигается при развитии воспалительной формы клеточного иммунного ответа, доминирующей при данном типе инфекции. Наконец, патогены, локализующиеся в цитозоле, могут быть уничтожены лишь вместе с инфицированной клеткой; адекватной формой ответа против этих патогенов является цитотоксический клеточный ответ.

2.3.2. АНТИГЕНПРЕЗЕНТИРУЮЩИЕ КЛЕТКИ И ИХ МОБИЛИЗАЦИЯ ПРИ ИММУННОМ ОТВЕТЕ

Исходным событием, включающим иммунный ответ, является представление (презентация) антигенных эпитопов клетками врождённого иммунитета (антигенпрезентирующими клетками) Т-лим-

фоцитам, представляющим адаптивный иммунитет. В этом акте отражается первичность реакции врождённого иммунитета и её обязательность для включения иммунного ответа.



Захват антигена	Пиноцитоз. Реже фагоцитоз	Фагоцитоз	Рецепторзависимый пиноцитоз
Экспрессия МНС-II	Спонтанная	Индукцированная	Спонтанная
Экспрессия В7 (CD80, CD86)	Спонтанная	Индукцированная	Индукцированная
Активация Т-клеток	Наивных, эффекторных и клеток памяти	Эффекторных и клеток памяти	Эффекторных и клеток памяти

Рис. 288. Антигенпрезентирующие клетки

Существует три типа «профессиональных» антигенпрезентирующих клеток — ДК, активированные МФ и В-лимфоциты. Они отличаются способами поглощения АГ (фагоцитоз или пиноцитоз, в том числе осуществляющийся с участием антигенраспознающих рецепторов), особенностями экспрессии молекул МНС класса II и костимулирующих

молекул (спонтанная или индуцированная), а также способностью активировать наивные Т-лимфоциты (присуща только ДК).

Условные обозначения: МНС — молекулы главного комплекса гистосовместимости; В7 — костимулирующие молекулы — CD80 и CD86; $IFN\gamma$ — интерферон γ ; LPS — бактериальный липополисахарид.

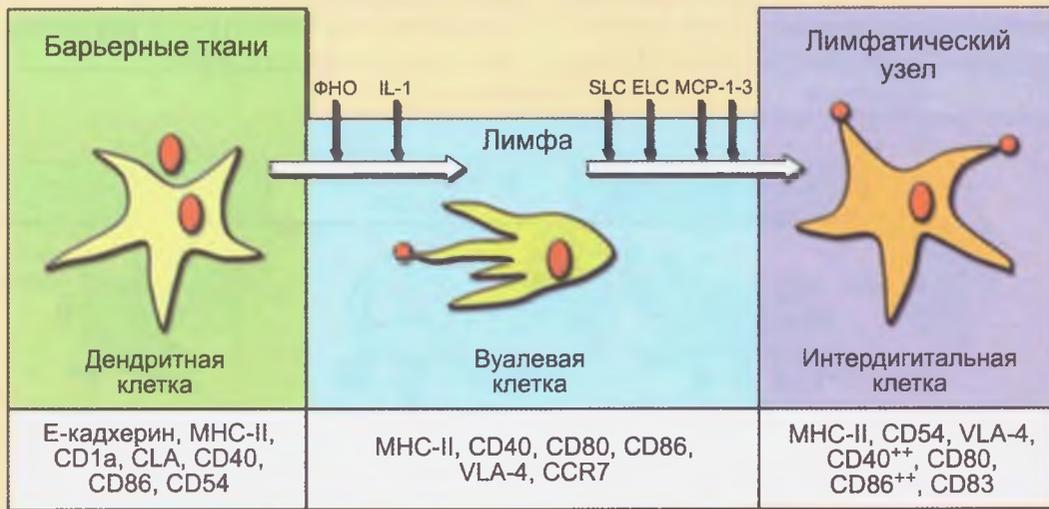


Рис. 289. Миграция дендритных клеток из барьерных тканей в лимфатические узлы и их созревание

Взаимодействуя с патогенами — носителями АГ в барьерных тканях, дендритные клетки поглощают их (с помощью различных форм эндоцитоза) и под влиянием провоспалительных цитокинов перемещаются в тканевую жидкость, а затем — в лимфу, в которой они приобретают характерную форму вуалевых клеток. Одновременно изменяется мембранный фенотип этих клеток: усиливается экспрессия молекул MHC-II, костимулирующих молекул, появляются β 1-интегрины и хемокиновый рецептор CCR7. В это время осуществляется процессинг АГ и экспрессия его пептидов на поверхности клетки в составе молекул MHC (отражено в виде красных кружков на поверхности дендритной клетки). Попав с лимфой в лимфатические узлы, ДК поступают в Т-зоны, стромальные клетки которых вырабатывают хемокины CCL19 и CCL21, распознаваемые рецептором CCR7 (см. рис. 270). Проникновению в лимфатический узел способствуют также вырабатываемые здесь воспалитель-

ные хемокины CCL2, 7,8 (MCP 1, 2 и 3). В Т-зоне лимфатических узлов созревшие ДК (признак созревания — экспрессия молекул CD83) сами начинают синтезировать CCL19- и CCL21-хемокины, распознаваемые CCR7-рецептором Т-клеток. Это служит предпосылкой сближения ДК с Т-лимфоцитами, обязательного для формирования иммунного синапса (см. рис. 294–295), который, в свою очередь, является условием осуществления представления АГ с участием молекул MHC-II и костимулирующих молекул CD80 и CD86.

Условные обозначения: VLA-4 (*Very late antigen-4*) — α 4 β 1-интегрин; ФНО — фактор некроза опухоли; MHC-II (*Major histocompatibility complex II*) — молекулы главного комплекса гистосовместимости класса II; CCL2, CCL7, CCL8, CCL19, CCL21 — β -хемокины; CCR7 — рецептор для CCL19 и CCL21; CLA (*Cutaneous lymphocyte antigen*) — антиген кожных Т-лимфоцитов.

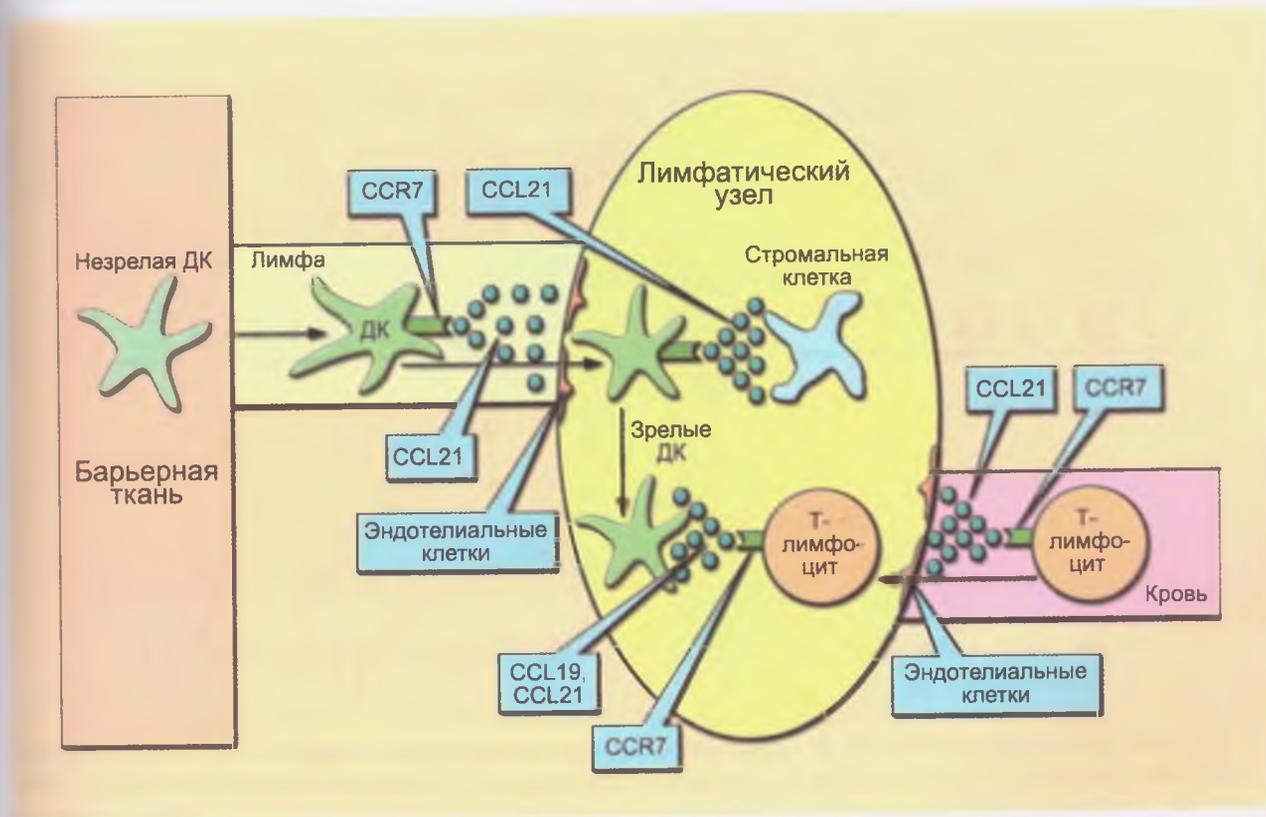


Рис. 290. Миграция дендритных клеток и Т-лимфоцитов в Т-зоны лимфатического узла

Миграция ДК и Т-лимфоцитов определяется наличием на их поверхности рецепторов, распознающих хемокины, продуцируемые в определённых участках иммунной системы. При созревании происходит смена этих рецепторов, имеющая для указанных типов клеток противоположную направленность. Так, ДК, локализующиеся в барьерных тканях, экспрессируют рецептор CCR7 для хемокинов CCL19 (ELC) и CCR21 (SLC). Хемокин CCL21 вырабатывается клетками высокого эндотелия посткапиллярных венул вторичных лимфоидных органов (прежде всего лимфатических узлов). Оба хемокина продуцируются стромальными клетками Т-зон лимфоидных органов. Оказавшись в Т-зоне лимфоидных органов, ДК превращаются в интердигитальные клетки,

которые не экспрессируют рецептор CCR7, но сами вырабатывают хемокины CCL21 и CCL19. Помимо незрелых ДК указанные хемокины привлекают наивные Т-лимфоциты, которые также экспрессируют CCR7. Это определяет их способность заселять Т-зоны лимфоидных органов и возвращаться в них в процессе рециркуляции. После представления АГ дендритными клетками Т-лимфоциты активируются и дифференцируются в эффекторные клетки или Т-клетки памяти. Эти процессы сопровождаются сменой спектра хемокиновых рецепторов и утратой Т-клетками способности мигрировать в Т-зоны лимфатических узлов и других вторичных лимфоидных органов (см. рис. 272).

Условные обозначения: см. рис. 263.

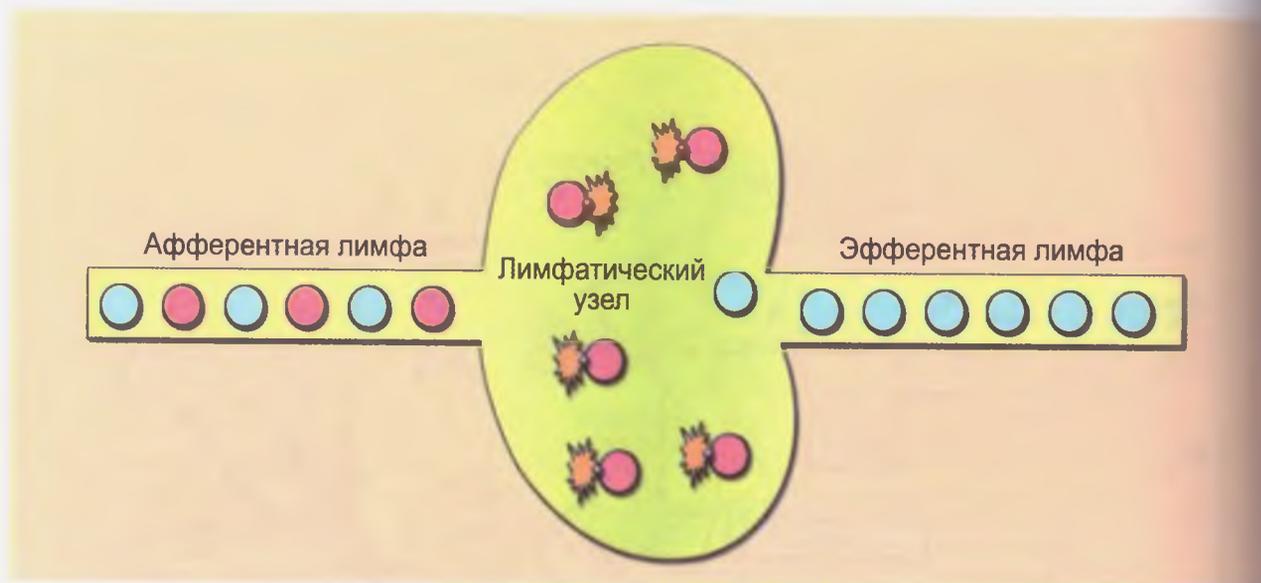


Рис. 291. Улавливание специфических клонов Т-лимфоцитов в региональном лимфатическом узле

Условием формирования иммунного ответа является специфичность Т-лимфоцитов по отношению к АГ, проявляющаяся на клональном уровне. Накопление Т-клеток в региональном лимфатическом узле осуществляется с помощью специального механизма. С афферентной лимфой в лимфатический узел попадают лимфоциты, имеющие различную клональную принадлежность, т.е. несущие TCR, специфичные к разным антигенным пептидам. В Т-зонах лимфатических узлов Т-лимфоциты вступают в адгезивные взаимодействия с дендритными клетками. Однако устойчивый комплекс

(иммунный синапс) формируется лишь при условии, что Т-клетка распознаёт антигенные пептиды, которые экспрессирует дендритная клетка в составе молекул МНС. Т-клетки, образующие синапс с дендритной клеткой, задерживаются в лимфатическом узле и не поступают в эфферентную лимфу, которая, таким образом, отличается по клональному составу Т-лимфоцитов от афферентной. В ней отсутствуют те клоны Т-клеток, которые распознали антиген и остались в лимфатическом узле. Этот процесс называется улавливанием (рекрутацией) клонов Т-лимфоцитов.

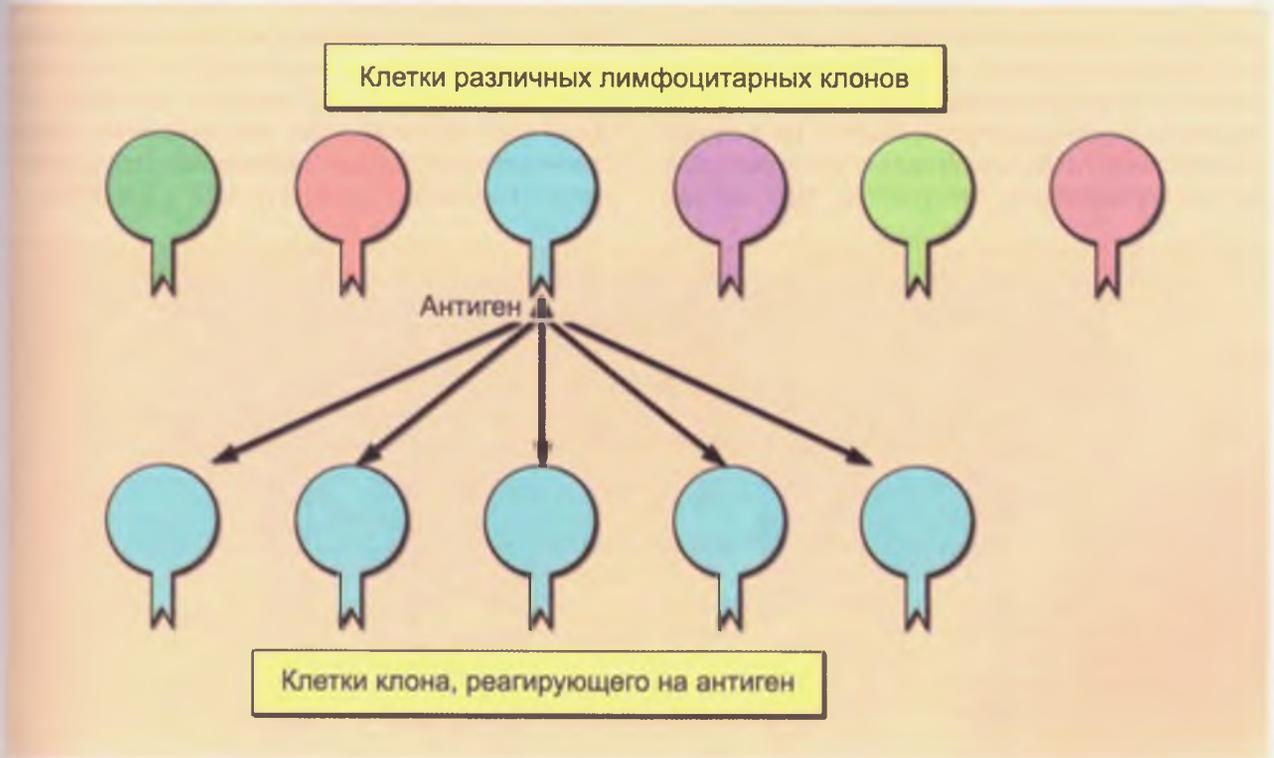


Рис. 292. Клональный характер ответа лимфоцитов на антиген

С момента взаимодействия Т-лимфоцитов с дендритными клетками иммунные процессы приобретают клональный характер: с этого события начинается собственно иммунный ответ. Среди многочисленных клонов Т-лимфоцитов в реакцию

вовлекается ограниченное их число (на рисунке — один), клетки которых распознают антиген, презентруемый дендритными клетками, активируются и подвергаются пролиферативной экспансии.

2.3.3. ПРЕДСТАВЛЕНИЕ АНТИГЕНА И КОСТИМУЛЯЦИЯ

Покоящиеся лимфоциты не способны эффективно отреагировать на чужеродные антигенные субстанции. Для индукции активации и последующей дифференцировки в эффекторные клетки им требуется предварительная обработка АГ и дополнительные стимулы (костимуляция). То и другое обеспечивают АПК, как правило, относящиеся к клеткам врождённого иммунитета. При первом

контакте с АГ роль АПК могут выполнять только наиболее эффективные из них — ДК. Инструменты презентации служат молекулы главного комплекса гистосовместимости, в состав которых включаются в виде структурной субъединицы фрагмент АГ (Т-эпитоп). Костимуляция осуществляется путём взаимодействия специализированных (костимулирующих) молекул поверхности АПК и Т-клетки.

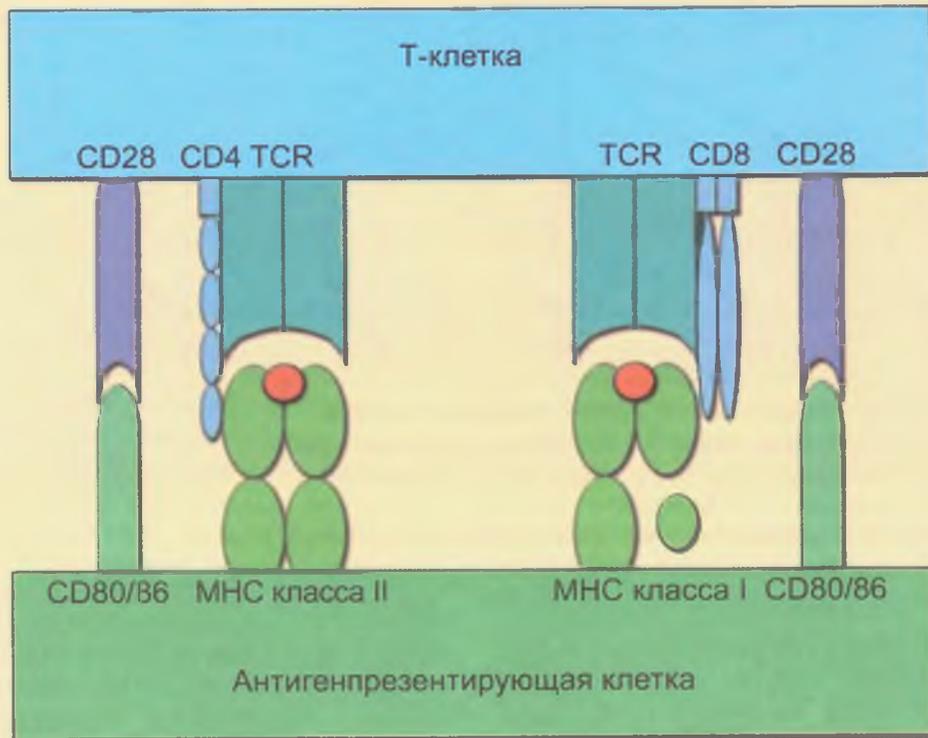


Рис. 293. Схема представления антигена

АПК содержит в составе молекул MHC классов I и II пептидный фрагмент АГ (окрашен красным цветом). Пептид вместе с прилежащим участком молекул MHC распознаётся TCR с участием корцептора CD4 в случае представления антигенного пептида в составе молекул MHC класса II или с участием корцептора CD8 при представлении в составе молекул MHC класса I. Одновременно про-

исходит взаимодействие костимулирующих молекул — CD28 со стороны Т-клетки и B7 (CD80 и CD86) со стороны антигенпрезентирующей клетки. Комплекс костимулирующих молекул делает возможным распознавание Т-клеткой АГ: в его отсутствие Т-клетка вместо активации и дифференцировки в эффекторную клетку переходит в состояние анергии.



Рис. 294. Схема формирования иммунологического синапса

Условием успешного представления АГ является формирование иммунологического синапса — специализированной формы межклеточного взаимодействия, в котором участвуют молекулы адгезии, антигенраспознающие рецепторы, костимулирующие и другие молекулы. На рисунке прослежены фазы формирования синапса с использованием меченых молекул $\beta 2$ -интегрина LFA-1 (на рисунке окрашен синим) и комплекса TCR-CD3 (на рисунке — красный). Исходное диффузное распределение молекул на поверхности Т-клетки при контакте с АПК сменяется формированием скопления на-

званных молекул в виде пятна, в центре которого вначале локализуется LFA-1, а на периферии — TCR-CD3. В случае наличия сродства TCR к АГ происходит созревание синапса, что выражается в перемещении комплексов TCR-CD3 в его центр, а LFA-1 — на его периферию. На основе визуального подобия такое состояние обозначается как «бычий глаз». Иммунный синапс обозначается так же, как надмолекулярный активационный комплекс (SMAC, *Supramolecular activation complex*), с выделением его центрального (cSMAC) и периферического (pSMAC) отделов.

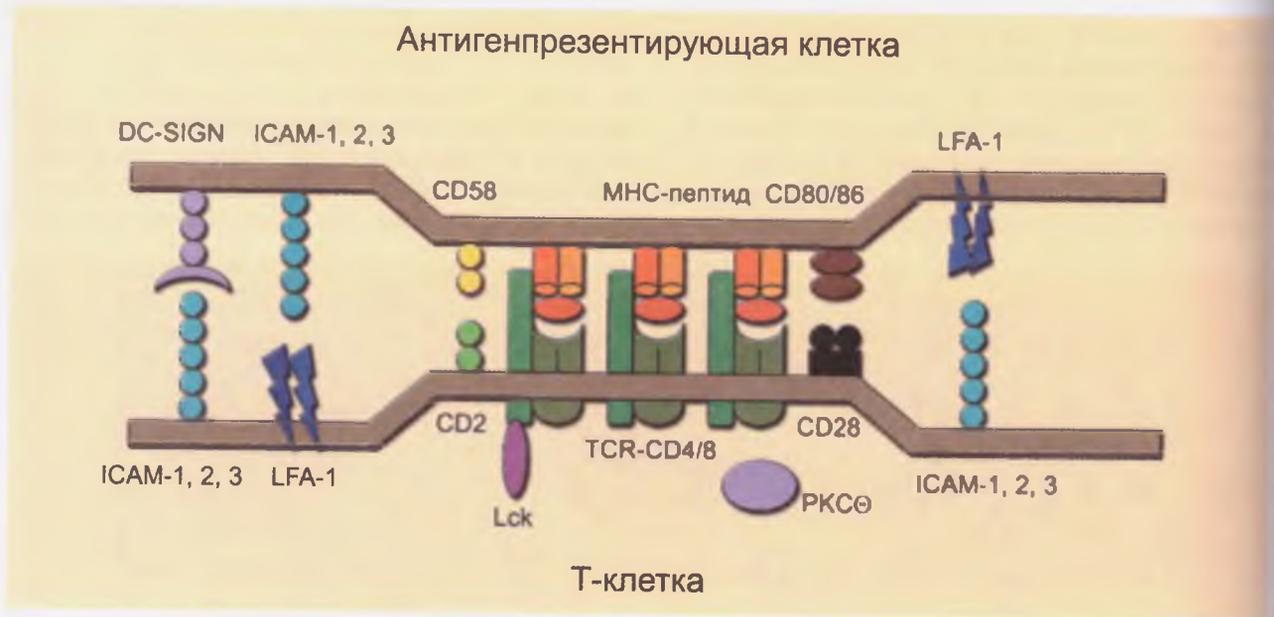


Рис. 295. Структура иммунного синапса

В формировании иммунологического синапса (SMAC) участвует большое число мембранных молекул Т-лимфоцитов и антигенпрезентирующих клеток. Начальные фазы формирования синапса происходят с участием молекул адгезии, взаимодействующих попарно: LFA-1 — ICAM и ICAM — LFA-1, а также ICAM — DC-SIGN и CD2 — CD58 (первой в каждой паре указана молекула Т-клетки, второй — антигенпрезентирующей клетки). Молекулы интегринов и их рецепторов по длине превосходят остальные молекулы, участвующие в формировании синапса, поэтому их перемещение на периферию синапса создаёт условия для обеспечения контакта между остальными парами молекул. В центре синапса находятся основные распознающие молекулы — пара молекулярных комплексов TCR-CD3 — MHC-пептид. Эти молекулы мигрируют в данный участок мембраны со всей клеточной поверхности. В распознавание комплекса

пептид-MHC вовлекаются также корецепторы (в случае Т-хелперов — CD4), контактирующие с соответствующим типом молекул MHC. Наконец, в центральной части синапса оказываются также пары костимулирующих молекул: CD28 — CD80/CD86, а также CD154 — CD40 (последние на схеме не показаны). В цитоплазме в синапс мобилизуются несколько ферментов, участвующих в запуске процесса активации. Прежде всего это тирозинкиназа Lck и изоформа θ серин/треониновой протеинкиназы С. Миграция последней в синапс рассматривается как признак его созревания.

Условные обозначения: SMAC — *Supramolecular activation complex*; PKC θ — протеинкиназа С, изоформа θ ; Lck — тирозинкиназа, связанная с корецепторами CD4 и CD8; ICAM-1 (*Intercellular adhesion molecule 1*); DC-SIGN (*Dendritic cell-specific ICAM-3 grabbing nonintegrin*) — молекулы адгезии.

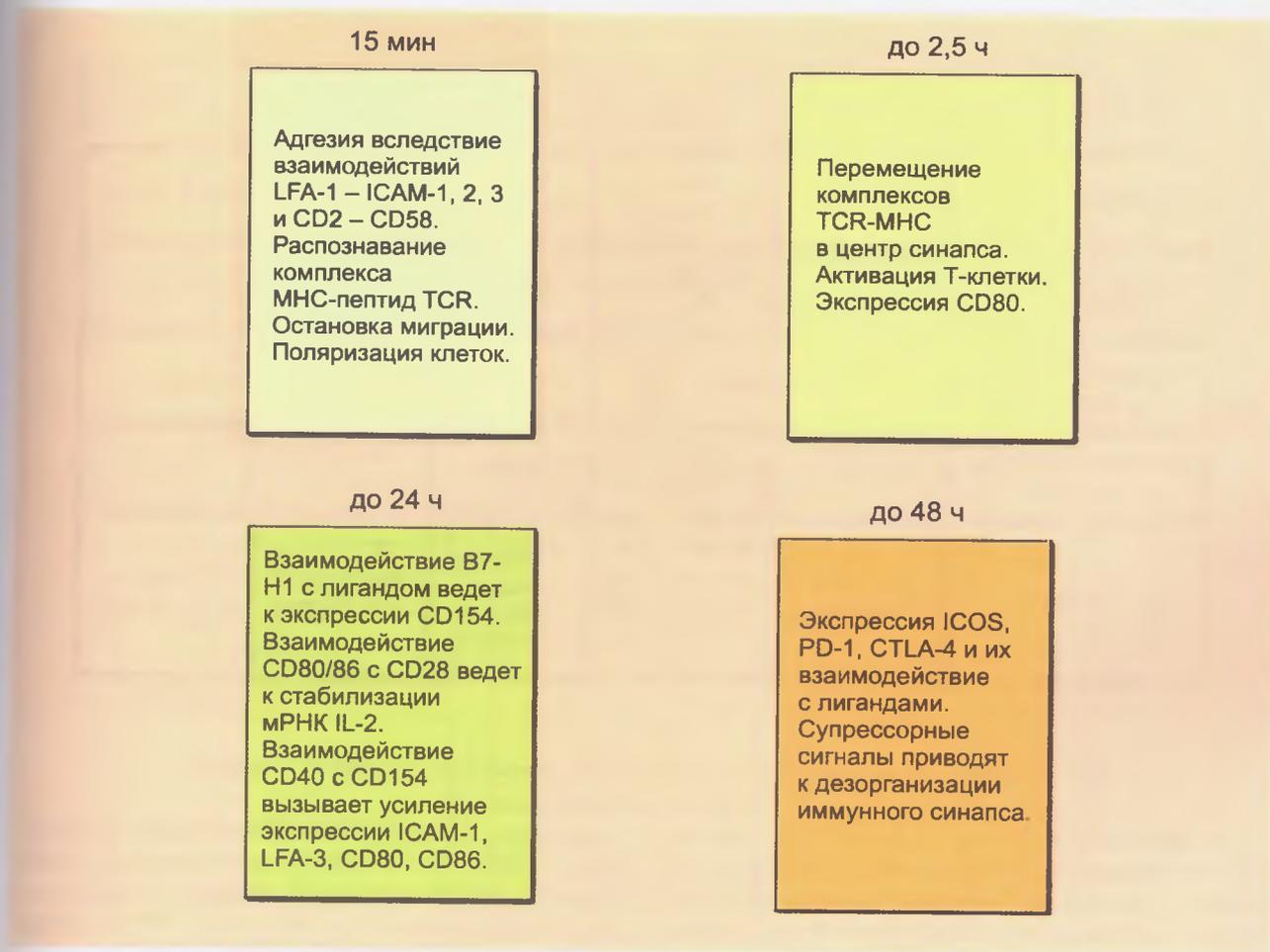


Рис. 296. Этапы формирования и функционирования иммунного синапса

События основных этапов формирования иммунологического синапса, а также их продолжительность. Условные обозначения: см. рис. 269, 270; ICOS (*Inducible costimulatory molecule*), PD-1

(*Programmed death receptor 1*); CTLA-4 (*Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4*) — члены семейства костимулирующих молекул.

Характеристика	CD28	CTLA-4 (CD152)	ICOS	PD-1	ВТLА
Локализация	Т-клетки	Treg, Такт-клетки	Такт-, NK-клетки	Т-, В-клетки, макрофаги, Treg	В-, Т-клетки
Лиганды	B7 (CD80, CD86)	B7 (CD80, CD86)	ICOSL	PD-L1, PD-L2	?
Связывающий мотив	MYPPPPY		FDPPPF	Не установлен	
Сигнальные мотивы и киназы	PI3K, PP2A	SHP2, PI3K, PP2A	PI3K	ITIM, SHP1, SHP2	ITIM
Эффект	Костимуляция	Ингибирующий эффект, эффекторная молекула Treg	Костимуляция, особенно Th2-клеток	Ингибирующий эффект	Ингибирующий эффект

Рис. 297. Костимулирующие молекулы-рецепторы лимфоидных клеток

Особенности строения, локализации и функций костимулирующих молекул лимфоцитов, т.е. молекул, которые воспринимают сигнал от костимулирующих лигандов и способствуют реализации активационного сигнала. Костимулирующие молекулы экспрессируются на покоящихся (CD28, PD-1, ВТLА) или активированных (CTLA-4, ICOS) лимфоцитах и, в зависимости от природы вовлекаемых ферментов (киназы или фосфатазы), подразделяются на активирующие (CD28, ICOS) и ингибирующие (CTLA-4, PD-1, ВТLА). Эти особенности определяют их роль на разных этапах иммунного ответа.

Условные обозначения: см. рис. 296; ВТLА (*B- and T-lymphocyte attenuator*) — аналог костиму-

лирующих молекул с ингибирующей активностью; SHP1, SHP2 (*SH2-domain containing protein tyrosine phosphatase*) — фосфатазы, связанные с костимулирующими молекулами; PI3K (*Phosphatidylinositol 3-kinase*); PP2A (*Protein phosphatase 2A*) — киназы, связанные с костимулирующими молекулами; ITIM (*Immunoreceptor tyrosin-based inhibitory motif*) — ингибиторный мотив, связанный с иммунорецепторами и содержащий тирозин; Treg — регуляторные Т-клетки, Такт — активированные Т-клетки. Буква L в сокращениях означает «лиганд». Буквы в строке «Связывающий мотив» — последовательность аминокислот, ответственная за ответ на костимуляцию, в однобуквенном коде.

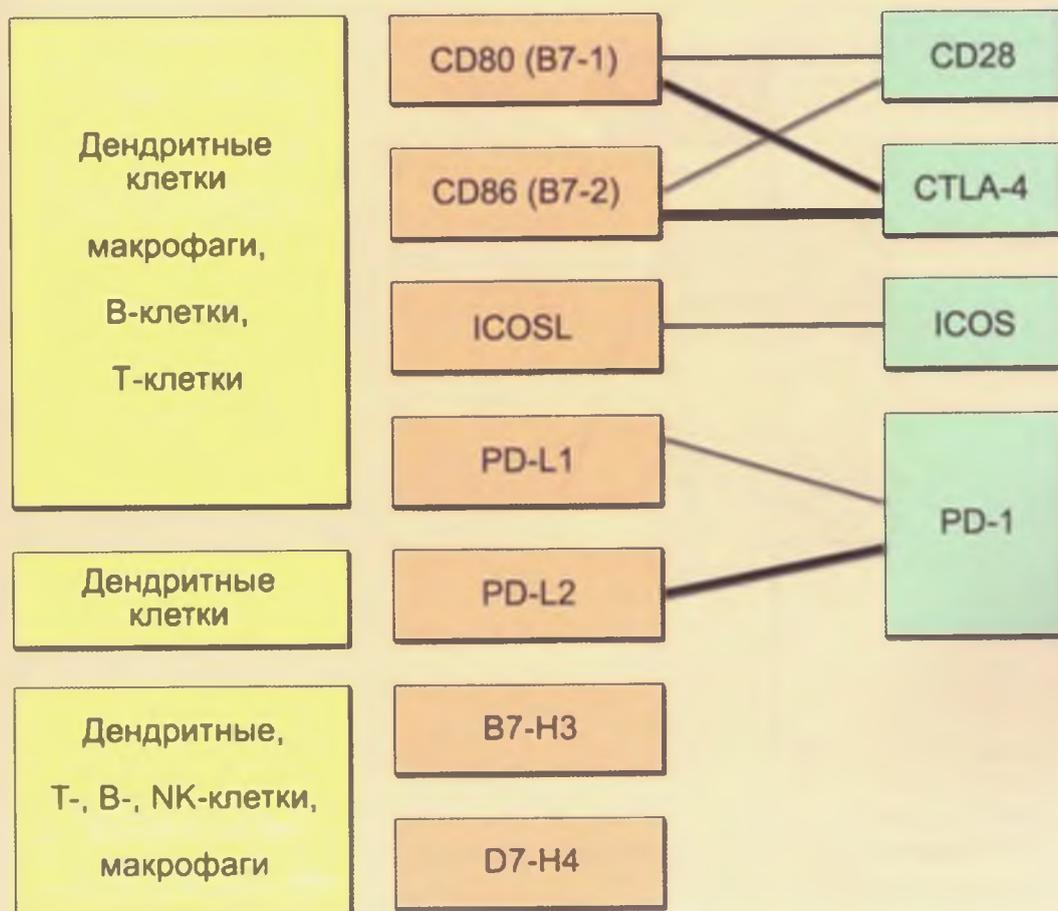


Рис. 298. Костимулирующие молекулы-лиганды семейства В7, их локализация и рецепторы, с которыми они взаимодействуют

Экспрессия на АПК костимулирующих молекул, являющихся лигандами для костимулирующих рецепторов лимфоцитов. Указаны попарные взаимодействия лигандов и рецепторов костимулирующих

взаимодействий. Для лигандов В7-Н3 и В7-Н4 рецепторы не установлены. Толщина линий отражает степень сродства между рецепторами и лигандами.

Условные обозначения: см. рис. 296, 297.

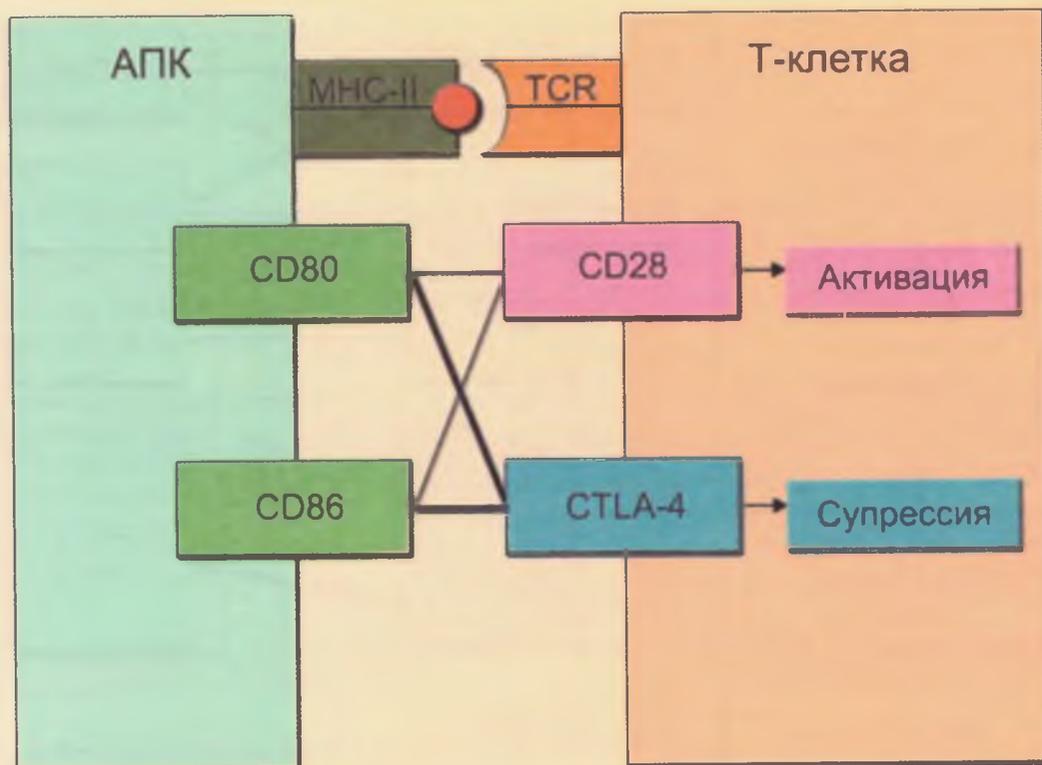


Рис. 299. Функциональные последствия передачи костимулирующего сигнала через разные молекулы

Два костимулирующих лиганда АПК (CD80 и CD86) взаимодействуют с двумя костимулирующими рецепторами Т-клеток (CD28 и CTLA-4) с разной степенью сродства (отражено толщиной линий, соединяющих обозначения молекул). Передача сигнала через рецептор CD28 играет ключевую роль в запуске активации Т-клеток, тогда как передача сигнала через рецептор CTLA-4 (CD152) подавляет

активацию и играет роль в сдерживании иммунных процессов в период завершения иммунного ответа. Наличие рецептора CD28 на покоем Т-клетках (в том числе наивных) и экспрессия рецептора CTLA-4 на активированных Т-клетках определяют последовательность проявления функции этих клеток (сначала активация, затем супрессия).

2.3.4. АКТИВАЦИЯ ЛИМФОЦИТОВ

Под активацией лимфоцитов понимается их переход из состояния покоя в клеточный цикл (что служит условием клональной экспансии, обязательной предпосылки их дальнейшей дифференцировки в эффекторные клетки). Антигенный эпитоп, представляемый молекулой МНС, а также костимулирующий сигнал воспринимаются мембранными структурами Т-лимфоцита (TCR и костимулирующей молекулой-рецептором), что порождает активи-

рующую сигнализацию. Она реализуется в виде каскадной активации ферментов (киназ) с участием адапторных белков. Обычно в клетке включается несколько сигнальных путей, каждый из которых завершается формированием транскрипционного фактора. Связывание адекватного комплекса транскрипционных факторов с промоторным участком генов обуславливает их экспрессию, что и является проявлением активации клетки.

<p>ITAM (Immunoreceptor tyrosine-based activation motif) Y-XX-I/L-X(6-12)-Y-XX-I/L</p> <p>Фосфорилируется по тирозину (Y) Src-киназами (Lck, Fyn, Lyn, Blk)</p> <p>Рекрутирует Src-киназы (ZAP-70, Syk)</p> <p>Локализуются во внутриклеточной части полипептидных цепей TCR (γ, δ, ϵ, ζ), BCR (Igα, Igβ), FcR и т.д.</p> <p>Обуславливает способность иммунорецептора включать активацию клетки</p>	<p>ITIM (Immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif) I/V/L/S-X-Y-XX-L</p> <p>Фосфорилируется по тирозину (Y) Src-киназами (Lck, Fyn, Lyn, Blk)</p> <p>Рекрутирует фосфатазы SHP1, SHP2, SHIP</p> <p>Локализуются во внутриклеточной части молекул KIR, CD94/NKG2A, FcγRIIB, CD22, CD72 и т.д.</p> <p>Обуславливает способность иммунорецептора подавлять активацию клетки</p>
---	--

Рис. 300. Сопоставление характеристик активационных и ингибирующих мотивов (ITAM и ITIM)

Способность мембранных молекул передавать активационные или ингибирующие сигналы в значительной степени зависит от присутствия в их цитоплазматической части специальных тирозинсодержащих мотивов. При фосфорилировании остатков тирозина эти мотивы приобретают способность привлекать (рекрутировать) ферменты сигнальных путей. ITAM использует тирозинкиназы, что обуславливает включение активационных сигналов, а ITIM привлекает фосфатазы, и это обеспечивает включение ингибирующих сигналов.

Условные обозначения: ITAM и ITIM — соответственно активирующий и ингибирующий мотивы, связанные с иммунорецепторами и содержащие тирозин; KIR (*Killer cell immunoglobulin-like receptor*) — группа рецепторов NK-клеток; FcR — рецептор для Fc-части молекул иммуноглобулинов; ZAP-70 (*ζ -associated protein p70*) — тирозинкиназа семейства Syk. Обозначения других киназ не несут смысловой нагрузки. Знак / (косая) в формулах мотивов означает «или».

Общая формула: YXXI/LX(6-12)YXXI/L		Примеры: В CD3-цепи – YQPLRDRDDAQYSHL В Ig-цепи BCR – YEGLNLDDCSMYEDI В FcR-цепи – YTGLSTRVQETYETL
Некоторые иммунорецепторы, содержащие ITAM	Полипептидная цепь, несущая ITAM	Функция, реализуемая с участием ITAM
TCR BCR NKG2D NKp46 FcγRI FcγRIIA FcγRIIIA FcεRI Интегрины	CD3 γ, δ, ε, ζ IgA, IgB DAP12 CD3ζ FcRγ FcγRIIA FcR γ, ζ FcRγ, FcεRβ DAP12, FcRγ	Активация Т-клеток Активация В-клеток Активация NK-клеток Активация NK-клеток Активация фагоцитов Активация фагоцитов и т.д. Дегрануляция Дегрануляция Адгезия

Рис. 301. Характеристика ITAM, его связи с рецепторами и участия в активации клеток

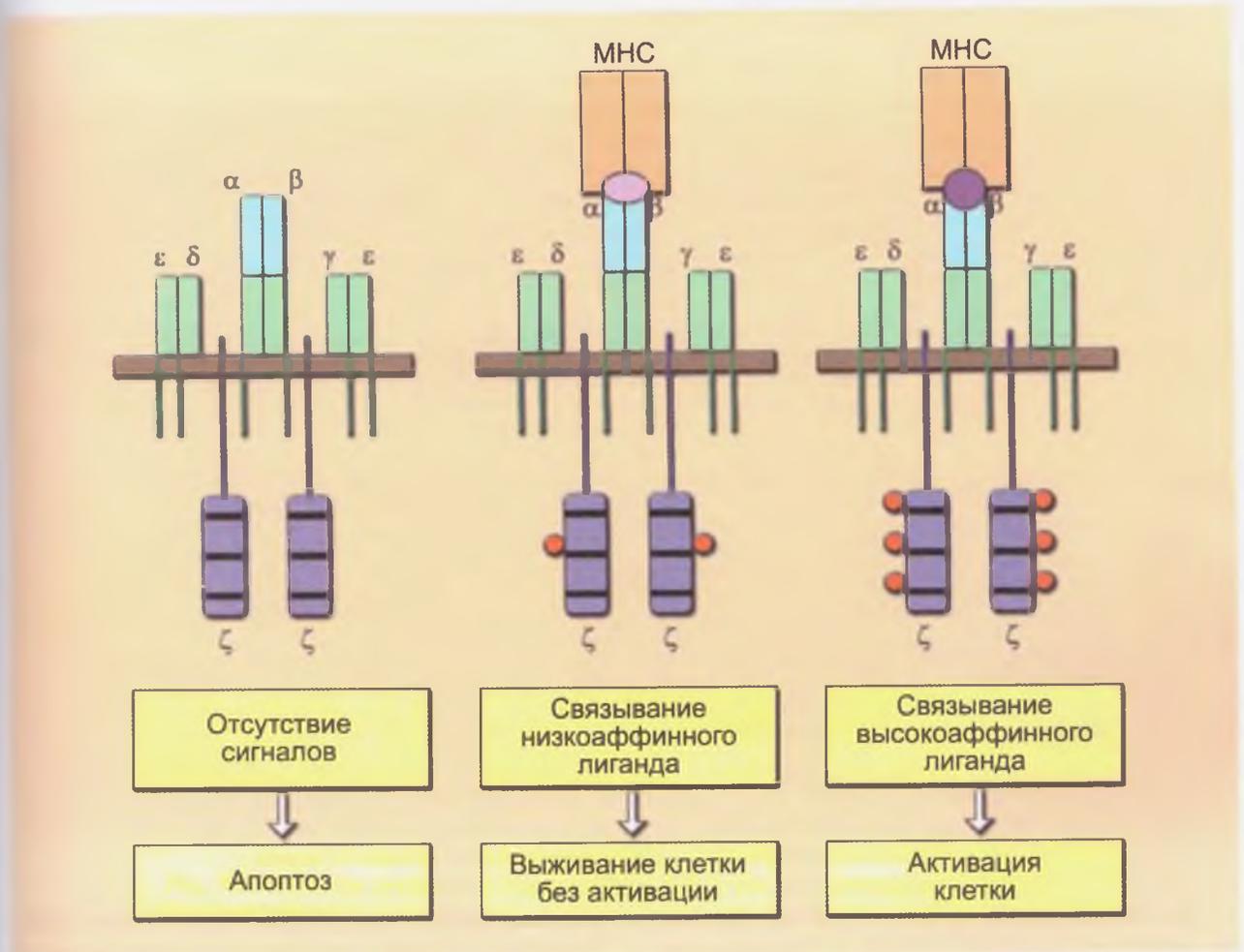


Рис. 302. Фосфорилирование ITAM в ζ -цепи Т-клеток при гомеостатических процессах и иммунном ответе

ζ -цепь комплекса CD3 имеет три участка ITAM. Они обязательно должны быть фосфорилированы в той или иной степени, в противном случае клетка подвергается апоптозу. Под влиянием IL-7 и распознавания аутологических комплексов пептид-молекула MHC, т.е. при реализации нормальных гомеостатических процессов, в ζ -цепи происходит фосфорилирование одного мотива ITAM. При распознавании чужеродного пептида в составе аутологичной молекулы MHC с участием костимулирующих молекул, т.е. при запуске иммунного ответа,

происходит фосфорилирование всех трёх мотивов ITAM.

Таким образом, степень фосфорилирования молекул ITAM в ζ -цепи служит отражением различных уровней активации Т-клеток, обязательной для поддержания их жизнеспособности и выполнения функций.

Условные обозначения: чёрные полосы на изображениях цитоплазматической части ζ -цепей — ITAM; красные кружки около них означают наличие фосфатной группы.

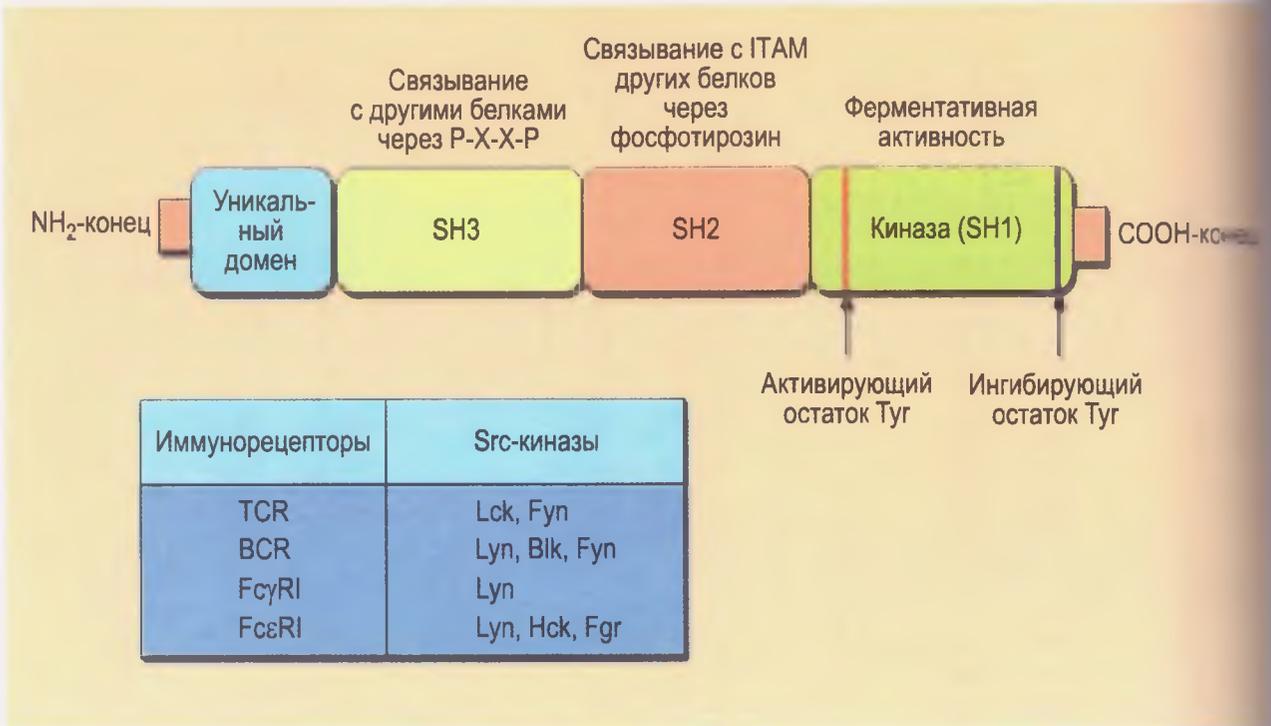


Рис. 303. Тирозинкиназы семейства Src. Строение, связь с иммунорецепторами

Src-киназы являются основными посредниками между иммунорецепторами и компонентами внутриклеточных сигнальных путей. Ферментативная активность связана с доменами типа SH1. Благодаря наличию доменов двух других типов, ответственных за взаимодействие с белками — SH2 и SH3, Src-киназы выполняют роль не только ферментов, но и адапторных белков. Особенно велика в этом роль домена SH2,

использующего в межмолекулярных связях фосфотирозин. Спектр Src-киназ, воспринимающих и передающих сигнал от различных рецепторов, различен, хотя и включает некоторые общие компоненты.

Условные обозначения: SH (*Src-homology*) 1, 2, 3 — домены Src-киназ; Туг — остаток тирозина; P-X-X-P — фосфорилированные аминокислотные остатки.

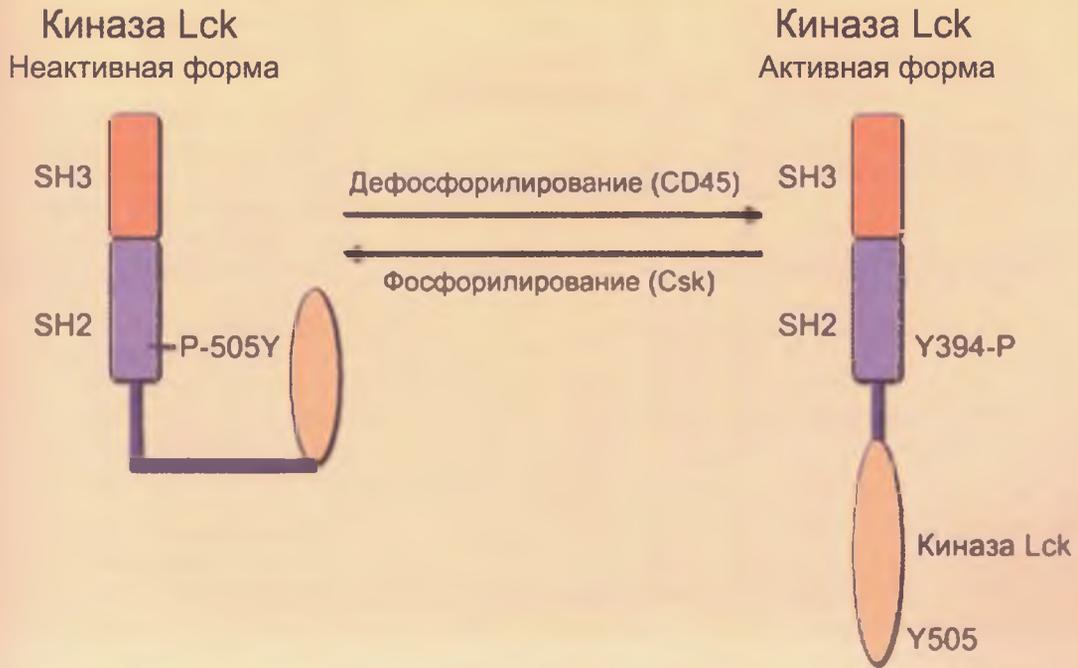


Рис. 304. Регуляция активности тирозинкиназы Lck путём фосфорилирования/дефосфорилирования

Src-киназа Lck, связанная с корецепторами и участвующая в фосфорилировании полипептидных цепей рецепторного комплекса, может находиться в активной и неактивной формах в зависимости от особенностей фосфорилирования их тирозиновых остатков. Фосфорилирование С-концевого остатка тирозина (Y-505) домена SH1 (см. рис. 303), катализируется тирозинкиназой Csk. Оно блокирует активность фермента в связи с образованием фосфатного мостика между остатком Y-505 и SH2-доменом, который препятствует функционированию домена. Именно такое состояние молекулы

Lck свойственно покоящимся Т-лимфоцитам: обычно в покоящихся лимфоцитах киназа Lck фосфорилирована по Y-505 и неактивна. Дефосфорилирование Y-505, осуществляемое фосфатазой CD45, сопровождается трансфосфорилированием остатка тирозина в домене SH2 (Y-394), что возвращает молекулу в функционально активное состояние.

Условные обозначения: см. рис. 278; P — участки фосфорилирования; в скобках — название ферментов, катализирующих фосфорилирование и дефосфорилирование Src-киназы.

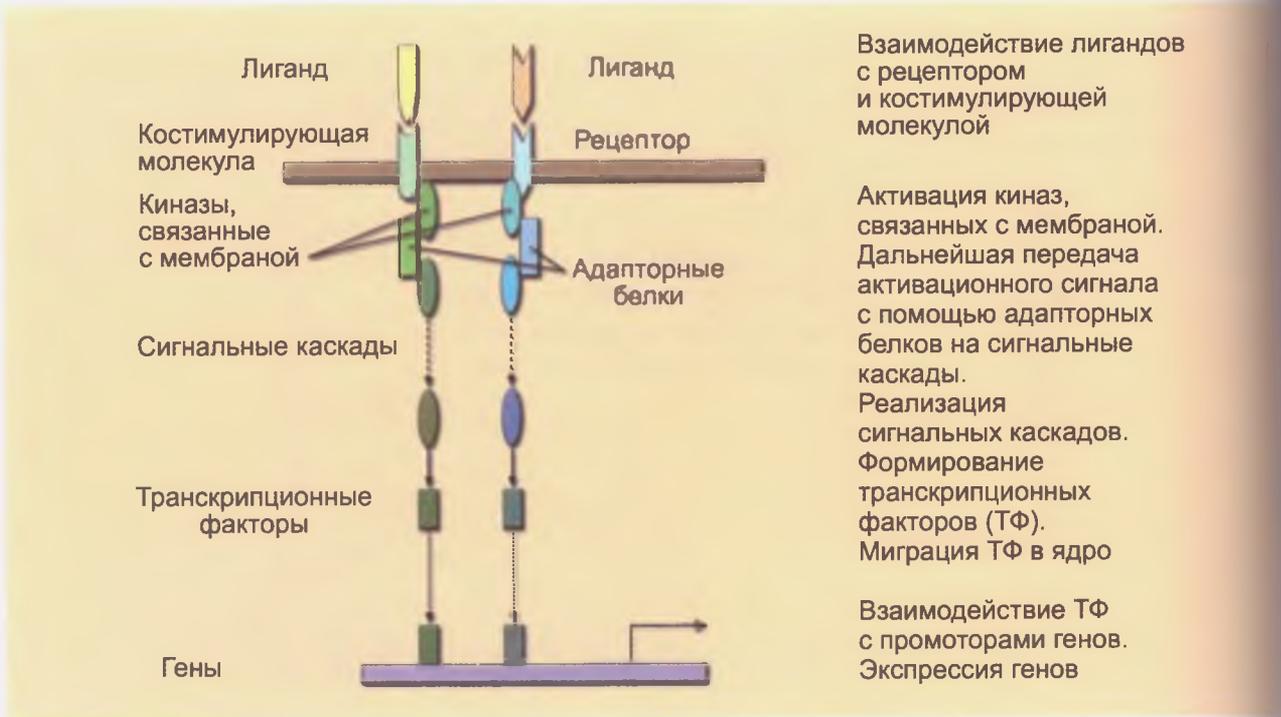


Рис. 305. Принципиальная схема передачи сигналов с поверхности клетки в ядро

В основе активации клеток иммунной системы лежит трансформация сигналов, индуцированных связыванием мембранных рецепторов с экзогенными лигандами, во внутриклеточные сигналы, в конечном счёте приводящие к экспрессии комплекса генов, обуславливающей активацию клетки. При соединении лиганда с рецептором изменяется конформация последнего, что вызывает активацию киназ, связанных с рецептором. От киназ информация передается, при участии адапторных белков, на несколько сигнальных путей, функционирующих по каскадному принципу (каждый очередной компонент каскада активирует следующую

компоненту). Как правило, сигнал, идущий от основного рецептора, кооперирует с дополнительным, поступающим от костимулирующей молекулы, что придает действенность результирующему сигналу. Конечным результатом активации этих путей является формирование транскрипционных факторов путём индукции синтеза, функциональной активации молекулы или снятия блокады. Транскрипционные факторы поступают в ядро, связываясь с промотором гена, участвуют в индукции его экспрессии. Индукция комплекса генов является основой процессов активации и дифференцировки клеток.

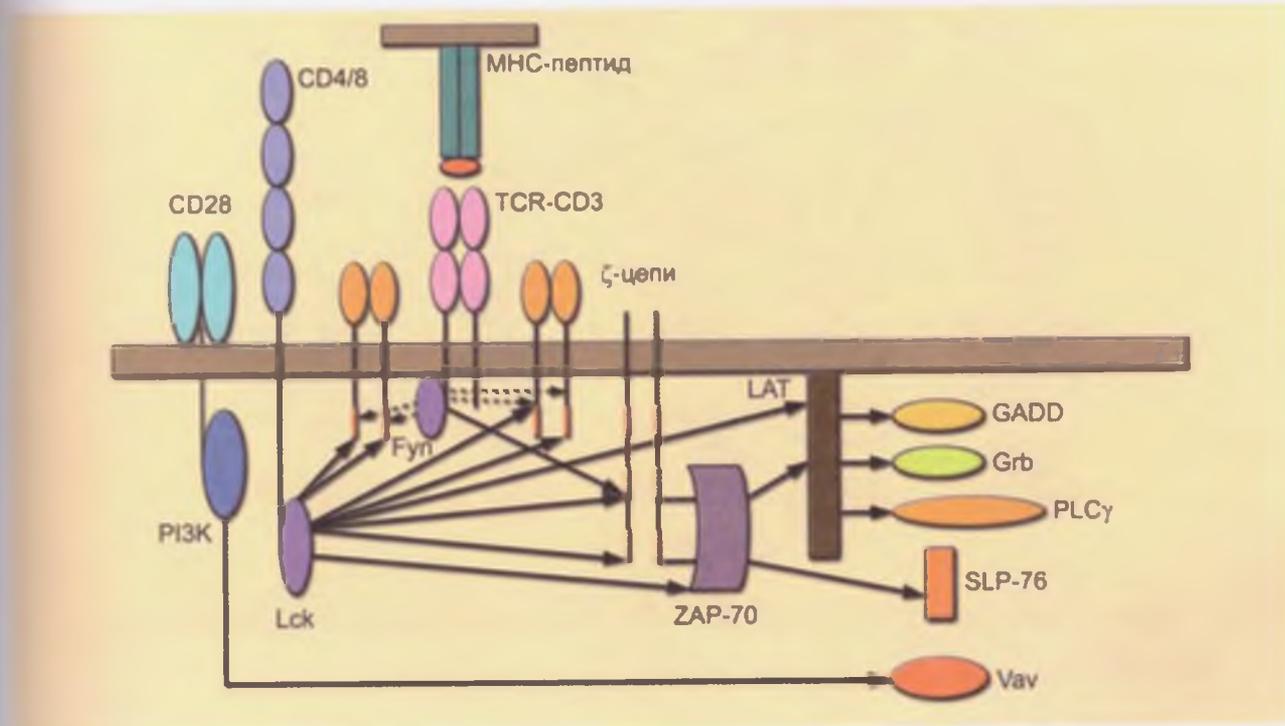


Рис. 306. Источники и направление пусковых активационных сигналов при стимуляции Т-лимфоцитов

Активационный сигнал включается при связывании TCR с лигандом (комплексом молекула MHC-пептид) при участии корецептора (CD4 или CD8) и костимулирующей молекулы CD28. Это приводит к активации рецепторных киназ Fyn и Lck. Красным цветом отмечены участки ITAM в цитоплазматических частях полипептидных цепей CD3. Отражена роль Src-киназ, связанных с рецептором, в фосфорилировании белков: как рецепторных, так и сигнальных. Обращает на себя внимание чрезвычайно широкий спектр эффектов киназы Lck, связанной с корецепторами; роль киназы Fyn установлена с меньшей определённой (отражено в прерывистом характере линий). Ключевую роль в посредничестве между рецепторными киназами и адапторными молекулами и ферментами играет тирозинкиназа ZAP-70. Она активирует (через фосфорилирование) молекулы SLP-76 и LAT, а

последняя передает активационный сигнал адапторным белкам GADD, GRB и активирует γ -изоформу фосфолипазы C (PLC γ). До этого этапа в передаче сигнала вовлекаются исключительно факторы, связанные с клеточной мембраной. Важный вклад во включение сигнальных путей вносит костимулирующая молекула CD28, которая реализует своё действие через связанную с ней липидную киназу PI3K (Phosphatidylinositol 3-kinase). Основной мишенью киназы PI3K служит фактор Vav, связанный с цитоскелетом.

Условные обозначения: ZAP-70 (ζ -associated protein kinase, mol weight 70 kD) — протеинкиназа p70, связанная с ζ -цепью; PLC γ (Phospholipase C γ) — фосфолипаза C, изоформа γ ; PI3K (Phosphatidylinositol 3-kinase) — фосфатидилинозитол 3-киназа; Lck, Fyn — рецепторные тирозинкиназы; LAT, Grb, SLP, GADD, Vav — адапторные белки.

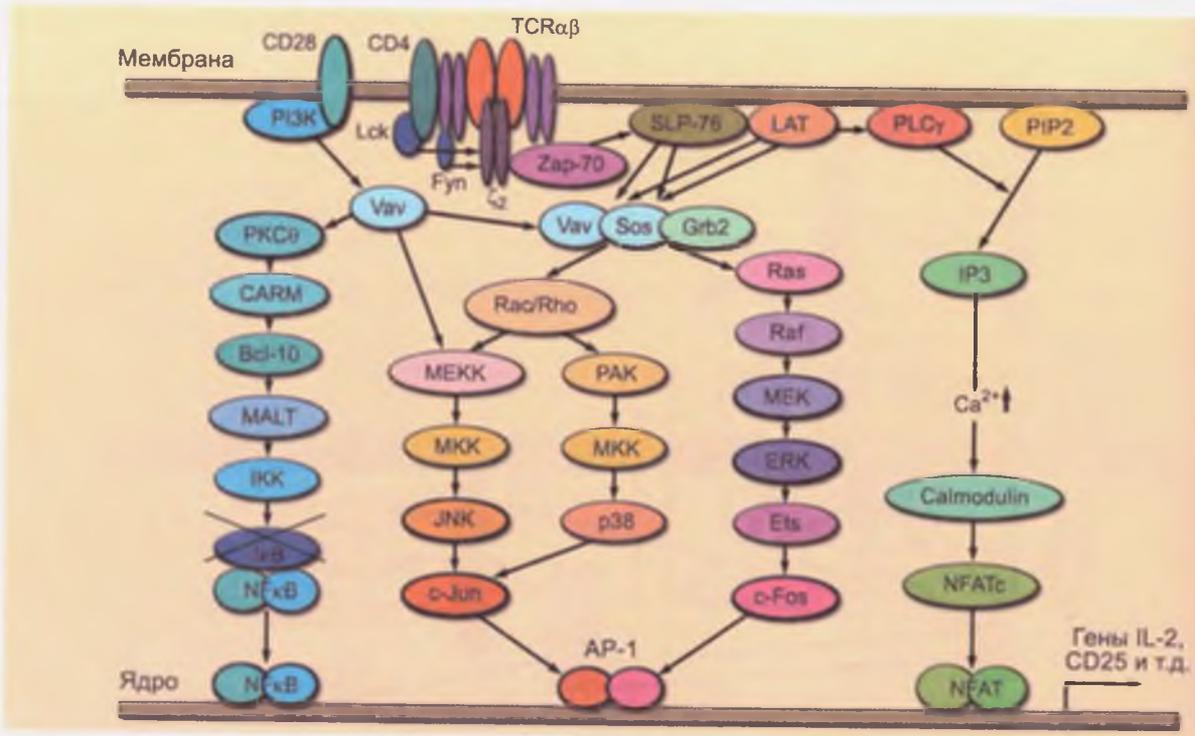


Рис. 307. Схема сигнальных путей при активации Т-клеток

В результате формирования сигнала и передачи его от рецептора Т-клетки к ядру образуются три транскрипционных фактора — NFAT, AP-1 и NFκB, индуцирующие экспрессию генов, контролирующих процесс активации Т-лимфоцитов. К образованию NFAT приводит сигнальный путь, независимый от костимуляции, который включается благодаря активации фосфолипазы С и реализуется с участием ионов Ca^{2+} . Этот путь вызывает активацию кальциневрина, который, обладая активностью фосфатазы, дефосфорилирует цитозольный фактор NFAT-P, благодаря чему он приобретает способность мигрировать в ядро и связываться с промоторами активационных генов. Фактор AP-1 формируется как гетеродимер из белков c-Fos и c-Jun, образование которых индуцируется благодаря активации соответствующих генов под влиянием факторов, образующихся в результате реализации трёх компонентов MAP-каскада. Эти пути включаются при участии коротких GTP-связывающих белков Ras и Rac. В реализацию MAP-каскада вносят значительный вклад сигналы, зависящие от костимуляции через молекулу CD28. Третий транскрипционный

фактор, NFκB, известен как основной транскрипционный фактор клеток врождённого иммунитета. Он активируется в результате расщепления блокирующей субъединицы IκB киназой IKK, которая в Т-клетках активируется в ходе передачи сигнала, независимого от изоформы θ протеинкиназы С (PKCθ). Основной вклад во включение этого сигнального пути вносят костимулирующие сигналы от CD28. Сформировавшиеся транскрипционные факторы, связавшись с промоторными участками генов, индуцируют их экспрессию. Для начальных этапов реакции Т-клеток на стимуляцию особенно важна экспрессия генов *IL2* и *IL2R*, что обуславливает выработку ростового фактора Т-клеток IL-2 и экспрессию его высокоаффинного рецептора на Т-лимфоцитах. В результате IL-2 выступает как эндокринный ростовой фактор, обуславливающий пролиферативную экспансию Т-клеток клонов, включённых в реакцию на антиген.

Условные обозначения: см. рис. 280; NFAT (Nuclear factor of activated T cells), AP-1 (Activating protein-1), NFκB (Nuclear factor of κ-gene of B cells) — факторы транскрипции.

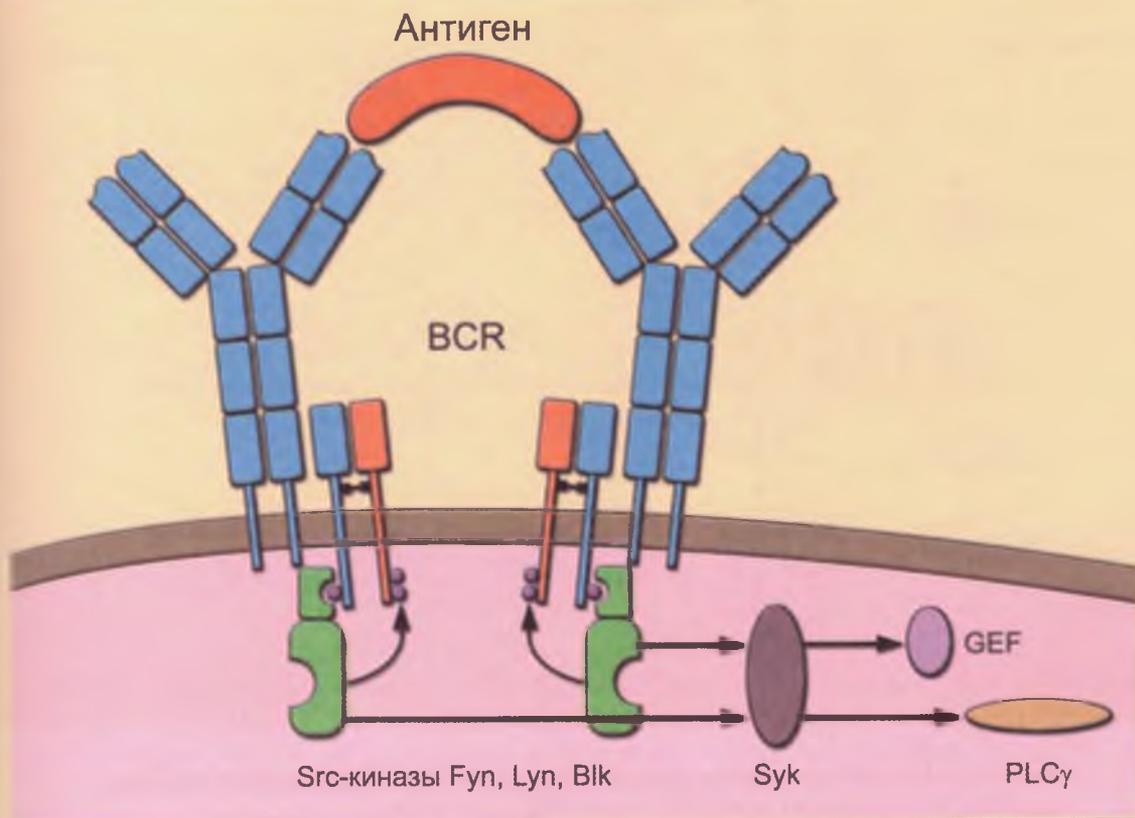


Рис. 308. Перекрестное сшивание рецепторов В-клеток антигеном приводит к активации рецепторных Src-киназ

Связывание и перекрестное сшивание BCR АГ приводит к активации Src-киназ, связанных с рецептором. В В-клетках это тирозинкиназы Lyn, Blk и Lck, которые фосфорилируют цитоплазматические части полипептидных цепей рецептора и тирозинкиназу Syk. Этот фермент играет роль посредника между рецепторным аппаратом и внутриклеточными сигнальными факторами, подобно

тому как это делает тирозинкиназа ZAP-70 (относящаяся к семейству Syk) в Т-клетках. Среди многочисленных структур, активируемых (через фосфорилирование) Syk-киназой, главная роль принадлежит адапторному белку GEF и γ -изоформе фосфолипазы С (PLC γ), связанным с мембраной. Эти факторы запускают дальнейшую передачу сигнала по различным путям (см. рис. 310).

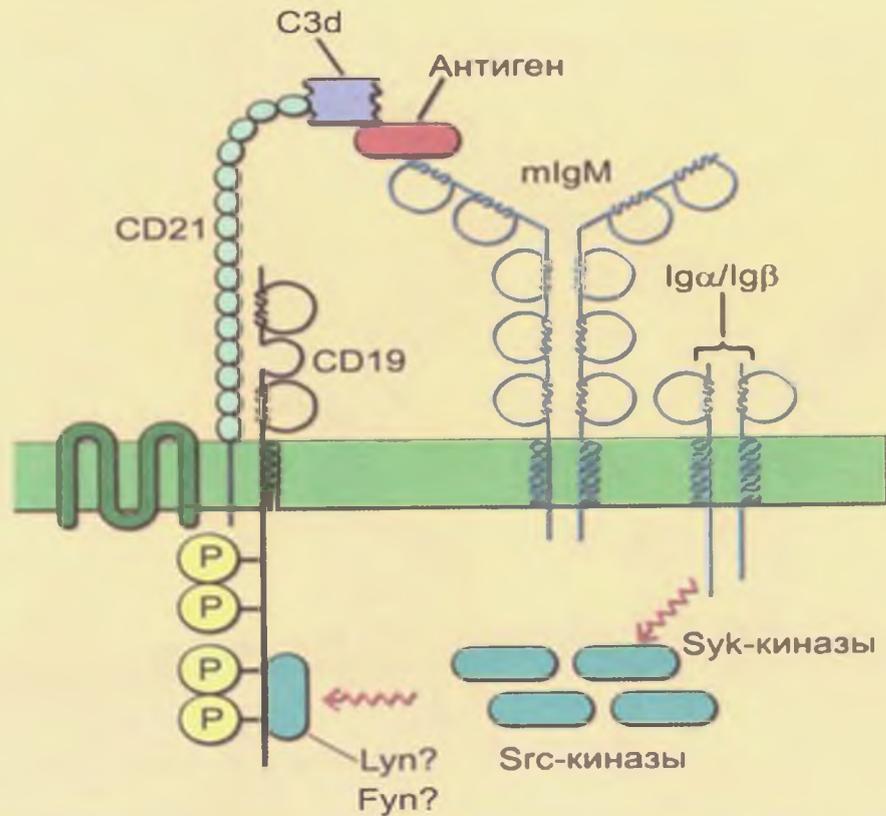


Рис. 309. Межмолекулярные взаимодействия в рецепторном комплексе В-клеток, необходимые для запуска активации и пролиферации В-клеток

Запуск активационного сигнала в В-клетку при распознавании этой структурой АГ обусловлено несколькими событиями, реализуемыми на уровне мембранных молекул. Первое из них, отражённое на рис. 308, обусловлено конформационными изменениями, которые возникают в мембранном иммуноглобулине в результате связывания АГ и передаются на димер $Ig\alpha/Ig\beta$, а через него — на рецепторные киназы. Второе событие реализуется с участием системы комплемента. Образование комплекса АГ с мембранными рецепторами-антителами приводит к активации комплемента по клас-

сическому пути и расщеплению фактора С3 молекула до С3b, затем — до С3d. Входящая в состав рецепторного комплекса В-клеток молекула CD21 представляет собой рецептор для комплекса (CR2), способный связывать фрагмент С3d. В результате изменения конформации молекулы CD21, вызванного этим взаимодействием, возникает сигнал, который передаётся молекуле CD19, связанной с рецепторными тирозинкиназами, активирующими их. За счёт этих двух источников генерируется первый сигнал, ответственный за вовлечение в иммунный ответ конкретного клона В-клеток.

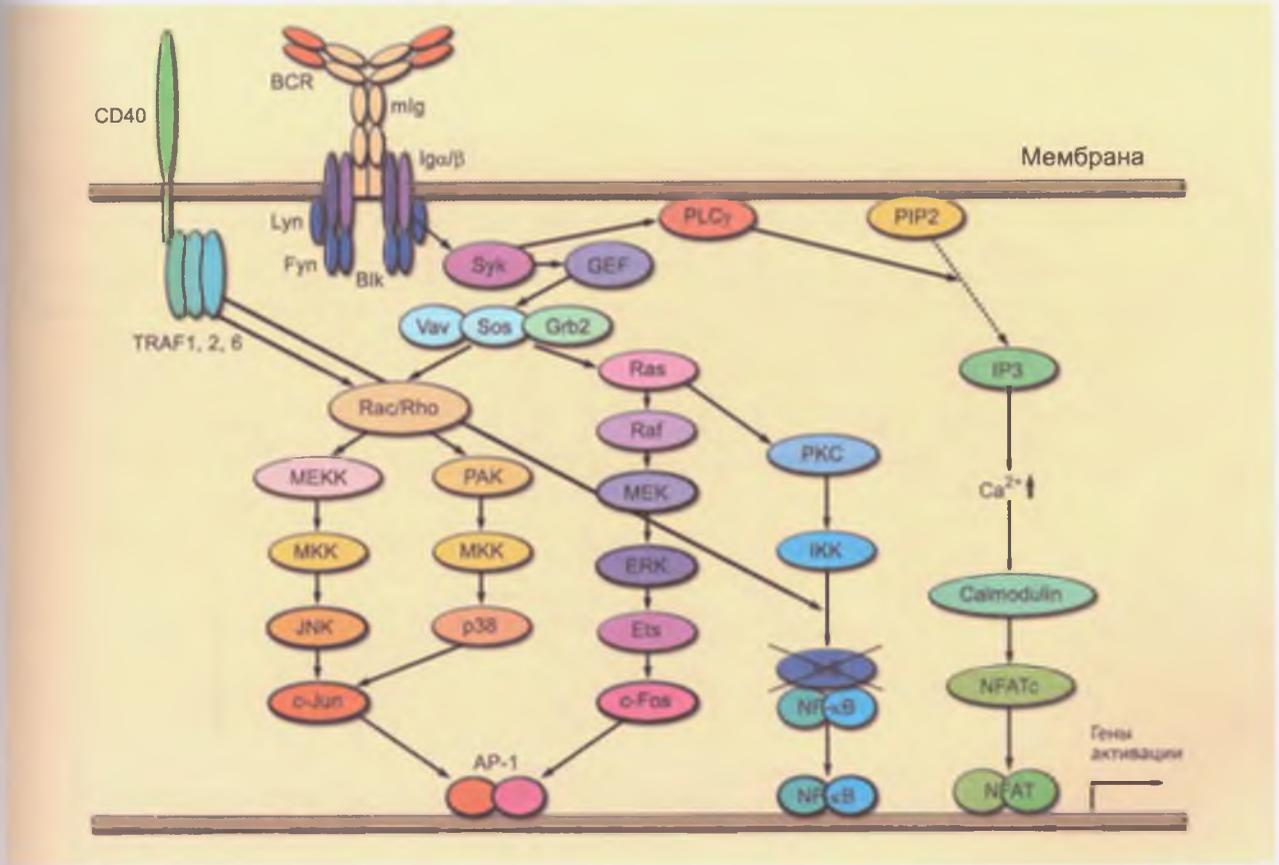


Рис. 310. Схема сигнальных путей при активации В-клеток

Внутриклеточная сигнализация при активации В-клеток изучена в меньшей степени, чем аналогичные процессы в Т-клетках. Тем не менее ясно, что принцип реализации внутриклеточного сигналинга в обоих случаях аналогичен. В активации В-клеток участвуют практически те же сигнальные пути, приводящие к образованию тех же трёх транскрипционных факторов (см. рис. 307). Основные различия касаются начальных этапов, связанных с рецепторами и рецепторными киназами, а также промежуточного этапа, реализуемого с участием адапторных белков. В качестве источника костимулирующих сигналов в случае В-клеток выступает молекула CD40. При связывании с ней CD40-лиганда (CD154) возникает костимулирующий сигнал, основную роль в проведении которого играют молекулы TRAF1 и 2, в меньшей степени TRAF6. От этой информации в наибольшей степени зави-

сит полноценность формирования Рас-зависимых ветвей MAP-каскада, приводящих к активации киназ JNK и p38, необходимых для экспрессии белка c-Jun, участвующего в образовании транскрипционного фактора AP-1. CD40/TRAF-зависимый путь необходим также для активации фосфатазы IKK, обеспечивающей фосфорилирование ингибиторной субъединицы IκB, что служит условием её расщепления и активации транскрипционного фактора NFκB. Подобно тому как это имеет место при активации Т-клеток, наименее зависимым от костимуляции при активации В-клеток является Ca²⁺-зависимый путь, приводящий к формированию транскрипционного фактора NFAT.

Условные обозначения: см. рис. 306, 307; TRAF (*TNF-receptor-associated factor*) — компонент сигнального пути, включаемого при связывании рецепторов семейства TNFR.

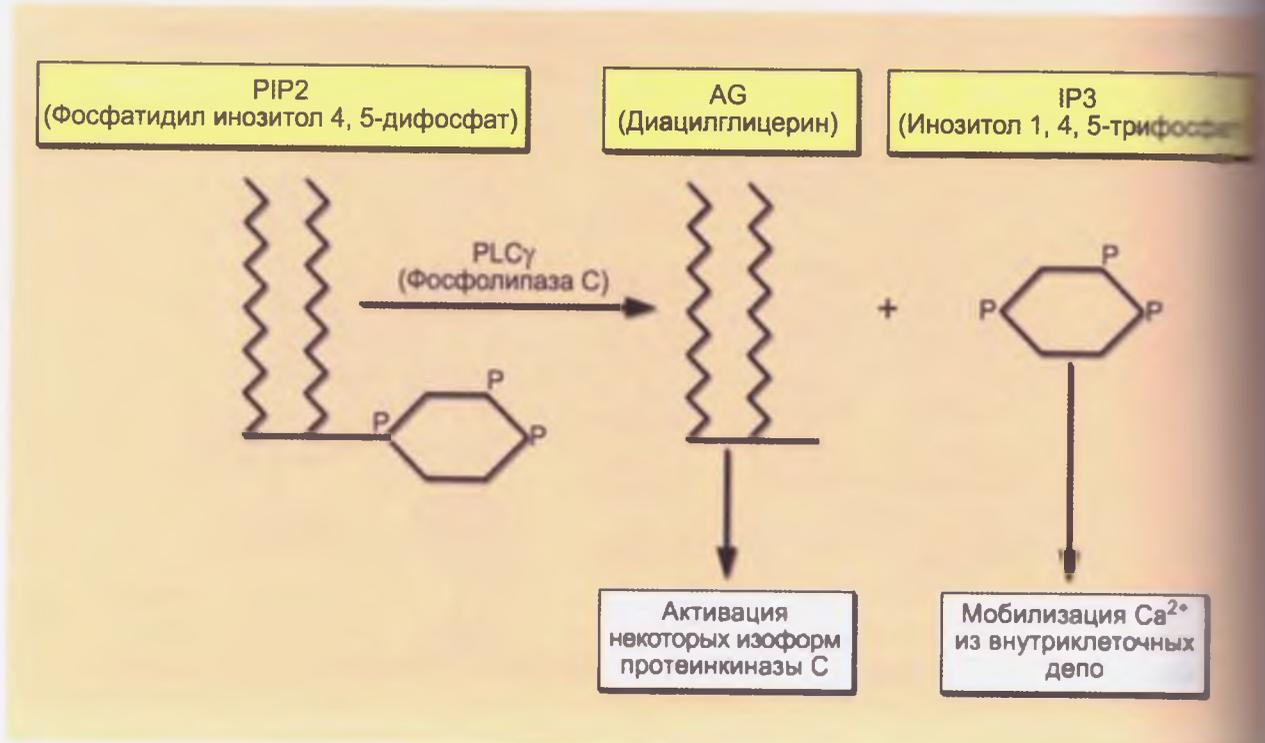


Рис. 311. Формирование сигнальных метаболитов фосфоинозитидов

Под влиянием фосфолипазы C компонент клеточной мембраны фосфатидил инозитол 4,5-фосфат (PIP2) расщепляется на диацилглицерин (DAG) и инозитол-3-фосфат (PI3). DAG и PI3

причастны к запуску двух ветвей сигнальных путей, зависимых от протеинкиназы C и ионов Ca²⁺, которые принимают участие в активации лимфоцитов.

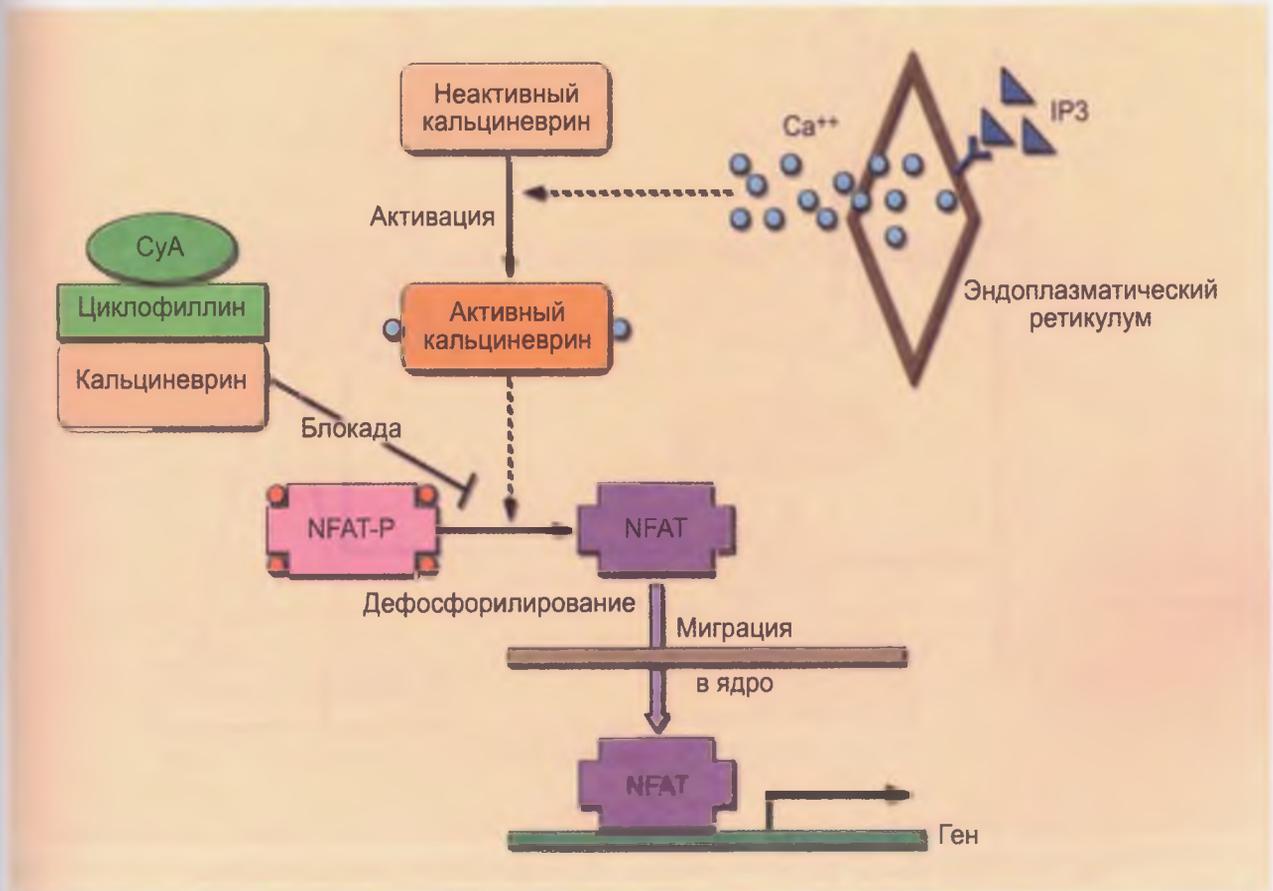


Рис. 312. Са-зависимое звено активации Т-клеток и его блокада циклоспорином А

Инозитолтрифосфат индуцирует мобилизацию ионов кальция из эндоплазматических депо, что, в свою очередь, способствует поступлению ионов Ca^{2+} в цитозоль (на схеме не показано). Ионы кальция активируют фосфатазу кальциневрин, которая дефосфорилирует фактор NFAT-P, что позволяет ему мигрировать в ядро и связываться с промотором активационных генов. Принцип действия иммунодепрессанта циклоспорино А сводится к формированию комплекса с циклофилином, который связывается с кальци-

неврином и блокирует его активность. Образующийся комплекс также блокирует действие активированного кальциневрина на фактор транскрипции NFAT-P. Таким образом, действие циклоспорино А распространяется только на процесс активации Т-клеток и не затрагивает покоящиеся лимфоциты.

Условные обозначения: CyA — циклоспорино А; NFAT (*Nuclear factor of activated T cells*) — транскрипционный фактор; NFAT-P — фосфорилированная (неактивная) форма NFAT.

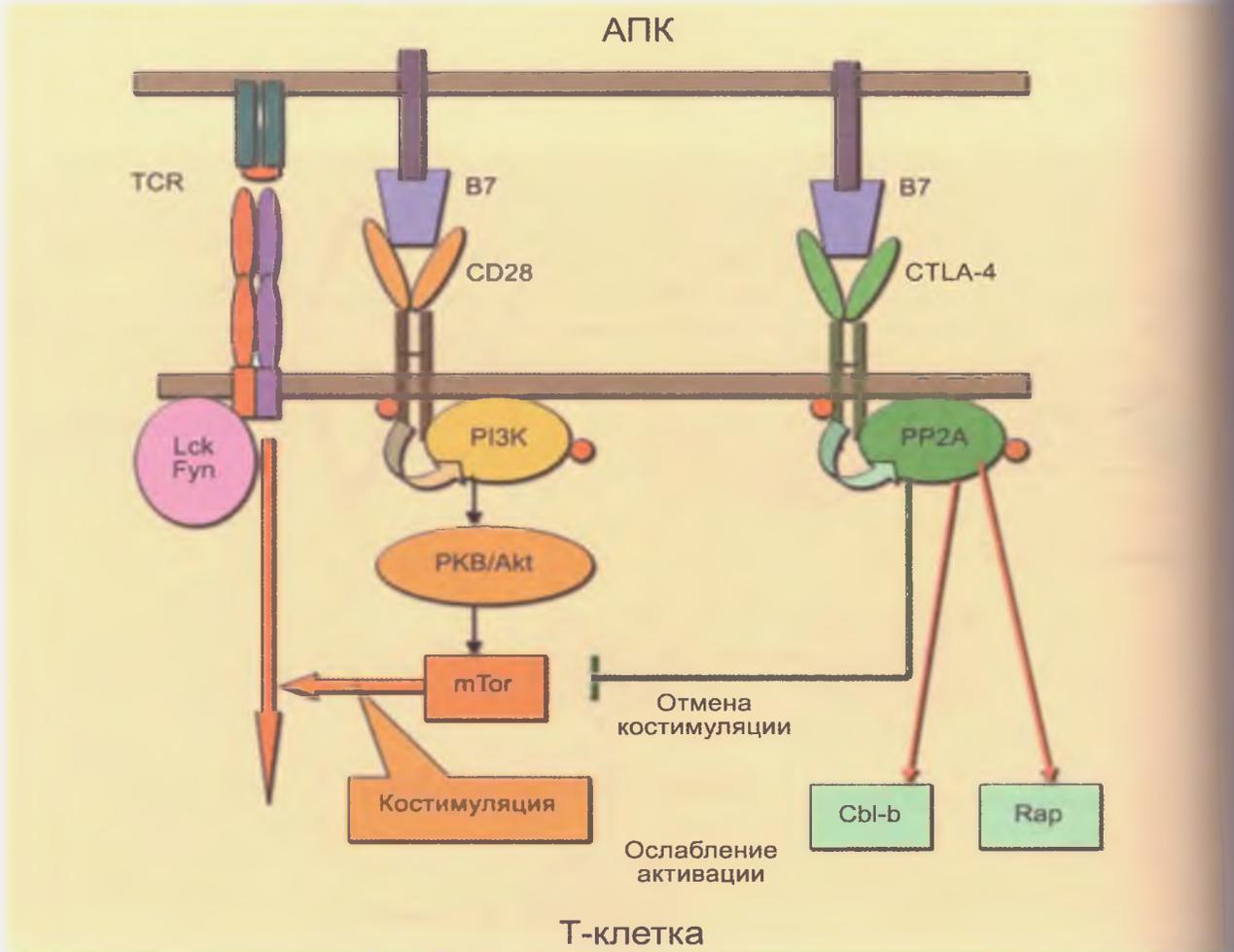


Рис. 313. Подавление активации Т-клетки под действием сигналов, генерируемых при связывании мембранного рецептора CTLA-4

В левой части рисунка представлена схема реализации костимулирующего сигнала, обусловленного связыванием костимулирующих лигандов В7 (CD80/CD86) с костимулирующим рецептором CD28. Костимуляция осуществляется вследствие активации фермента PI3K, связанного с молекулой CD28. Дальнейшее прохождение сигнала зависит от активации ряда факторов, которые усиливают основные сигнальные пути, инициируемые в результате соединения комплекса пептид-молекула МНС Т-клеточным рецептором.

В правой части рисунка отражены последствия ингибирующей сигнализации через молекулу CTLA-4 (CD152). Этот блокирующий сигнальный путь включается при связывании тех же лиган-

дов В7. Сигнал передаётся с участием фосфатаз (на данном рисунке — фосфатаза PP2A); основная ветвь этого пути направлена на ослабление костимулирующего эффекта связывания CD28.

Условные обозначения: АПК — антигенпрезентирующая клетка, CTLA-4 (*Cytotoxic T lymphocyte antigen-4*) — ингибирующий рецептор, гомолог костимулирующей молекулы CD28; В7 — костимулирующие молекулы CD80 и CD86 — лиганды молекул CD28 и CTLA-4; PI3K (*Phosphatidylinositol 3-kinase*) и PP2A (*Protein Phosphatase A2*) — ферменты, связанные с молекулами CD28 и CTLA-4 соответственно. Остальные сокращения — компоненты сигнальных путей.

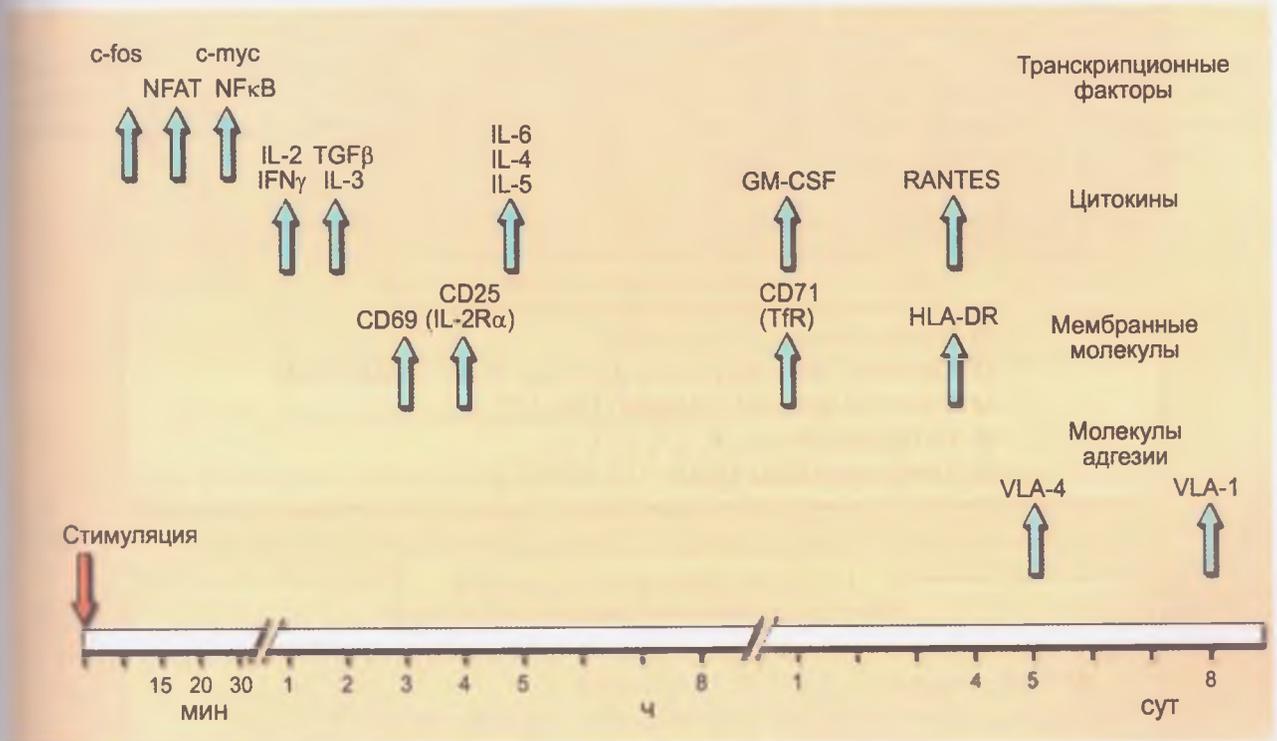


Рис. 314. Временная динамика экспрессии молекул активации Т-клеток

Под влиянием активации происходит экспрессия молекул, обозначаемых как маркеры активации, или активационные молекулы. Некоторые из них участвуют в передаче активационных сигналов и экспрессируются очень быстро, через несколько минут (продукты генов *c-fos* и *c-myc*). Другие являются результатом активации клетки (выработка некоторых из них, например IL-2, является одной из главных целей процесса активации) и экспрессируются в ходе стимуляции или сразу после её завершения — через 1,5–5 ч (цитокины, их рецепторы, CD69). Наконец, ряд молекул (поздние и очень поздние активационные молекулы) экспрессируется через

1–8 сут после действия активирующего агента (некоторые цитокины и хемокины, молекулы МНС-II, рецептор трансферрина, β 1-интегрины). Цитофлуориметрическое определение активационных молекул используют для оценки активации лимфоцитов.

Условные обозначения: NFAT и NF κ B — транскрипционные факторы (см. рис. 307); TGF β (*Transforming growth factor β*); GM-CSF (*Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*) — интерлейкины (IL) — цитокины; RANTES (*Regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted*) — хемокин CCL5; TfR — рецептор трансферрина; VLA (*Very late antigen*) — β 1-интегрины.

2.3.5. ЦИТОКИНЫ

Цитокины — антигеннеспецифические белковые медиаторы межклеточных взаимодействий при иммунном ответе и многих других процессах, реализуемых не только в иммунной системе, но и за её пределами. Цитокины опосредуют многие процессы в рамках как врождённого, так и адаптивного

иммунитета. Частично они уже рассмотрены (провоспалительные цитокины).

Далее будет отражена роль цитокинов в адаптивном иммунитете и акцентирована интегративность их функционирования в составе цитокиновой сети.

I. Традиционная классификация

- Интерлейкины (IL-1 – IL-31)
- Колониестимулирующие факторы (CSF – GM, G, M)
- Факторы некроза опухоли (TNF, LT)
- Интерфероны (α , β , γ , κ , λ , τ , ω)
- Хемокины (CCL, CXCL, CL, CX4CL)

II. Структурная классификация

- α -спиральные тяжи, короткие – IL-2, 3, 4, 5, 7, 9, 13, 21, 27, IFN γ , G-CSF, M-CSF; длинные – IL-6, 10, 11, GM-CSF
- β -складчатые структуры (β -трилистник – семейство TNF; β -сэндвич – семейство IL-1; цитокиновый узел – семейство TGF)
- α/β -короткая цепь (хемокины)
- Смешанные мозаичные структуры (IL-12)

Рис. 315. Классификация цитокинов

Традиционная классификация отражает историю открытия различных групп цитокинов и их функциональные свойства. Структурная классификация основана на гомологии первичной структуры и (в большей степени) сходстве вторичной и третичной структур. Существует также классификация, построенная на доменной структуре цитокиновых рецепторов (см. рис. 318).

Условные обозначения: IL (*Interleukin*) — интерлейкин; IFN (*Interferone*) — интерферон; TNF (*Tumor necrosis factor*) — фактор некроза опухолей; LT

(*Lymphotoxin*) — лимфотоксин; CSF (*Colony-stimulating factor*) — колониестимулирующий фактор: GM (*Granulocyte-macrophage*) — гранулоцитарно-макрофагальный, G (*Granulocyte*) — гранулоцитарный, M (*Monocyte-macrophage*) — моноцитарно-макрофагальный; TGF (*Transforming growth factor*) — трансформирующий фактор роста; raIL-1 (*Receptor antagonist of IL-1*); CCL, CXCL, CL, CX3L — разновидности хемокинов (L-лиганд) с различным взаимоположением N-концевых остатков цистеина (C) и расположенных между ними любых остатков (X).



Молекулы с преобладанием α -спирали
IL-4



Молекулы с преобладанием β -слоев (β -сэндвич)
TNF α



Молекулы, содержащие α -спираль и β -слои
IL-8

Рис. 316. Трёхмерная структура некоторых цитокинов

Приведены трёхмерные модели IL-4, TNF α и IL-8 (CXCL8), отражающие особенности строения цитокинов, отличающихся по относительному

вкладу в их структуру α -спирализованных участков и β -слоёв.

Условные обозначения: см. рис. 315.

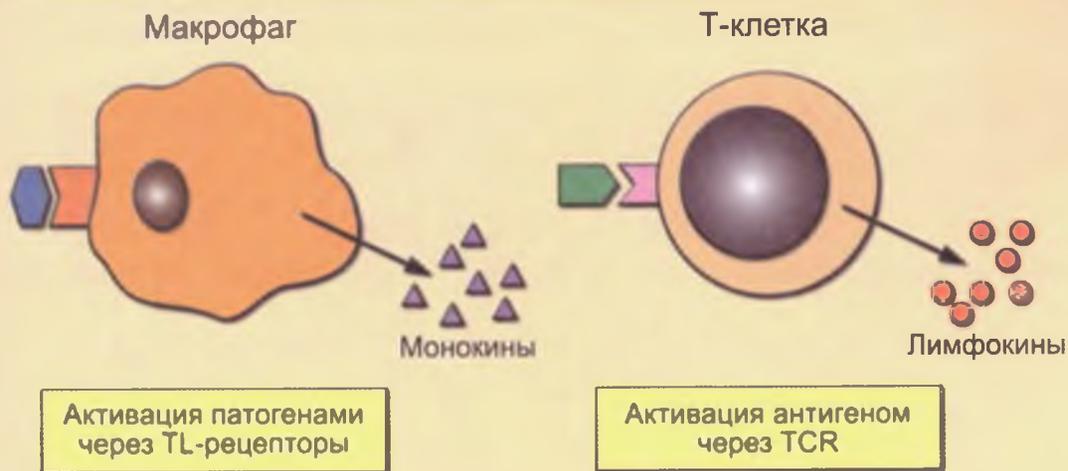


Рис. 317. Синтез и секреция цитокинов индуцируется в результате связывания биологических агентов с рецепторами клеток иммунной системы

Стимулом для выработки цитокинов является связывание естественных лигандов с рецепторами иммунных клеток, распознающих чужеродные агенты. В случае клеток врождённого иммунитета (в данном примере — макрофаг) — это связывание патогенов с TLR-рецепторами или другими рецепторами, различающими «чужое». В случае клеток

адаптивного иммунитета (в данном примере — Т-лимфоцит) — это соединение АГ с антигенраспознающим рецептором лимфоцита. Для В-клеток это может быть растворимая или связанная с клеткой чужеродная молекула, для Т-лимфоцита — пептидный или липидный фрагмент АГ, связанный с молекулой МНС.

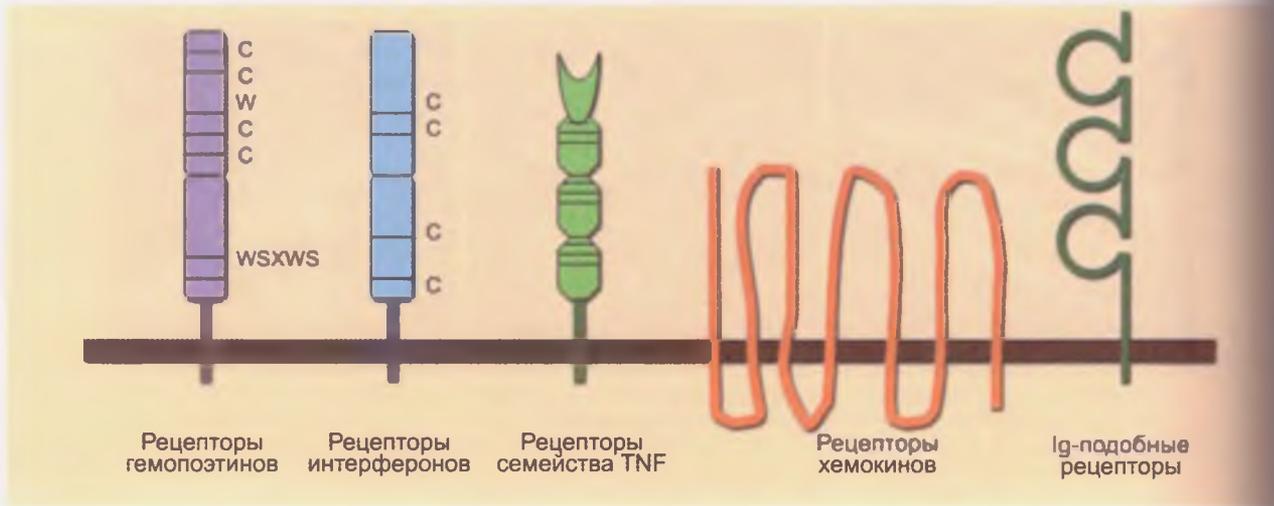


Рис. 318. Основные типы цитокиновых рецепторов

В основу классификации цитокиновых рецепторов положены структурные признаки: строение доменов их внеклеточной части, число и локализация отдельных аминокислотных остатков (прежде всего цистеиновых), а также взаимоотношение мо-

лекулы рецептора с мембраной (одно- или многократное пронизывание мембраны).

Условные обозначения: см. подпись к рис. 20. SCF (*Stem cell factor*) — фактор стволовых клеток. Аминокислотные остатки: С — цистеин, W — триптофан, S — серин, X — любой остаток.

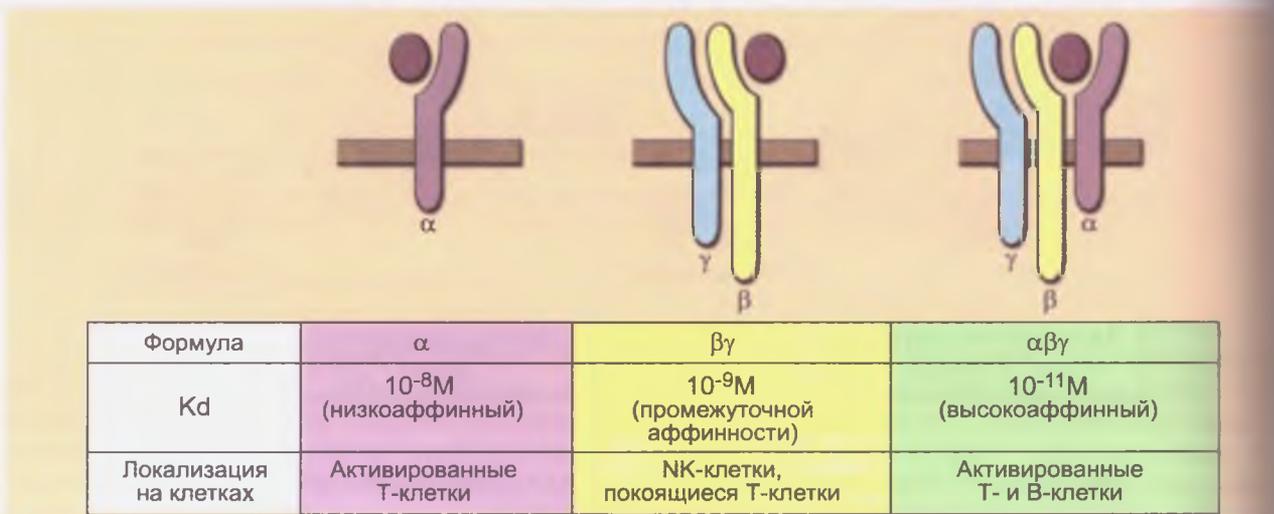


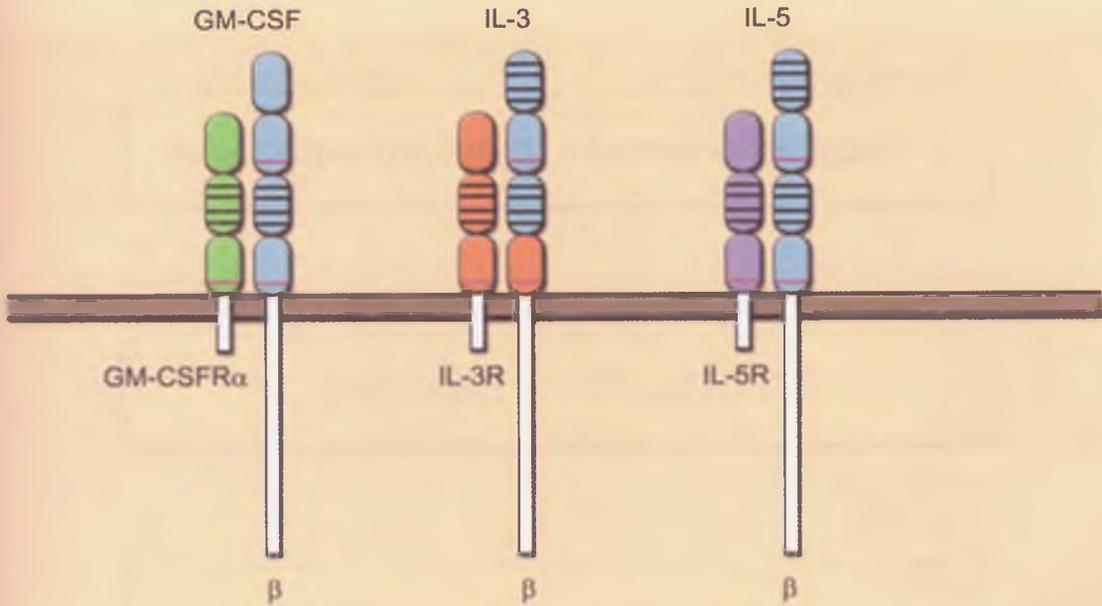
Рис. 319. Разновидности рецепторов для IL-2

Рецепторы для IL-2 (они рассматриваются в качестве типичного примера цитокиновых рецепторов) отличаются по субъединичному составу: в них могут быть представлены лишь некоторые или все три вида полипептидных цепей, что определяет сродство к IL-2, способность интернализироваться

после связывания с цитокином и проявлять функциональную активность. Функционирующим рецептором на Т-клетках является тример αβγ, на НК-клетках — димер βγ.

Условные обозначения: Kd — константа диссоциации, мера сродства IL-2 к рецепторам.

Рецепторы для IL-3, IL-5, GM-CSF имеют общую β -цепь (CD131)



Рецепторы для IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15, IL-21 имеют общую γ -цепь (CD132)

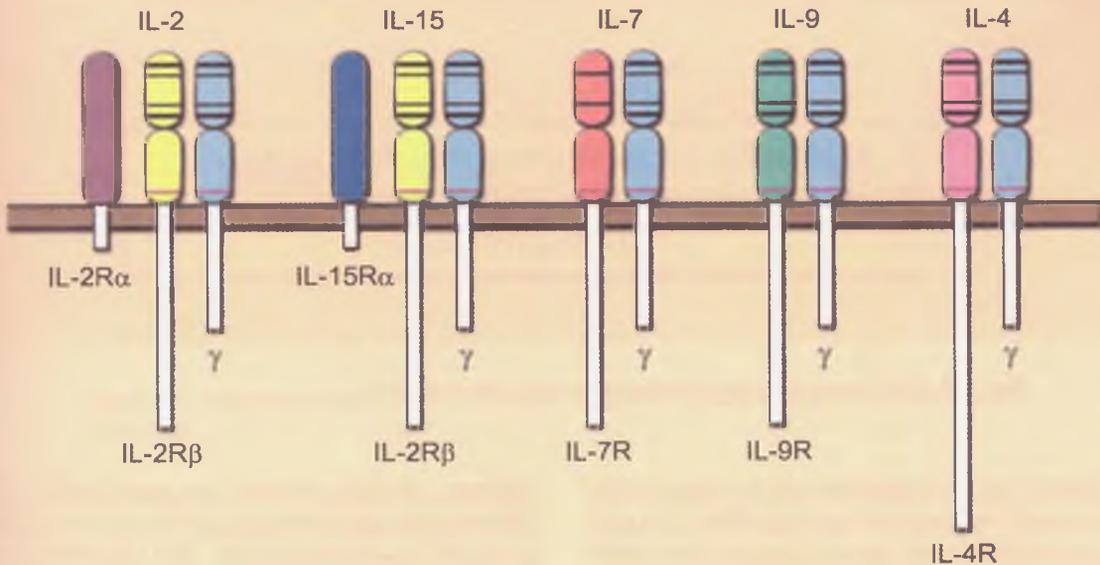


Рис. 320. Общие полипептидные цепи цитокиновых рецепторов

Ряд цитокиновых рецепторов имеет общие полипептидные цепи. На рисунке представлен ряд рецепторов с общей β - или γ -цепью. IL-2R и IL-15R характеризуются наличием не только общей γ -цепи, но и общей β -цепи.

Другим примером могут служить α -цепь, общая для IL-7R и рецептора-фактора TSLP (*Thymic stromal lymphopoietin*), а также общность цепи, называемой IL-4R, для рецепторов IL-4 и IL-13 (на рисунке не показаны).

1. Индуцибельность функционирования

2. Локальность действия

3. Избыточность системы

4. Взаимосвязь и взаимодействие при индукции синтеза и реализации функций

Рис. 321. Особенности функционирования цитокиновой сети

Цитокины функционируют не изолированно, а в столь тесной взаимосвязи между собой, что вычленивать индивидуальный вклад конкретного цитокина в реализацию того или иного эффекта *in vivo* бывает затруднительно. При введении экзогенного цитокина в организм доминирующим может быть

эффект, опосредованный не введённым, а иным цитокином, выработка которого была индуцирована экзогенным цитокином. Это обусловило создание понятия «цитокиновая сеть», отражающее функциональное единство и тесные взаимосвязи между цитокинами.

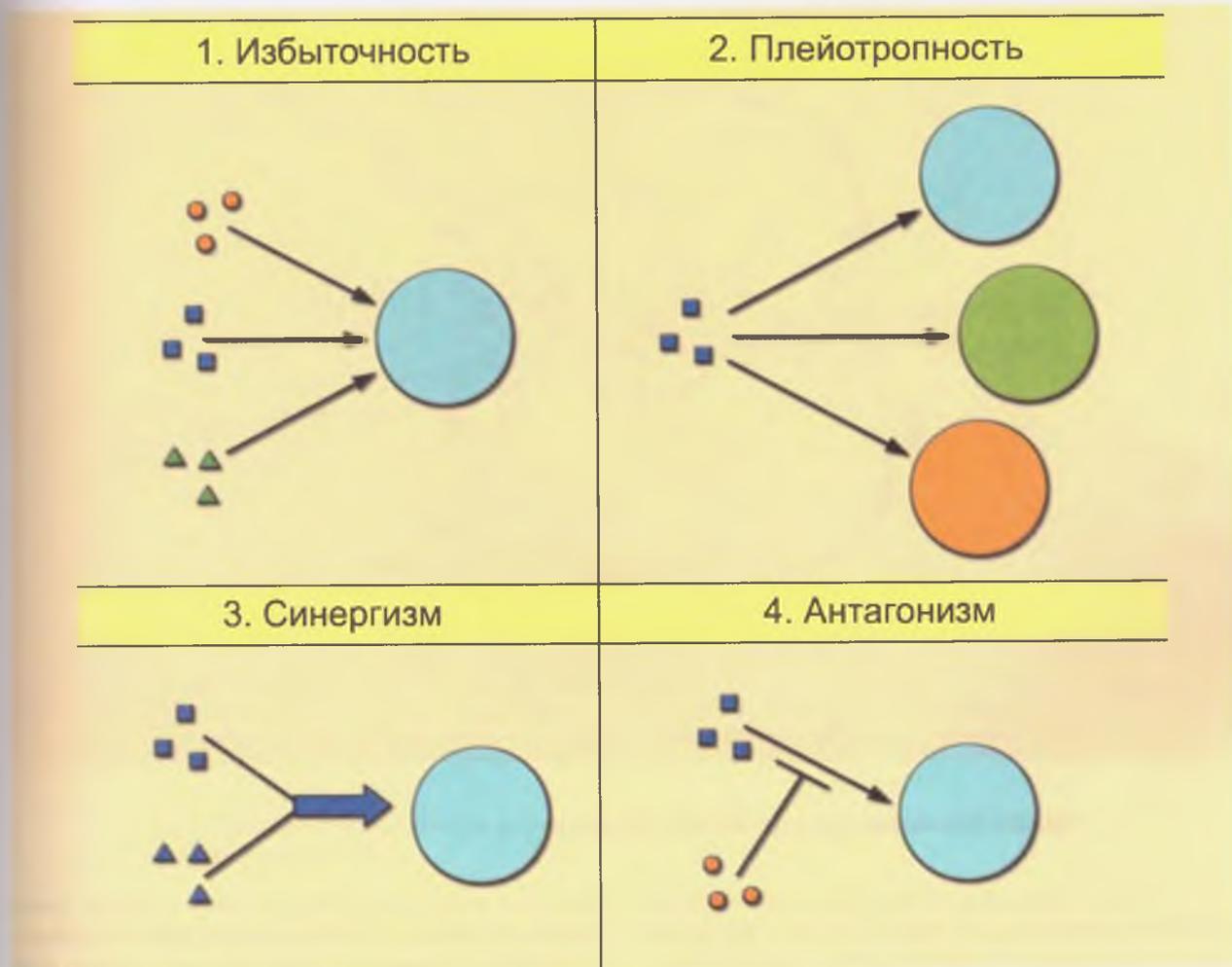


Рис. 322. Некоторые особенности действия и взаимодействия компонентов цитокиновой сети

Под избыточностью понимается опосредование одного и того же эффекта несколькими цитокинами; в результате удаление одного из них не влияет на реализацию эффекта. Плейотропность —

это множественность эффектов цитокинов, в частности их воздействие на разные клетки-мишени. Для понятий синергизма и антагонизма может быть использована общепринятая трактовка.

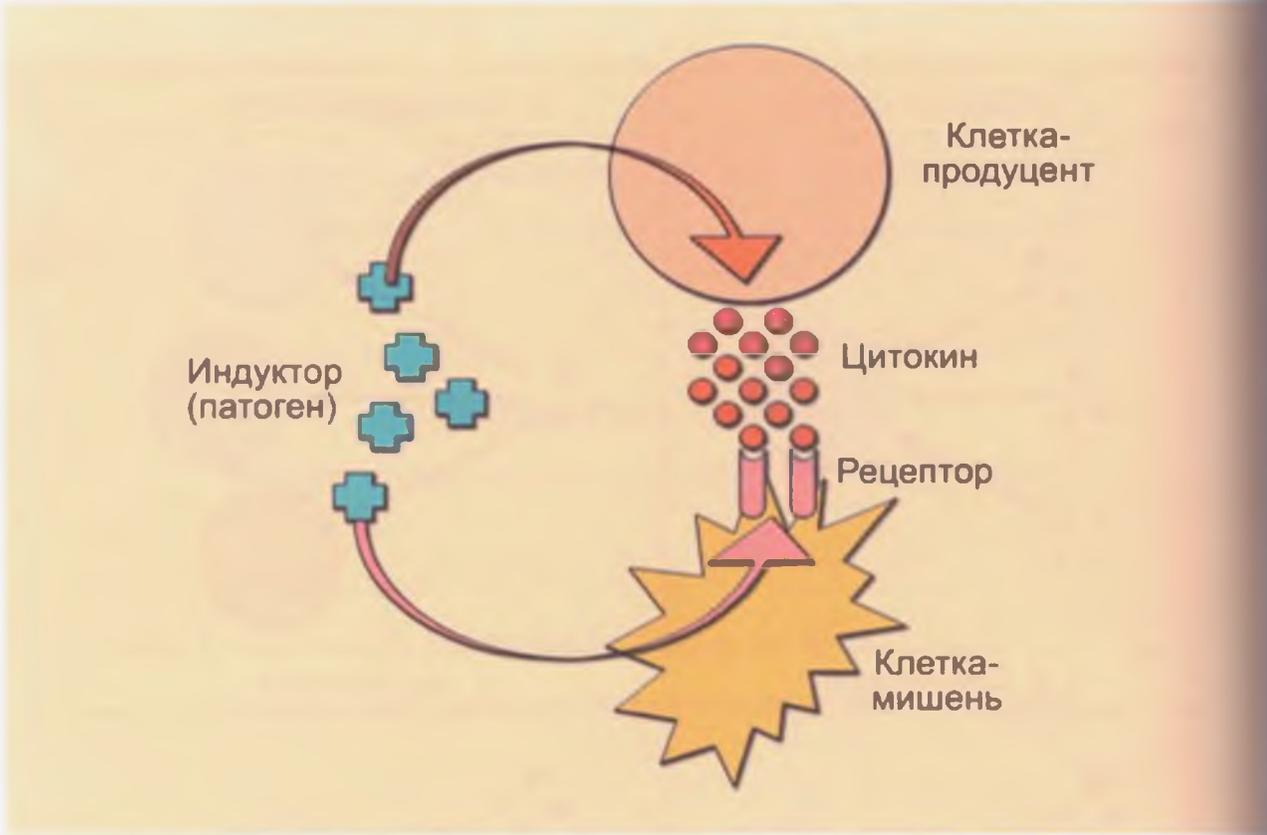


Рис. 323. Основа локальности действия цитокинов

Гены практически всех цитокинов относятся к разряду индуцибельных. То же относится к генам цитокиновых рецепторов или их отдельных (лимитирующих) компонентов, например к генам α -цепи IL-2R. И цитокины, и их рецепторы относятся к активационным молекулам, причём индукторными факторами для них служат естественные лиганды рецепторов, распознающие чужеродные молекулы — ТL-рецепторов в случае клеток врождённого иммунитета и антигенраспознающих рецепторов для клеток адаптивного иммунитета. Обычно функцию таких лигандов выполняют патогены. В конечном итоге патогены или иные чужеродные молекулы, активируя иммуноциты, индуцируют как выработку цитокинов, так и экспрессию их рецепторов, причём оба эффекта реа-

лизуются в ограниченном объёме — в местах попадания патогена (для клеток врождённого иммунитета) или во вторичных лимфоидных органах (для клеток адаптивного иммунитета). Этот парадоксизм экспрессии цитокинов и их рецепторов функционально обоснован: именно в месте попадания патогена требуется наработка цитокинов и привлечение мишеней для их действия. Результатом является локальность действия цитокинов: в большинстве случаев отсутствует необходимость их системного распределения в организме, но необходимо создание локальной концентрации, достаточной для проявления функции. Этим цитокины отличаются от гормонов, с которыми их часто сравнивают. Системное накопление цитокинов как правило, приводит к тяжёлой патологии.

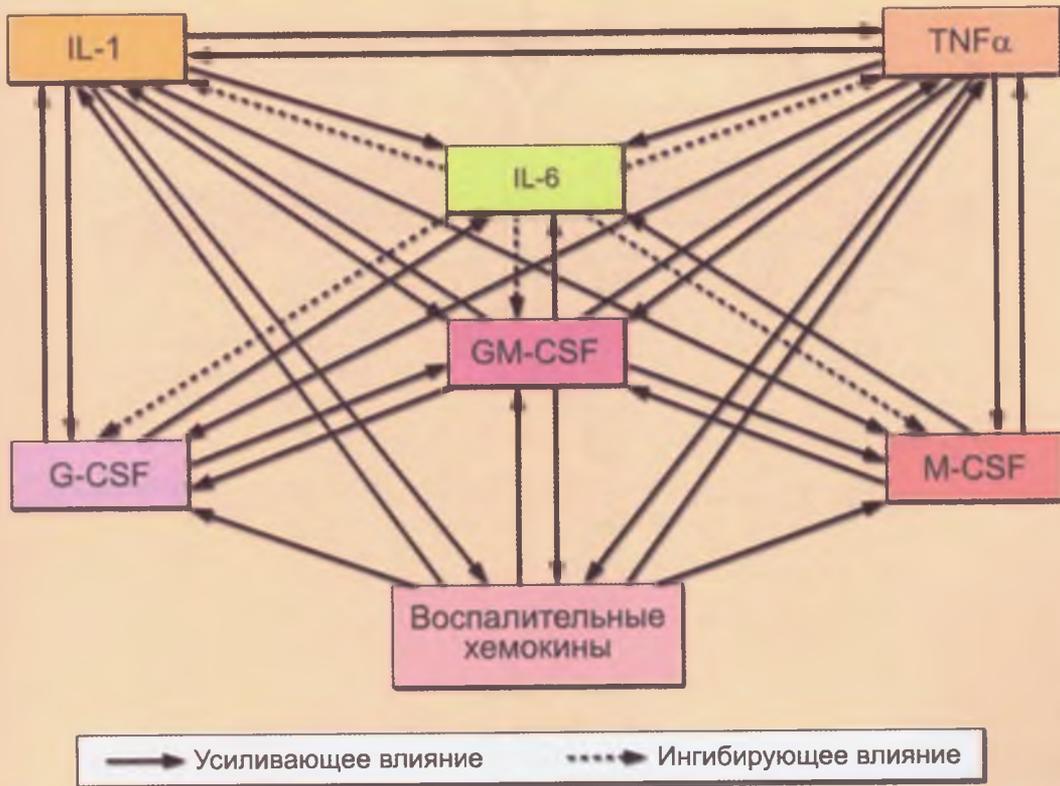


Рис. 324. Взаимные влияния на уровне продукции цитокинов (на примере провоспалительных цитокинов)

В рассматриваемом примере провоспалительных цитокинов и хемокинов показано существование двусторонних взаимосвязей практически между всеми компонентами этой сети. Явно преобладают усиливающие эффекты. Лишь IL-6, со-

четающий в себе свойства про- и противовоспалительного цитокина, подавляет выработку некоторых цитокинов, секретируемых миелоидными клетками.

Условные обозначения: см. рис. 315.

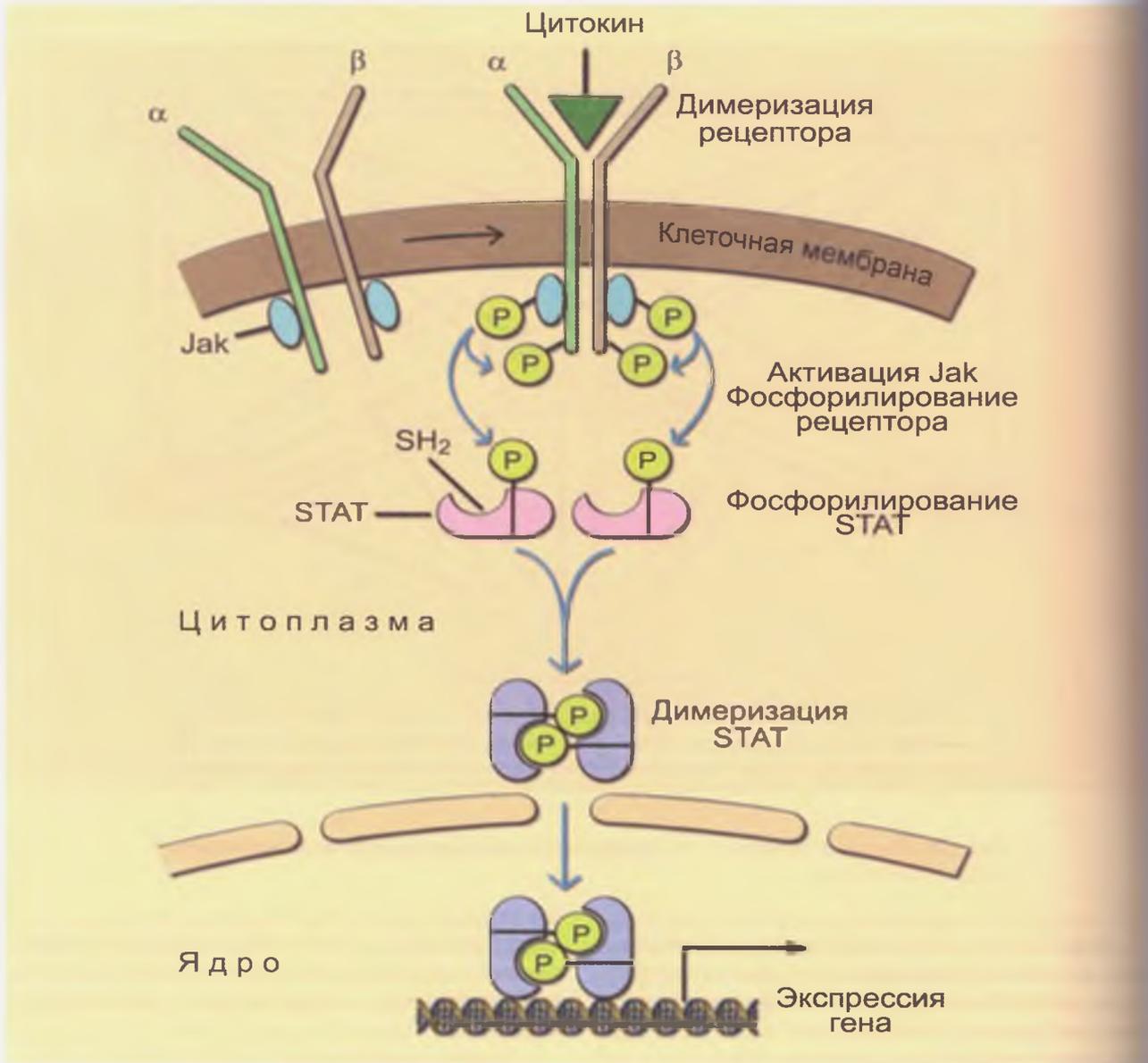


Рис. 325. Принципиальная схема передачи цитокинового сигнала

Как правило, связывание цитокина с рецептором приводит к его ди- или тримеризации. Это вызывает конформационные изменения, передающиеся связанным с полипептидными цепями рецептора тирозинкиназам семейства Jak, что вызывает их фосфорилирование и активацию. Jak-киназы способствуют фосфорилированию цепей рецептора и транскрипционного фактора STAT, который присутствует в цитоплазме в функционально неактивной мономерной форме. Фосфорилирование

STAT обуславливает димеризацию STAT. Димеризация STAT перемещается в ядро и связывается с промоторным участком генов-мишеней цитокинов, вызывая их экспрессию.

Условные обозначения: Jak (*Janus kinase*) — сигнальная тирозинкиназа; STAT (*Signal transduction and activation transcription*) — транскрипционный фактор; SH₂ (*Src-homology domain 2*) — домен, ответственный за взаимодействие фосфорилированных молекул; P — фосфатные группы.

Цитокины	Тирозинкиназы Jak, связанные с рецепторами	Транскрипционные факторы STAT
IL-2, 7, 9, 15, 21	Jak 1, 3	STAT 5A, B
IL-4	Jak 1, 3	STAT 6
IL-13	Jak 1, 2, Tyk 2	STAT 6
IL-3, 5, GM-CSF	Jak 2	STAT 5A, B
IL-6, LIF, OS	Jak 2, Tyk 2	STAT 3
IL-12	Jak 2, Tyk 2	STAT 4
IFN α , β	Jak 2, Tyk 2	STAT 1, 2, 4
IFN γ	Jak 1, Tyk 2	STAT 1
IL-10, 20, 22	Tyk 2	STAT 3

Рис. 326. Участие тирозинкиназ Jak и транскрипционных факторов STAT в передаче сигналов от различных цитокинов

Представлены данные для четырёх киназ Jak и семи факторов STAT. Связь одних и тех же Jak-киназ с рецепторами для большой группы цитокинов объясняется общностью γ -цепи этих рецепторов, с которой связаны названные киназы.

Условные обозначения: см. рис. 289; LIF (*Leukemia-inhibiting factor*) — фактор, ингибирующий развитие лейкоза; OSM (*oncostatin M*) — онкостатин M.

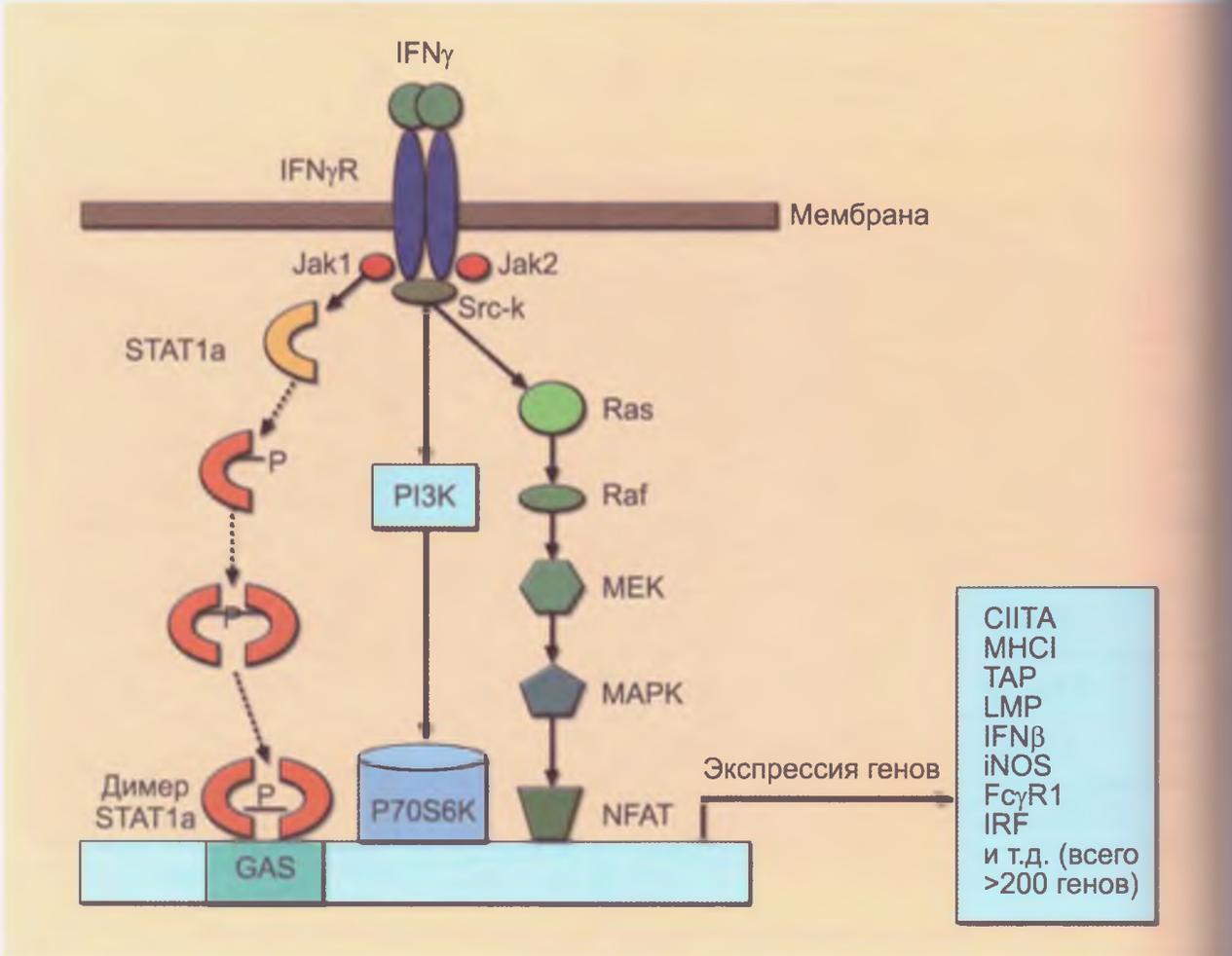


Рис. 327. Рецепция и передача сигнала от интерферона γ

Передача сигналов от рецептора для $\text{IFN}\gamma$, как и при действии других цитокинов, идёт по нескольким параллельным путям. Это обуславливает образование нескольких транскрипционных факторов, необходимых для экспрессии генов-мишеней. Одна из этих линий отражена в общем виде на рис. 305. На данном рисунке конкретизированы Jak-киназы и факторы STAT, вовлеченные в сигнализацию при действии $\text{IFN}\gamma$. Второй сигнальный путь представляет собой Ras-зависимый фраг-

мент MAP-каскада. Его конечным результатом является формирование фактора NFAT. Третий сигнальный путь включается с участием киназы PI3K и приводит к образованию транскрипционного фактора P70S6K.

Справа представлен список наиболее важных генов, индуцируемых при действии $\text{IFN}\gamma$.

Условные обозначения: см. рис. 315, 325. Названия сигнальных молекул и генов не нуждаются в расшифровке.

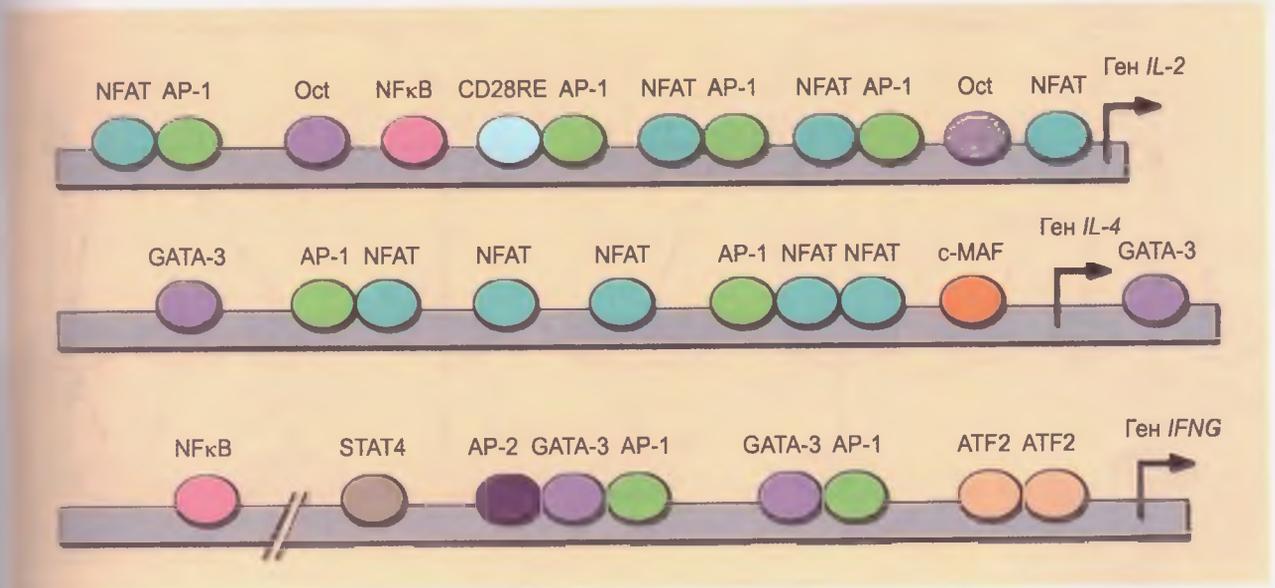


Рис. 328. Схема расположения связывающих участков в промоторах генов *IL-2*, *IL-4* и *IFNG*

Представлены схемы промоторов генов трёх Т-клеточных цитокинов с указанием участков связывания различных транскрипционных факторов.

Обращает на себя внимание множественность сайтов связывания NFAT, AP-1, GATA-3 и ряда других факторов.

Условные обозначения: см. рис. 307; GATA-3 — член семейства транскрипционных факторов, связывающихся с последовательностью GATA; MAF — онкоген из *musculoaponeurotic fibrosarcoma virus*; ATF (*Activating transcription factor*), CD28RE (*CD28 — responsive element*), Oct (*octomer*) — транскрипционные факторы.

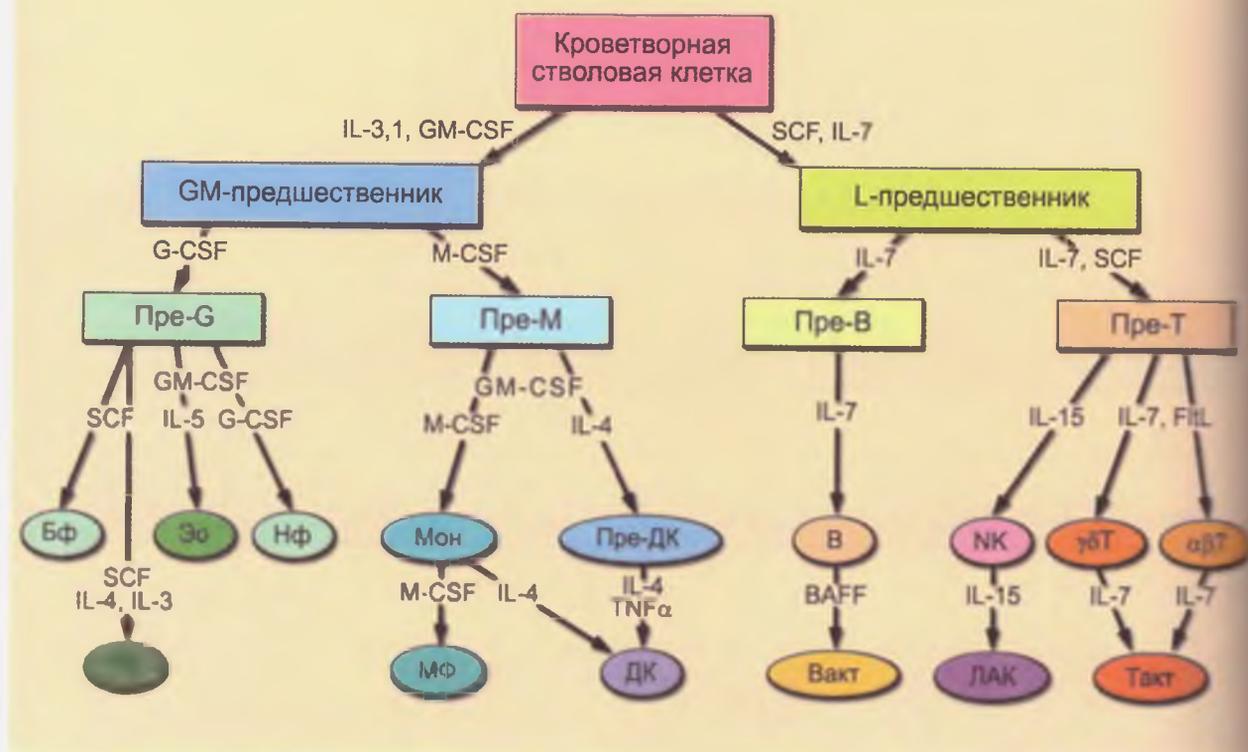


Рис. 329. Цитокиновый контроль гемопоэза

В процессе гемопоэза цитокины выступают в качестве факторов выживания и роста дифференцирующихся клеток-предшественников и их потомков, но не являются дифференцировочными факторами. Один и тот же цитокин может действовать на разных уровнях и в разных рядах дифференцировки. В миелоидном ряду проявляется правило, согласно которому влияние цитокинов (например, IL-3, GM-CSF), действующих на ранних этапах развития клеток, сохраняется на поздних этапах развития, когда к «ранним» цитокинам присоединяются более специализированные факторы (такие, как G-CSF, M-CSF). В лимфоидном ряду первоначальное преобладание эффекта SCF постепенно замещается универсальным действием IL-7, а на поздних этапах доминирующими наряду с IL-7 становятся линейно-специфические факторы. Цитокины, контролирующие рост и выживание ге-

мопоэтических клеток, показаны около стрел, указывающих направление дифференцировки клеток-предшественников.

Условные обозначения: Бф — базофил; Эо — эозинофил; Нф — нейтрофил; Мон — моноцит; МФ — макрофаг; ТК — тучная клетка; ДК — дендритная клетка; ЛАК — лимфокин-активированный киллер; Вакт, Такт — активированные формы соответственно, В- и Т-клеток; GM-предшественник — предшественник нейтрофильных гранулоцитов и МН; пре-G — предшественник нейтрофильных гранулоцитов; пре-M — предшественник моноцитов/макрофагов; L-предшественник — предшественник лимфоцитов. Сокращения цитокинов — см. рис. 315; SCF — *Stem cell factor*; FcγR1L — *Fms-like tyrosinekinase*; BAFF — *B-cell activating factor belonging to the TNF family*.

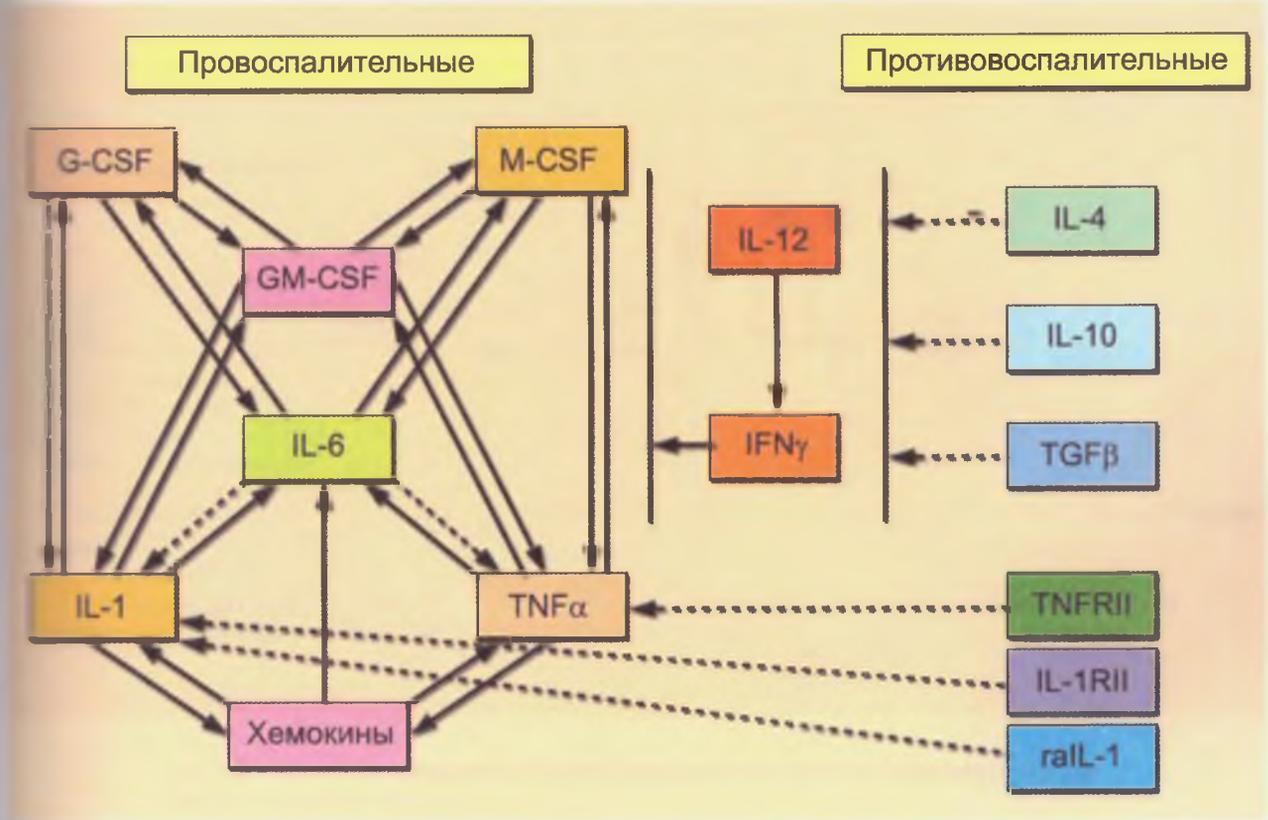


Рис. 330. Провоспалительные и противовоспалительные цитокины

В левой части представлена сеть провоспалительных цитокинов (см. рис. 324). По центру помещены цитокины, вызывающие иммунное воспаление (IL-12 и IFN γ). В правой части расположены противовоспалительные цитокины, регулирующие воспаление через действие на IL-12 и IFN γ (правая верхняя часть рисунка) и действующие непосредственно на компоненты провоспалительной цитокиновой сети (правая нижняя

часть рисунка). Сплошными линиями помечены усиливающие, прерывистыми — ингибирующие влияния.

Условные обозначения: см. рис. 315; TNFRII — рецептор фактора некроза опухоли (TNF) 2-го типа; IL-1RII — рецептор интерлейкина 1 (IL-1) 2-го типа; raIL-1 (*receptor antagonist of IL-1*) — рецепторный антагонист интерлейкина 1.

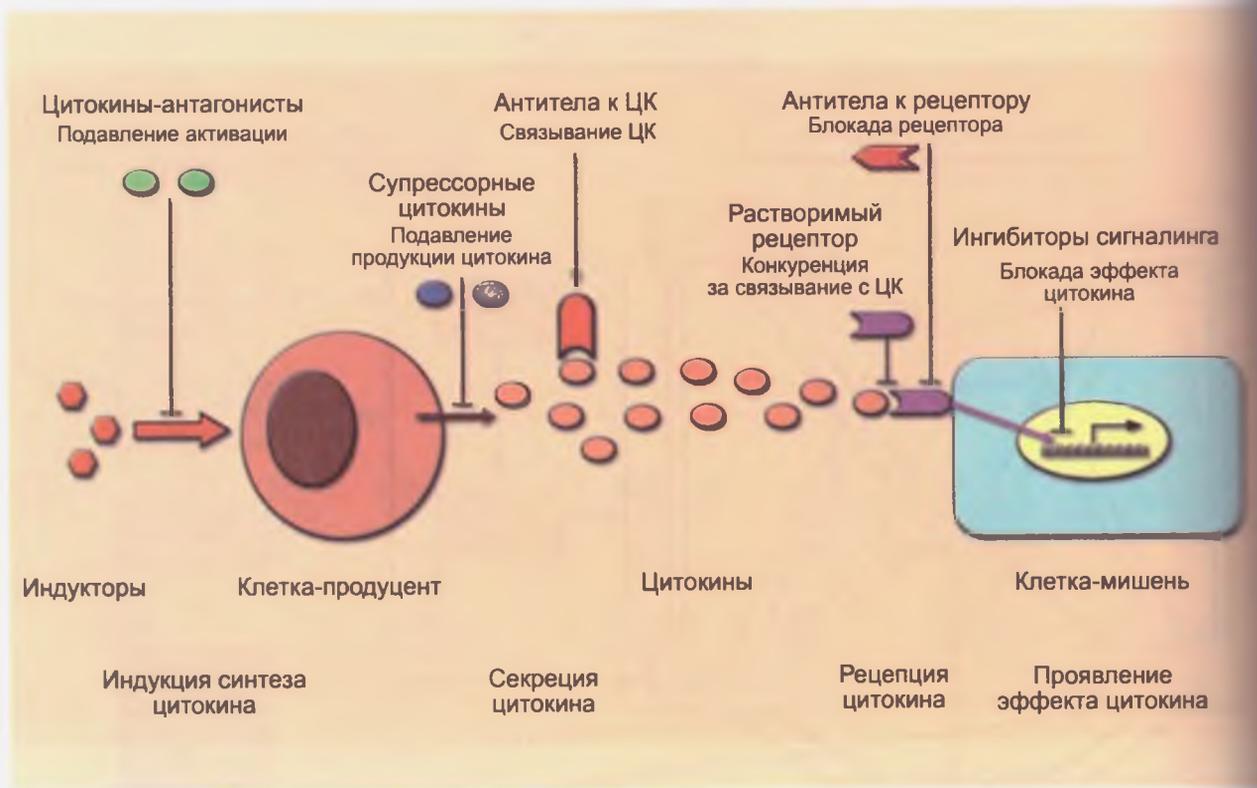


Рис. 331. Принципы, лежащие в основе антицитокиновой терапии

Терапевтические агенты, направленные на ослабление действия цитокинов, могут реализовать своё действие на разных уровнях: подавлять синтез или секрецию цитокина, связывать секретирован-

ный цитокин, конкурировать с ним за взаимодействие с рецептором на клетке-мишени и блокировать передачу сигнала с цитокинового рецептора в клетку-мишень.

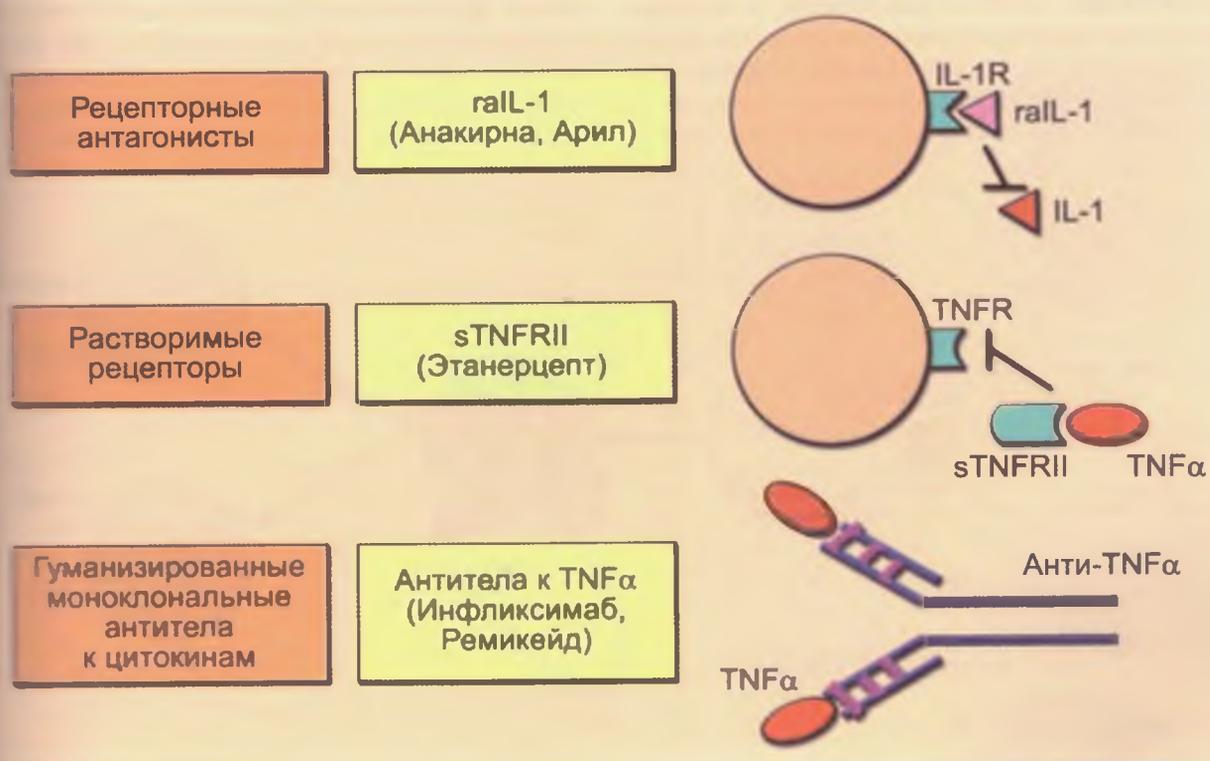


Рис. 332. Средства антицитокиновой терапии и принципы их использования при воспалительных процессах

В клинической практике используют терапевтические подходы, направленные на нейтрализацию действия двух воспалительных цитокинов — IL-1β и TNF. В первом случае используют рекомбинантные формы рецепторного антагониста raIL-1,

во втором — рекомбинантные растворимые рецепторы TNFR II и гуманизированные (см. рис. 454) моноклональные антитела к TNF.

Условные обозначения: см. рис. 315, 330.

2.3.6. АКТИВАЦИЯ, ПРОЛИФЕРАЦИЯ И ДИФФЕРЕНЦИРОВКА Т-ХЕЛПЕРОВ. РОЛЬ ЦИТОКИНОВ

Т-хелперы являются теми клетками, которые воспринимают сигнал о поступлении в организм чужеродных агентов от клеток врождённого иммунитета. Они первыми среди лимфоцитов активируются и определяют пути дальнейшего вовлечения в иммунный ответ различных субпопуляций лимфо-

идных клеток и направление развития иммунного ответа. Это происходит с участием нескольких адаптивных субпопуляций Т-хелперов (Th1, Th2, Th17), которые вовлекают в иммунный ответ другие клетки и обеспечивают защиту от патогенов, отличающихся по локализации в клетках и вне клеток.

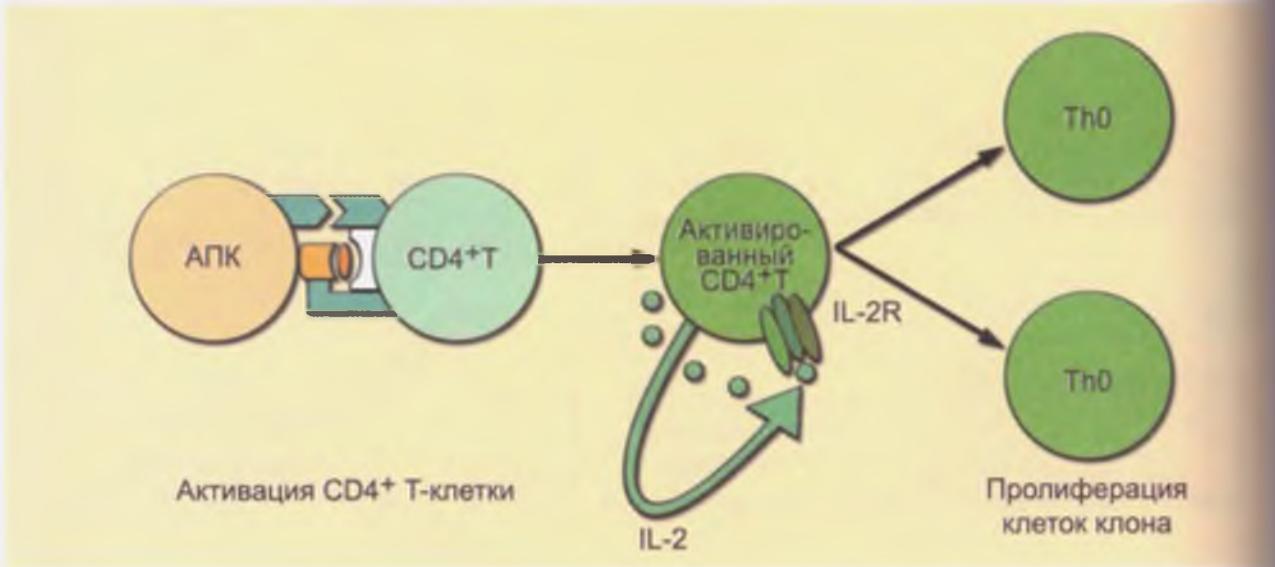


Рис. 333. IL-2-зависимая пролиферация CD4⁺ Т-клеток клона, вовлекаемого в иммунный ответ

Секреция интерлейкина 2 (IL-2) и экспрессия высокоаффинного рецептора IL-2R являются основными результатами активации Т-клеток через TCR и костимулирующую молекулу CD28. IL-2 является основным фактором роста Т-лимфоцитов. Он действует в значительной степени аутокринно, т.е. цитокин, выделяемый клеткой, воздействует на рецепторы, локализованные на той же клетке, а также на других клетках той же популяции. Результатом является пролиферация Т-лимфоцитов, принадлежащих к клону, отобранному АГ для реализации иммунного ответа. Этот процесс имеет особое значение, поскольку исходная чис-

ленность клеток в каждом конкретном клоне невелика (в селезёнке мышей — около 10 клеток), и поэтому, чтобы иммунный ответ оказался результативным, эта численность должна существенно возрасти. В связи с этим IL-2-индуцированная пролиферация CD4⁺ Т-клеток специфических клонов является следующим этапным событием после презентации АГ этим клеткам. В Т-клетках, образующихся в ходе пролиферации, проявляется на очень низком уровне экспрессия ряда цитокинов. Такие клетки обозначают как Th0 (*T-helpers 0*).

Условные обозначения: АПК — антигенпрезентирующая клетка.

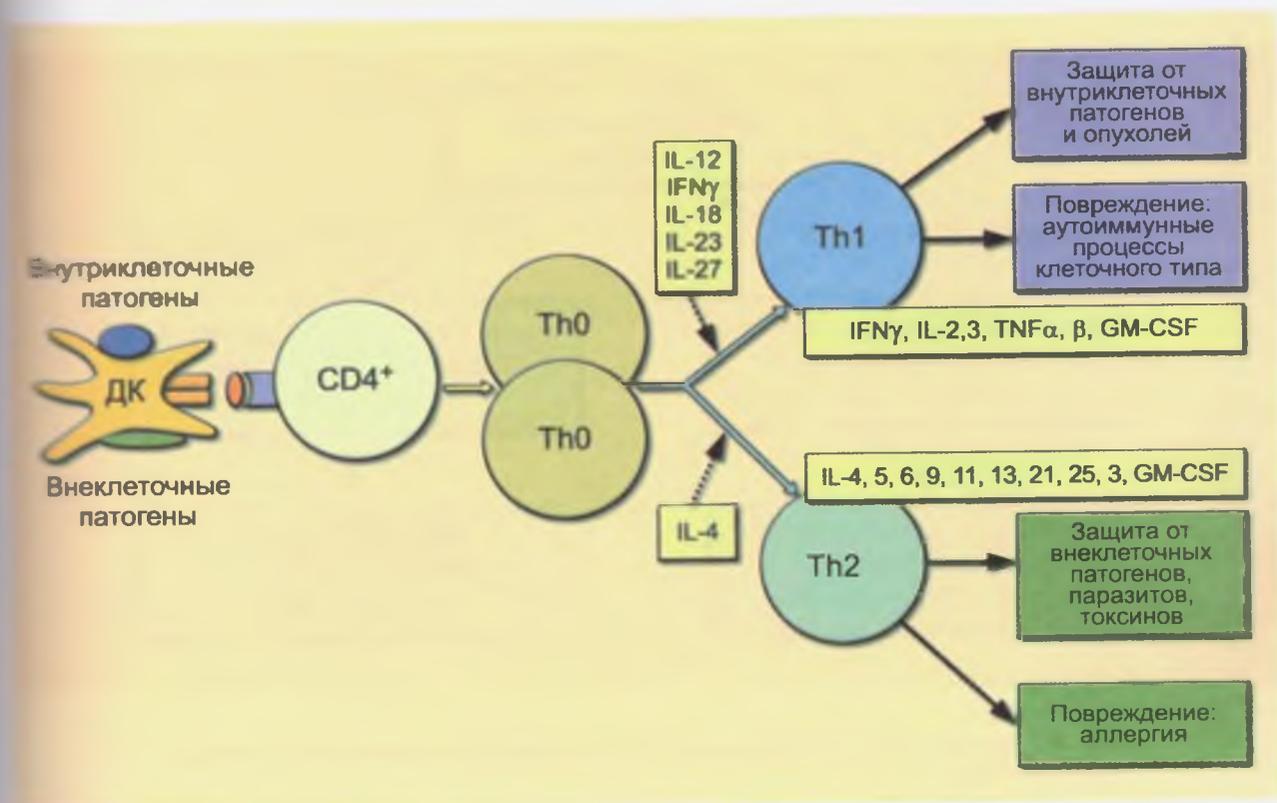


Рис. 334. Дифференцировка Т-хелперов

После завершения IL-2-зависимой пролиферации, индуцированной в процессе презентации антигена, Th0-клетки подвергаются дифференцировке на две основные субпопуляции: Th1- и Th2-клетки. Направление дифференцировки определяется характером антигенного стимула (см. также рис. 338). Селекция Th1- и Th2-клеток осуществляется с помощью цитокинов, преимущественно выделяемых дендритными клетками (см. рис. 338, 341,

342). Главное различие Th1- и Th2-клеток состоит в спектрах секретируемых ими цитокинов, которые определяют, с одной стороны, физиологические функции этих форм Т-хелперов, с другой стороны — варианты патологии, развивающейся при несбалансированном преобладании одного из этих вариантов клеток.

Условные обозначения: ДК — дендритные клетки; обозначения цитокинов — см. рис. 315.

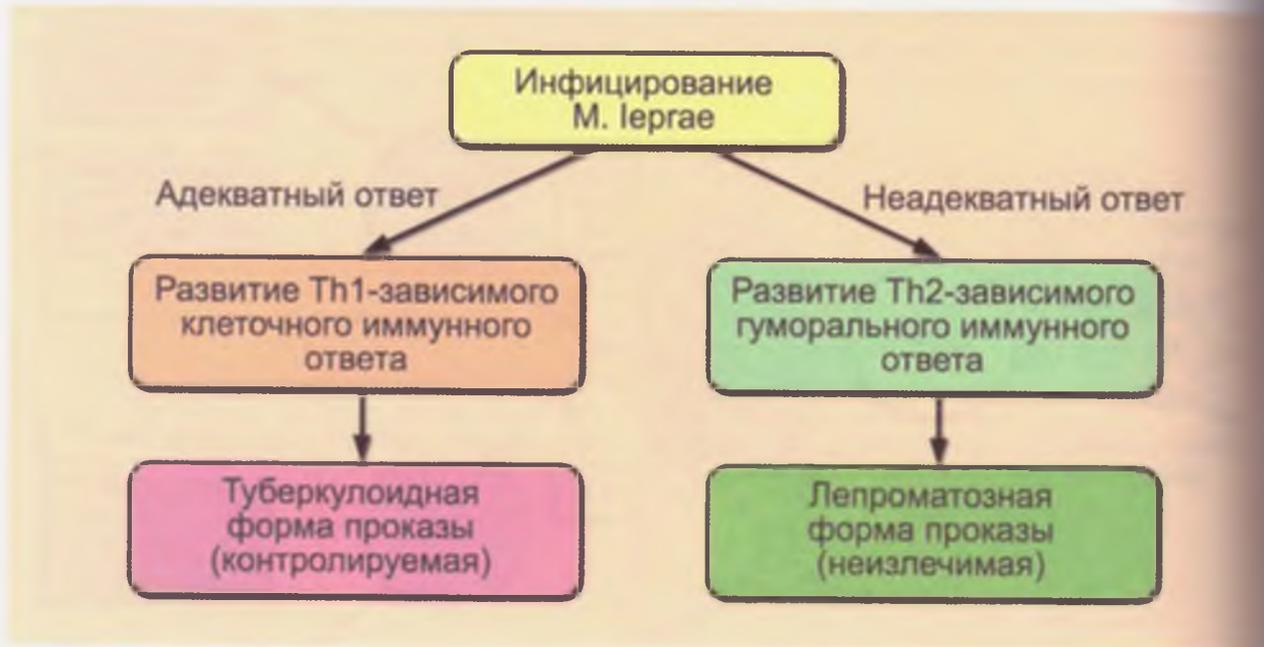


Рис. 335. Роль адекватной дифференцировки Т-хелперов в обеспечении эффективной иммунной защиты

При инфицировании микобактериями проказы (*M. leprae*) дифференцировка Т-хелперов может пойти как по Th1-пути, так и по Th2-пути. Микобактерии являются внутриклеточными патогенами, локализуясь в цитоплазматических гранулах. Главным фактором иммунной защиты от них являются МФ, активируемые $IFN\gamma$, которые вырабатывают Th1-клетки. Следовательно, адекватной формой дифференцировки Т-хелперов при

проказе является дифференцировка в Th1-клетки. Такое направление иммунного ответа обуславливает более благоприятное течение заболевания в туберкулоидному типу. $IL-4$, вырабатываемая Th2-клетками, подавляет выработку $IFN\gamma$, поэтому Th2-зависимый иммунный ответ при проказе является адекватным; клинически это проявляется в развитии тяжёлой лепроматозной формы проказы.

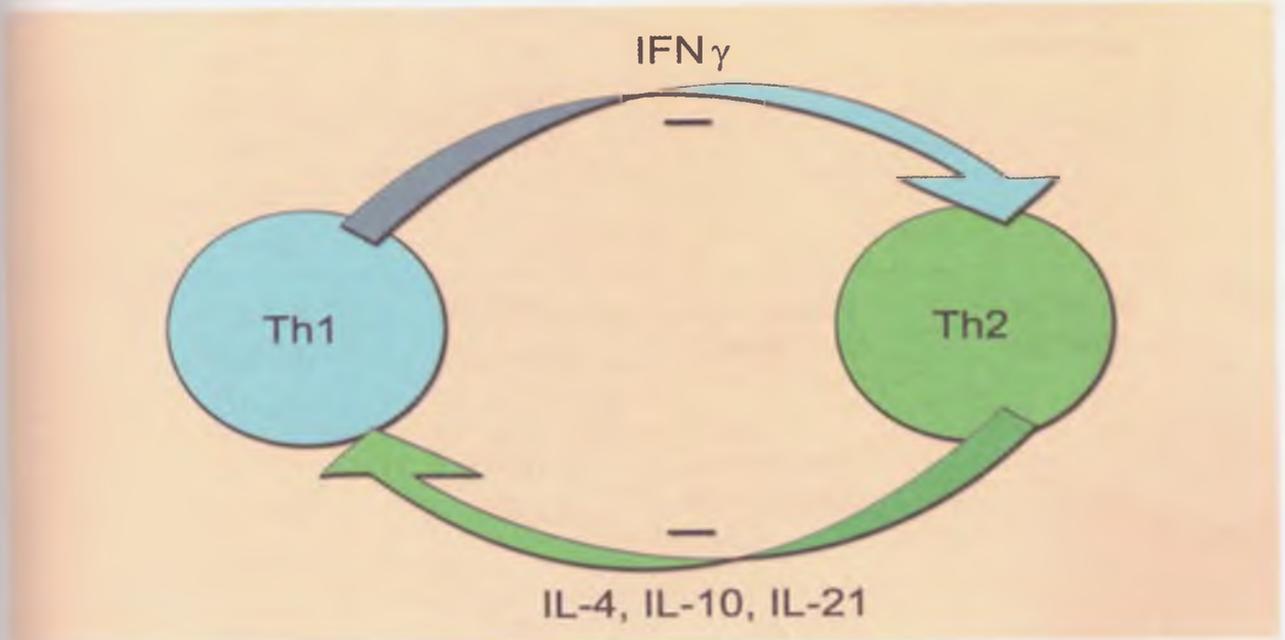


Рис. 336. Взаимное ингибирование Th1- и Th2-клеток опосредуется цитокинами

Субпопуляции Th1- и Th2-клеток находятся в конкурентных взаимоотношениях. Некоторые из выделяемых ими цитокинов ингибируют развитие клеток противоположного типа.

Показатель		Th1-клетки	Th2-клетки
Продуцируемые цитокины		IFN γ IL-2 TNF β (TNF α)	IL-4 IL-5 IL-13 IL-21 IL-9 (IL-6)
Мембранные маркеры	Рецепторы цитокинов	IL-12R β 1 β 2 IFN γ R1	IL-12 β 1 IFN γ R1R2 IL-1R
	Рецепторы хемокинов	CXCR3 CCR5	CCR3 CCR4 CCR8
	Другие маркеры	Tim3 CD94/NKG2 (LAG3)	(CD30)
Внутриклеточные маркеры	Транскрипционные факторы	T-bet	GATA-3

Рис. 337. Маркерные цитокины и рецепторы Th1- и Th2-клеток

Основными маркерами, позволяющими дифференцировать Th1- и Th2-клетки, являются продуцируемые ими цитокины. Среди мембранных молекул в качестве маркерных могут служить рецепторы для цитокинов (некоторые из них могут быть неполными, т.е. не иметь одной из цепей) на одной из разновидностей Т-хелперов. Различные спектры хемокиновых рецепторов определяют осо-

бенности путей миграции этих клеток. Известны также ряд мембранных маркеров иной природы, функция которых не всегда выяснена.

Условные обозначения: см. рис. 315, 336. T-bet — *T-box expressed in T-cells*. В скобки заключены обозначения тех молекул, маркерную роль которых нельзя считать абсолютной или она недостаточно строго доказана.

Фактор	Преобладание Th1	Преобладание Th2
Антиген: доза сродство к TCR	Промежуточная Высокое	Высокая или низкая Низкое
Цитокины	IL-12, 18, 23, 27, IFN γ , IFN α	IL-4
Гормоны, медиаторы	Дигидроэпиандростерон, релаксан	Глюкокортикоиды, прогестерон, дигидрооксивитамин D
Адьюванты	Полный адьювант Фрейнда	Алюминиевые квасцы, столбнячный анатоксин
Микроорганизмы	Лейшмании, трипаносомы, хламидии, микобактерии, бордетеллы, бореллии, геликобактер, кандида, вирус гриппа	Шистосомы, токсокары, вирусы оспы, кори
Продукты патогенов, аллергены	Бактериальная ДНК, двуспиральная РНК, липополисахариды, суперантигены	Аллергены, протеазы паразитов

Рис. 338. Факторы, определяющие преобладание иммунного ответа Th1- или Th2-типа

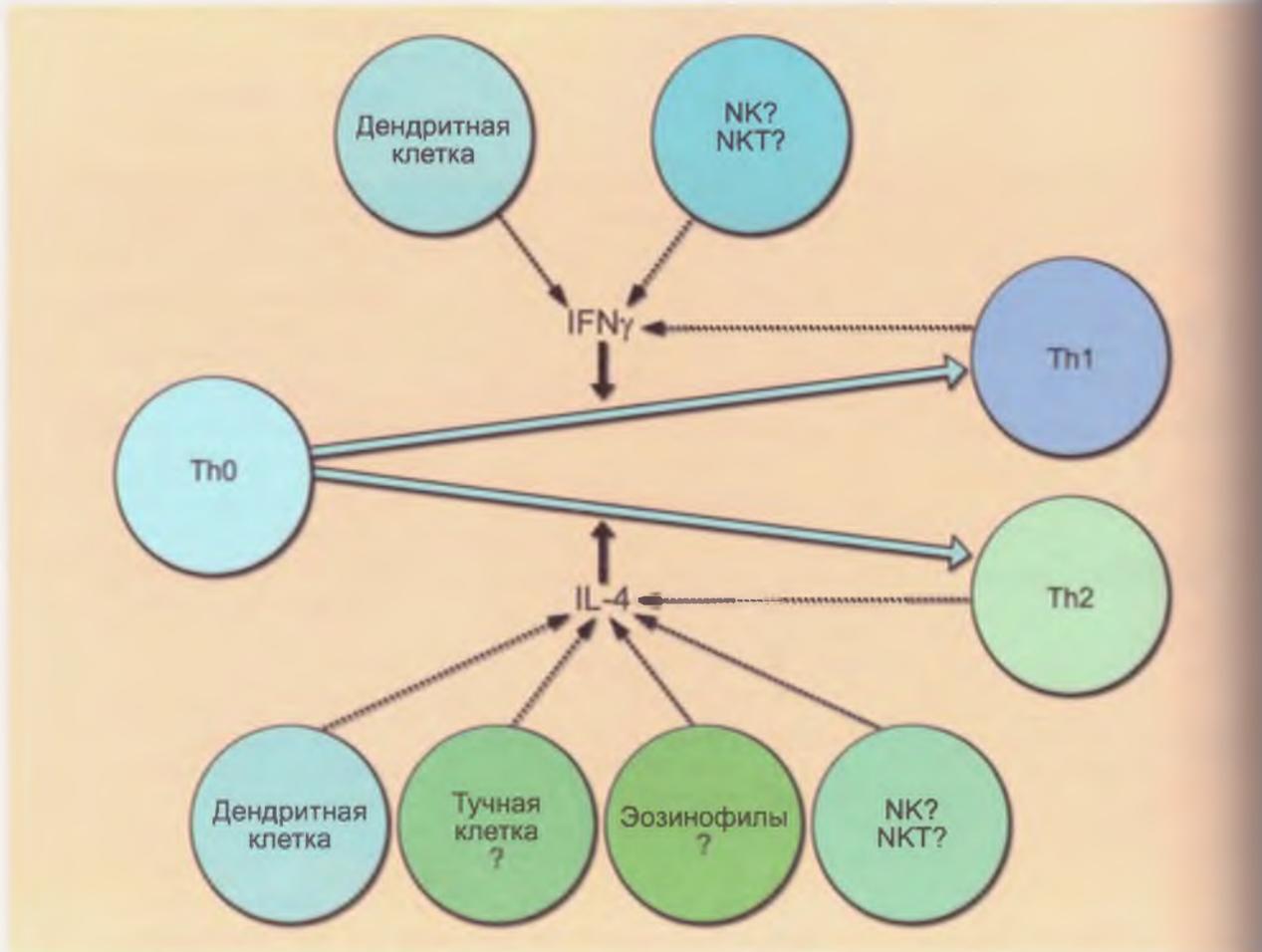


Рис. 339. Источники цитокинов, контролирующих дифференцировку Th1- и Th2-клеток

Главным источником цитокинов для поддержания дифференцировки Th1- и Th2-клеток, по-видимому, служат ДК. При развившемся иммунном ответе цитокины выделяют сами Th1- и Th2-клетки. При запуске дифференцировки в

начале иммунного ответа источником цитокинов-индукторов могут быть NKT-клетки, а при дифференцировке Th2-клеток — также ТК, ЭО и NK-клетки. Вопросы означают недостаточную доказанность.

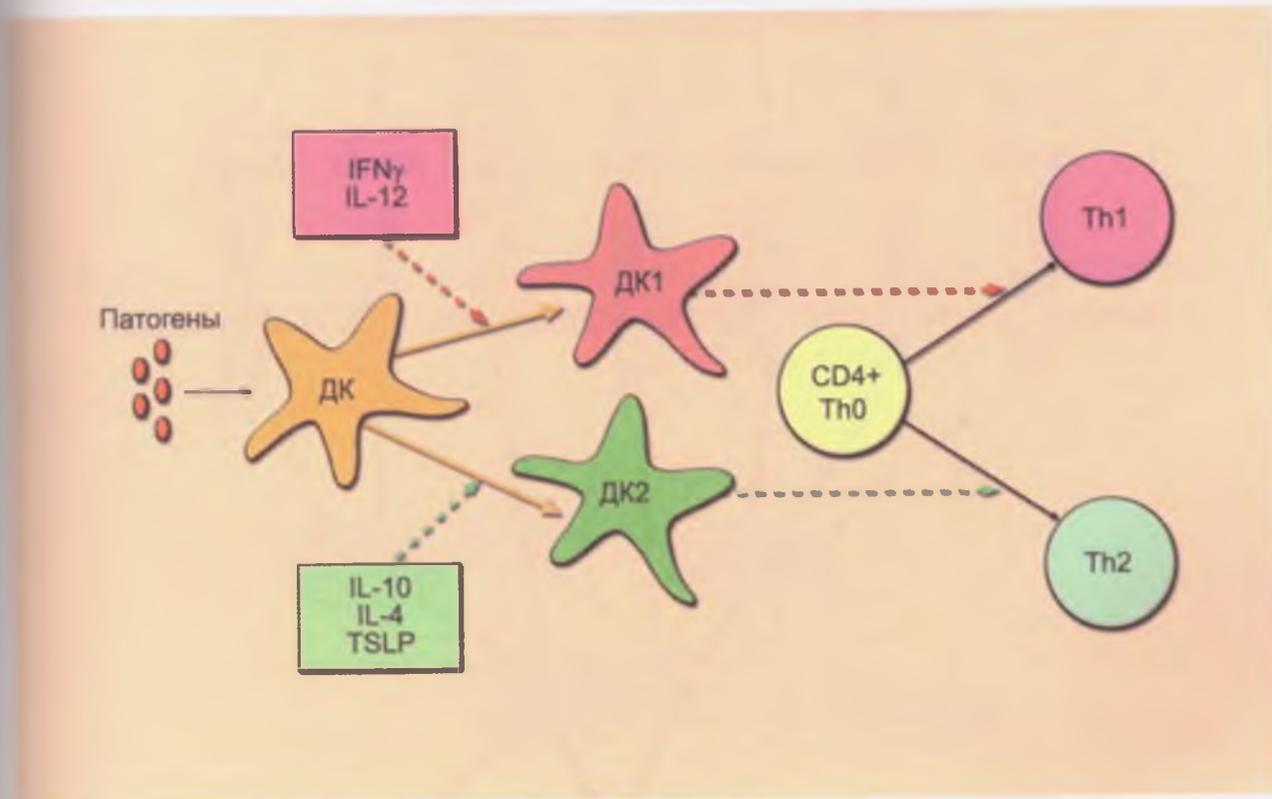


Рис. 340. Роль дендритных клеток в выборе направления дифференцировки Т-хелперов

Решающую роль в определении пути дифференцировки Т-хелперов играют ДК, которые служат источником сигналов, опосредованных межклеточными контактами и цитокинами, которые они вырабатывают. Сами ДК дифференцируются на две разновидности: ДК1 и ДК2 под влиянием

микробных стимулов и цитокинов, источником которых могут быть они сами, а также МФ, ТК и зрелые Т-хелперы (Th1 или Th2).

Условные обозначения: ДК — дендритная клетка; TSLP (*Thymic stromal lymphopoietin*) — лимфопоэтин из стромы тимуса.

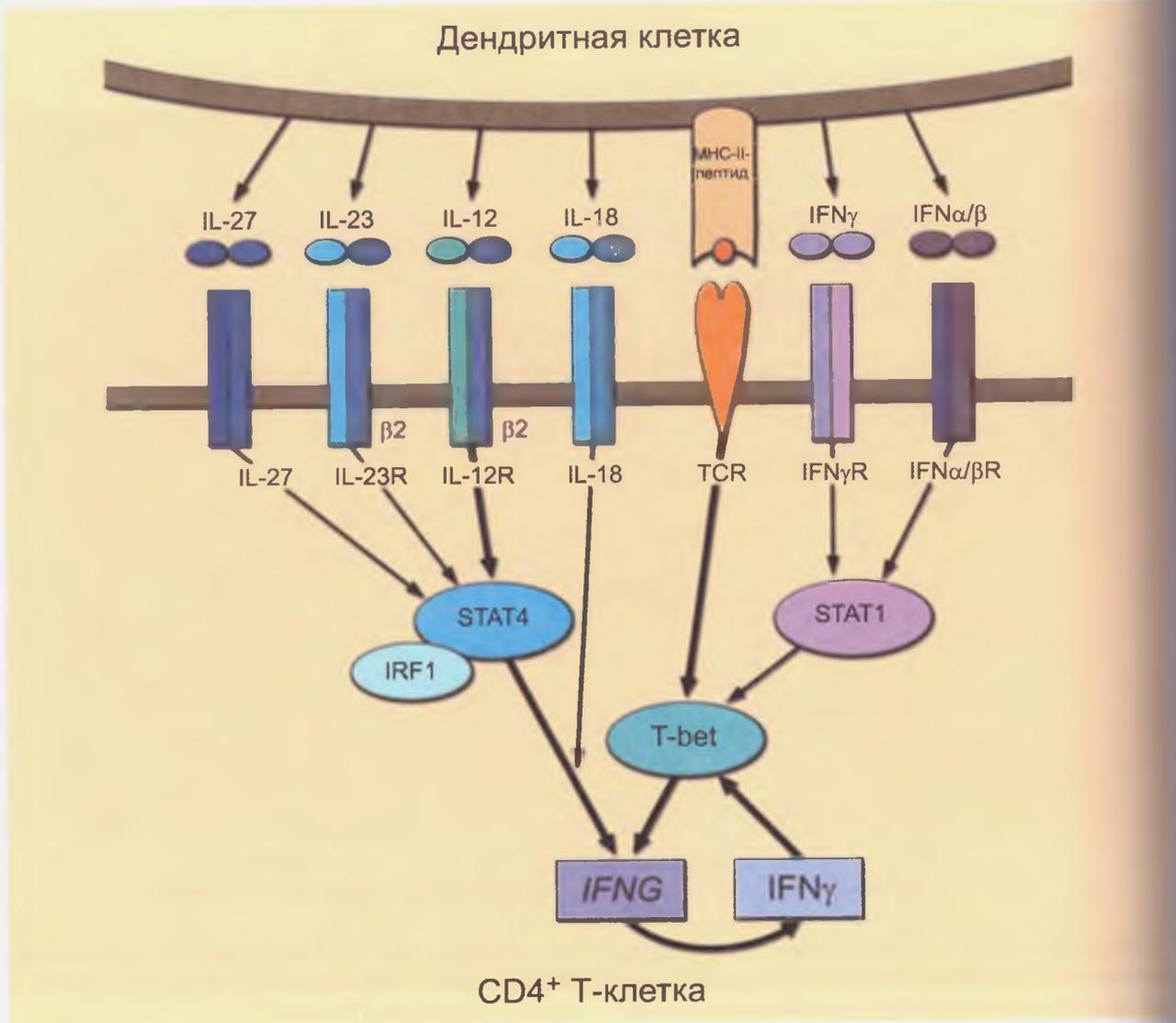


Рис. 341. Внеклеточные и внутриклеточные факторы, участвующие в индукции Th1-клеток

Показаны основные цитокины, участвующие в индукции дифференцировки Th1-клеток, сигналы, поступающие от рецепторов этих цитокинов, и их влияние на формирование транскрипционных факторов, необходимых для экспрессии гена *IFNG*. Важную роль в дифференцировке Th1-клеток играют транскрипционные факторы STAT4 и STAT1, индуцируемые, соответственно, IL-12 и IFN γ . Однако основным и наиболее специфичным внутриклеточным фактором в рассматриваемом процессе является T-bet, который ин-

дуцируется под влиянием сигналов, поступающих от TCR, а также от рецептора для IFN γ . Указанные процессы усиливаются цитокинами, продуцируемыми дендритными клетками — IL-23, IL-27, IL-12, IFN α/β . Индукция экспрессии гена *IFNG* усиливается эффектом обратной связи — фактор T-bet индуцирует экспрессию гена *IFNG*, продукт этого гена IFN γ через посредство своего рецептора и фактора STAT1 усиливает экспрессию T-bet.

Условные обозначения: см. рис. 315, 328.

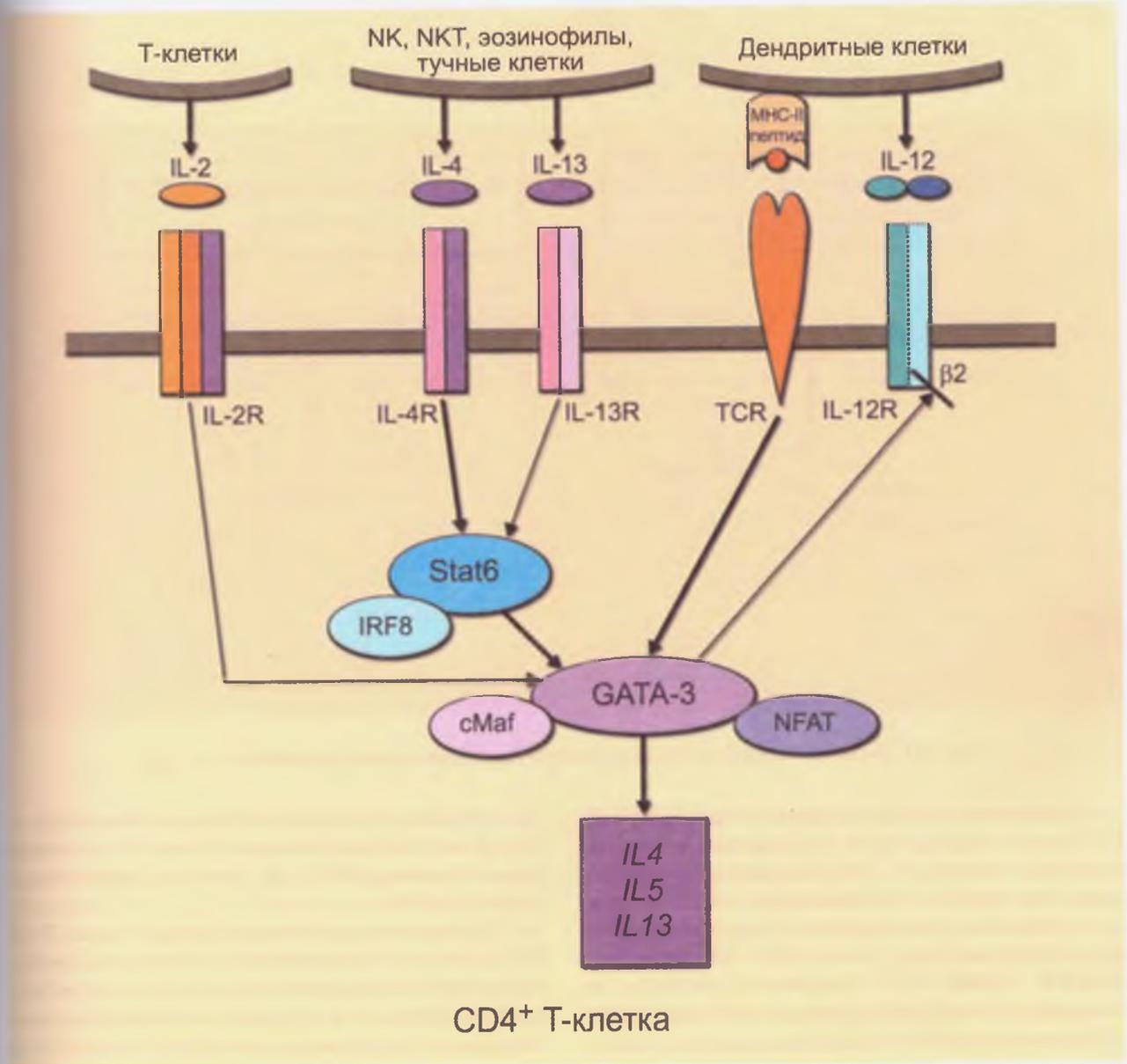


Рис. 342. Внеклеточные и внутриклеточные факторы, участвующие в индукции Th2-клеток

Спектр цитокинов, индуцирующих процесс дифференцировки Th2-клеток, уже, чем в случае индукции клеток Th1: он включает IL-4, IL-13, IL-2, а также (в качестве вспомогательного фактора) IL-2. Их источником могут служить несколько типов клеток. Основными транскрипционными факторами, определяющими дифференцировку Th2-клеток, являются STAT6 и GATA-3 (послед-

нему принадлежит ведущая роль). GATA-3 регулирует активность генов Th2-цитокинов IL-4, IL-5, IL-13, связываясь с их промотором. Кроме того, GATA-3 блокирует экспрессию β2-цепи рецептора для IL-12, что делает невозможным получение сигналов от IL-12 к передифференцировке в Th1-клетки.

Условные обозначения: см. рис. 315, 328.

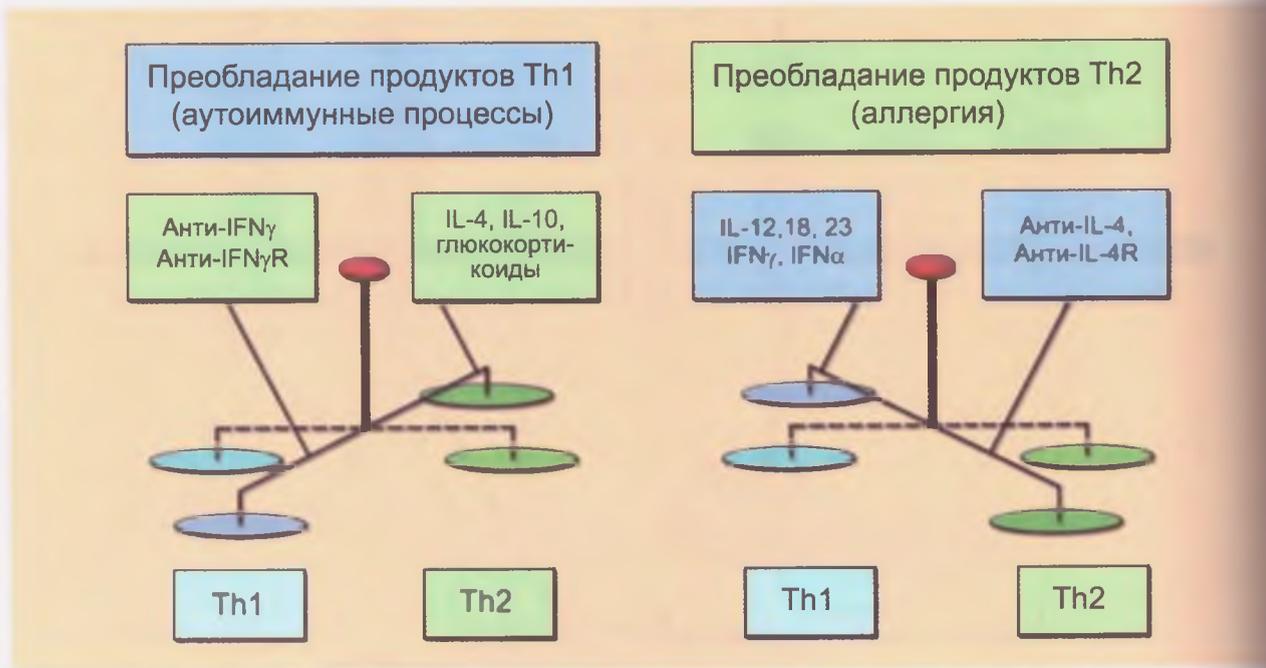


Рис. 343. Дисбалансы соотношения клеток Th1/Th2 и принципы их коррекции

В условиях нормы дифференцировка Th1- и Th2-клеток определяется функциональными запросами, так как АГ, индуцирующие иммунный ответ, как правило, обеспечивают его развитие в направлении формирования тех типов эффекторных клеток, которые (сами по себе или через посредство гуморальных продуктов) участвуют в протективном эффекте. Несбалансированное преобладание эффектов Th1-клеток означает гиперпродукцию $IFN\gamma$ и других цитокинов, способствующих развитию иммунного воспаления, которое является основой клеточной аутоиммунной патологии — органоспецифических и некоторых системных аутоиммунных процессов. Преобладание влияния Th2-клеток приводит к гиперпродукции

$IL-4$, $IL-5$, $IL-13$ и других цитокинов, способствующих развитию аллергии немедленного типа через влияние на выработку IgE-антител, дифференцировку ТК и ЭО.

Подходы к коррекции дисбалансов клеток Th1/Th2 основаны на воздействиях, оппозитных преобладающему типу цитокинов: при избыточном количестве продуктов Th1-клеток необходимо воздействовать цитокинами, продуцируемыми Th2-клетками, или антителами к Th1-цитокинам или их рецепторам. Преобладание Th2-цитокинов требует противоположных воздействий. Пунктиром показано сбалансированное соотношение Th1/Th2, достижение которого должна быть направлена корригирующая терапия.

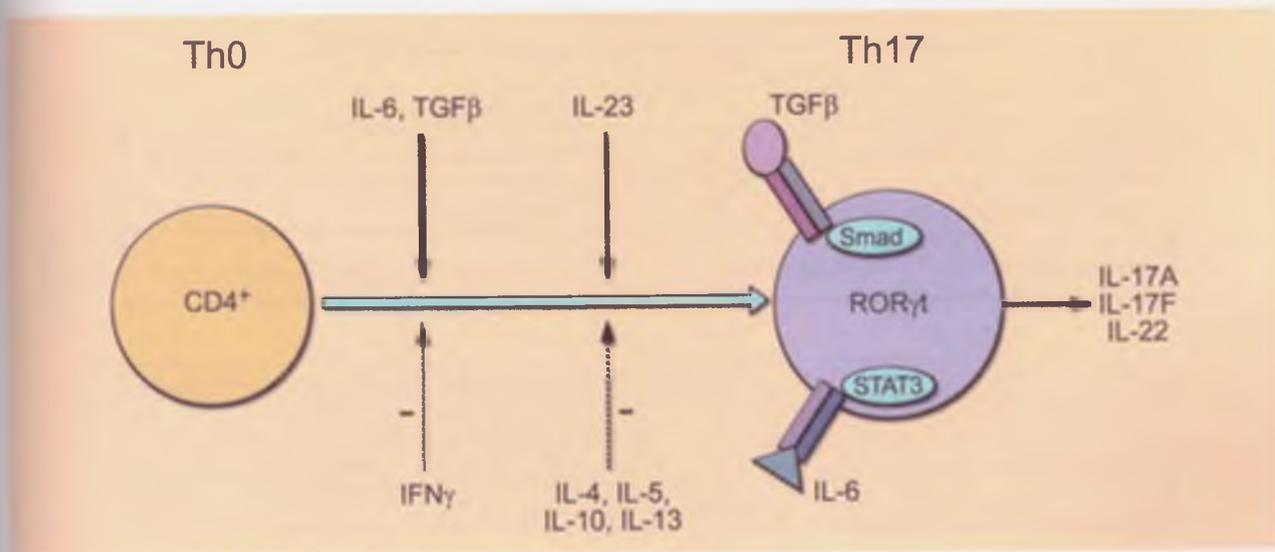


Рис. 344. Th17-клетки. Цитокины и дифференцировочные факторы

Субпопуляция Th17-клеток развивается независимо от Th1- и Th2-клеток при участии других цитокинов (IL-6, TGF β , IL-23). Цитокины, секретируемые Th1- и Th2-клетками, подавляют развитие Th17-клеток (нижний ряд обозначений цитокинов, со знаком «минус»). В овалах внутри изображения Th17-клетки — ключевые факторы сигнализации от рецепторов стимулирующих и ингибирующих цитокинов. ROR γ t — основной дифференцировочный фактор, ответственный за развитие клеток

Th17. Справа — перечень цитокинов, секретируемых этими клетками.

Условные обозначения: см. рис. 315; Smad (комбинация сокращений SMA- и MAD-факторов, соответственно, *C. elegans* и *D. melanogaster*) — транскрипционный фактор, опосредующий сигнализацию, запускаемую TGF β ; ROR γ t (*Retinoid orphan receptor*) — транскрипционный фактор, ответственный за реализацию генетической программы Th17-клеток.

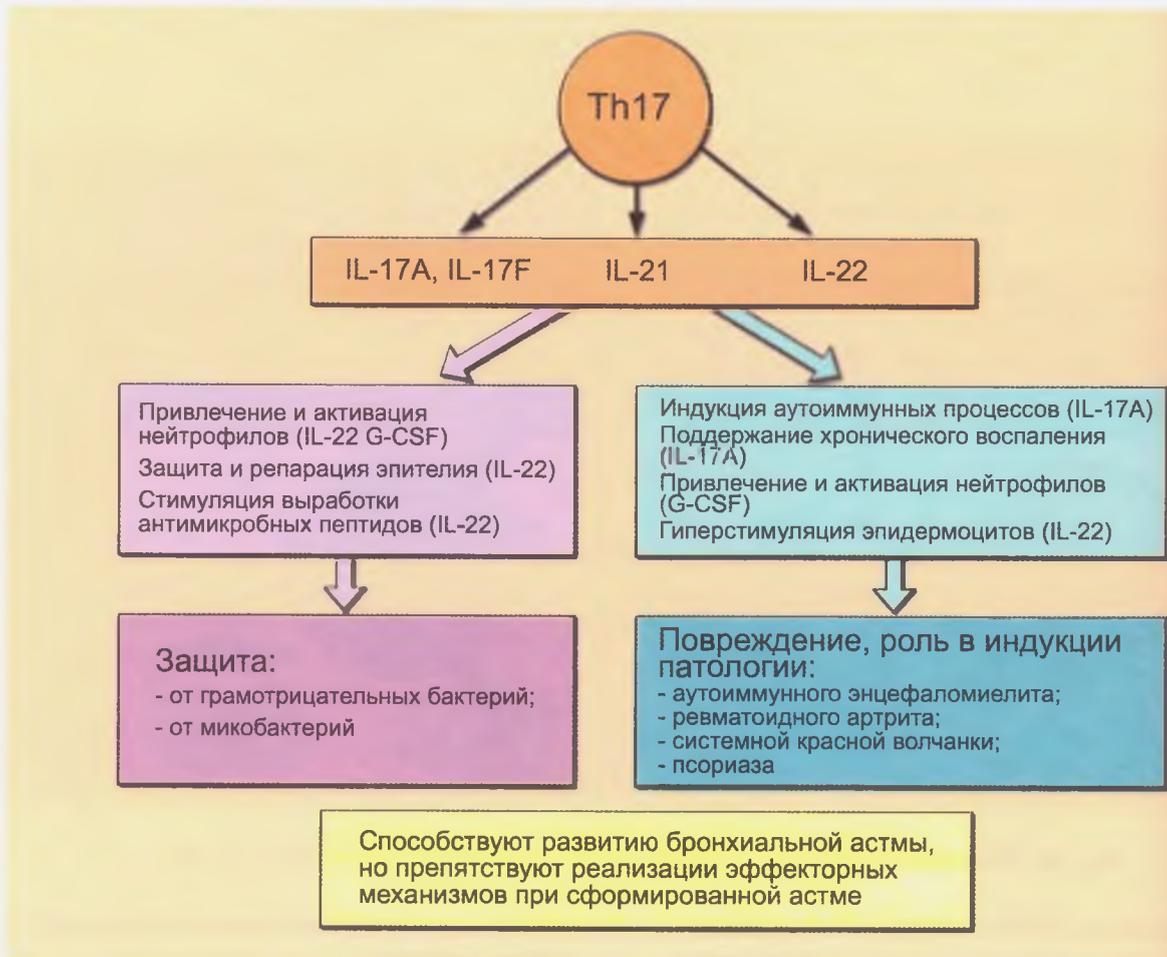


Рис. 345. Роль Th17-клеток в реализации иммунной защиты и иммунного повреждения

Подобно другим типам хелперных Т-лимфоцитов Th17-клетки в силу особенностей их физиологической активности могут участвовать в реализации как иммунной защиты от патогенов, так и в формировании иммунопатологии. То и другое опосредовано по преимуществу цитокинами, секретируемыми этими клетками, особенно IL-17A и IL-22. Так, способность привлекать и активировать НФ, обусловленная стимуляцией выработки G-CSF под влиянием секретируемого Th17-клетками цитокина IL-22, имеет прямое отношение как к защите от грамотрицательных микроорганизмов, так и к развитию повреждения тканей при хроническом воспалении. Причастность Th17-клеток к развитию аутоиммунной патологии свиде-

тельствует об особенностях их антигенраспознающего репертуара: наличие в нём аутоспецифических клонов, а также зависимость развития от TGFβ роднит эти клетки с естественными регуляторными Т-лимфоцитами (см. рис. 424). Однако для реализации этой потенции требуется присутствие Th17-клеткам провоспалительная активность, которая проявляется в поддержании хронического, но не острого воспаления, развитие которого Th17-клетки, скорее, подавляют. С этим связана двойственность влияния Th17-клеток на некоторые типы патологии: они подавляют развитие острого колита, но способствуют развитию хронического аутоиммунного колита, благоприятствуют развитию бронхиальной астмы.

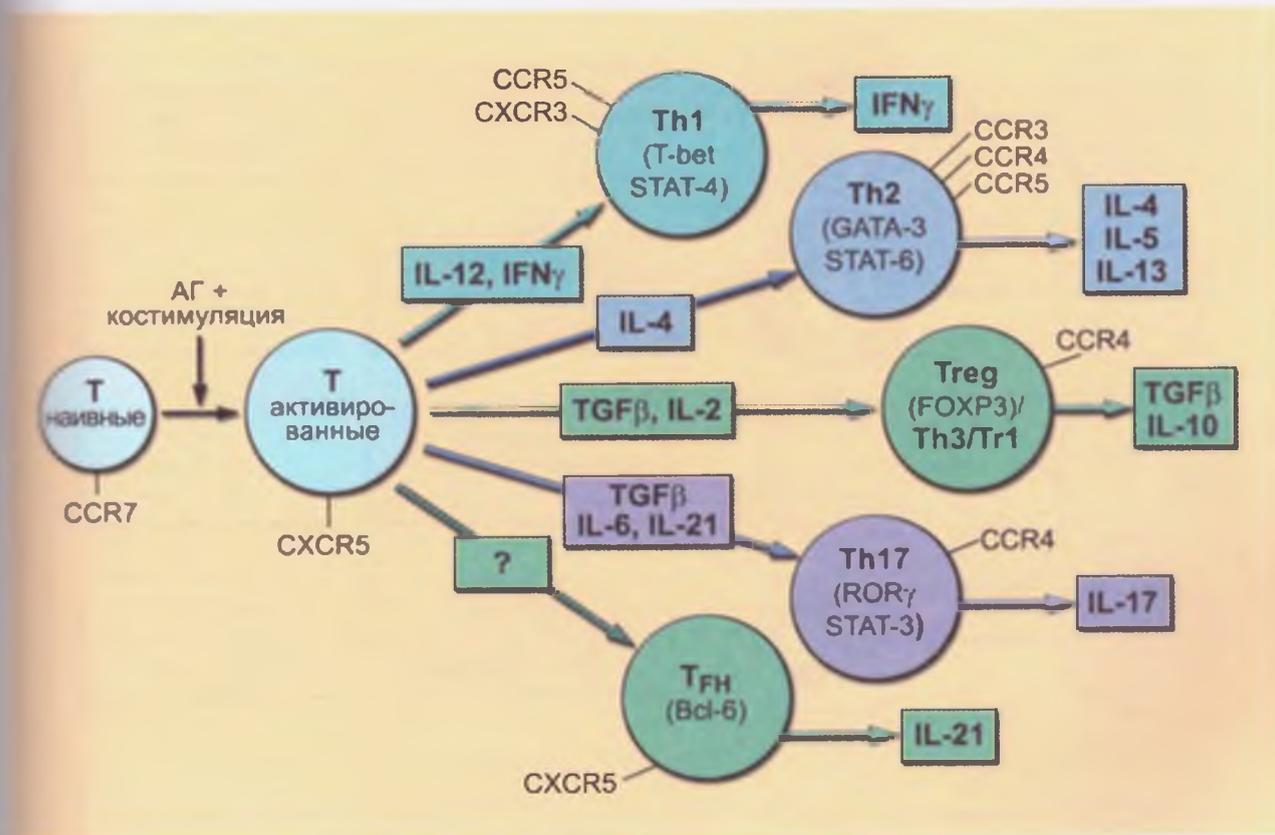


Рис. 346. Адаптивные субпопуляции CD4⁺ Т-клеток (цитокины, дифференцировочные факторы, хемокиновые рецепторы)

Рисунок суммирует современные представления об адаптивных субпопуляциях CD4⁺ Т-клеток, т.е. субпопуляциях, формирующихся при иммунном ответе, а не в ходе естественного развития клеток. Наряду с надёжно обоснованными и хорошо охарактеризованными субпопуляциями Th1-, Th2-, а также Th17-клеток на схеме представлены адаптивные регуляторные Т-клетки (Th3, Tr1, а также адаптивные FOXP3⁺ Treg, образующиеся в ходе иммунного ответа, — см. далее рис. 420) и недавно

идентифицированные фолликулярные Т-хелперы (Т_{FH}). Для всех разновидностей Т-хелперов представлены цитокины-индукторы (на стрелках, ведущих к кружкам, символизирующим клетки), транскрипционные факторы (внутри кружков), хемокиновые рецепторы, направляющие миграцию (около линий, отходящих от «поверхности клетки»), и продуцируемые цитокины (в прямоугольниках, на которые направлены стрелки, отходящие от кружков).

Условные обозначения: см. рис. 315, 328, 343.

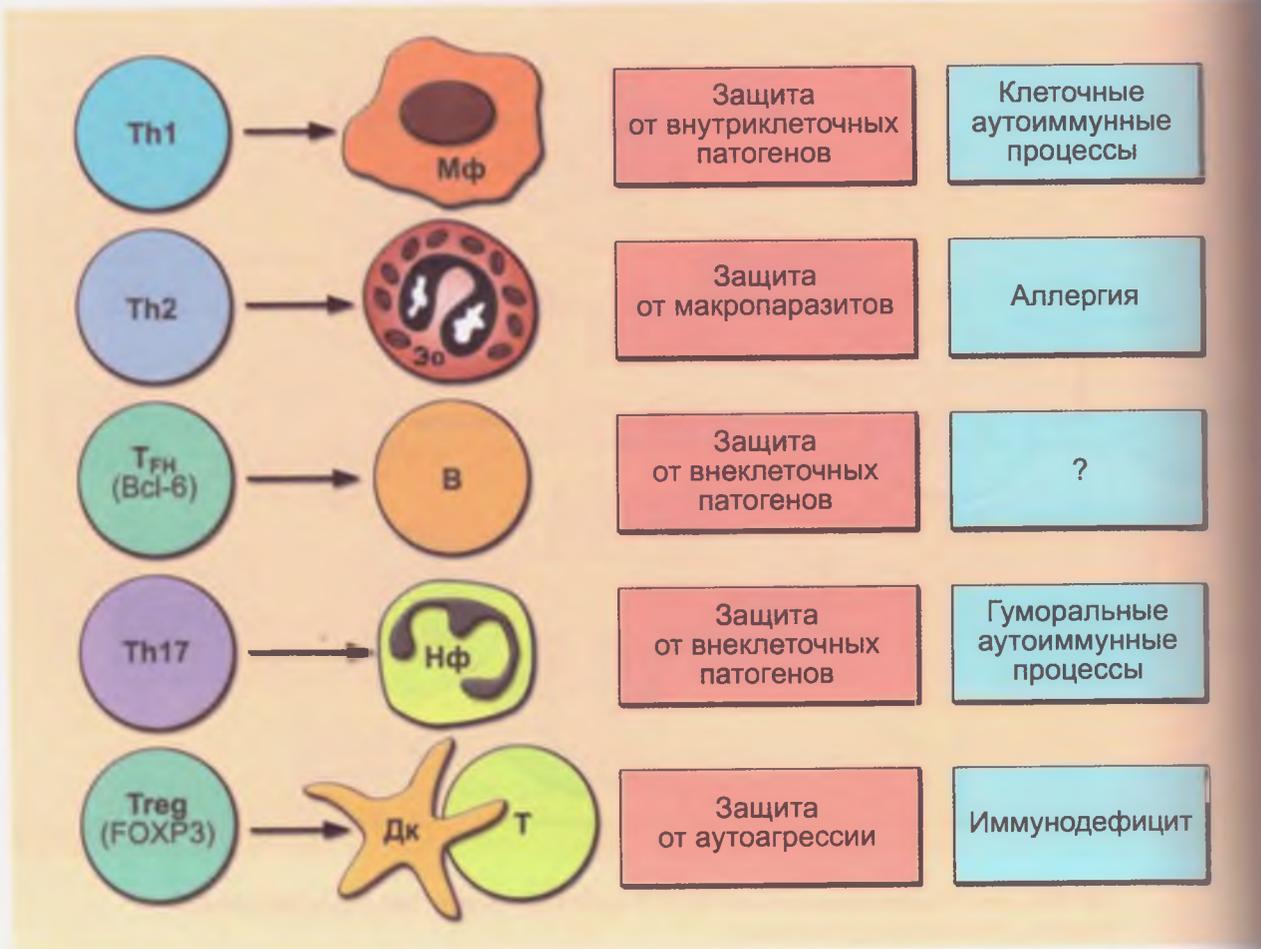


Рис. 347. Адаптивные субпопуляции Т-клеток (клетки-партнеры, физиологические и патологические эффекты)

Расширение семейства адаптивных субпопуляций CD4⁺ Т-клеток потребовало решения вопроса о природе клеток, с которыми взаимодействуют эти субпопуляции (кому они оказывают «помощь» в соответствии со своей функцией хелперов).

Эти представления отражены на рисунке. Здесь же представлен уточнённый взгляд на функции этих субпопуляций (участие в защите от определенных групп патогенов), а также о патологических последствиях несбалансированного усиления активности этих клеток.

2.3.7. ОСНОВНЫЕ ТИПЫ ИММУННОГО ОТВЕТА. ВАРИАНТЫ КЛЕТОЧНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА

Патогены могут локализоваться в межклеточном пространстве, в цитозоле или гранулах клеток и т.д. Универсальный эффекторный механизм, который обеспечил бы защиту от патогенов вне зависимости от их локализации, отсутствует. Возможность формирования эффекторных факторов и механизмов, которые обеспечили бы защиту от патогенов в соответствии с их локализацией, осуществляется путём формирования различных типов иммунного ответа: гуморального, направленного на удаление внеклеточных патогенов и

клеточного, обеспечивающего элиминацию интраклеточных патогенов.

Клеточный иммунный ответ существует в двух основных вариантах, направленных на удаление патогенов, локализующихся в цитозоле или цитоплазматических гранулах. В первом случае ответ иммунного ответа сводится к формированию специфических киллеров, убивающих клетку вместе с патогеном, во втором — к активации бактерицидной активности клетки, фагоцитировавшей, но не убившей патоген.



Рис. 349. Типы иммунного ответа и их назначение

Представлены три основных типа адаптивного иммунного ответа, назначение которых состоит в формировании таких эффекторных факторов, для которых были бы доступны патогены или несущие их клетки. Так, антитела могут связаться только с внеклеточными патогенами. В условиях воспалительного ответа Th1-клетки и продуцируемые ими цитокины (прежде всего IFN γ) способны активировать МФ, что обеспечивает гибель находящихся

в их гранулах патогенов. Цитотоксические Т-лимфоциты, не способные воздействовать на внутриклеточные патогены, убивают содержащие их клетки.

Условные обозначения: АТ — антитела; МФ — макрофаги; CTL (*Cytotoxic T-lymphocyte*) — цитотоксические Т-лимфоциты; В — В-клетки; CD4⁺Th1 — CD4⁺Th1-клетки; CD4⁺Th2 — CD4⁺Th2-клетки; CD8⁺ — CD8⁺-клетки.

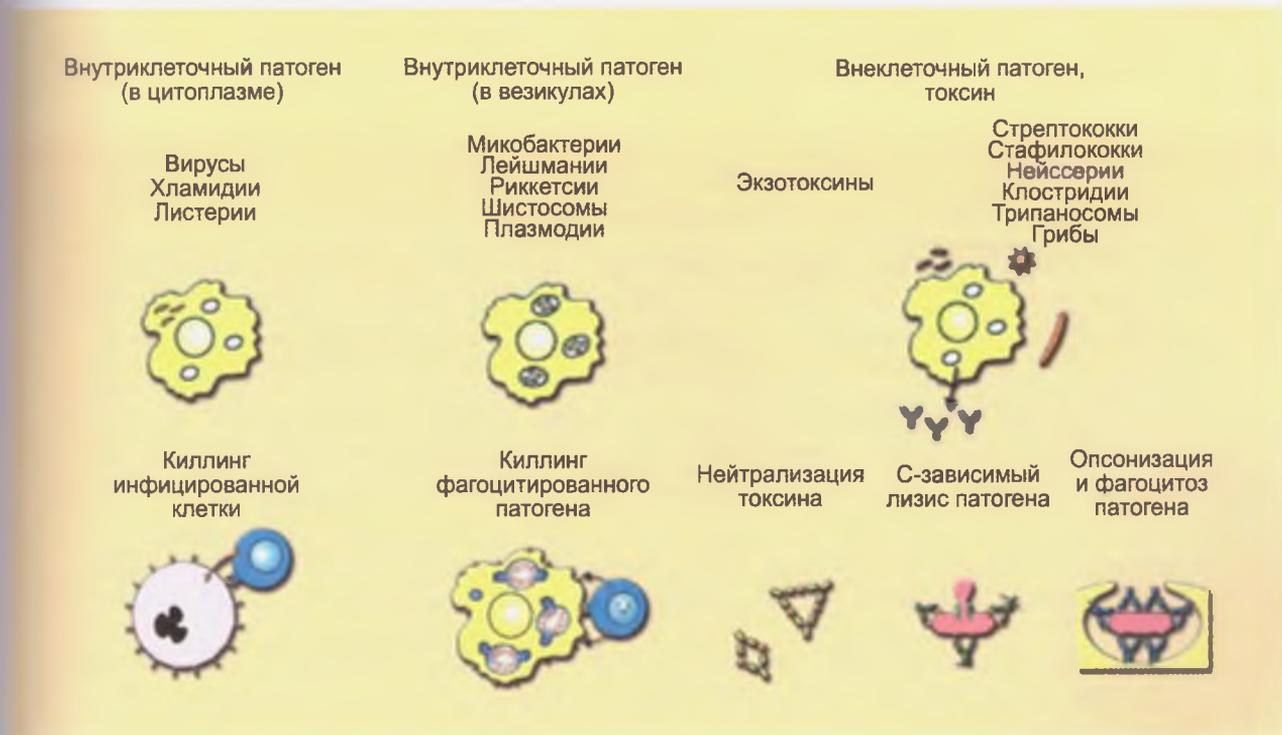


Рис. 350. Защита от различных типов патогенов осуществляется с помощью разных эффекторных механизмов

Обобщены представления об эффекторных механизмах защиты от патогенов трёх основных групп в зависимости от их локализации в организме (см. также рис. 287).

Патогены, локализованные в цитозоле или инкорпорированные в геном, вызывают по преимуществу цитотоксический иммунный ответ; элиминация возбудителя достигается путём уничтожения инфицированной клетки. Патогены, локализованные в гранулах клеток, индуцируют воспалительный иммунный ответ; возбудитель уничтожается вследствие активации бактерицидной активности инфицированных клеток. Внеклеточные патогены вызывают преимущественно гуморальный иммунный ответ;

образующиеся антитела непосредственно взаимодействуют с патогенами и их продуктами, нейтрализуя и блокируя их или привлекая дополнительные факторы иммунной защиты — комплемент, фагоциты, которые осуществляют эффекторную реакцию.

Из перечня эффекторных механизмов иммунной защиты следует, что при реализации адаптивного иммунитета используются механизмы врождённого иммунитета (фагоцитоз, контактный киллинг, комплементзависимый цитолиз и т.д.), модифицированные в сторону придания им большей целенаправленности (специфичность в отношении АГ) и эффективности (усиление бактерицидности и т.д.).

Известные лиганды $\gamma\delta$ TCR

T10/T22 – продукты неклассических генов MHC (вне зависимости от содержащихся в них пептидов); их распознает 0,2–2% $\gamma\delta$ T-клеток.

Микробные фосфопротеины, содержащие изопентенил пирофосфаты; HMB-PP – наиболее сильный лиганд $\gamma\delta$ T-клеток.

Поскольку $\gamma\delta$ T-клетки лишены CD4 и CD8, они распознают антиген без участия корецепторов, т.е. без ограничения по MHC. В активации $\gamma\delta$ T-клеток не участвуют костимулирующие молекулы.

$\gamma\delta$ T-клетки распознают также PAMP (с помощью TLR1, TLR3) и MIC (с помощью NKG2D и NKG2/CD94).

Рис. 351. Особенности распознающей способности $\gamma\delta$ T-клеток

Представлено то немногое, что известно о способности $\gamma\delta$ T-клеток распознавать чужеродные и стрессорные молекулы. Они сочетают эту способность клеток врождённого иммунитета (распознавание патогенассоциированных «образов» через TLR-рецепторы), NK-клеток (распознавание стрессорных молекул с помощью рецепторов NKG2D) и классических T-лимфоцитов (распознавание антигенов с помощью TCR). В отличие от $\alpha\beta$ T-клеток они различают не комплекс пептидов/липидов с молекулой MHC, а, подобно B-клеткам, эпитопы свободных АГ (в том числе аутоантигенов). Этому

способствуют некоторые особенности строения антигенсвязывающего центра (протяженность у CDR3 в TCR $\gamma\delta$ -типа больше, чем в TCR $\alpha\beta$ и сходна с таковой в иммуноглобулинах). Несмотря на сходство с таковой в иммуноглобулинах, специфичности и распознающей способности $\gamma\delta$ T-клеток пока лишены цельности и полноты.

Условные обозначения: HMB-PP (*4-hydroxy-3-methyl-but-2-enyl pyrophosphate*) – лиганд $\gamma\delta$ T-клеток; TLR (*Toll-like receptors*) – рецепторы врождённого иммунитета для распознавания PAMP (*Pathogen associated molecular patterns*)-образов (паттернов), связанных с патогенами; MIC (*MHC class I chain*).

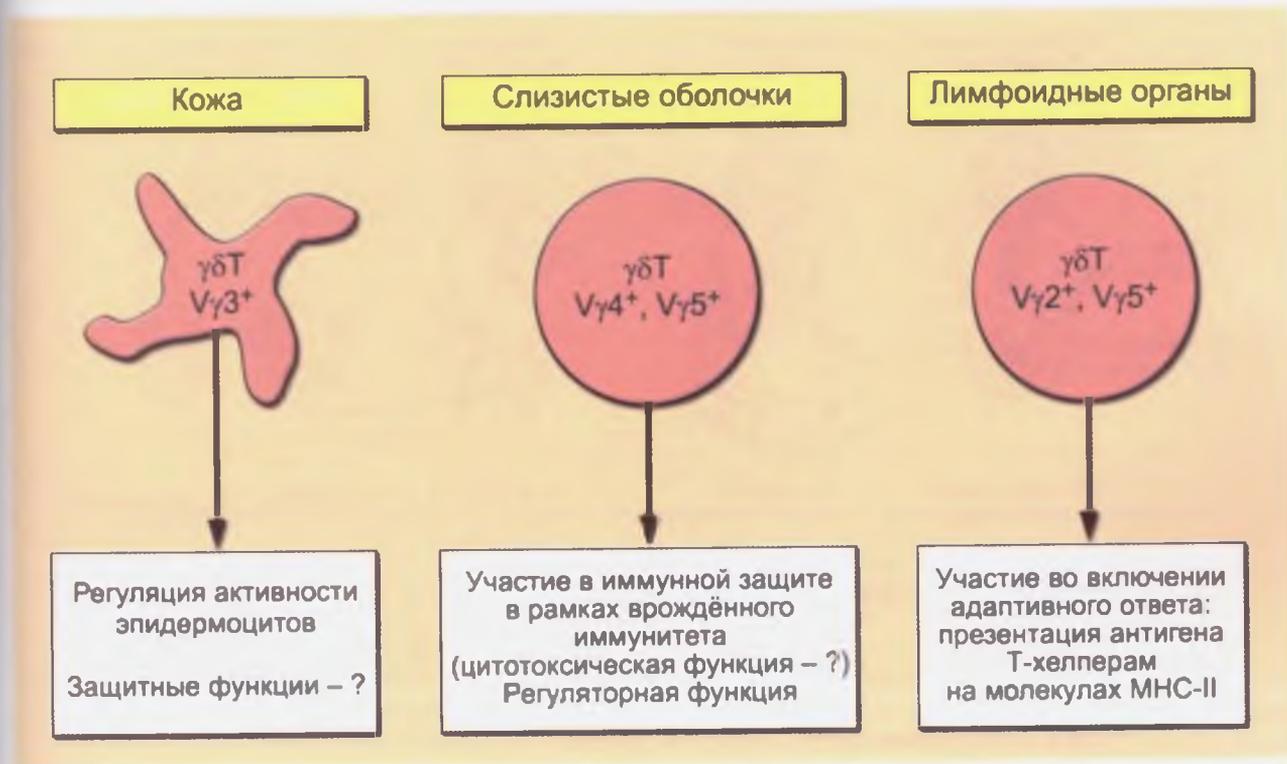


Рис. 352. $\gamma\delta T$ -клетки причастны к врождённому и адаптивному иммунитету и регуляторным процессам

О функциях $\gamma\delta T$ -клеток известно очень мало. Их относят к факторам первой линии иммунной защиты, проявляющим цитотоксическую активность против клеток-мишеней в слизистых оболочках и способным представлять антиген $\alpha\beta T$ -клеткам в лимфоидных органах. Показана способ-

ность $\gamma\delta T$ -клеток оказывать супрессорное действие и эпидермальных $\gamma\delta T$ -клеток (по крайней мере, у мышей) регулировать активность кератиноцитов в коже.

Условные обозначения: $V\gamma 2^+ - V\gamma 5^+$ — семейства $V\gamma$ -доменов.

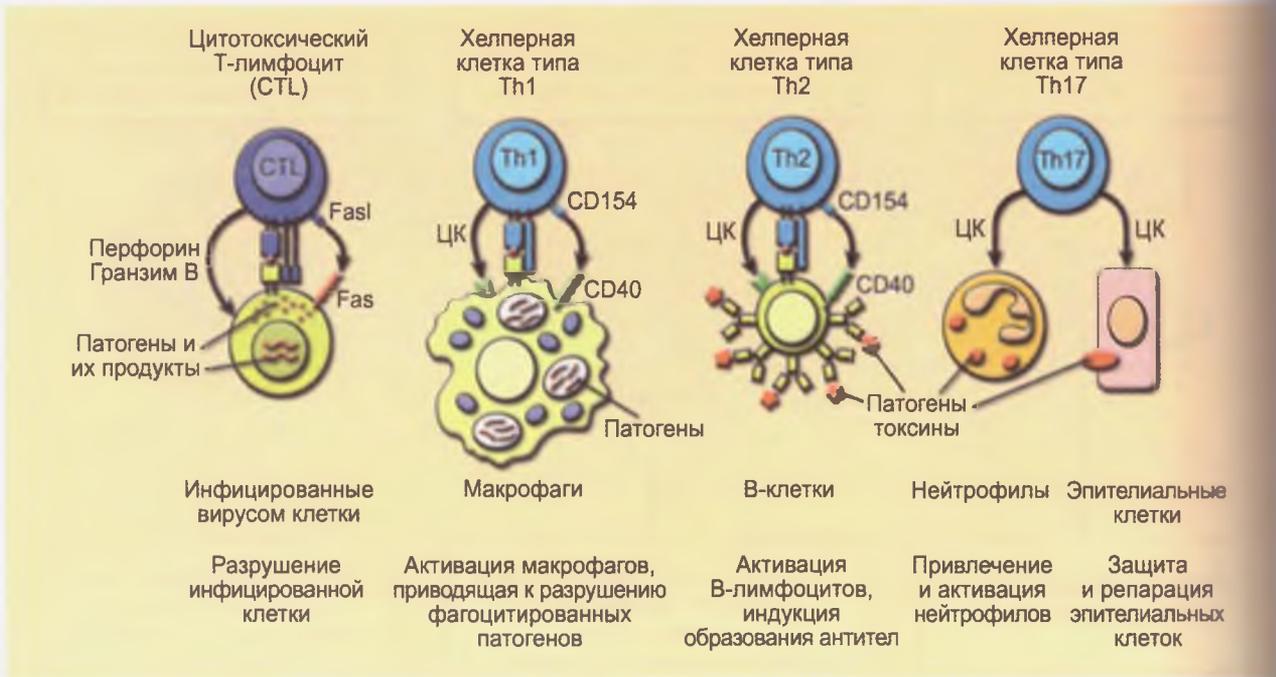


Рис. 353. Типы эффекторных Т-клеток и их действие

Действие всех четырёх чётко идентифицированных типов эффекторных Т-клеток — цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL), Т-хелперов первого (Th1), второго (Th2) и семнадцатого (Th17) типов — основано преимущественно на комбинации контактных взаимодействий и эффекта секретируемых цитокинов. Партнером Т-клеток при контактных

взаимодействиях может быть клетка-мишень (для CTL), макрофаг (для Th1), В-клетка (для Th2), нейтрофил или эпителиальная клетка (Th17). Роль секреторной составляющей (цитокинов) в реализации функций минимальна для CTL и максимальна для Th17-клеток.

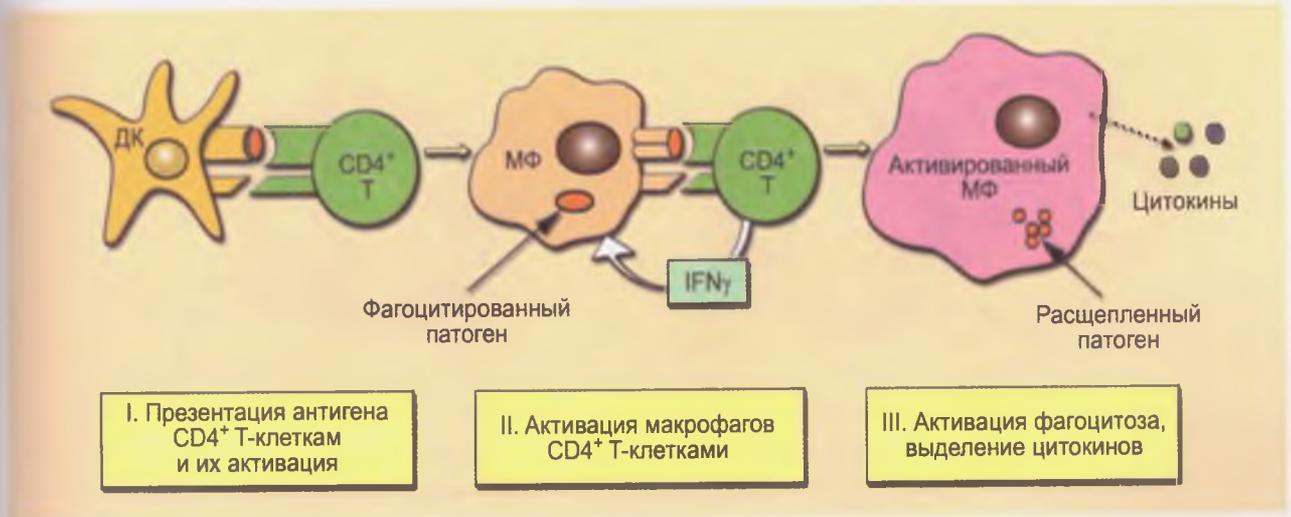


Рис. 354. Схема развития клеточного иммунного ответа воспалительного типа

Эта форма иммунного ответа эффективна при защите от внутриклеточных патогенов, локализуемых в цитоплазматических гранулах (обычно макрофагов, вследствие неэффективного фагоцитоза). Ответ реализуется в три этапа.

I. ДК представляют антиген CD4⁺ T-хелперам во вторичных лимфоидных органах, что индуцирует их активацию и дифференцировку в эффекторные Th1-клетки.

II. Активированные T-хелперы взаимодействуют с МФ — носителями патогена, которые также

представляют им антигенный пептид и подают ко-стимулирующий сигнал. Ответная реакция T-клетки состоит в секреции IFN γ , оказывающего стимулирующее действие на МФ, и передаче контактного стимулирующего сигнала через молекулу CD40.

III. Активированный макрофаг эффективно расщепляет фагоцитированные патогены (вследствие индукции NO-синтазы и усиления других бактерицидных механизмов) и продуцирует цитокины, вызывающие воспалительную реакцию.

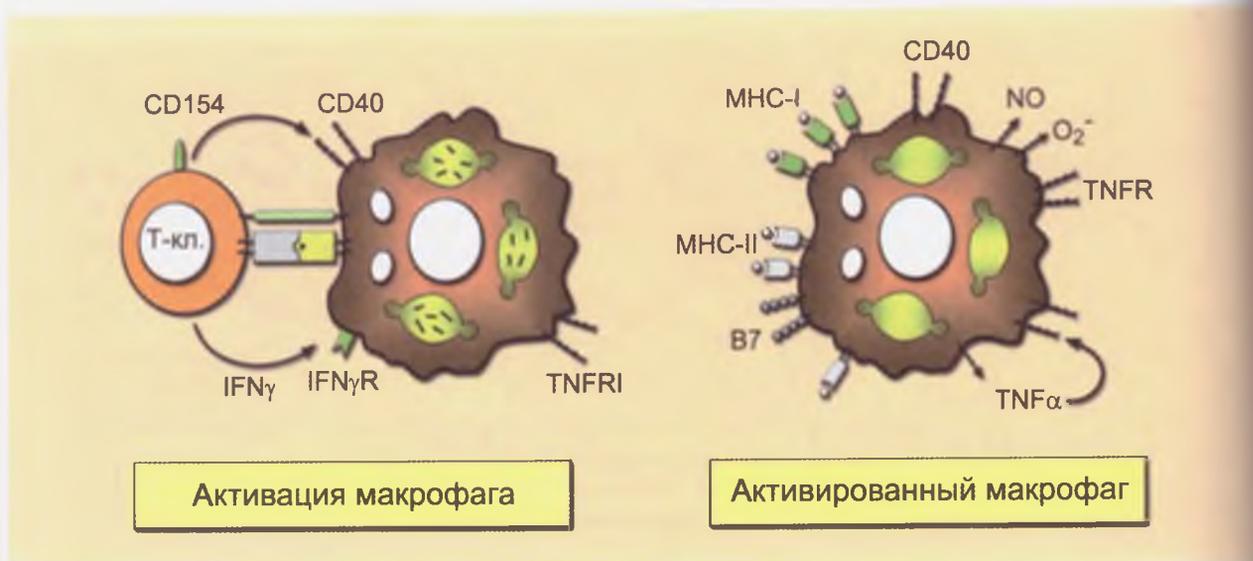


Рис. 355. Активация макрофагов Т-хелперами

Активирующий сигнал передаётся Т-хелпером МФ двумя путями: контактным (через взаимодействие молекул CD154-CD40) и гуморально опосредованным (через IFN γ).

В результате активации изменяется рецепторный аппарат мембраны МФ: повышается экспрессия молекул МНС классов I и II, костимулирующих молекул, усиливается выработка цитокинов

(в частности, TNF α , аутокринно стимулирующего макрофаг), активируются кислородный и NO-зависимый механизмы бактерицидности. В результате патогены, пребывавшие в жизнеспособном состоянии в гранулах фагоцитов, лизируются.

Условные обозначения: TNFR — рецептор фактора некроза опухоли (TNF α); IFN γ R — рецептор для IFN γ .

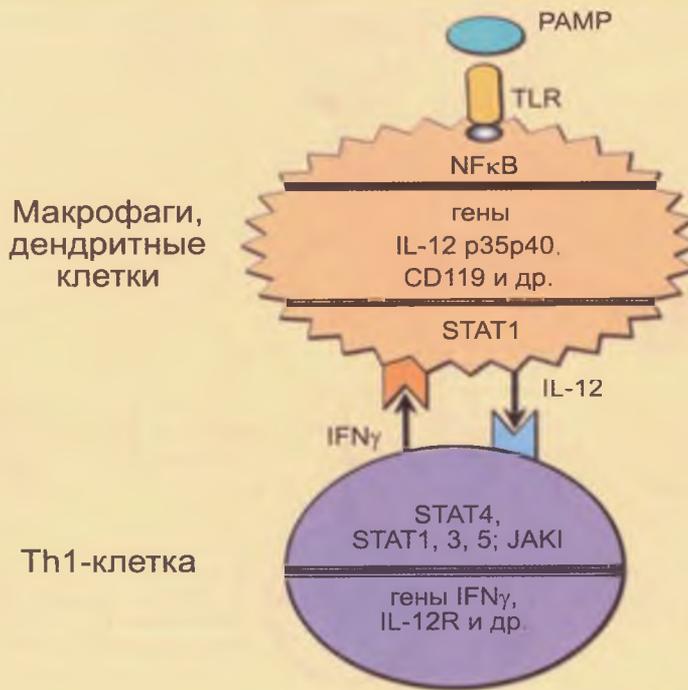


Рис. 356. Регуляторное действие цитокинов IL-12 – IFN γ

Взаимодействие миелоидных клеток (МФ и ДК) с Т-лимфоцитами основано на обоюдной стимуляции клеток. Она реализуется путём обмена сигналами, опосредованными цитокинами: IL-12, вырабатываемый миелоидными клетками, стимулирует Т-хелперы (Th1-клетки), а секретируемый последними IFN γ стимулирует миелоидные клет-

ки. Основные транскрипционные факторы и гены, в экспрессии которых они участвуют, показаны внутри клеток.

Условные обозначения: PAMP (*Pathogen-associated molecular pattern*) — молекулярные образы, связанные с патогенами, TLR (*Toll-like receptor*) — толл-подобный рецептор.

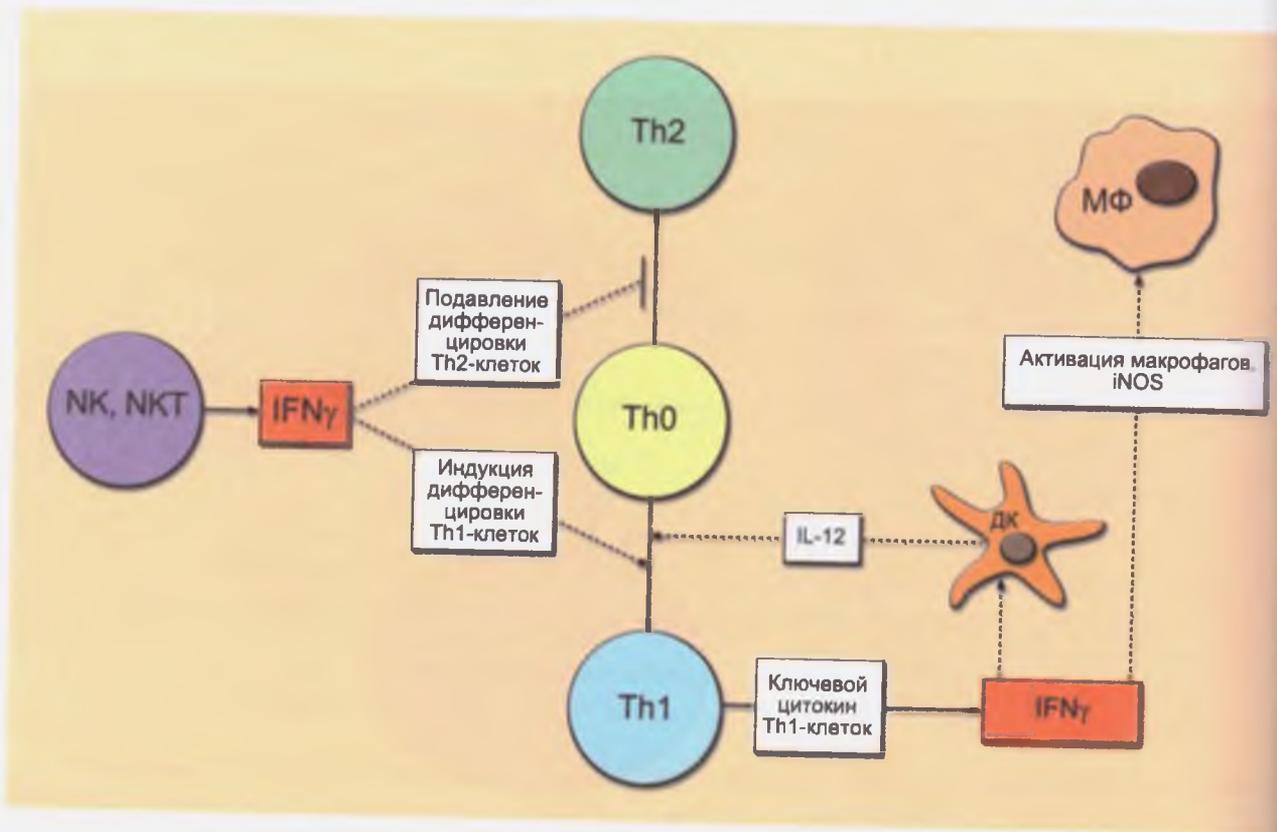


Рис. 357. Роль IFN γ в дифференцировке и реализации функции Т-хелперов

До начала иммунного ответа IFN γ секретируется в основном NKT-клетками. Он участвует в индукции дифференцировки Th1-клеток и является их основным гуморальным продуктом. Ему принадлежит ключевая роль в реализации функций Th1-клеток: он активирует ДК, которые, продуцируя IL-12, способствуют дифференцировке Th1; индуцирует дифференцировку Th1-клеток (наряду с IL-12); подавляет развитие и проявления актив-

ности Th2-клеток, а также Th17-клеток (не показано на схеме); активирует МФ, в частности индукция NO-синтазы. Последний эффект особенно важен в реализации защиты от внутриклеточных патогенов, в частности микобактерий, некоторых паразитов и т.д.

Условные обозначения: ДК — дендритная клетка; МФ — макрофаги; Th0, Th1, Th2 — Т-хелперы типов 0, 1 и 2.

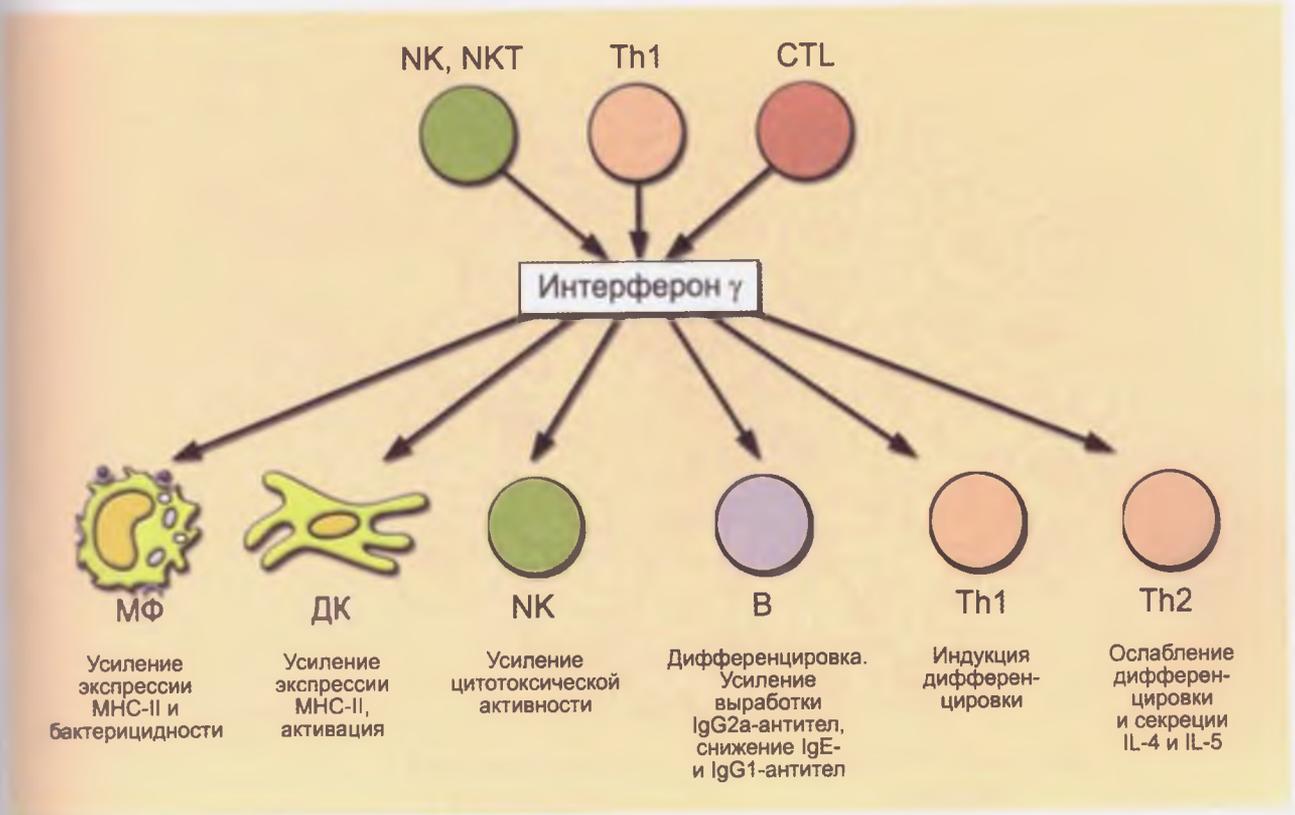


Рис. 358. Источники и биологические эффекты интерферона γ

Среди клеток-продуцентов $IFN\gamma$ только NK- и NKT-клетки не требуют обязательной предварительной активации, хотя и их способность вырабатывать $IFN\gamma$ усиливается под влиянием стимулирующих агентов.

Несмотря на множество клеток, на которые действует $IFN\gamma$, его основной мишенью являются МФ, что обуславливает ключевую роль этого цито-

кина в развитии воспалительной формы клеточного иммунного ответа.

Условные обозначения: ДК — дендритная клетка; МФ — макрофаг; NK — естественные киллеры; В — В-клетки; Th1, Th2 — Т-хелперы типов 1 и 2; CTL — цитотоксические Т-лимфоциты, МНС-I и МНС-II (*Major histocompatibility complex I, II*) — главный комплекс гистосовместимости, классы I и II.

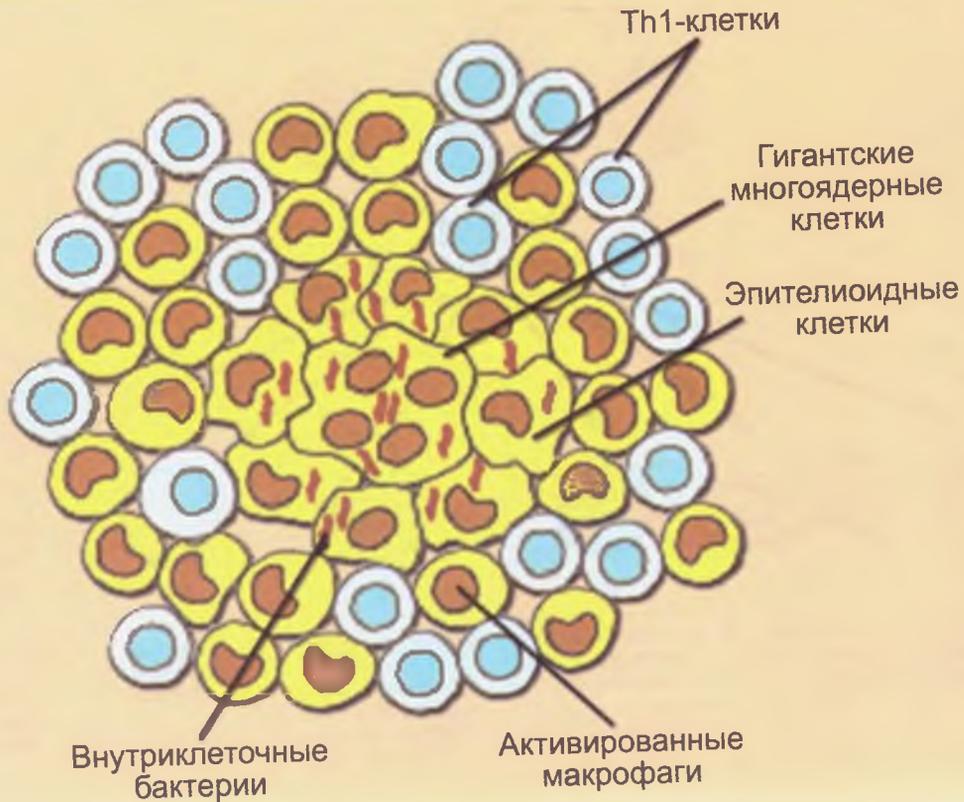


Рис. 359. Структура гранулёмы

Гранулёма формируется в случае невозможности радикального удаления патогена. Её образование обеспечивает изоляцию патогена и частичный контроль за его активностью. Патоген находится в центре гранулёмы преимущественно внутри гигантских и эпителиоидных клеток (незавершённый фагоцитоз). Оба этих клеточных типа явля-

ются производными МФ (гигантские многоядерные клетки — слившиеся МФ). В периферийной части гранулёмы расположены активированные МФ и Т-лимфоциты (преимущественно Th1-клетки), формирующие наружный клеточный вал. Т-клетки в составе гранулёмы постоянно переме-

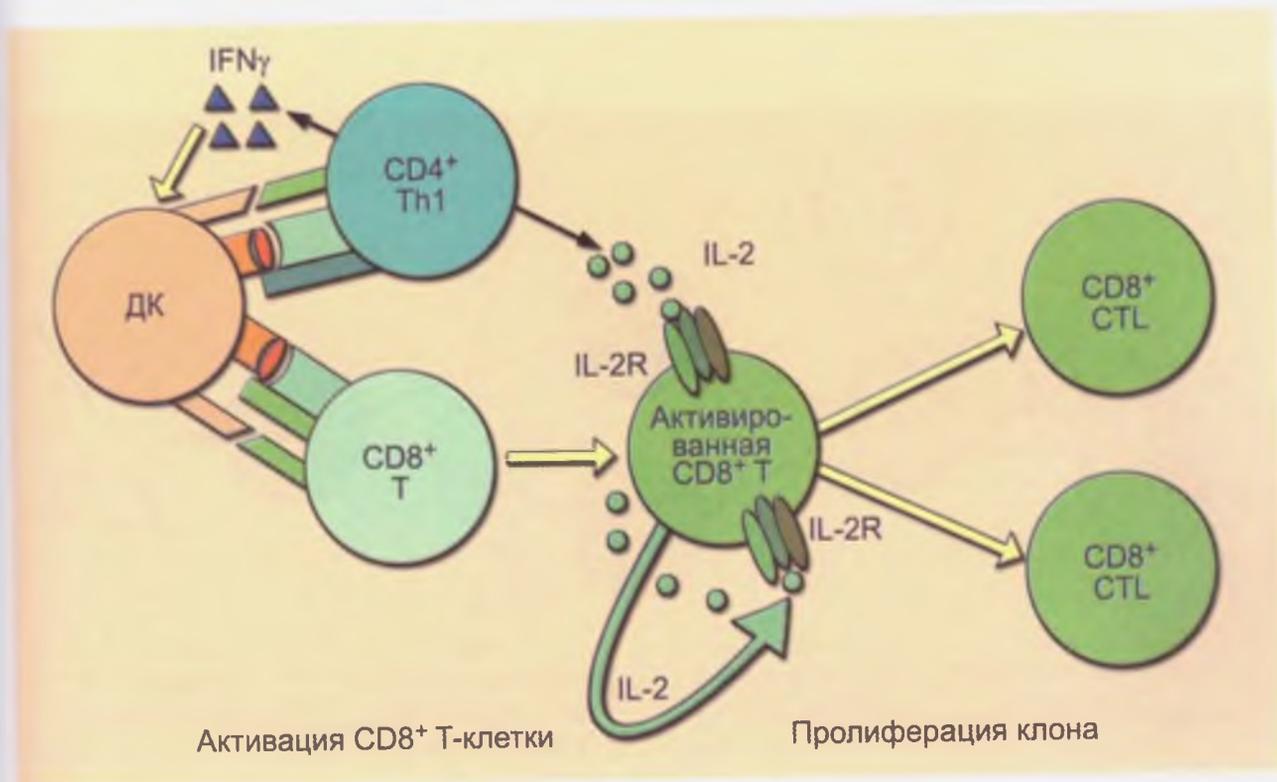


Рис. 360. IL-2-зависимая пролиферация клона CD8⁺ T-клеток, вовлекаемых в иммунный ответ

В основе формирования цитотоксических T-лимфоцитов (CTL) лежит активация CD8⁺-клетки, индуцированная в результате презентации дендритной клеткой АГ в составе молекулы МНС класса I. Активированная CD8⁺ T-клетка сама секретирует IL-2, которого может быть достаточно для обеспечения пролиферативной экспансии клона. Однако часто возникает необходимость в дополнительном количестве IL-2, источником кото-

рого служит CD4⁺-клетка (Th0 или Th1), стимулированная в том же микрокомпарменте обычно (но не обязательно) тем же АГ. Кроме того, секретируемый T-хелпером (CD4⁺-клеткой) IFN γ усиливает экспрессию дендритной клеткой молекул МНС и тем самым повышает эффективность стимуляции CTL. В ходе 7–8 циклов пролиферации происходит созревание функционально активной CTL.

Условные обозначения: см. рис. 358.

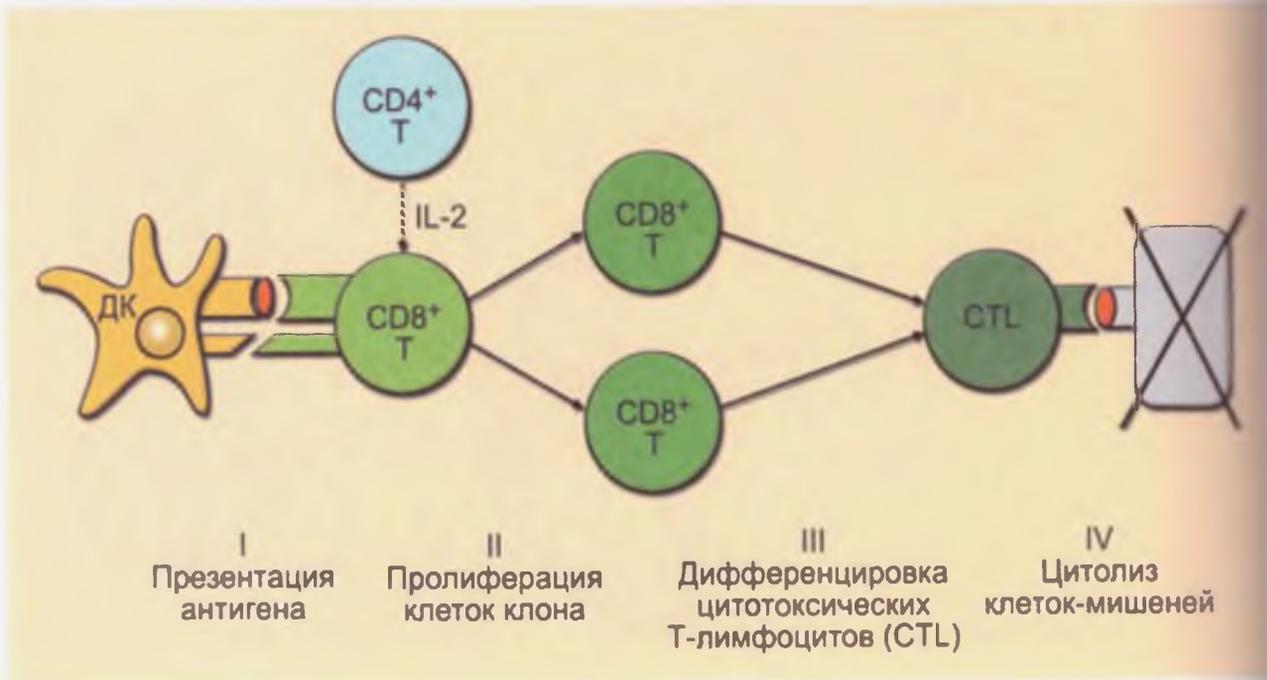


Рис. 361. Схема развития цитотоксического Т-клеточного ответа

Цитотоксический иммунный ответ складывается из четырёх этапов:

I. Презентация дендритными клетками АГ CD8⁺ Т-клеткам, приводящая к их активации.

II. IL-2-зависимая пролиферация CD8⁺ Т-клеток, аутокринная или индуцируемая CD4⁺ лимфоцитами (см. рис. 333).

III. Дифференцировка CD8⁺ Т-клеток в цитотоксические Т-лимфоциты (CTL), сопутствующая пролиферации.

IV. Реализация цитолиза клеток-мишеней. Условные обозначения: см. рис. 358.

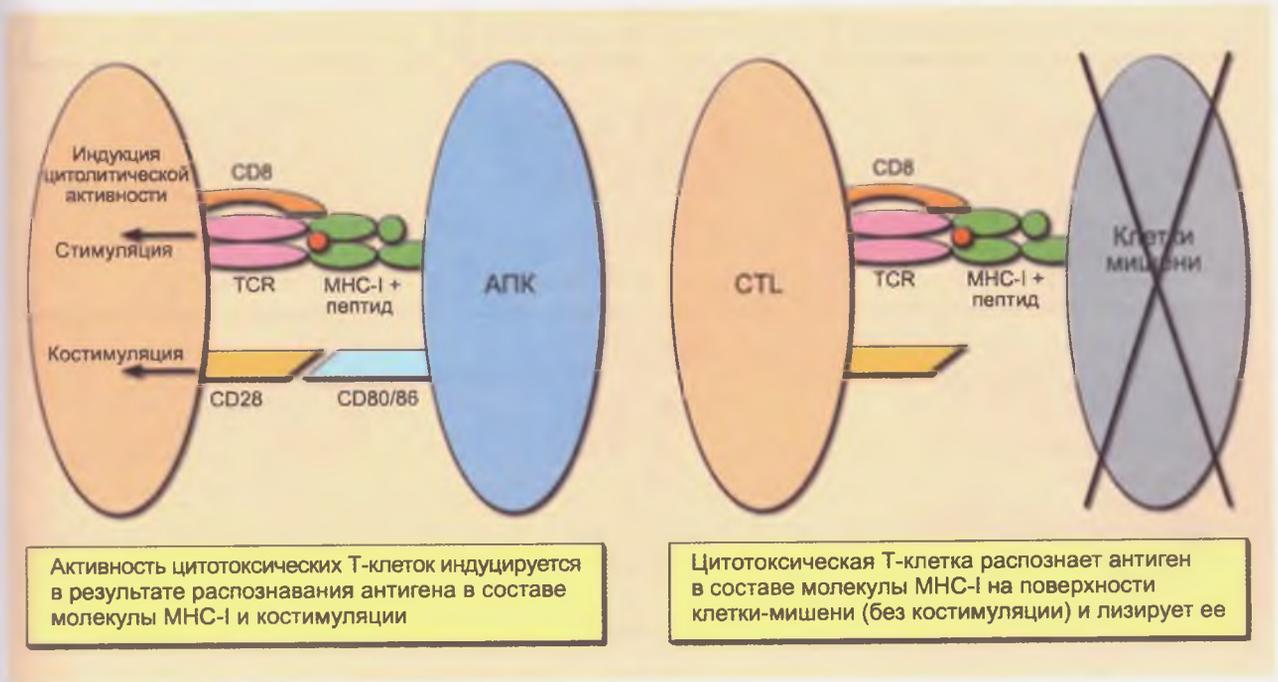


Рис. 362. Особенности распознавания антигена при индукции развития CTL и реализации их цитотоксического действия

Как на этапе индукции цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL), так и при реализации их цитотоксического действия $CD8^+$ Т-лимфоциты (в первом случае — наивные, во втором — дифференцировавшиеся в CTL) распознают антигенный пептид (один и тот же) в составе молекулы MHC класса I. В первом случае пептид презентуется дендритной клеткой, во втором — определяется на клетке-мишени. Принципиальное различие этих

двух вариантов распознавания состоит в том, что при презентации АГ дендритной клеткой обязательным условием достижения эффекта (активация $CD8^+$ Т-клетки и индукция дифференцировки CTL) является костимуляция с участием молекул CD80/86 (со стороны дендритной клетки) и CD28 (со стороны $CD8^+$ Т-клетки). В случае взаимодействия с клеткой-мишенью костимуляция не требуется.

Условные обозначения: см. рис. 358.

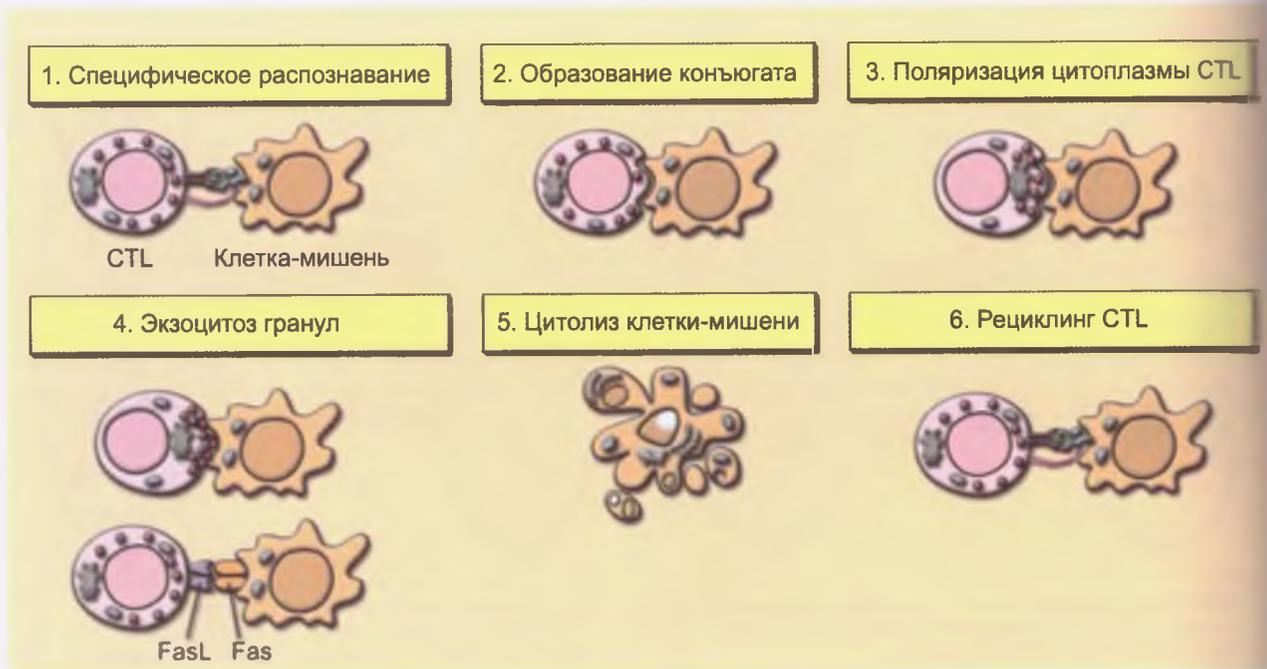


Рис. 363. Стадии осуществления цитолиза клеток-мишеней цитотоксическими Т-лимфоцитами (CTL)

Цитотоксическое действие Т-лимфоцитов на клетки-мишени (иммунный цитолиз) осуществляется в шесть этапов и принципиально подобно цитолитическому действию НК-клеток. Основное отличие состоит в способе распознавания, клональном характере ответа CTL (в ответ вовлекаются только те клетки, которые распознают антиген, присутствующий в клетке-мишени) и в том, что CTL образуются в результате иммунного ответа, индуцируемого клеткой, несущей антиген, тогда как НК-клетки дифференцируются вне зависимости от запроса. Этапы распознавания, установления

контакта и поляризации клеток являются частными случаями формирования иммунного синапса (см. рис. 295). Реализация фаз 4 и 5 при цитолизе, опосредованном CTL- и НК-клетками, отличается лишь относительным вкладом перфоринового и Fas-зависимого механизмов в индукцию гибели клеток-мишеней (Fas-зависимый механизм более характерен для цитолиза, осуществляемого CTL). Рециклинг (фаза 6) имеет место при осуществлении реакции обоими типами цитотоксических клеток.

Условные обозначения: CTL — цитотоксические Т-лимфоциты.

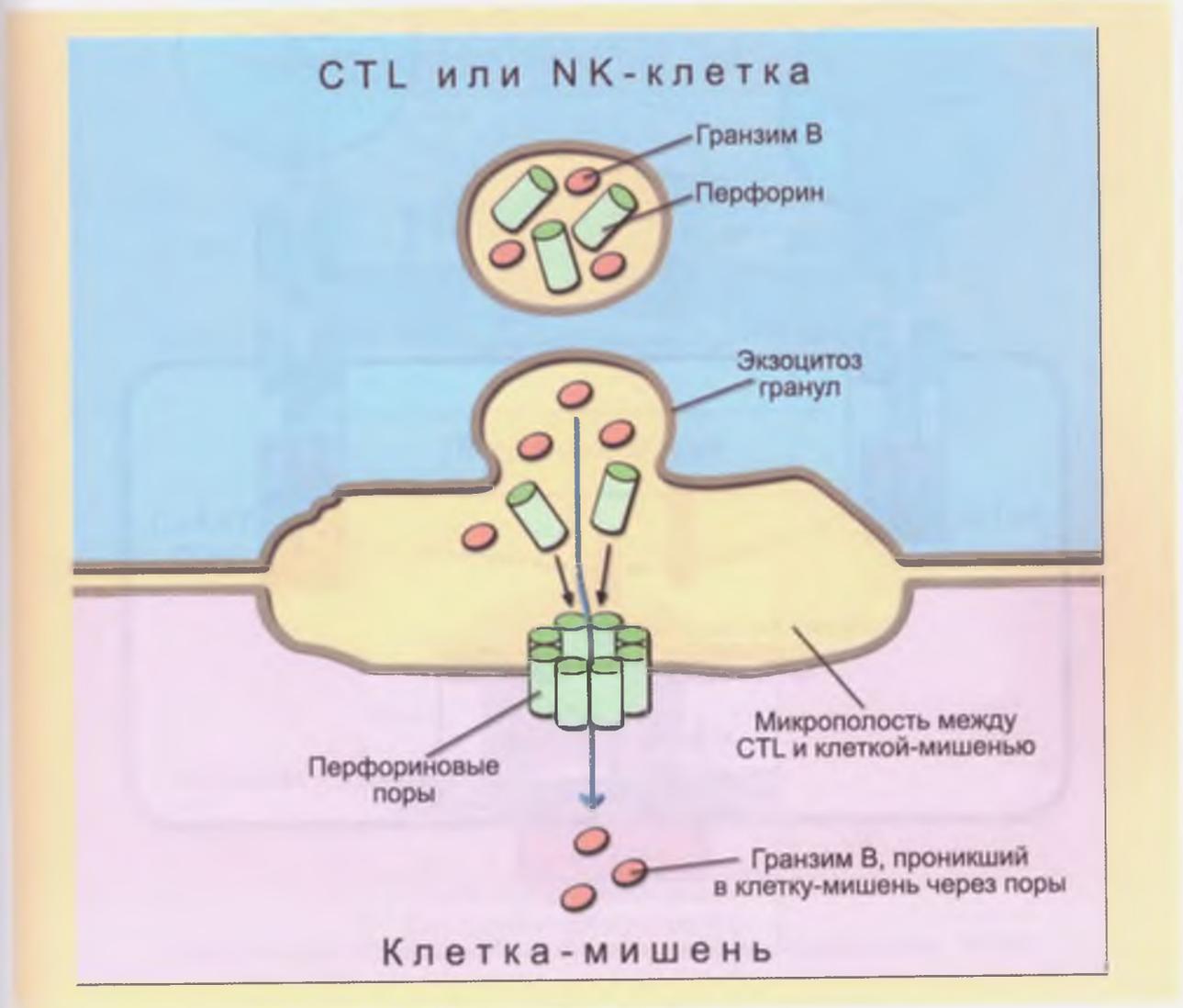


Рис. 364. Механизм перфоринзависимого клеточного цитоллиза

При взаимодействии цитотоксического Т-лимфоцита (вверху) и клетки-мишени (внизу) образуется микрополость, в которую поступают молекулы перфорина и гранзима В, содержащиеся в эндосомах CTL. Перфорин внедряется

в мембрану и полимеризуется (в присутствии ионов Ca^{2+}), формируя поры в мембране клетки-мишени. Через них проникает гранзим В, который активирует капсазы, что обуславливает включение апоптоза клетки-мишени (см. рис. 248–250).

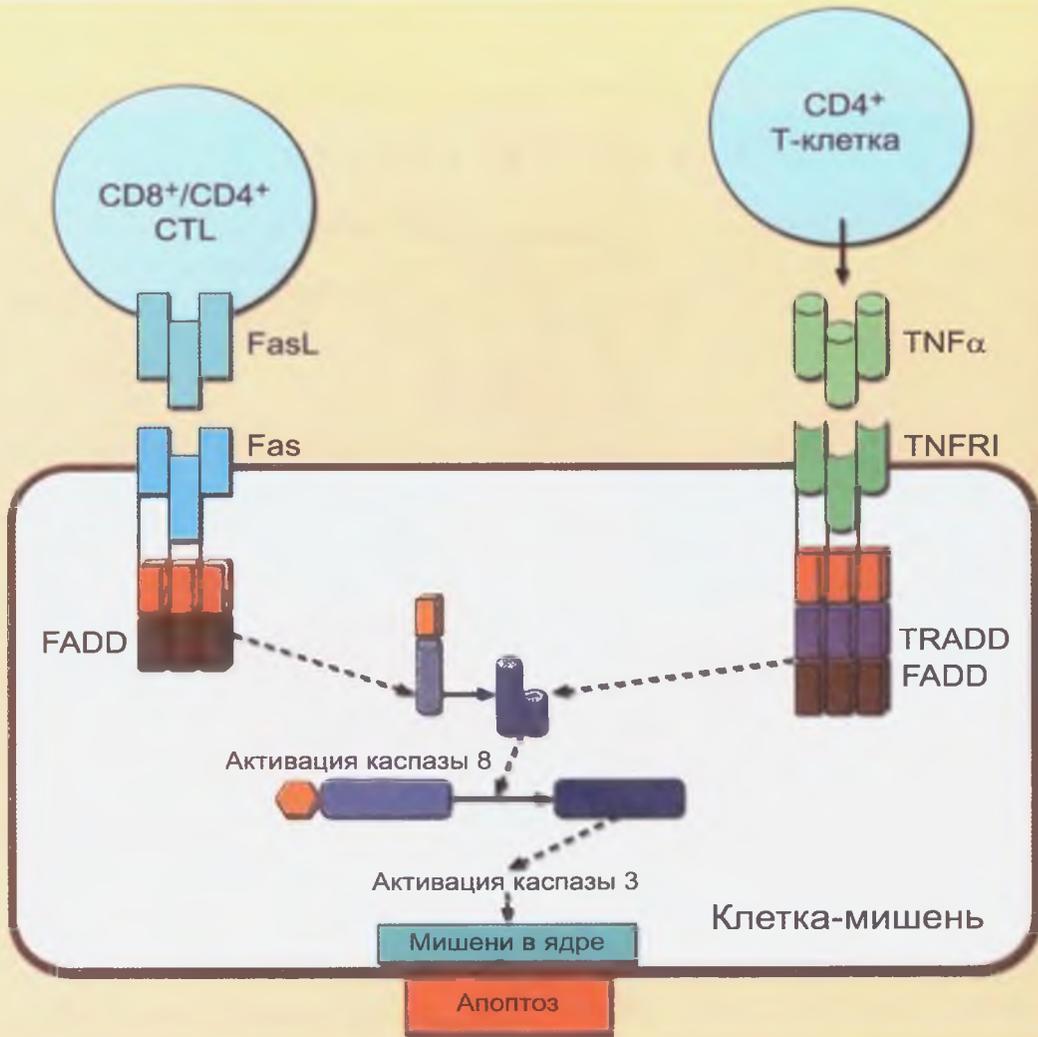


Рис. 365. Механизмы реализации цитотоксического эффекта через индукцию апоптоза

Цитолитическое действие $CD8^+$ Т-лимфоцитов, а также $CD4^+$ -клеток на клетки-мишени наряду с перфориновым механизмом, включает механизм рецепторного апоптоза (см. рис. 249). При этом в качестве лигандов выступают молекулы семейства TNF — мембранный Fas-лиганд и растворимый или растворимый TNF, в качестве рецепторов — Fas-рецептор (CD95) и TNFRI соответственно. Результатом взаимодействия лигандов с рецепторами является активация каспазы 8, а затем эффекторной каспазы 3 в клетке-мишени, разви-

тие апоптоза и гибель клетки с её поглощением фагоцитами. Эта форма цитолиза реализуется при условии экспрессии на клетках-мишенях указанных рецепторов.

Условные обозначения: Fas — Fas-рецептор; FasL — Fas-лиганд; TNF (*Tumor necrosis factor*) — фактор некроза опухоли; TNFRI (*TNF-receptor I*) — рецептор TNF, тип I; FADD (*Fas-associated death domain*) — домен смерти, связанный с Fas-рецептором; TRADD (*TNF-receptor associated death domain*) — домен смерти, связанный с TNF-рецептором.

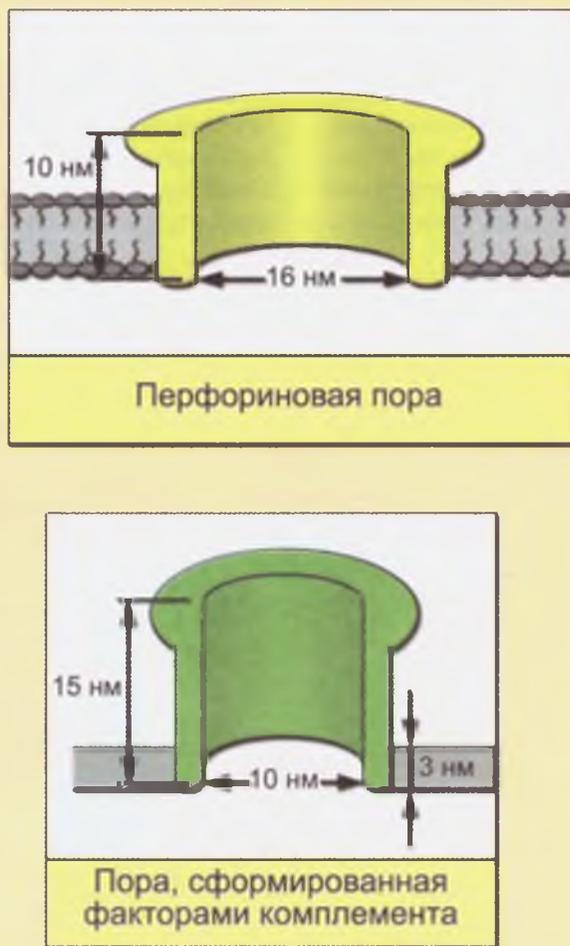


Рис. 366. Сравнение пор, образующихся при полимеризации перфорины и атаке мембраны комплементом

Компонент комплемента C9 и перфорин являются гомологами и формируют поры на основе сходных физико-химических процессов. Пора,

образуемая перфорином, несколько шире, но короче, чем пора на основе компонентов комплемента.

2.3.8. ГУМОРАЛЬНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ

Гуморальный иммунный ответ обеспечивает организм защитой от внеклеточных патогенов, реализуемой через антитела. Основными участниками ответа являются В-лимфоциты, которые при участии хелперных Т-клеток (главным образом Th2) дифференцируются в антителопродуцирующие плазматические клетки. Гуморальный ответ включает такие важные этапы, как переключение иммуноглобулиновых изотипов и созревание аффинности. Защитное действие антител лишь в небольшой степени реализуется самостоятельно, путём блока-

ды патогенов. Более существенным является подключение к реакции на патоген клеточных (МФ) и гуморальных (комплемент) эффекторных факторов, которое осуществляется с участием неспецифической Fc-части молекулы антитела. В гуморальный ответ вовлекаются довольно многочисленные клоны В-клеток, что определяет гетерогенность антител, однако искусственно можно создать условия для выделения единичного клона антителопродуцентов, который будет синтезировать гомогенные моноклональные антитела.

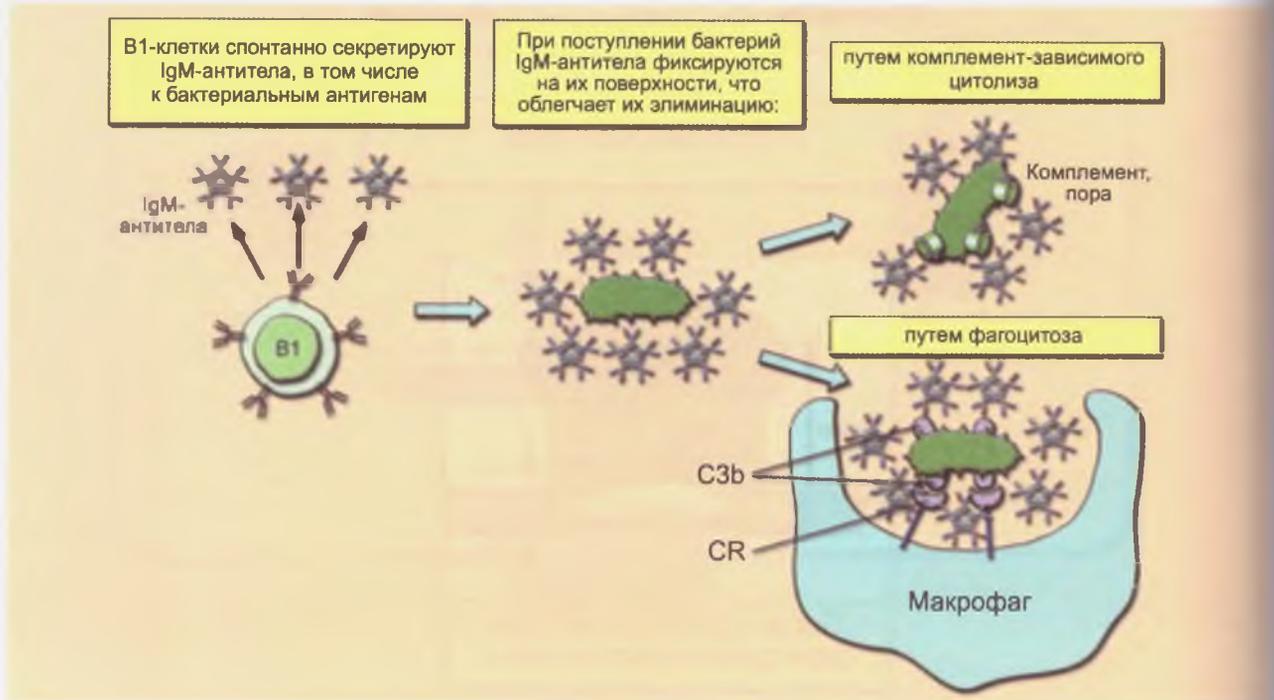


Рис. 367. Роль В1-клеток и продуцируемых ими антител в первой линии иммунной защиты

Поскольку В1-клетки продуцируют естественные антитела вне зависимости от антигенной стимуляции извне, их относят к факторам врождённого иммунитета, к первой линии защиты. Проникающие в организм патогены встречают в нём специфические IgM-антитела, которые связываются с его мембранными молекулами. Это обуславливает подключение эффекторных механизмов врождённого иммунитета в виде комплемента и фагоцитоза. Естественные IgM-антитела проявляют опсонизи-

рующее действие не самостоятельно (рецепторы Fc-типа не существует), а через связанный компонент комплемента C3b, распознаваемый рецепторами для комплемента фагоцитов. Связывание комплемента включает также литический каскад и может вызвать комплементзависимый цитолиз (например, в отношении нейссерий).

Условные обозначения: CR — рецепторы для комплемента; C3b — продукт расщепления компонента комплемента C3.

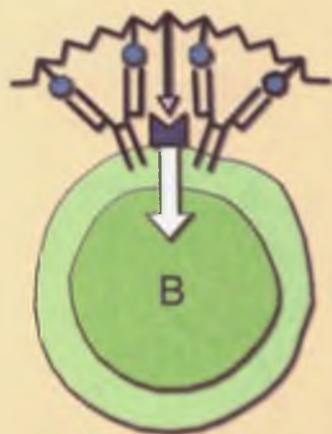
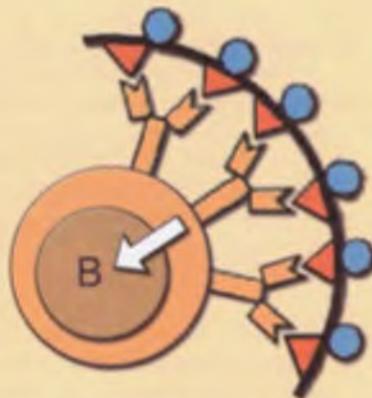
Т-независимые антигены
типа IТ-независимые антигены
типа II

Рис. 368. Разновидности Т-независимых антигенов (Janeway С.А. и др., 2005)

I. Т-независимые АГ типа I (ТнI) представляют собой В-клеточные митогены. Их связывание с ВСR создаёт концентрацию, достаточную для проявления митогенного действия. В этом случае в передаче сигнала задействованы два фактора — сигнал от TCR и сигнал от рецептора для митогена (лектина). Примеры ТнI-антигенов — липополисахарид *E. coli*, сальмонелл, полисахарид из *Brucella abortus*.

II. Т-независимые АГ типа II (ТнII) — молекулы с повторяющимися эпитопами, способными к

многоочечному связыванию с поверхностью В-клетки. При действии таких АГ в передаче сигнала участвует один фактор — сигнал в множественном «исполнении», поступающий от многих TCR, с которыми произошло связывание эпитопов АГ. Это обеспечивает кластеризацию рецептора и заменяет Т-клеточные сигналы. Примеры ТнII-антигенов — пневмококковый полисахарид, полимеризованный флагеллин, декстран, фикоколл.

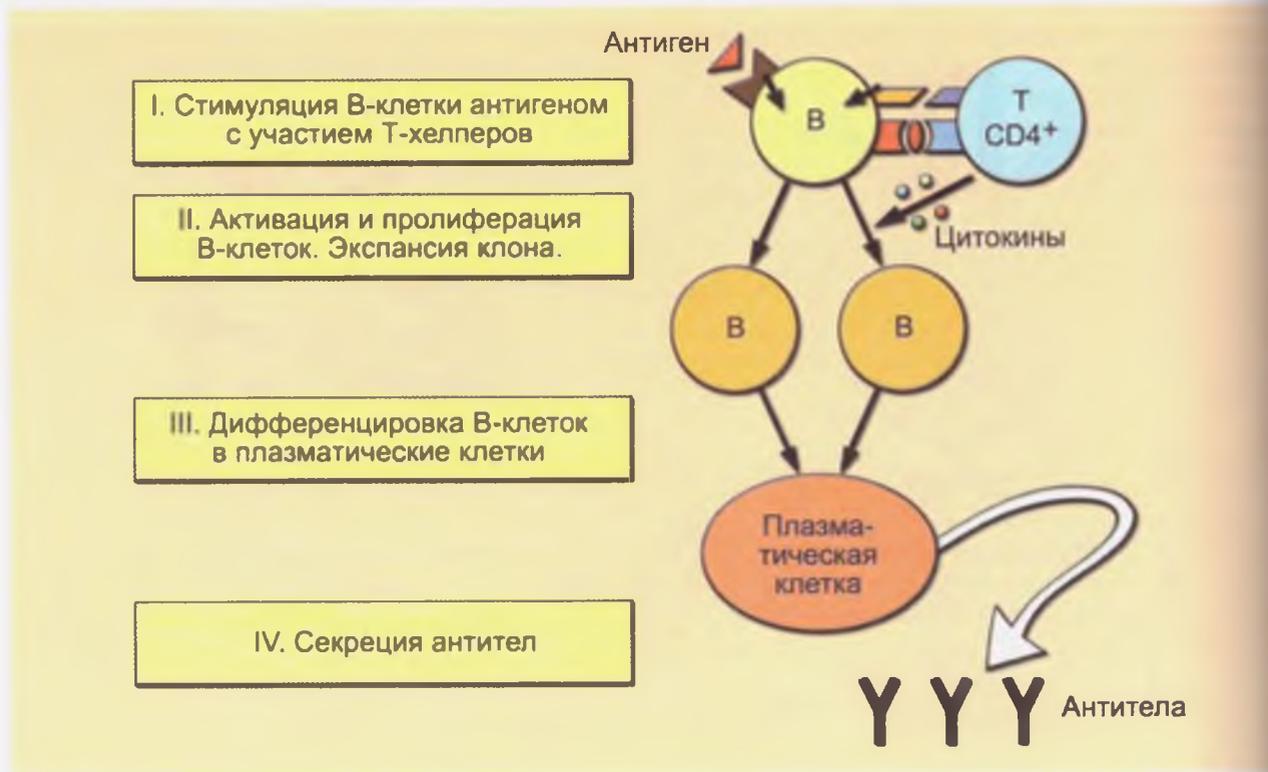


Рис. 369. Схема развития гуморального иммунного ответа

Реализация гуморального иммунного ответа осуществляется в четыре стадии.

I. Антиген связывается с рецептором BCR В-клетки, поглощается, расщепляется, его пептидный фрагмент встраивается в молекулу МНС класса II и презентуется Th2-клетке; при этом В-клетка получает активирующие сигналы от Th2-клетки.

II. Активированная В-клетка получает дополнительные стимулы через цитокины, продуцируе-

мые преимущественно Th2-клетками, и продлевает 7–8 митозов.

III. Во время пролиферации происходит дифференцировка В-лимфоцитов в антителообразующую плазматическую клетку. Дифференцировка завершается после прекращения пролиферации.

IV. Плазматическая клетка секретирует антитела, которые связываются с АГ и опосредуют осуществление эффекторных реакций.

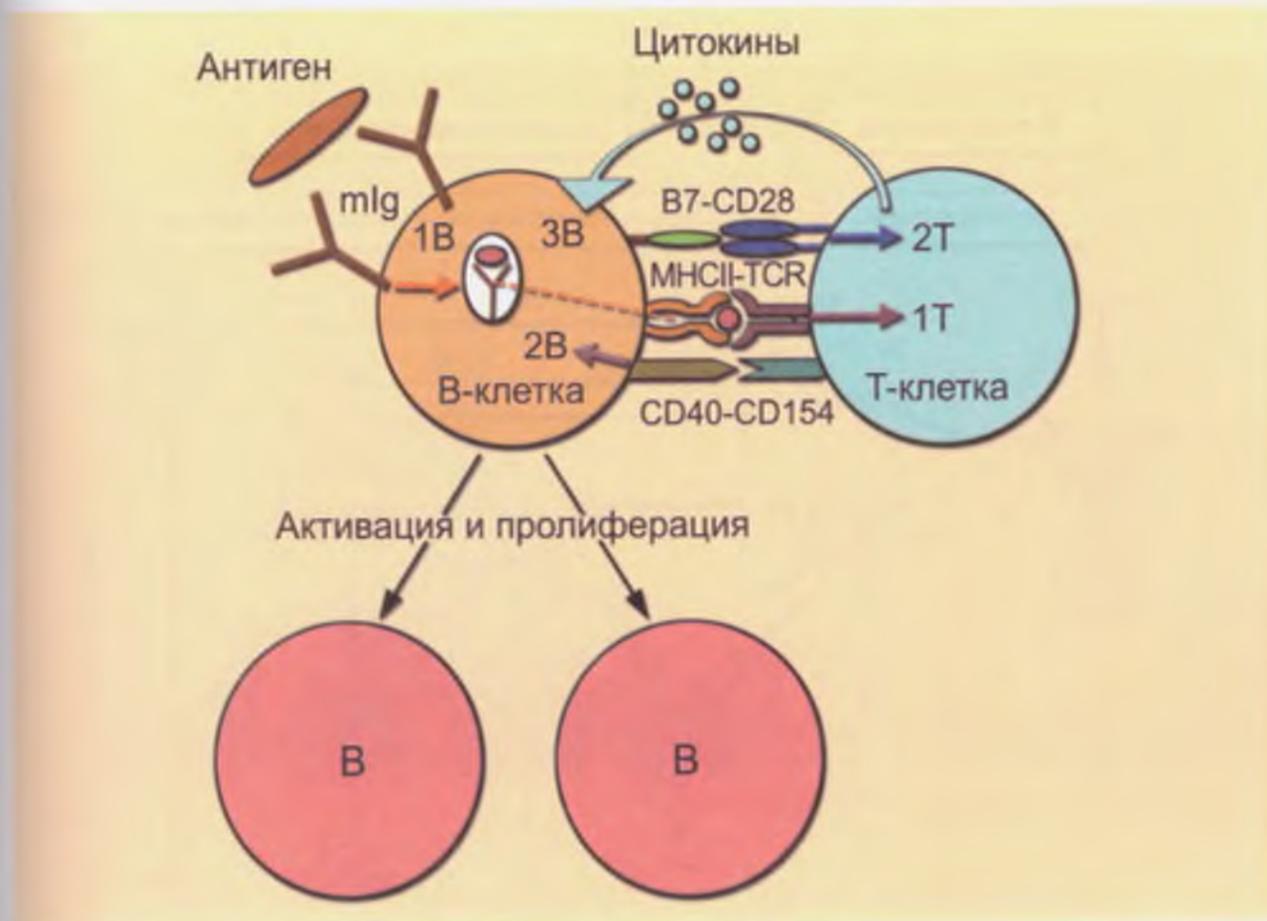


Рис. 370. Природа сигналов, генерируемых при взаимодействии В-клеток и Т-хелперов и необходимых для запуска активации и пролиферации В-клеток

Включение процесса активации В-клеток складывается из цепи событий, при реализации которых порождаются активационные сигналы.

1. Связывание АГ с мембранным иммуноглобулином (mIg) BCR служит источником первого активационного сигнала (1В), усиливающего экспрессию молекул МНС-II и костимулирующих молекул В7 (CD80 и CD86).

2. Комплекс антиген-рецептор интернализуется, фрагменты АГ включаются в молекулы МНС-II, которые экспрессируются на поверхности В-клетки.

3. Рецептор TCR Th2-клетки распознает комплекс МНС-II-пептид (индуцируется сигнал 1Т).

4. Вместе с костимуляцией (сигнал 2Т) через CD28 это приводит к активации Т-клетки, экспрессии CD154 и секреции цитокинов.

5. В результате взаимодействия CD40 — CD154 возникает второй активационный сигнал для В-клеток (сигнал 2В), что приводит к экспрессии рецепторов для цитокинов.

6. Цитокиновые сигналы, возникающие при связывании IL-2, IL-4, IL-5 с их рецепторами (3В), обеспечивают продвижение по циклу и пролиферацию В-клеток.

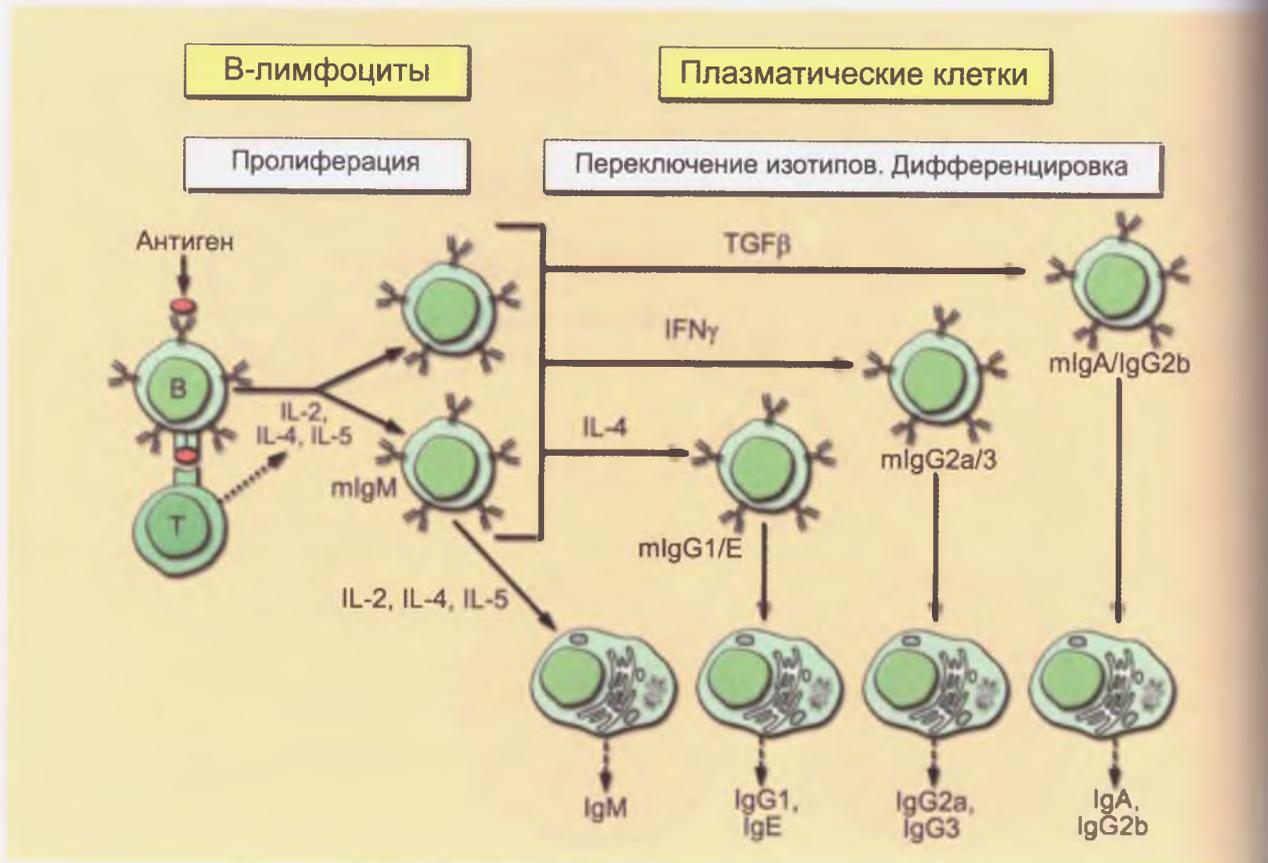


Рис. 371. Дифференцировка антителообразующих (плазматических) клеток

IgM/IgD⁺ В-клетки, вовлечённые в процесс активации при участии Т-клеток, под влиянием ряда цитокинов (преимущественно секретируемых Th2-клетками) вступают в пролиферацию и прodelывают 7–8 митотических циклов. В процессе деления они начинают дифференцироваться в плазматические клетки, секретирующие IgM. Параллельно процессу деления происходит переключение изотипов Ig (см.

рис. 195), реализуемое под влиянием сигналов, возникающих при контактном взаимодействии с Th2-клетками (через CD40), и цитокинов. Формирование плазматических клеток, секретирующих Ig разных изотипов, предшествует переключению изотипов мембранных Ig на поверхности В-лимфоцитов.

Условные обозначения: буква m при символе Ig означает мембранный иммуноглобулин.

Частота мутаций, %

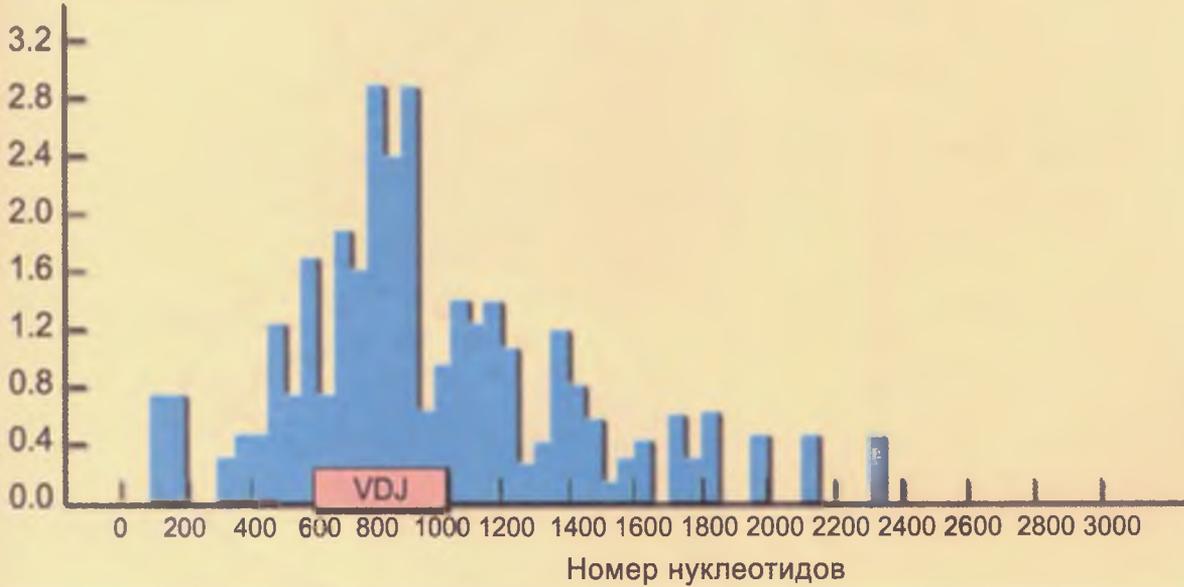


Рис. 372. Повышение частоты соматических мутаций затрагивает преимущественно V-область генов Ig

В В-центробластах, делящихся в зародышевых центрах, резко (на 4 порядка) повышается частота соматических мутаций. Это повышение неравномерно распространяется на разные участки генов *Ig*: оно затрагивает лишь нуклеотиды, локализованные в *IGV*-гене, причём главным образом в об-

ласти VDJ-соединения. На рисунке оно отмечено розовым прямоугольником.

Условные обозначения: VDJ — участок соединения зародышевого *V*-гена тяжёлых цепей с D- и J-сегментами в перестроенном *VH*-гене.

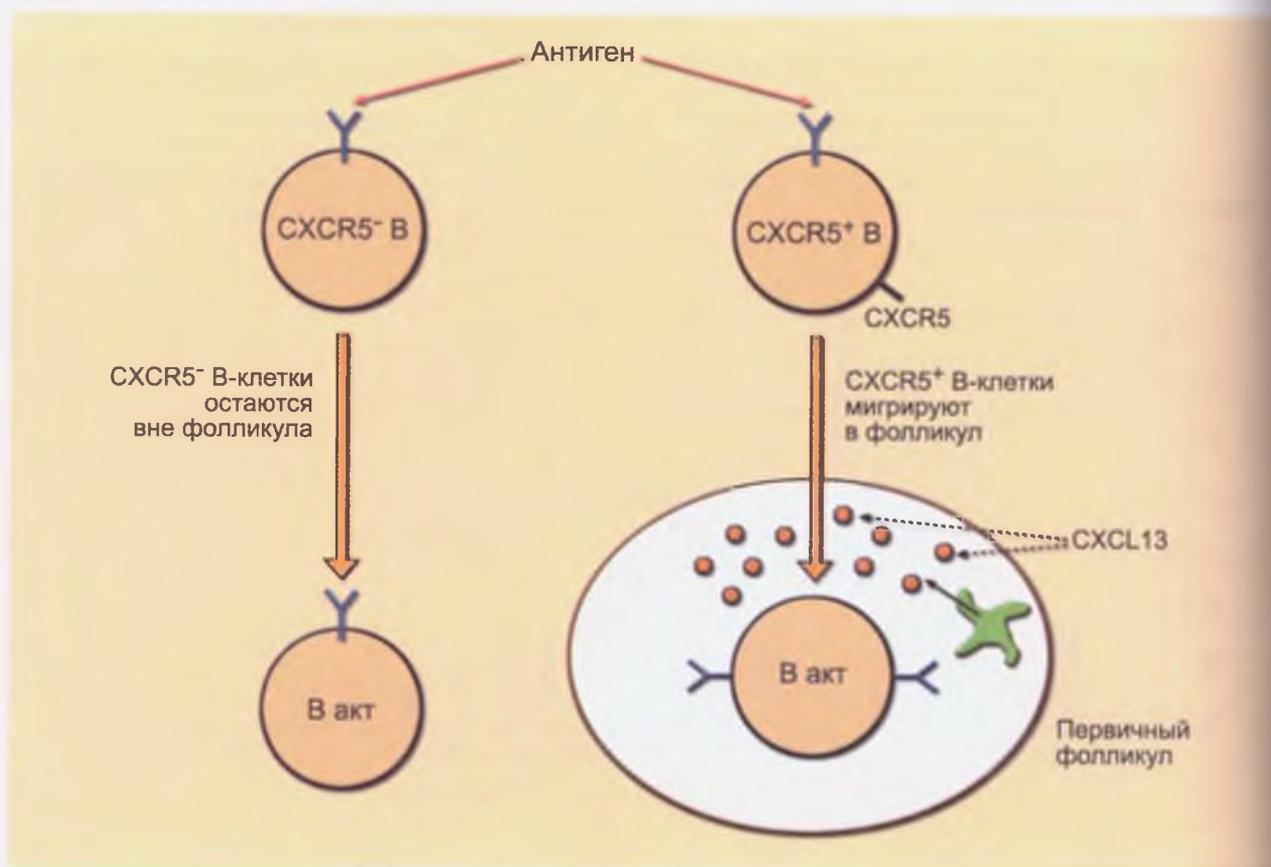


Рис. 373. Различные пути развития антителопродуцирующих клеток в зависимости от способности В-клеток мигрировать в фолликулы

В процессе дифференцировки на большей части В-лимфоцитов экспрессируется хемокиновый рецептор CXCR5, распознающий α -хемокин CCL13 (BLC), ответственный за привлечение В-клеток в В-зоны вторичных лимфоидных органов. CXCR5⁻ В-клетки, не способные мигрировать в первичные фолликулы, оказываются в межфолликулярном пространстве. Взаимодействие с АГ приводит к дифференцировке IgM-антителообразующих клеток при минимальном участии Т-лимфоцитов. Эти клетки отличаются коротким

сроком жизни (3–5 сут) и локализацией в мозговых шнурках. В них не происходит ни созревания аффинитета, ни переключения изотипов. CXCR5⁺ В-клетки, способные мигрировать в первичные фолликулы, реагируя на антиген, проходят обычный путь Т-зависимой дифференцировки в зародышевом центре с участием фолликулярных ДК и Т-лимфоцитов (CD4⁺T_{FH}-клеток). В них происходит переключение изотипов и созревание аффинитета. Они дифференцируются в долгоживущие (3–8 мес) антителообразующие клетки.

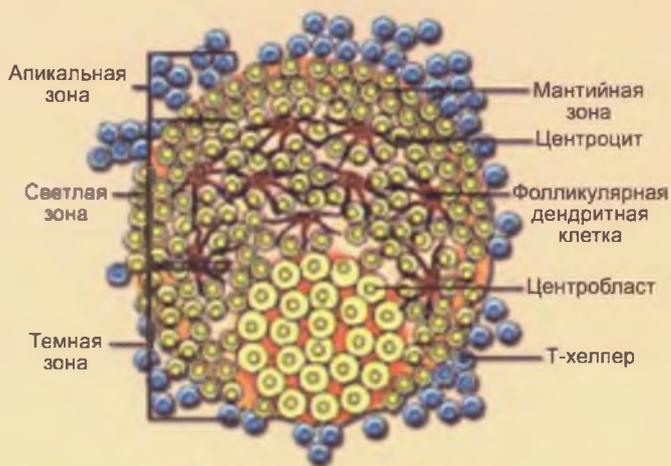
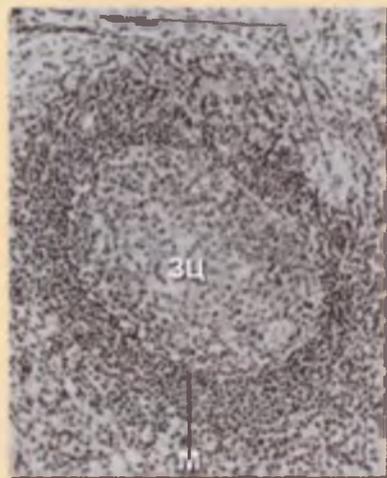


Рис. 374. Строение вторичного фолликула

Представлены микрофотография и схема строения вторичного фолликула с зародышевым центром. На схеме отражён клеточный состав основных зон зародышевых центров. Наиболее специфическим клеточным элементом в них являются фолликулярные ДК. На них фиксированы ИК, слу-

жащие источником АГ, который распознаётся В-лимфоцитами при их селекции на максимальную аффинность антигенсвязывающих рецепторов (BCR).

Условные обозначения: ЗЦ — зародышевый центр; М — мантия.

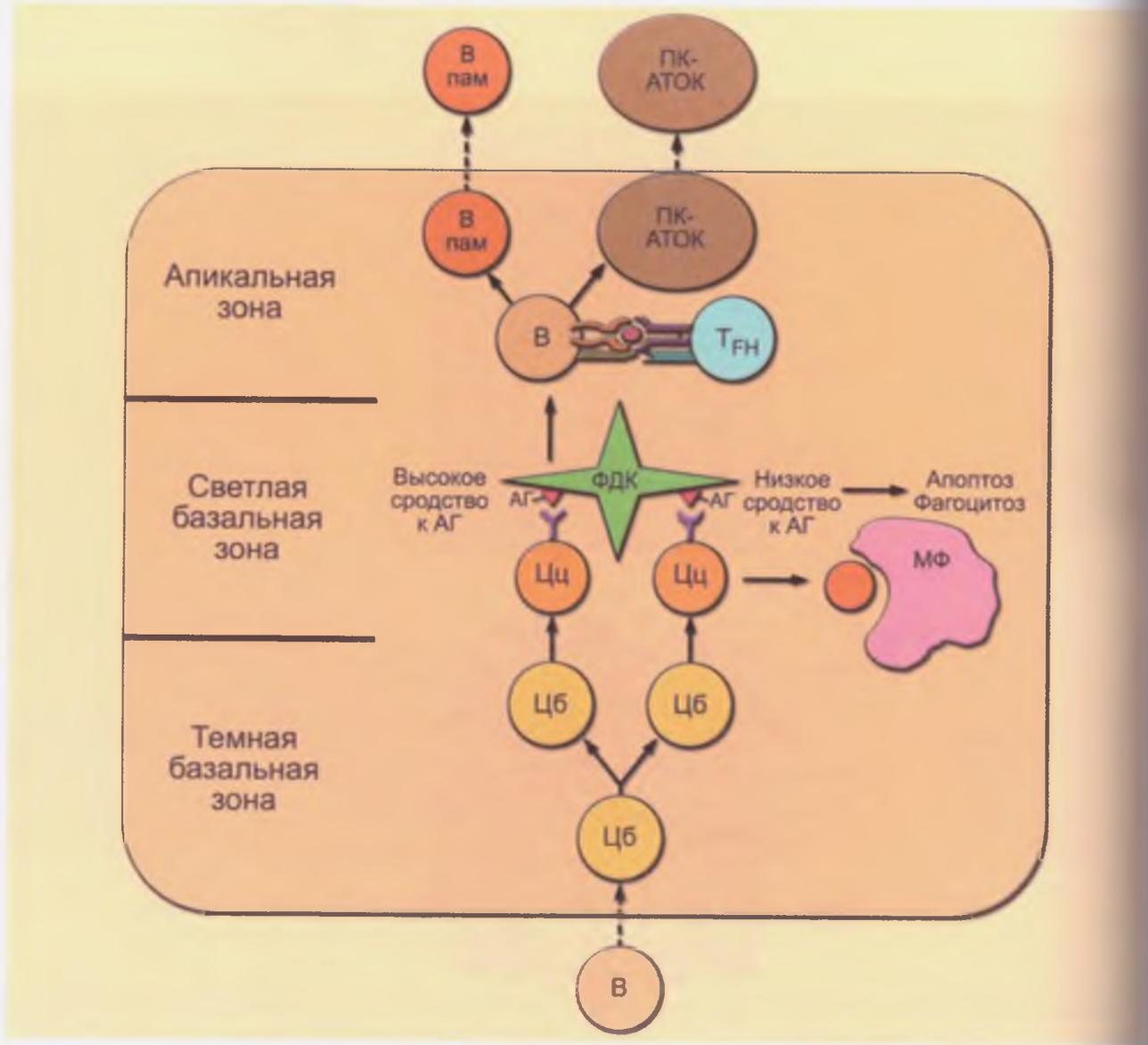


Рис. 375. Селекция В-лимфоцитов и дифференцировка антителопродуцентов и В-клеток памяти в зародышевом центре

Пространственная организация процессов, лежащих в основе этого важного этапа гуморального иммунного ответа, приурочена к перемещению клеток В-ряда от тёмной базальной до апикальной зоны зародышевого центра (на рисунке — снизу вверх). Сразу после миграции в тёмную базальную зону В-лимфоциты, связавшие антиген и получившие дополнительные сигналы от Т-клеток в перифоллику-

лярном пространстве, трансформируются в блас (центробласты) и интенсивно делятся. В делящихся центробластах резко повышается частота мутаций в V-генах иммуноглобулинов. Одновременно ослабляется экспрессия антиапоптотического фактора Bcl-2, что повышает риск развития апоптоза.

Переход в светлую базальную зону совпадает с прекращением делений и усилением мутагенеза.

Здесь В-центроциты подвергаются селекции на высокое сродство их рецепторов (BCR) к антигену. Это достигается путём конкуренции В-клеток за связывание АГ, фиксированного (в ограниченном количестве) на поверхности фолликулярных ДК. Только клетки, связавшие антиген, получают сигнал, который приводит к усилению экспрессии фактора Bcl-2 и тем самым предотвращает развитие апоптоза.

В-центроциты, не связавшие антиген в силу более низкого сродства к нему их рецепторов, подвергаются апоптозу и фагоцитируются МФ. Выживанию В-клеток и дальнейшей дифференцировке способствует взаимодействие с Т-лимфоцитами (фолликулярными Т-хелперами — T_{FH} , см. рис. 346, 347), присутствующими в зародыше-

вых центрах. При переходе в апикальную зону В-клетки вновь делятся и дифференцируются в двух направлениях — в плазматические (антителообразующие) клетки и В-клетки памяти. Те и другие покидают зародышевый центр. Антителообразующие клетки заселяют мозговые шнуры лимфатических узлов, краевую зону и красную пульпу селезёнки, костный мозг и барьерные ткани. В-клетки памяти мигрируют преимущественно в костный мозг и барьерные ткани.

Условные обозначения: АГ — антиген; В — В-клетки; Цб — центробласты; Цц — центроциты; МФ — макрофаги; ФДК — фолликулярные дендритные клетки; T_{FH} — фолликулярные Т-хелперы; Впам — В-клетки памяти; ПК-АТОК — плазматические антителообразующие клетки.

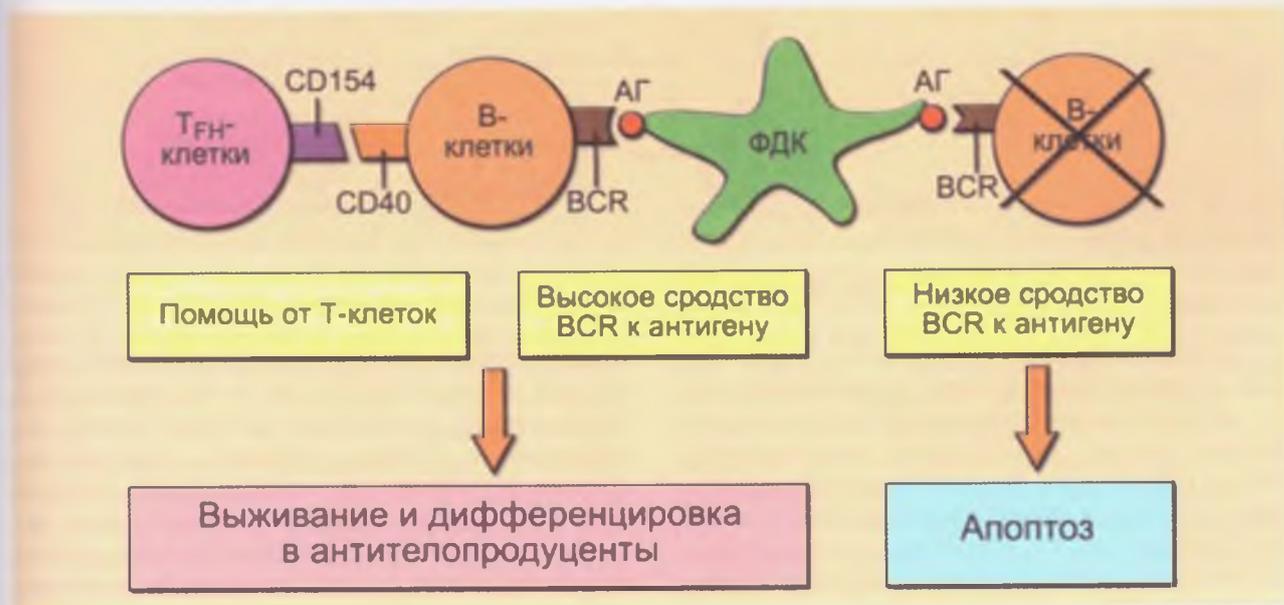


Рис. 376. Повышение аффинности антител в зародышевых центрах

Конкуренция В-клеток за антиген, фокусированный на фолликулярных дендритных клетках (ФДК) зародышевых центров, обеспечивает выживание и дальнейшее развитие тех лимфоцитов, которые обладают максимальным сродством к АГ (на рисунке сродство отражено в пространственном соответствии символов АГ и рецептора). Связывание АГ является источником сигнала к выживанию. Дополнительный сигнал, поддерживаю-

щий жизнеспособность В-клеток, возникает при контакте с Т-клетками (T_{FH}) при условии предварительного связывания В-клеткой АГ и презентации его фрагмента Т-клетке. Источником этого сигнала является взаимодействие молекул CD154 и CD40. В-клетки, не получившие поддерживающих сигналов вследствие недостаточно высокого сродства к АГ, подвергаются апоптозу, что отражено на рисунке в виде перечёркнутой клетки.

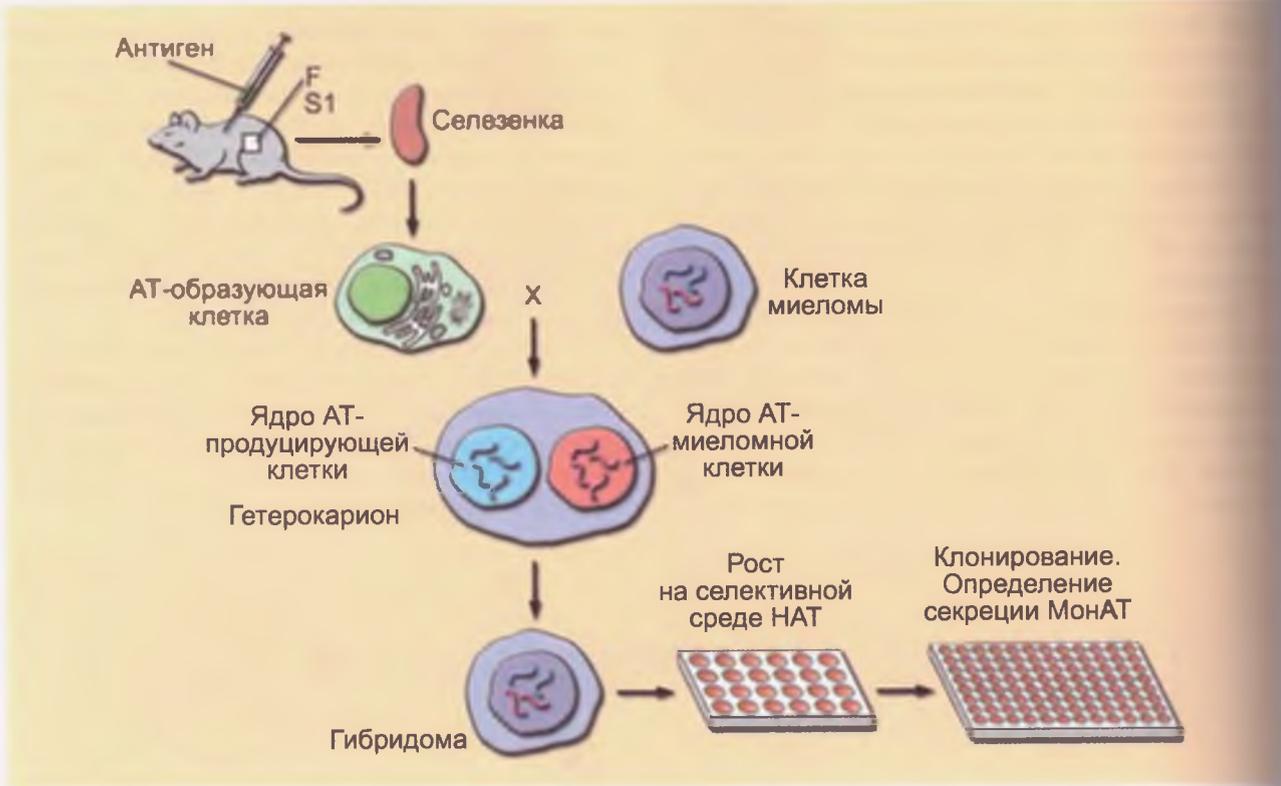


Рис. 377. Схема получения гибридом

Принцип получения гибридом основан на слиянии антителопродуцирующих и опухолевых клеток, которые придают гибридным клеткам соответственно нужную специфичность продуцируемых антител и бессмертие. Источником антителопродуцирующих клеток служит селезёнка мышей, иммунизированной тем АГ, к эпитопу которого необходимо получить моноклональные антитела. В качестве опухолевой клетки используют клетки линий мышинной миеломы, утратившие способность секретировать собственные иммуноглобулины и мутантные по гену *HGPRT* (отбираются по устойчивости к 8-азагуанину) мыши, продуцирующих антитела со специфичностью, заданной иммунизацией, и миеломных клеток, придающих гибриду практическое бессмертие. После слияния осуществляют отбор гибридов-продуцентов антител. Это достигается путём элиминации миеломных клеток культивированием на специальных средах (среды НАТ), содержащих яды, которые отключают пути синтеза ДНК, являющиеся единственными в опу-

холевой (следствие селекции линии клеток, мутантных по гену *HGPRT*), но не в нормальных, и следовательно, и гибридных клетках. Клетки, секретирующие антитела, отбирают с помощью скрининга (обычно иммуноферментным методом или с помощью проточной цитометрии) и последующего клонирования. Отбирают клоны с максимально выраженной пролиферативной и секреторной активностью. Их продукты — моноклональные антитела гомогенны по химическим и функциональным параметрам.

Условные обозначения: *HGPRT* (*Hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase*) — ключевой фермент запасного пути синтеза ДНК; НАТ — селективная среда, содержащая гипоксантин (*hypoxanthin — H*), аминоптерин (*aminopterin — A*) и тимидин (*thymidin — T*); яд аминоптерин отключает основной путь синтеза ДНК, а гипоксантин и тимидин служат молекулами-предшественниками для альтернативного пути синтеза ДНК, отключенного в клетках миеломы (вследствие мутации гена *HGPRT*).



Рис. 378. Основные механизмы реализации действия антител

Проявлением эффекторной функции собственно антител является блокада АГ, приводящая к нейтрализации опасных молекул (например, токсинов) и предотвращению распространения патогенов путём нарушения их подвижности и адгезивности. Другие защитные эффекты антител достигаются за счёт привлечения дополнительных клеток (фагоциты, естественные киллеры) или молекул (комплемент). Связывание антител с поверхностью патогена создаёт эффект опсонизации — облегчения фагоцитарной реакции благодаря распознаванию связавшихся антител Fc-рецепторами фагоцитов. Фиксация антител на поверхности опу-

холевых или инфицированных вирусом клеток облегчает их распознавание естественными киллерами и осуществление антителозависимого NK-клеточного цитолиза. Связывание и активация комплемента по классическому пути оказывает защитное действие с помощью двух механизмов: отложение на поверхности клеток-мишеней C3b оказывает опсонизирующее действие, поскольку фагоциты несут на своей поверхности рецепторы для комплемента (CR); кроме того, активация каскада комплемента обеспечивает осуществление литического действия антител (комплементзависимый цитолиз).

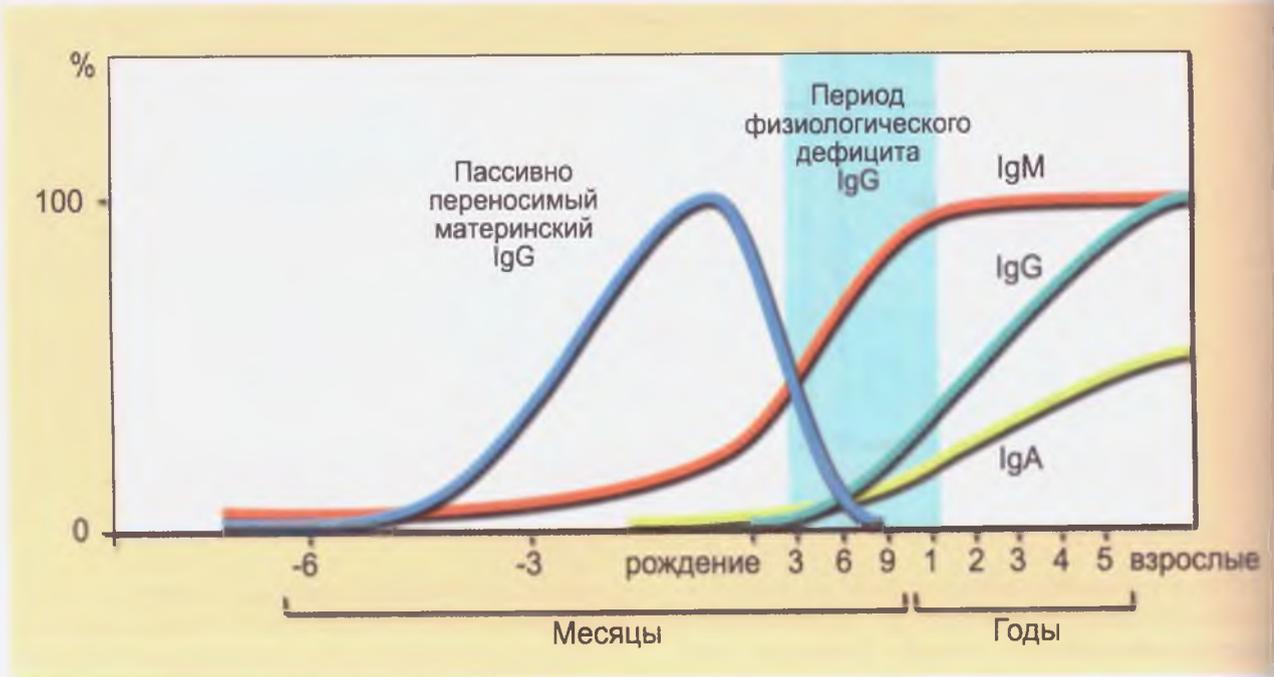


Рис. 379. Возрастная динамика уровней основных изотипов иммуноглобулинов человека

К моменту рождения успевают в значительной степени сформироваться только механизм выработки IgM-антител; полностью он стабилизируется к концу первого года постнатального развития. Образование IgG- и IgA-антител фактически начинает формироваться после рождения и достигает полного развития, соответственно, к 6–7 и 12–15 годам. Гуморальная защита плода и новорожденного обеспечивается преимущественно IgG-антителами

матери, передающимися через плацентарный барьер, а также IgA-антителами, поступающими материнским молоком. Период между 3 мес и 1 годом жизни обозначают как период физиологического дефицита иммуноглобулинов, поскольку этот промежуток исчерпывается источником материнских антител и не успевает сформировать механизм полномасштабного синтеза собственных.

2.3.9. МУКОЗАЛЬНЫЙ ИММУНИТЕТ

Особое положение слизистых оболочек состоит в том, что этот отдел иммунной системы располагается в барьерных тканях, антигенная нагрузка на которые особенно велика. В слизистых оболочках имеются лимфоидные структуры, обеспечивающие первичное восприятие антигенного стимула. Здесь осуществляется выбор между реагированием на чужеродные субстанции или формированием анергии. В первом случае ДК, захватившие антиген, доставляют его во вторичные лимфоидные органы, в которых осуществляется иммунный ответ на АГ. Сформированные эффекторный клетки и клетки памяти расселяются по организму, проявляя троп-

ность к участкам барьерных тканей, откуда осуществлялась доставка дендритными клетками АГ. Эти клетки составляют основу популяции диффузных лимфоцитов, пронизывающих эпителиальный слой и подслизистые образования. Другую часть этой популяции образуют лимфоидные клетки, занимающие пограничное положение между системами врождённого и адаптивного иммунитета. Они реализуют свою защитную и регуляторную функции местно. Клетки памяти также способны активироваться местно, в результате презентации им антигена не только дендритными, но и другими антигенпрезентирующими клетками.

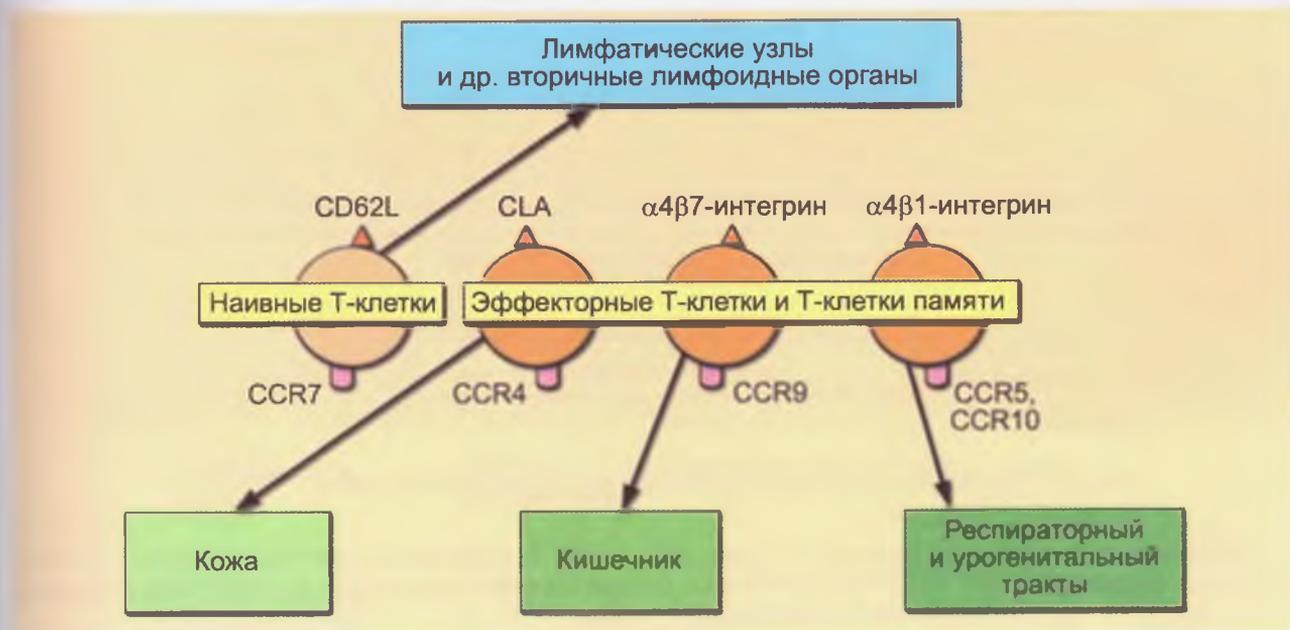


Рис. 380. Направление миграции Т-клеток определяется спектром мембранных молекул адгезии и хемокиновых рецепторов

Условием полноценного функционирования иммунной системы является миграция клеток (см. рис. 272, 275). Наивные лимфоциты мигрируют из мест образования в соответствующие зоны вторичных лимфоидных органов, а затем непрерывно рециркулируют. Эффекторные лимфоциты, развившиеся в ходе иммунного ответа во вторичных лимфоидных органах, перемещаются в те участки организма, в которых они выполняют свои функ-

ции, прежде всего в барьерные ткани и очаги воспалительных реакций. На рисунке над изображением лимфоцитов представлены молекулы адгезии, под ними — хемокиновые рецепторы, которые определяют хоминг лимфоцитов. Стрелками показаны направления миграции наивных Т-клеток (во вторичные лимфоидные органы — верхняя часть рисунка) и эффекторных Т-клеток памяти (в барьерные ткани — нижняя часть рисунка).

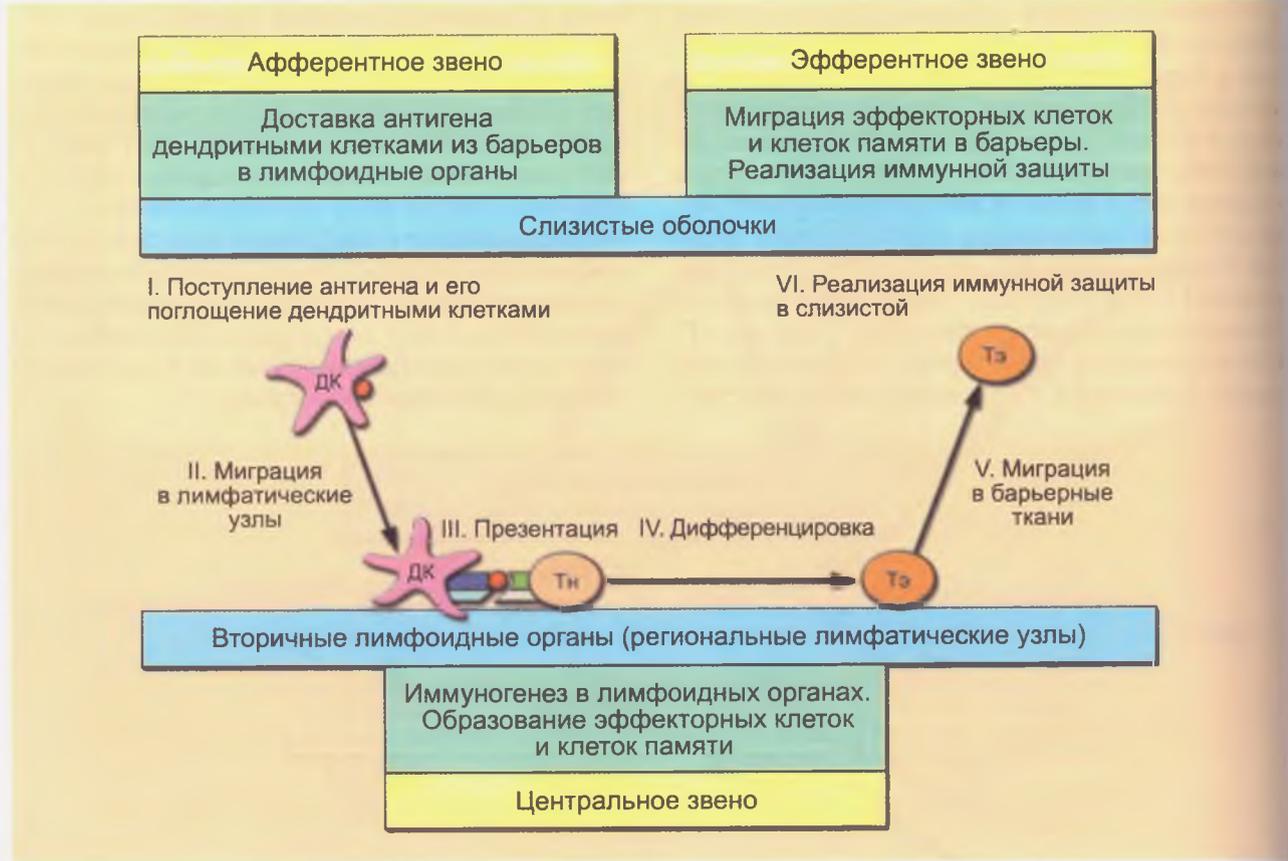


Рис. 381. Перемещение клеток в процессе мукозального иммунного ответа

Основные этапы развития иммунного ответа в слизистых оболочках:

I. Захват АГ дендритными клетками в слизистой оболочке.

II. Миграция ДК в региональный лимфатический узел.

III. Презентация АГ дендритными клетками Т-хелперам и другим Т-лимфоцитам в лимфатическом узле.

IV. Развитие в лимфатическом узле иммунного ответа с формированием эффекторных клеток и клеток памяти.

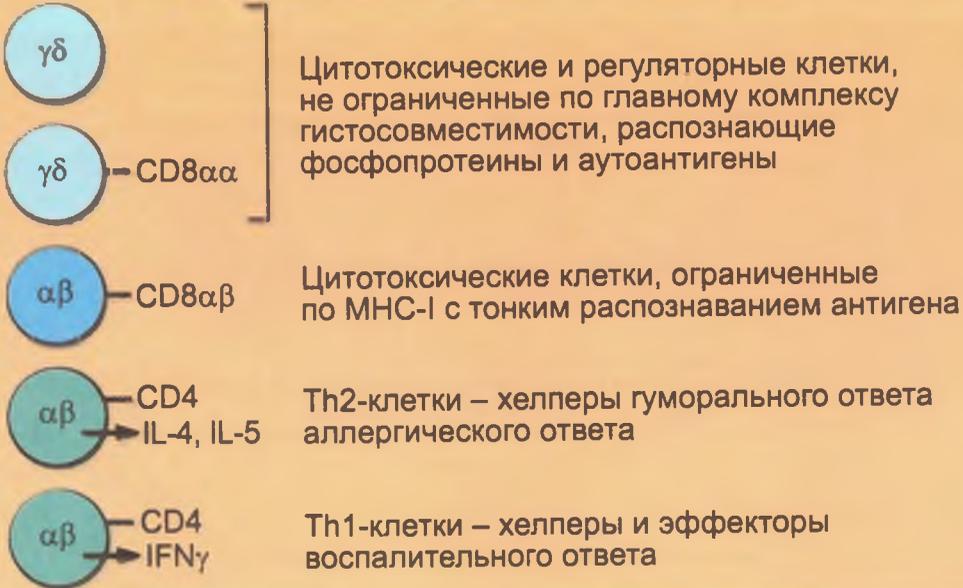
V. Миграция эффекторных клеток и продуцентов антител в слизистые оболочки и очаги воспаления.

VI. Реализация в слизистых оболочках и очагах воспаления эффекторных функций лимфоцитов и антител.

Таким образом, иммунный ответ развёртывается в двух или трёх местах, соединённых путями миграции (рециркуляции). Участок слизистой оболочки, в котором антиген проник в организм и место реализации функций индуцированных эффекторных факторов не обязательно совпадают.

Условные обозначения: ДК — дендритная клетка, Тн — наивная Т-клетка, Тэ — эффекторная Т-клетка.

Слизистая оболочка (эпителий)



Lamina propria

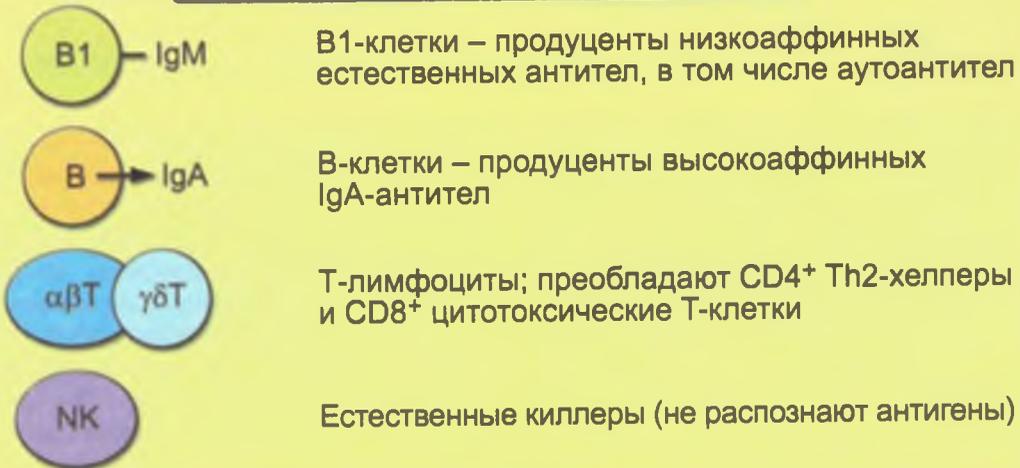


Рис. 382. Эффекторные лимфоидные клетки, функционирующие в слизистых оболочках и в *lamina propria*

В эпителиальном слое преобладают клетки T-ряда; численно наиболее многочисленны CD8⁺ αβT- и γδT-клетки.

В *lamina propria* и в подслизистом слое соседствуют T-, B- и NK-клетки, численно преобладают IgA⁺ B-клетки и плазмоциты.

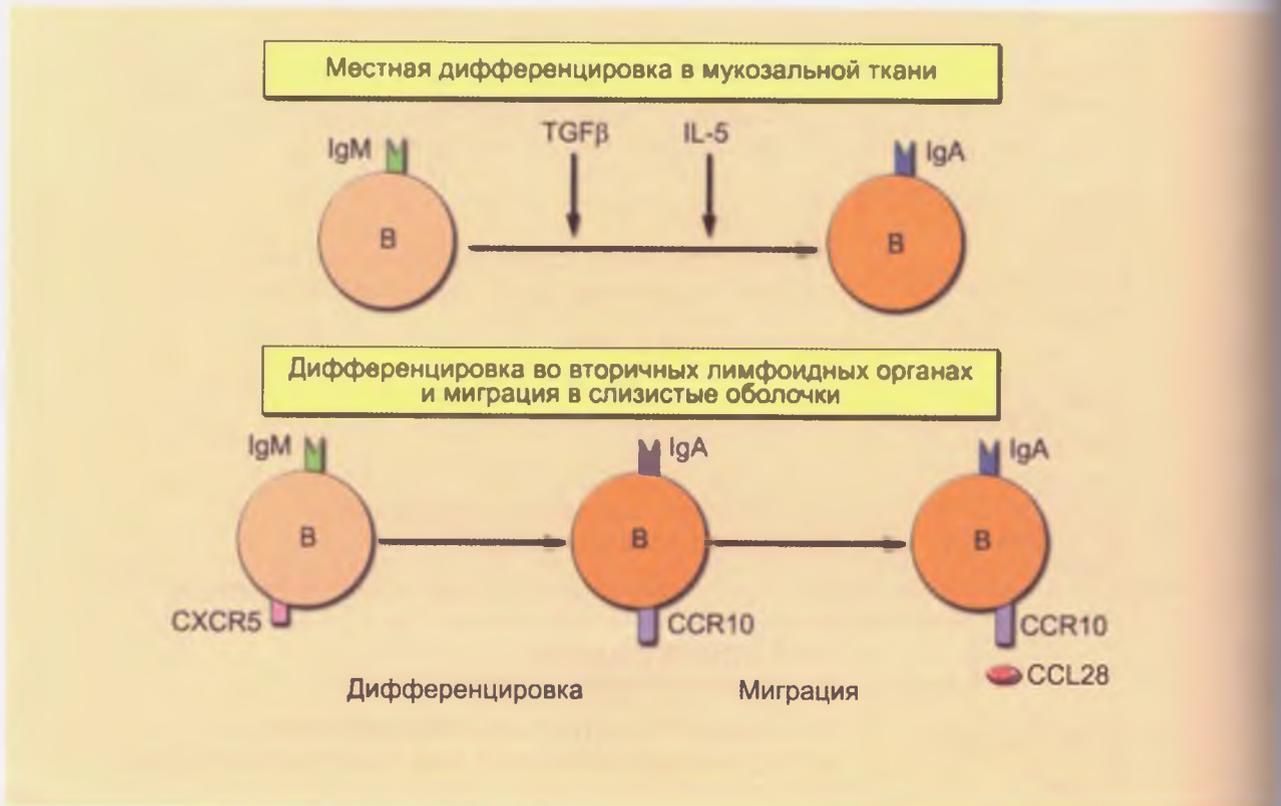


Рис. 383. Факторы, определяющие дифференцировку и миграцию IgA⁺ В-клеток в слизистые оболочки

Преобладание IgA⁺ лимфоцитов и плазматических клеток, продуцирующих IgA, среди клеток В-ряда в слизистых оболочках объясняется двумя причинами: избирательной дифференцировкой активированных IgM⁺ В-лимфоцитов в IgA⁺ клетки, реализуемой местно, и избирательной миграцией IgA⁺ клеток, дифференцировавшихся во вторичных лимфоидных органах или других участках лимфоидной ткани, в *l. propria* и подслизистый слой. Местная дифференцировка обусловлена присутствием в слизистых оболочках факторов микроокружения, благоприятствующих переключению

иммуноглобулиновых изотипов на IgA (TGFβ, а также способствующих пролиферации IgA⁺ В-клеток (IL-5)). Помимо цитокинов таким фактором является микрофлора. Избирательная миграция в слизистые оболочки IgA⁺ В-клеток обусловлена экспрессией ими хемокинового рецептора CCR10 (вместо CXCR5, присутствующего на naïвных В-клетках), который обуславливает хемотаксис в направлении хемокина CCL28, продуцируемого в слизистых оболочках.

Условные обозначения: CXCR5, CCR10 — хемокиновые рецепторы; CXCL28 — хемокин.

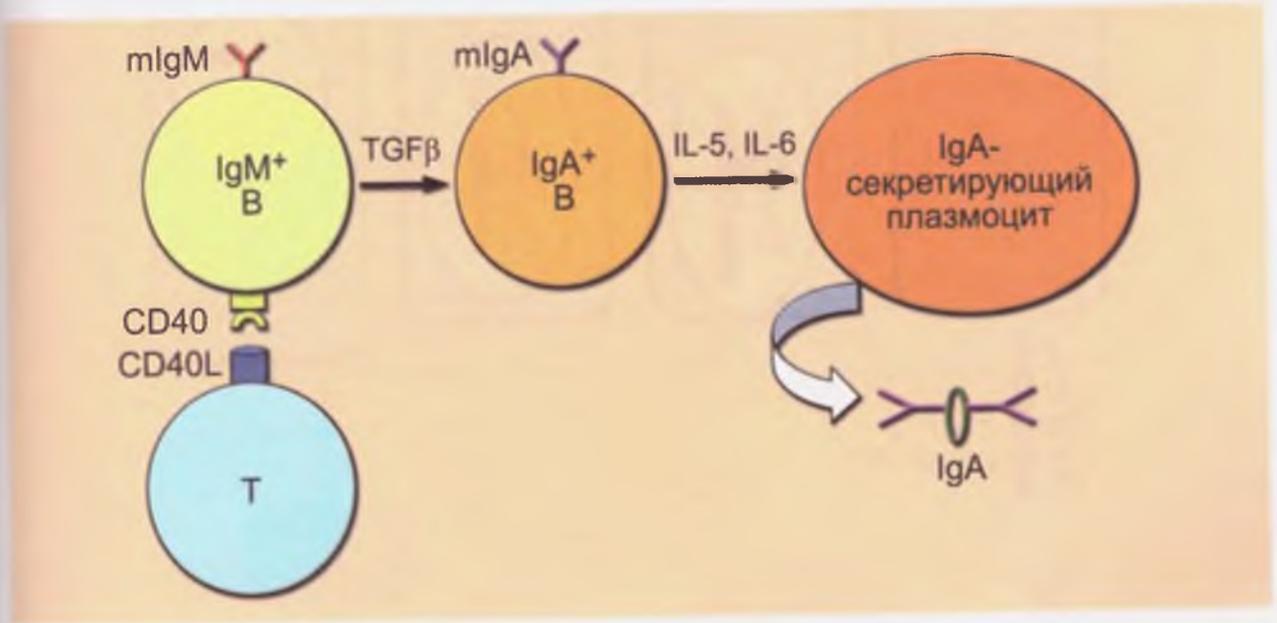


Рис. 384. Контроль дифференцировки IgA-секретирующих клеток

Условием активации и переключения изотипов иммуноглобулина при действии АГ является получение активированными В-клетками сигнала от Т-хелперов, передаваемого через костимулирующую молекулу CD40. Активированная IgM^+ В-клетка, оказавшись в слизистых оболочках, испытывает действие факторов микроокружения, среди которых решающую роль в переключении изотипа на

IgA играет $TGF\beta$ (см. рис. 195, 371). Концентрация $TGF\beta$ в слизистых оболочках достаточно велика: он секретируется эпителиальными клетками (спонтанно), а также Th3-лимфоцитами. На этапе незрелой плазматической клетки пролиферация IgA-продуцирующих клеток поддерживается $IL-5$ и $IL-6$, которые секретируются Th2-клетками.

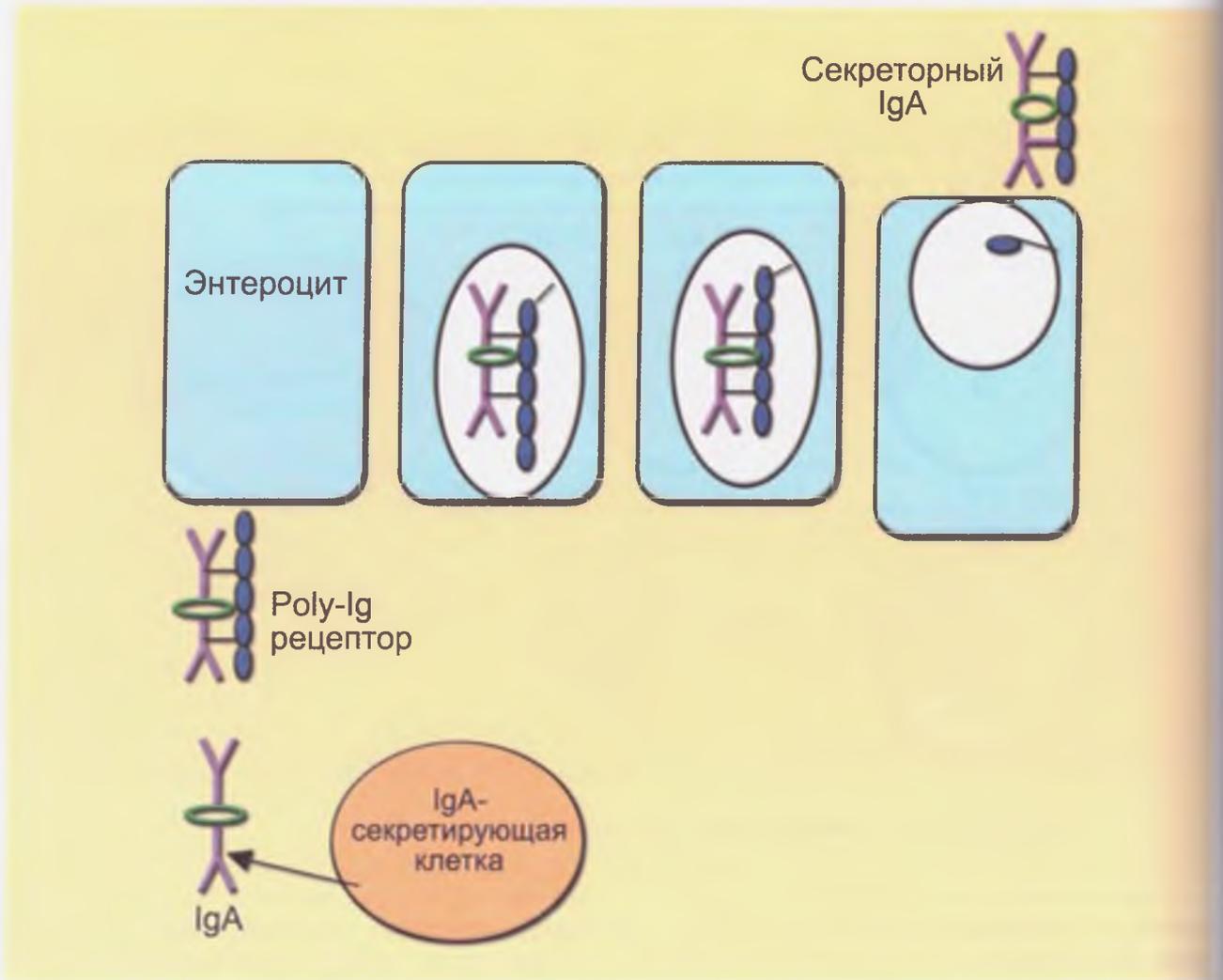


Рис. 385. Схема формирования секреторного IgA

IgA-димер, секретируемый плазматической клеткой в слизистой оболочке, связывается с Poly-Ig-рецептором эпителиальной клетки (в типичном случае — энтероцита). Комплекс подвергается эндоцитозу. В составе эндосомы он транспортируется от базального к апикальному полюсу клетки. Поли-Ig-рецептор подвергается протеолитическому расщеплению. Большая часть рецептора остаётся связанной с IgA. Молекула, содержащая, кроме димера

IgA, фрагмент рецептора, обозначаемый как секреторный компонент (SC), называется секреторным IgA, или sIgA. Содержимое эндосомы эвакуируется из клетки, и sIgA оказывается в просвете тракта (кишечного и др.). Считается, что SC-цепь защищает IgA от протеолиза пищеварительными ферментами. sIgA, связываясь с патогенами, предотвращает их адгезию на эпителиальных клетках и, следовательно, проникновение через слизистый барьер.

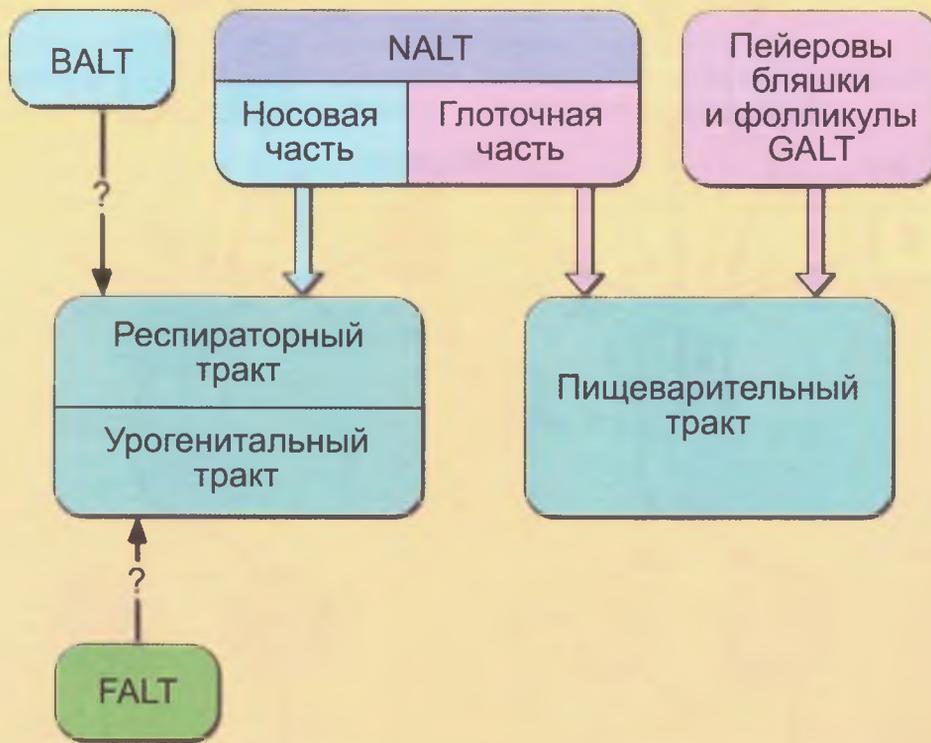


Рис. 386. Индукторные участки для иммунной системы слизистых оболочек

Антигенный сигнал может быть полноценно воспринят теми участками слизистых оболочек, которые содержат лимфоидные структуры — фолликулы, миндалины, пейеровы бляшки (см. рис. 262). Эти структуры обозначаются как MALT (*Mucosa-associated lymphoid tissue*). Наиболее развитым вариантом MALT является GALT (*Gut-associated lymphoid tissue*) — лимфоидная ткань, ассоциированная с кишечником. Стабильным вариантом MALT является также NALT (*Nasopharynx-associated lymphoid tissue*) — лимфоидная ткань, связанная с носоглоткой. Напротив, BALT не является постоянным образованием: она есть не у всех людей и может исчезать или, наоборот, формироваться в за-

висимости от антигенной нагрузки. Урогенитальный тракт мужчин не имеет MALT. У женщин имеется FALT (*Fallopian tube-associated tissue*) — лимфоидная ткань, ассоциированная с фаллопиевыми трубами.

Представления о локализации MALT важны с точки зрения выбора путей вакцинации, которые обеспечивали бы (с учётом закономерностей миграции активированных лимфоцитов) защиту определённых регионов барьерных тканей. С этой точки зрения защита кишечника может быть обеспечена при пероральном поступлении АГ, а респираторного и урогенитального путей — при его назальном введении.

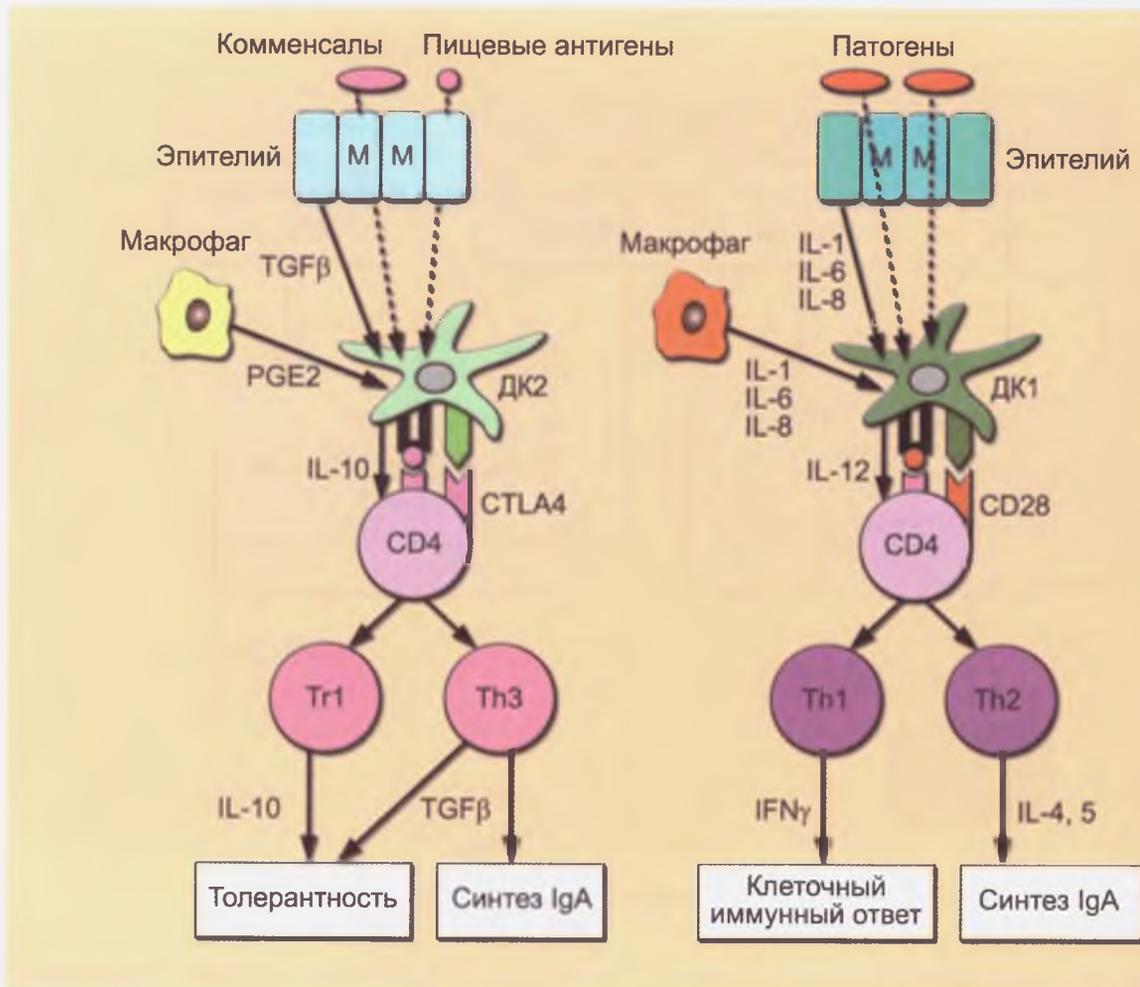


Рис. 387. Условия формирования толерантности и иммунитета в слизистых оболочках

Через слизистые оболочки постоянно проникают АГ — пищевые и бактериальные (как комменсалов, так и патогенов). Характер ответа мукозальной иммунной системы на эти АГ определяется наличием в их составе молекулярных паттернов, ассоциированных с патогенами (РАМР), которые способны включать воспалительную реакцию. В случае отсутствия РАМР эпителиальные клетки и макрофаги секретируют супрессорные факторы — соответственно $TGF\beta$ и $PGE2$. В результате действия этих факторов ДК приобретают форму супрессорных ДК2, секретирующих ещё один супрессорный фактор — $IL-10$. Т-лимфоциты, взаимодействующие с такими клетками и воспринимающие от них антигенный стимул, дифференцируются в регуляторные клетки — $Tr1$ и $Th3$ (продуцируют $IL-10$ и $TGF\beta$). В слу-

чае внедрения агентов, несущих РАМР, эпителиоциты и МФ, распознающие РАМР ТЛ-рецепторами активируются и начинают секретировать воспалительные цитокины $IL-1$, TNF , $IL-6$, $IL-8$ и др. Под влиянием активации ДК также активируются и секретируют $IL-12$ (ДК1). При взаимодействии с такими дендритными клетками $CD4^+$ Т-лимфоциты, воспринимающие антигенный сигнал с участием костимулирующей молекулы $CD28$, дифференцируются в активные Т-хелперы — $Th2$, которые поддерживают секрецию IgA , и в ещё большей степени — $Th1$, которые обуславливают развитие воспалительной формы клеточного иммунного ответа.

Условные обозначения: М — М-клетки; ДК1, ДК2 — дендритные клетки типов 1 и 2; $Tr1$ — регуляторные Т-клетки 1; $PGE2$ — простагландин E2.

2.3.10. КЛЕТКИ ПАМЯТИ И ВТОРИЧНЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ

Способность формировать клетки памяти в ходе иммунного ответа составляет одно из наиболее кардинальных отличий адаптивного иммунитета от врождённого и, без сомнения, является главным преимуществом первого.

Особенность клеток памяти состоит в том, что они не участвуют в тех иммунных процессах, в ходе которых они образовались (например, в первич-

ном иммунном ответе). Зато при повторном поступлении того антигена, который они распознают, их реакция оказывается более быстрой, мощной и результативной, чем реакция наивных лимфоцитов. Присутствие в организме клеток памяти к антигенам возбудителей обеспечивает устойчивость к ним организма (собственно наличие иммунитета).

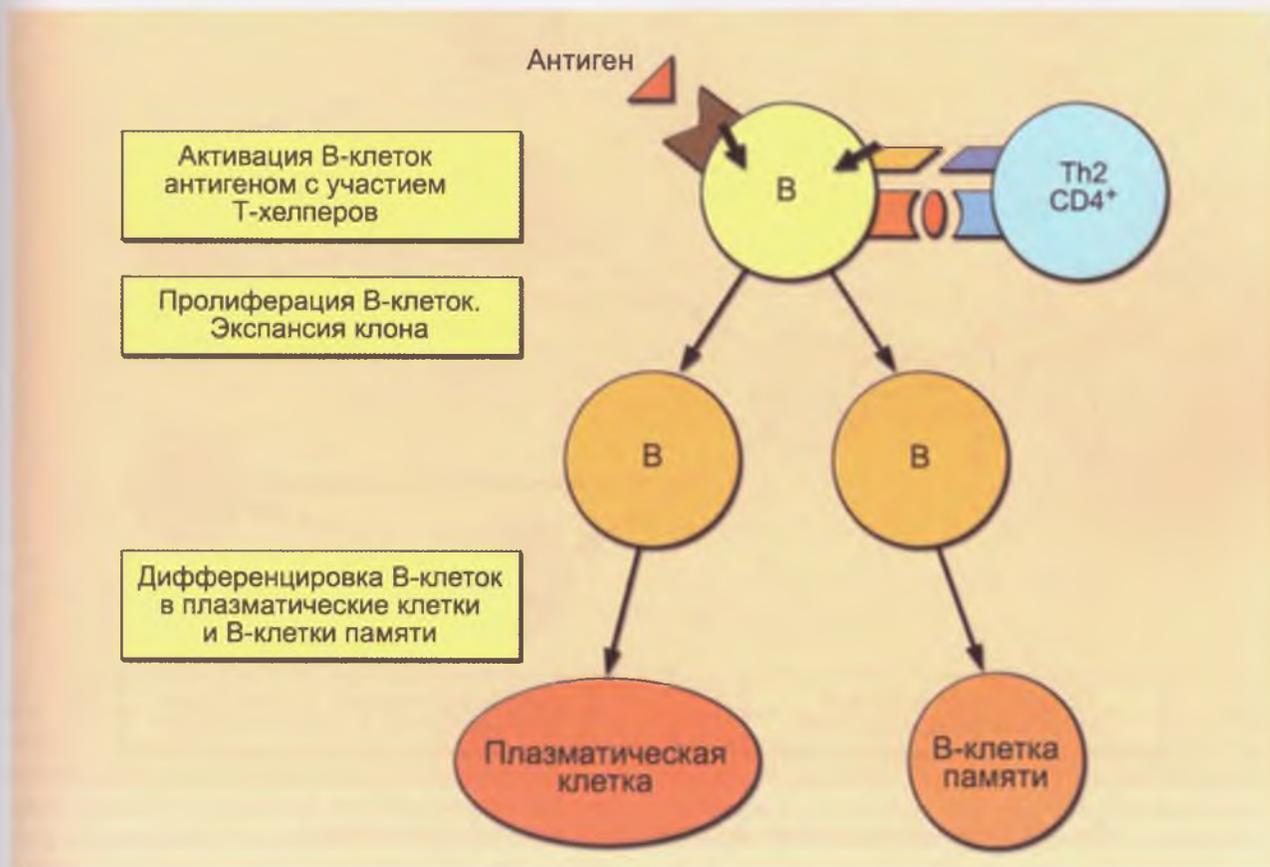


Рис. 388. Параллельное развитие плазматических клеток-антителопродуцентов и В-клеток памяти

Плазматические клетки и В-клетки памяти дифференцируются одновременно из одних и тех же наивных В-клеток, как полагают, под влиянием аналогичных сигналов. Это два альтернативных пу-

ти реализации дифференцировочной программы В-клеток. В противоположность плазмоцитарной морфологии антителообразующих клеток В-клетки памяти сохраняют строение малых лимфоцитов.

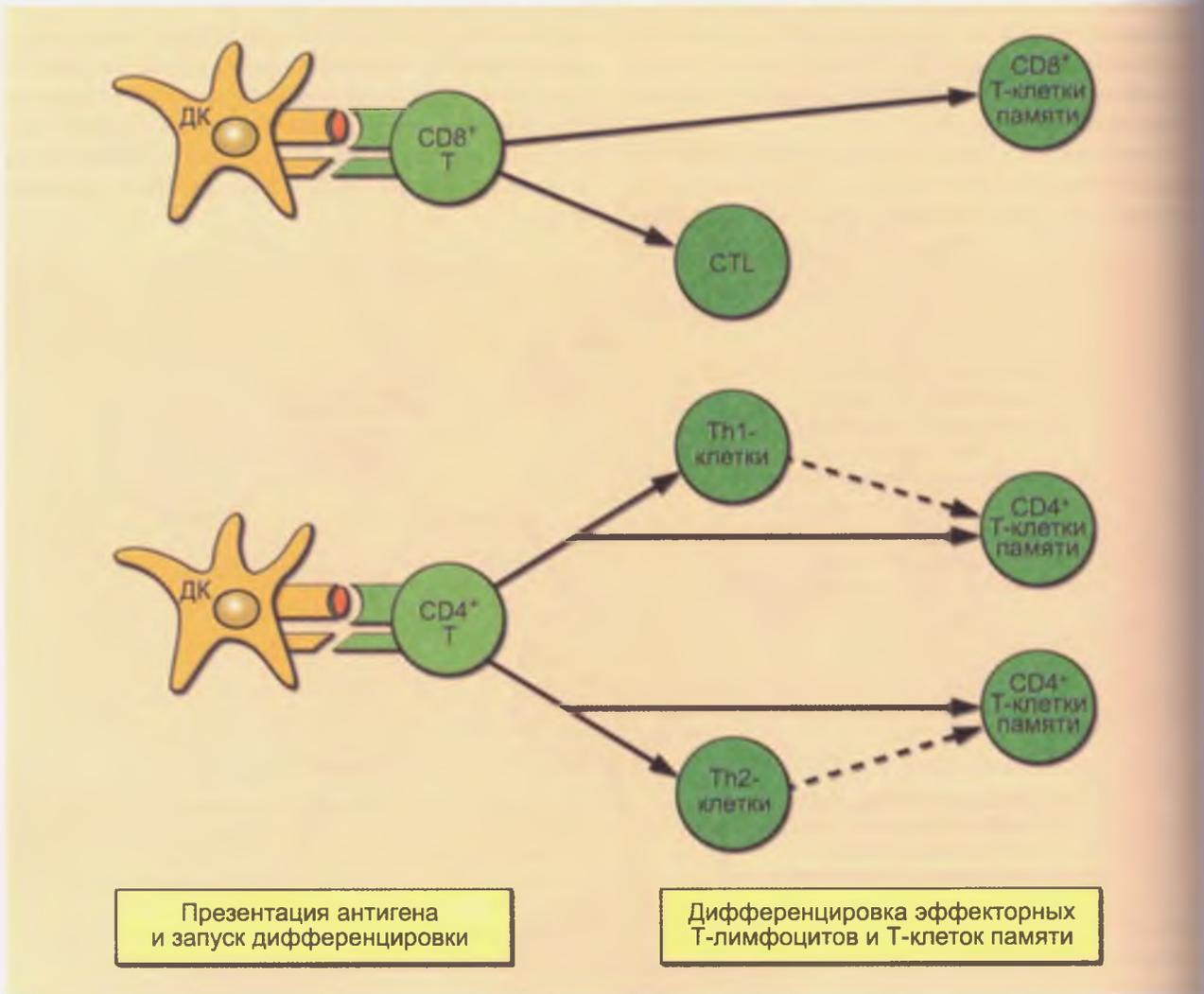


Рис. 389. Параллельное развитие эффекторных Т-клеток и Т-клеток памяти

При развитии клеточного иммунного ответа, опосредованного как CD4⁺, так и CD8⁺ Т-клетками, одновременно формируются Т-клетки памяти соответствующих типов. В обоих случаях исходным событием служит презентация АГ Т-лимфоцитам дендритными клетками CD4⁺. Допускается, что формирование Т-клеток памяти

может реализоваться, начиная не только со ста- наивных, но и эффекторных Т-клеток, в частнос- Th1- и Th2-лимфоцитов. В этом случае сохраняется преимущественная склонность клеток к выработ- цитокинов 1-го или 2-го типа.

Условные обозначения: ДК — дендрити- клетки.

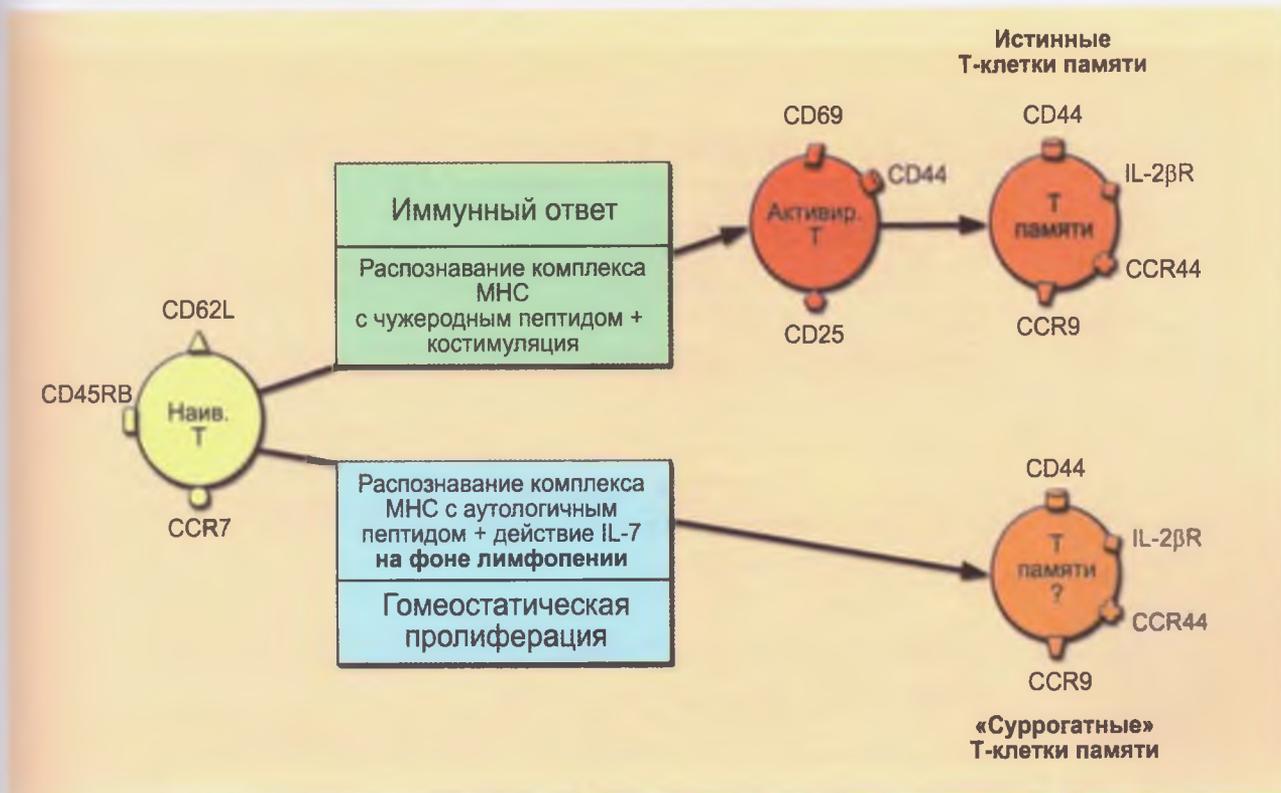


Рис. 390. Особенности формирования Т-клеток памяти при иммунном ответе и подобных им (суррогатных) клеток при гомеостатической пролиферации

Помимо нормального пути формирования Т-клеток памяти обнаружен механизм образования фенотипически сходных клеток, образующихся в процессе гомеостатической пролиферации (см. рис. 283), т.е. пролиферации, вызванной не антигенной стимуляцией, а снижением содержания в организме Т-клеток. Главные различия в процессе формирования и свойствах этих разновидностей Т-клеток памяти следующие. Истинные Т-клетки памяти образуются под влиянием распознавания АГ (комплекса чужеродного антигенного пептида с молекулой МНС); в реакцию вовлекаются клетки ограниченного числа клонов, различающих данный антиген; формированию

Т-клеток памяти предшествует активация Т-клеток. Во втором случае причиной дифференцировки является состояние лимфопении, а индуцирующими факторами — комплекс молекулы МНС с аутологичным пептидом в сочетании с действием IL-7 и, возможно, еще каких-то факторов, индуцируемых лимфопенией; в реакцию вовлекаются клетки вне зависимости от клональной принадлежности, при этом они не проходят фазу активации. Функционально такие клетки сходны с нормальными Т-клетками памяти, но в силу особенностей клонального состава и других причин они могут стать причиной аутоиммунной патологии (см. рис. 394).

Наивные Т-клетки

человека: CD45RA⁺CD62L^{hi}

мыши: CD4⁺ – CD45RB^{hi}CD44^{lo}
CD8⁺ – CD44^{lo}Ly-6C^{lo}IL-2R β ^{lo}

Т-клетки памяти

человека: CD45RO⁺CD62L^{lo}

мыши: CD4⁺ – CD45RB^{lo}CD44^{hi}
CD8⁺ – CD44^{hi}Ly-6C^{hi}IL-2R^{hi}

На Т-клетках памяти сильнее, чем на наивных Т-клетках, экспрессируются молекулы CD2, CD58 (LFA-3), CD11a/CD18 (LFA-1), CD49d/CD29 (VLA-4)

Рис. 391. Особенности мембранного фенотипа наивных Т-клеток и Т-клеток памяти

Неотличимость морфологии наивных лимфоцитов и клеток памяти порождает задачу дифференцирования этих клеток на основании их мембранного фенотипа. Чаще всего для того, чтобы различить эти клетки, оценивают экспрессию на их поверхности изоформ молекулы CD45R (на наивных Т-клетках — RA, на Т-клетках памяти — R0),

а также уровень экспрессии селектина CD62L и другой молекулы адгезии — CD44 (наивные Т-клетки — CD62L^{hi}CD44⁻, Т-клетки памяти — CD62L^{lo}CD44⁺). К указанным отличиям мембранных маркёров наивных Т-клеток и Т-клеток памяти следует добавить различный спектр хемокиновых рецепторов (см. рис. 272, 393).

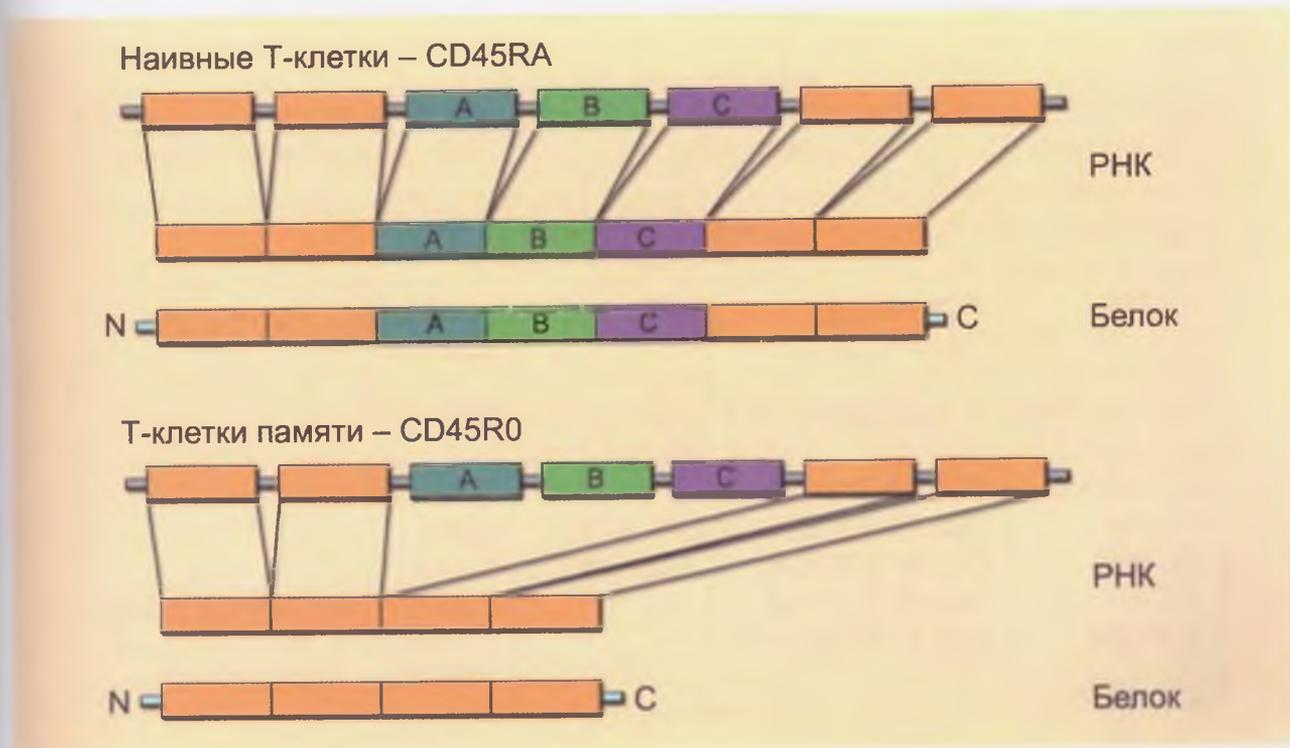


Рис. 392. Особенности сплайсинга РНК и структуры внеклеточной части молекулы CD45R наивных Т-клеток и Т-клеток памяти

Ген CD45 имеет 8 экзонов. В наивных клетках транскрибируемая мРНК транслируется в полном масштабе, и формируется белок, содержащий домены (и, соответственно, эпитопы) А, В и С. По мере дифференцировки в эффекторные клетки включается процесс сплайсинга участков РНК, кодируемых экзонами сначала А, затем В

и, наконец, С. Соответственно, белковый продукт лишается доменов А, В и С. Продукт, содержащий все названные домены, обозначают как CD45RA (или CD45RABC), а результат конечной модификации РНК — как CD45R0. Наивные Т-клетки экспрессируют CD45RA, а Т-клетки памяти — CD45R0.

Рецепторы	Хемокины	Направление миграции
Центральные Т-клетки памяти		
CCR7	CCL19 (ELC) CCL21 (SLC)	Вторичные лимфоидные органы
Эффекторные Т-клетки памяти		
CCR9 CCR4 CCR10 CCR6 CXCR4	CCL25 (TECK) CCL17 (TARC), CCL22 (MDC) CCL27 (СТACK), CCL28 (MEC) CCL20 (LARC) CXCL12 (SDF-1)	Кишечник Кожа Кожа Разные барьерные ткани Вторичные лимфоидные органы, костный мозг

Рис. 393. Два типа Т-клеток памяти и их миграционные характеристики

По экспрессии хемокиновых рецепторов и направлениям миграции Т-клетки памяти разделяются на два типа, обозначенные как центральные и эффекторные Т-клетки памяти. Первые имеют тот же набор хемокиновых рецепторов, что и наивные Т-клетки, и, как и они, мигрируют в Т-зоны вторичных лимфоидных органов. Вторая разновидность клеток памяти совпадает по экспрессии хе-

мокиновых рецепторов и миграционным характеристикам с эффекторными Т-лимфоцитами (отсюда обозначение этой разновидности клеток памяти). Полагают, что центральные Т-клетки памяти являются промежуточным этапом на пути дифференцировки эффекторных Т-клеток, однако допускается возможность, что это — истинные субпопуляции Т-клеток памяти.

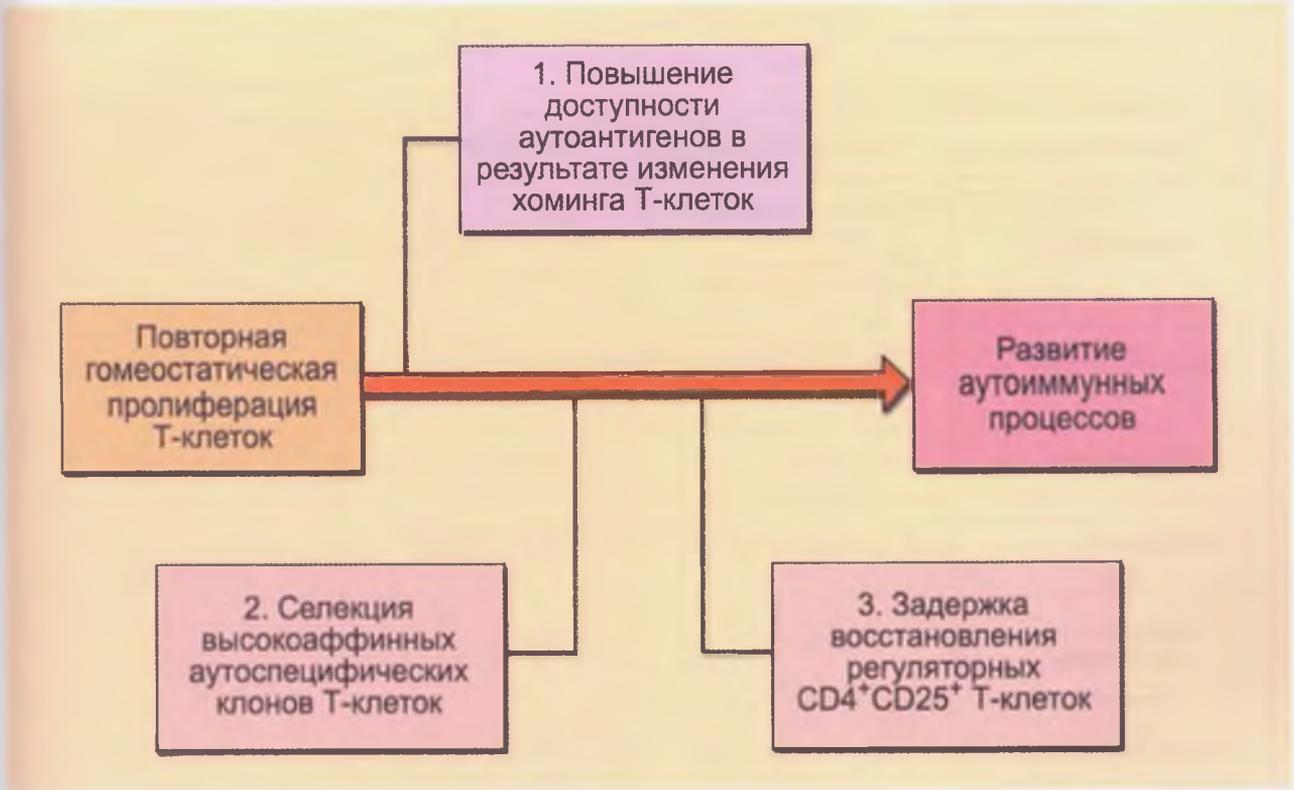


Рис. 394. Патогенез аутоиммунных процессов, развивающихся на фоне гомеостатической пролиферации Т-клеток

Конверсия фенотипа Т-клеток в процессе гомеостатической пролиферации повышает вероятность развития аутоиммунных процессов. Это обусловлено рядом причин. Т-клетки с фенотипом клеток памяти рециркулируют иными путями, чем наивные Т-клетки (см. рис. 393). Попадая в нелимфоидные ткани, Т-клетки могут контактировать с аутоантигенами, распознаваемыми их рецепторами (1). При повторных контактах возможен отбор суб-

клонов Т-клеток с высоким сродством к этим антигенам (2), и эти клетки могут инициировать аутоиммунный процесс. Этому способствует более медленная регенерация регуляторных Т-клеток по сравнению с предшественниками эффекторных Т-клеток (3). Именно такую природу имеют аутоиммунные процессы, индуцируемые облучением и другими воздействиями, повреждающими лимфоциты.

Характеристика	Наивные В-клетки	В-клетки памяти	Плазматические клетки
Локализация	Первичные фолликулы вторичных лимфоидных органов, особенно селезенки	Костный мозг, меньше – вторичные лимфоидные органы	Костный мозг, мозговые шнуры лимфатических узлов, красная пульпа и маргинальная зона белой пульпы селезенки
Продолжительность жизни	Около месяца	Месяцы, годы	7–10 сут., в костном мозгу – до 20–30 сут.
Рециркуляция	Слабая	Более сильная	Отсутствует
Иммуноглобулины	Мембранные IgM, IgD	Мембранные IgG, реже IgA, IgE	Цитоплазматические (секретируемые) Ig всех классов
Аффинность рецепторов	Низкая	Высокая	При вторичном ответе выше, чем при первичном
Маркерные молекулы	MHC-II, CD19, CD20, CR21 ^{lo} , CD22, CD40, ICAM-1 ^{lo}	MHC-II, CD19, CD20, CR21 ^{hi} , CD22, CD40, ICAM-1 ^{hi}	PCA-1, CD38

Рис. 395. Сравнение свойств наивных В-клеток, В-клеток памяти и плазматических клеток

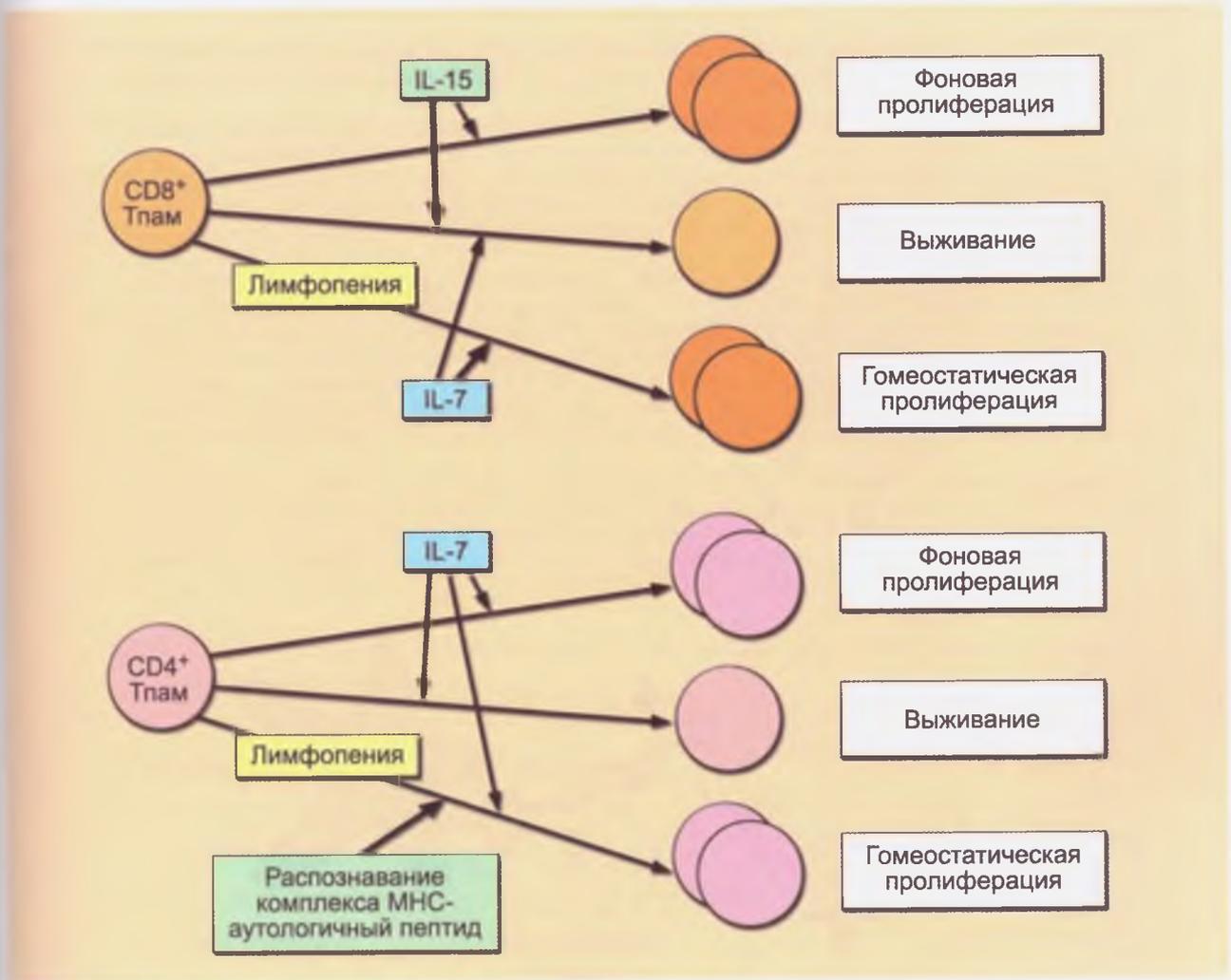


Рис. 396. Гомеостатический контроль субпопуляций Т-клеток памяти

При нормальном содержании Т-клеток памяти их численность поддерживается на постоянном уровне благодаря фоновой пролиферации. Она сохраняется цитокинами — IL-15 в случае CD8⁺ Т-клеток памяти и IL-7 — в случае CD4⁺ Т-клеток памяти. При этом факторами выживаемости служат для CD8⁺-клеток в основном IL-15 и в качестве дополнительного фактора — IL-7, а для CD4⁺ исключительно IL-7. В условиях лимфопении раз-

вивается гомеостатическая пролиферация Т-клеток памяти. В случае CD8⁺-клеток она обусловлена действием IL-7. В случае CD4⁺-клеток гомеостатическая пролиферация зависит не только от IL-7, но и от распознавания аутологических комплексов МНС-пептид, подобно тому, как это происходит при индукции гомеостатической пролиферации наивных Т-клеток (см. рис. 281).

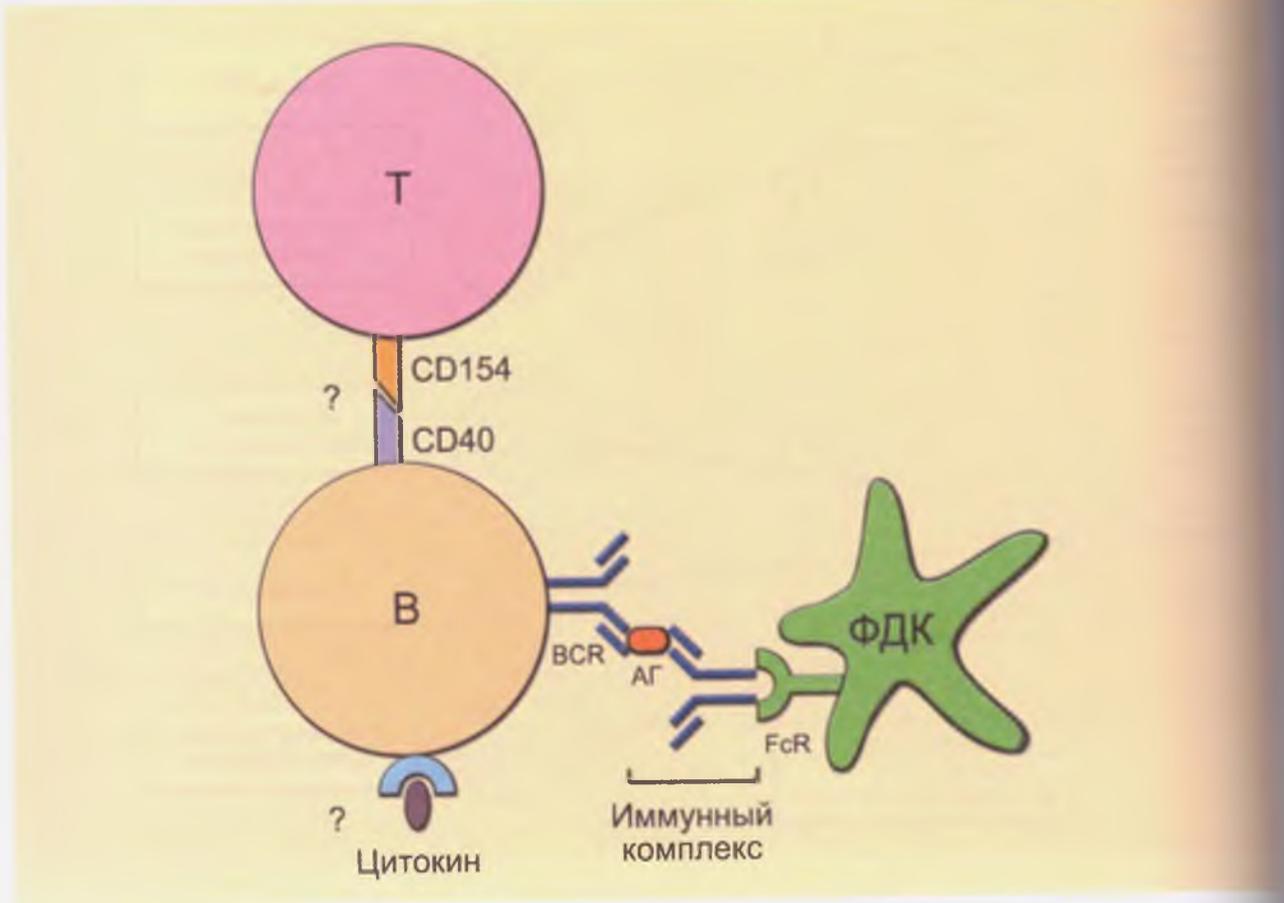


Рис. 397. Выживание и самоподдержание В-клеток памяти требуют распознавания антигена

В отличие от Т-клеток памяти, которые сохраняются в организме независимо от присутствия в нём АГ, для обеспечения выживаемости В-клеток требуется присутствие в организме АГ, который хра-

нится в виде комплексов с антителами, связанными Fc-рецепторами фолликулярных ДК (ФДК). Запасили гомеостаз В-клеток памяти от цитокинов и взаимодействия с Т-лимфоцитами, не установлено.

1. Исходная численность клеток в каждом клоне клеток памяти на 2-3 порядка выше, чем в клонах наивных клеток.
2. Клетки памяти находятся в клеточном цикле, а наивные лимфоциты – в фазе покоя (G₀), для выхода из которой требуется время и особые воздействия.
3. При действии антигена клетки памяти не должны проходить некоторые стадии развития (в случае В-клеток – переключение изотипов, мутагенез V-генов и созревание аффинитета, в случае Т-клеток – формирование связей TCR с корецепторами, перемещение TCR в рафты, дифференцировка Th1/Th2, для любых лимфоцитов – изменение спектра хемокиновых рецепторов и т.д.).
4. Клетки памяти быстрее и эффективнее реагируют на антиген (активируются, дифференцируются в эффекторные клетки), что обусловлено изменениями, затрагивающими ансамбль ферментов, связанных с рецептором. Так, изоформа CD45R0, присущая клеткам памяти, способствует более быстрой активации, чем CD45RA, свойственная наивным Т-клеткам. В результате Т-клетки памяти могут быть активированы при презентации антигена любыми антигенпрезентирующими клетками (АПК), тогда как наивные Т-клетки – только дендритными клетками.
5. В силу более интенсивной рециркуляции и способности мигрировать в барьеры и нелимфоидные ткани Т-клетки памяти с большей вероятностью могут встретить антиген, который может быть презентируем им любой АПК на месте, а не только во вторичных лимфоидных органах, как в случае наивных Т-клеток.

Рис. 398. Основы более высокой эффективности клеток памяти по сравнению с наивными клетками

Характеристика	Первичный ответ	Вторичный ответ
Лаг-период	4–7 сут	1–3 сут
Пик ответа	7–10 сут	4–5 сут
Отвечающие клетки	Наивные В-клетки	В-клетки памяти
Изотип антител	Преобладает IgM	Преобладает IgG
Уровень ответа	Варьирует	В 100–1000 раз выше, чем при первичном
Аффинитет антител	10 ⁻⁵ –10 ⁻⁶ М	10 ⁻⁹ –10 ⁻¹¹ М

Рис. 399. Сравнительная характеристика первичного и вторичного гуморального иммунного ответа

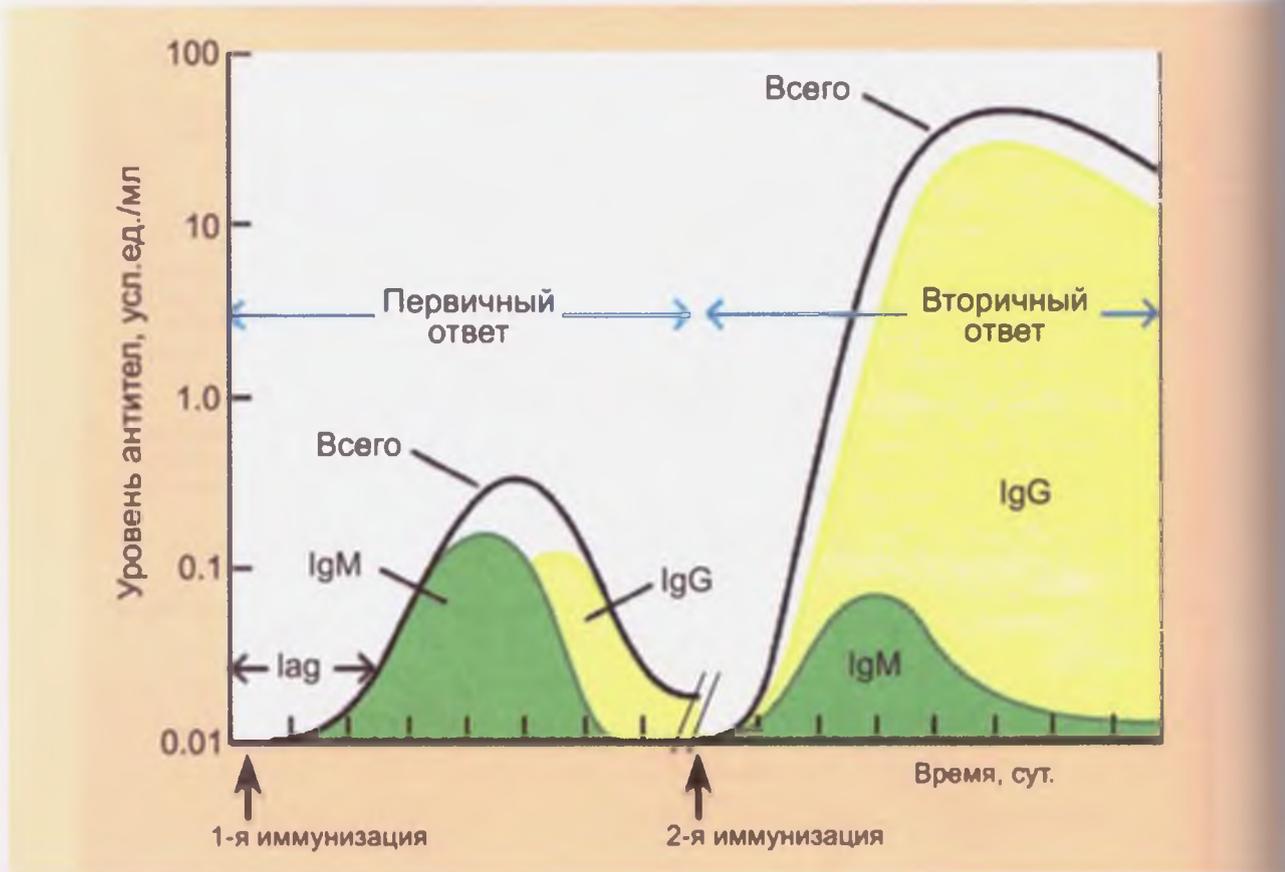


Рис. 400. Динамика продукции IgM- и IgG-антител при первичном и вторичном иммунном ответе

При первичном гуморальном иммунном ответе IgM-антитела образуются раньше, чем IgG-антитела, причём содержание последних несколько выше. При вторичном ответе срок появления и уровень IgM-антител изменяются незначительно, тогда как IgG-антитела появляются раньше, чем при первичном ответе и в значительно более высо-

ком титре. Поскольку IgG-антитела обладают более высокой аффинностью и более широким спектром эффекторных функций, чем IgM-антитела, это означает, что вторичный гуморальный иммунный ответ более совершенен и по количественным, и по качественным характеристикам, по сравнению с первичным ответом.

2.3.11. ВАКЦИНЫ

Целью вакцинации является индукция клеток памяти, специфичных к возбудителю. Основные проблемы вакцинации состоят в обеспечении безвредности вакцинного препарата при сохранении его иммуногенности. Тенденция заменить природ-

ные препараты АГ (убитые, ослабленные патогены, экстракты активных субстанций) синтетическими препаратами или кодирующими их генами наталкивается на проблемы, связанные с неполнотой иммуногенного сигнала.

Тип вакцины	Характеристика	Примеры
Живые ослабленные	Вирулентность снижена культивированием или пассированием в неадекватных условиях. Эффективны, но сохраняют опасность реверсии	Вакцины против оспы, краснухи, кори, полиомиелита (Сэбина), герпеса, БЦЖ
Убитые	Патогены для В. убивают различными способами (формалином и т.д.). Менее эффективны, чем живые	Вакцины против бешенства, тифа, холеры, полиомиелита (Солка), коклюша
Антитоксические	Токсоид (инактивированный токсин) в сочетании с адъювантом	Вакцины против дифтерии, столбняка
Синтетические	Синтетический эпитоп конъюгируется с иммуногенным носителем или адъювантом	Вакцины против сальмонеллеза, йерсиниоза, ящура, гриппа
Рекомбинантные	Основаны на использовании методов молекулярной генетики. Выделенный ген протективного антигена вводят в безопасный вектор. Гены вирулентности удаляют с сохранением протективных генов и т.д.	Вакцины против гриппа, герпеса, везикулярного стоматита и т.д.
ДНК-вакцины	Плазмида, содержащая ген протективного антигена, вводится в мышцу, где экспрессируется	Вакцины против гепатита В
Идиотипические	Вместо антигена используют антиидиотипические антитела, воспроизводящие конфигурацию эпитопа	Экспериментальные вакцины

Рис. 401. Разновидности вакцин

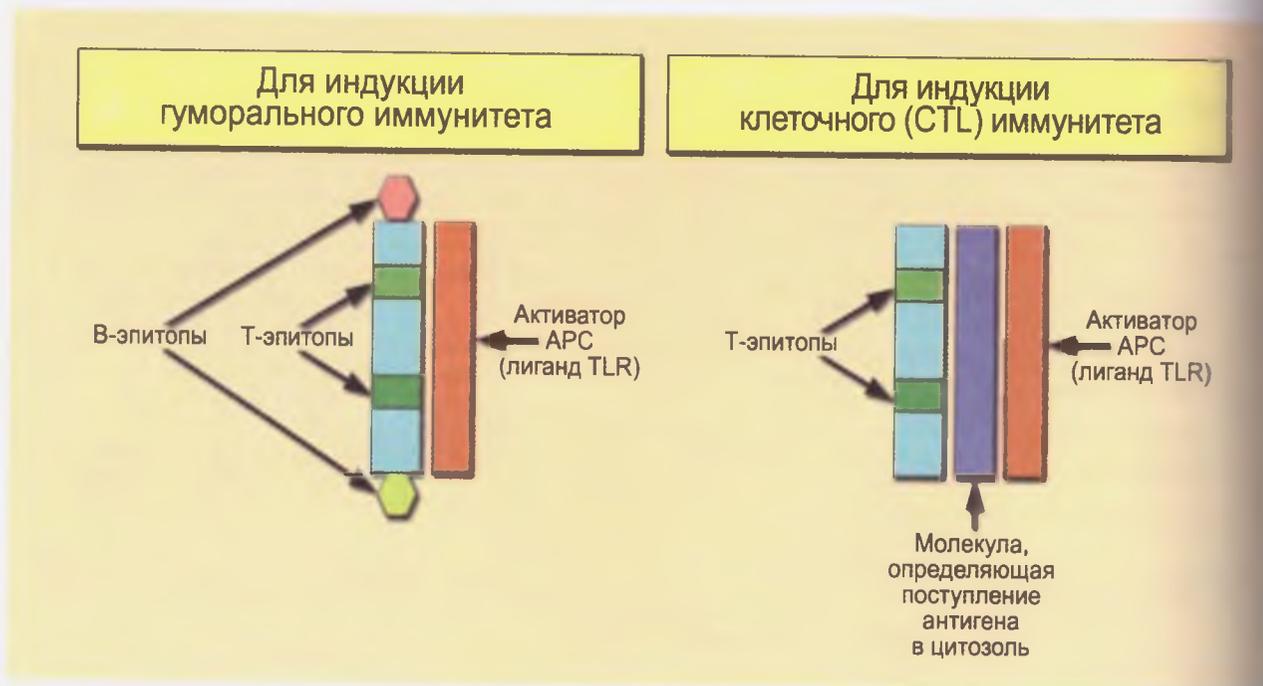


Рис. 402. Принципиальные схемы оптимального состава вакцинирующих препаратов

Представлены «идеальные» вакцины, в состав которых входят компоненты, необходимые для активации врождённого иммунитета и клонов В- и/или Т-клеточного звена адаптивного иммунитета. Учитывая особенности процессинга АГ, распознаваемых $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетками, в случаях, когда

требуется активировать $CD8^+$ Т-клеточное звено (цитотоксические Т-лимфоциты — CTL), необходимо обеспечить доставку АГ в цитозоль. Поскольку $CD4^+$ распознают АГ, поступающий в клетку и/или путем эндоцитоза, специальных усилий для транспортировки таких АГ в клетку не требуется.

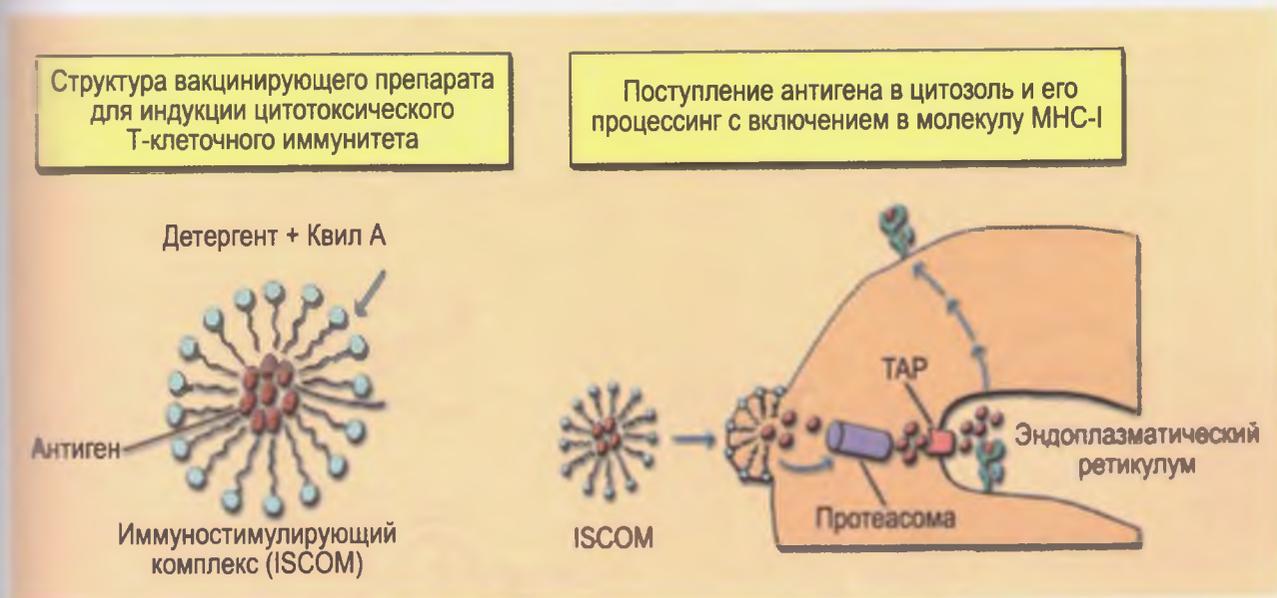


Рис. 403. Внедрение вакцинирующего антигена в цитозоль

Индукция цитотоксического иммунного ответа, обусловленного $CD8^+$ CTL, требует презентации АГ на молекулах МНС класса I. Антигенный пептид, встраивающийся в молекулу МНС-I в эндоплазматическом ретикулуме, поставляется в него из цитозоля (см. рис. 214). Поэтому при создании вакцин для индукции цитотоксического иммунного ответа (например, противовирусного) требуется сформировать условия для доставки АГ в цитозоль. Это осуществляется с использованием адъювантов (в данном случае ISCOM), формирующих вокруг

АГ оболочку из компонентов, способных взаимодействовать с клеточной мембраной и транспортировать через неё антиген, минуя механизм эндоцитоза, непосредственно в цитозоль.

Условные обозначения: CTL — цитотоксические Т-лимфоциты; ISCOM (*Immune stimulatory complex*) — иммуностимулятор на основе липидных мицелл; Квил А — липидная молекула, обеспечивающая транспорт корпускулы через мембрану; TAP (*Transporters associated with Antigen Processing*) — транспортеры, связанные с процессингом АГ.

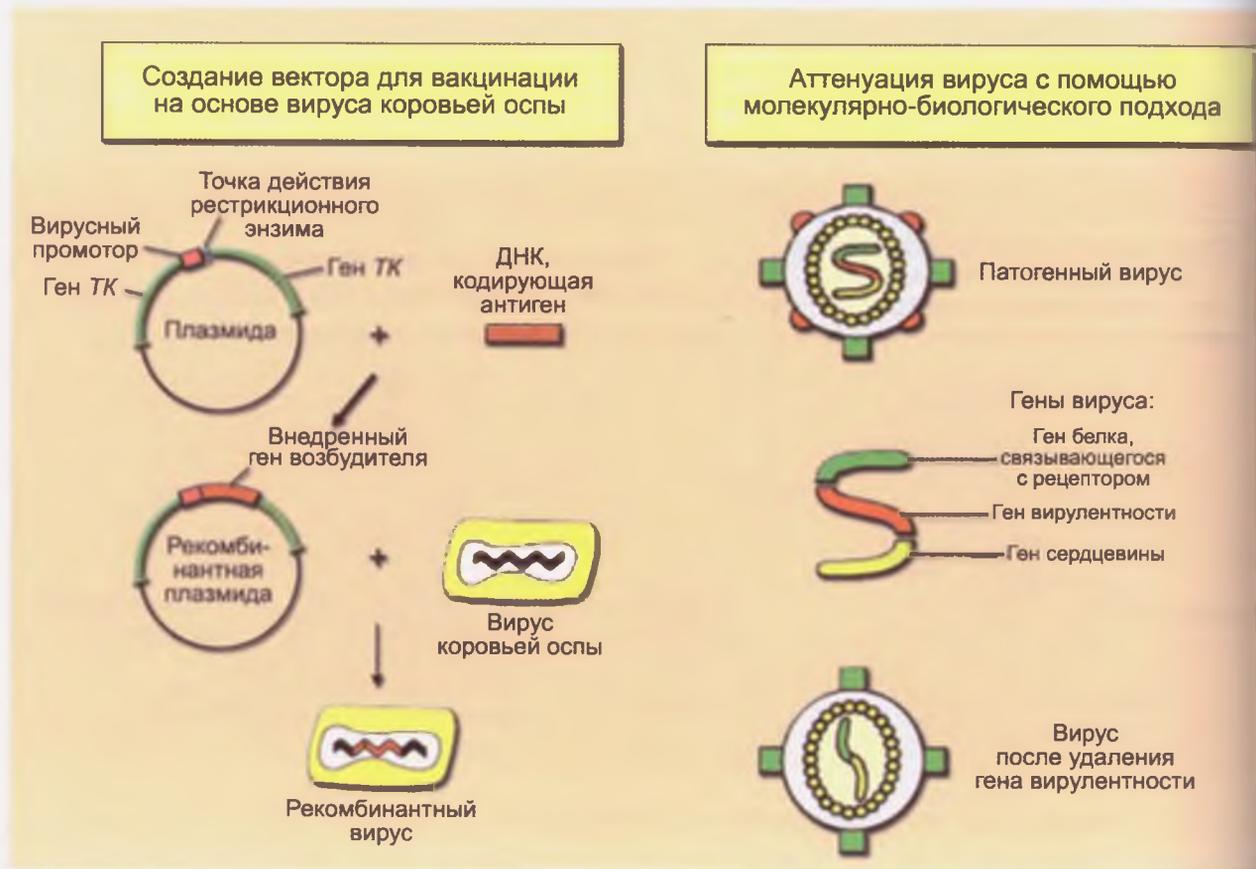


Рис. 404. Использование молекулярно-биологических подходов для создания вакцинных препаратов

Проиллюстрировано два примера использования методов молекулярной биологии для усовершенствования вакцин. Первый пример демонстрирует создание рекомбинантной вакцины. Сначала формируется плазмида — путём внедрения гена, кодирующего АГ, в другой избранный ген, дающий преимущества при дальнейших манипуляциях. Полученная плазмида встраивается в «нейтральный» вирус, в качестве которого обычно используют вирус коровьей оспы, используемый как носи-

тель. Получаемый рекомбинантный вирус используется как основа рекомбинантной вакцины. Второй пример основан на модификации генов возбудителя (обычно вируса) с целью лишения его вирулентности. Для этого осуществляется разбор генов вируса с последующей сборкой — уже без гена вирулентности. В результате устраняются отрицательные эффекты вируса с сохранением его АГ, обеспечивающих протективный эффект вакцины.

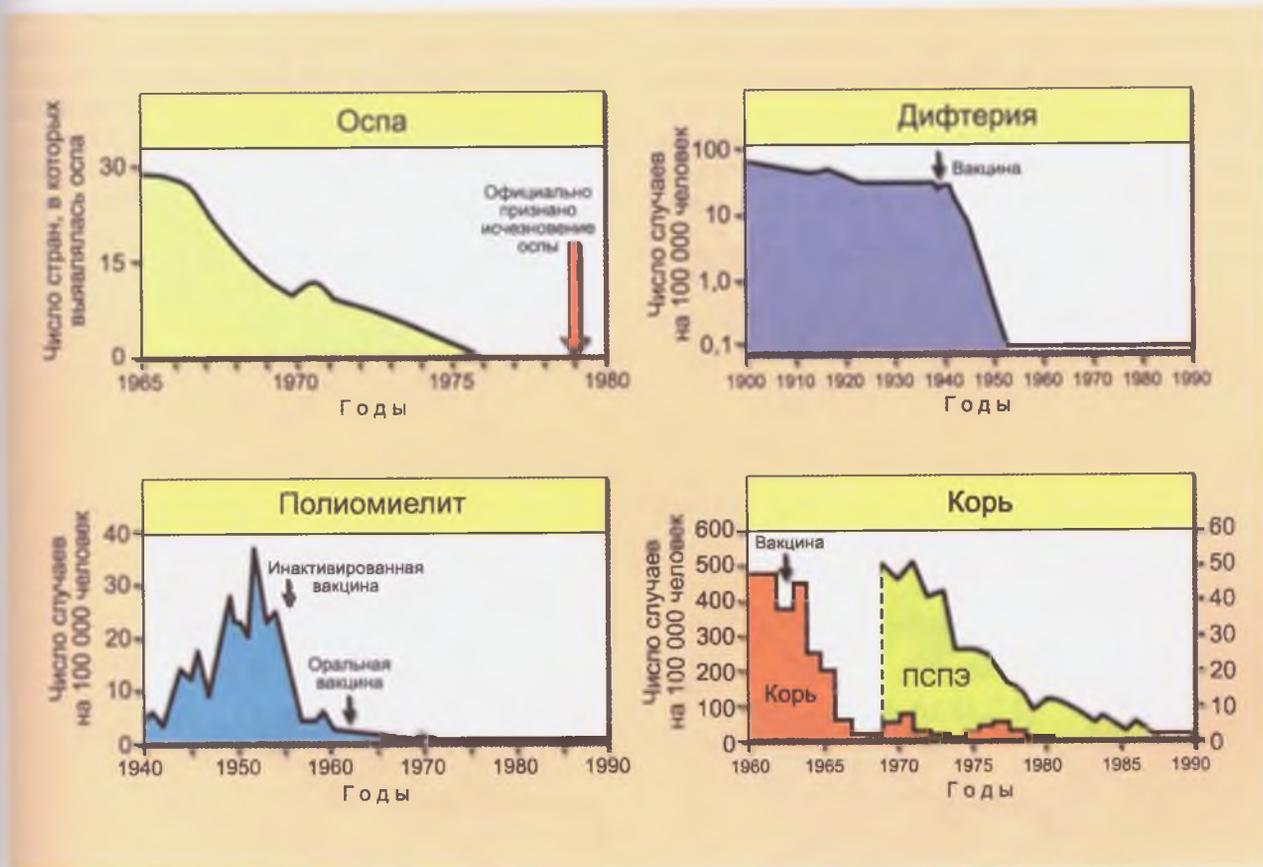


Рис. 405. Последствия успешной вакцинации против различных инфекций

Эффективность вакцинации против ряда инфекционных заболеваний определяется разными подходами. Массовое использование вакцинации, как правило, приводит к резкому снижению или полной элиминации заболевания (оспа) (WHO report, 1979). Иногда искоренение заболевания осуществляется в несколько приёмов, по мере использо-

вания всё более совершенных техник (полиомиелит) (Dick G., 1978). Вслед за устранением заболеваний обычно снижается частота их типичных осложнений (например, подострого склерозирующего панэнцефалита, осложняющего течение кори).

Сокращение: ПСПЭ — подострый склерозирующий панэнцефалит.

2.3.12. РЕГУЛЯЦИЯ ИММУННОГО ОТВЕТА

Иммунный ответ является регулируемым процессом. Преобладающей тенденцией является сдерживание реакции, поскольку чрезмерная экспансия лимфоидных клеток чревата нарушением структуры тканей и опасностью трансформации клеток. Иммунный ответ содержит определённые элементы саморегуляции: эффекторные клетки имеют ограниченный срок жизни, элиминация антигена при успешном иммунном ответе ограничивает рекрутирование новых клеток и т.д. Однако этого оказывается недостаточно, и к огра-

ничению иммунного ответа подключаются факторы обратной связи (особенно в гуморальной составляющей иммунного ответа), а также специализированные регуляторные клетки. Помимо этих адаптивных механизмов в контроле иммунных процессов участвуют факторы, детермируемые генами иммунного ответа (они определяют главным образом эффективность презентации антигена), а также регуляторные системы — эндокринная и нервная.

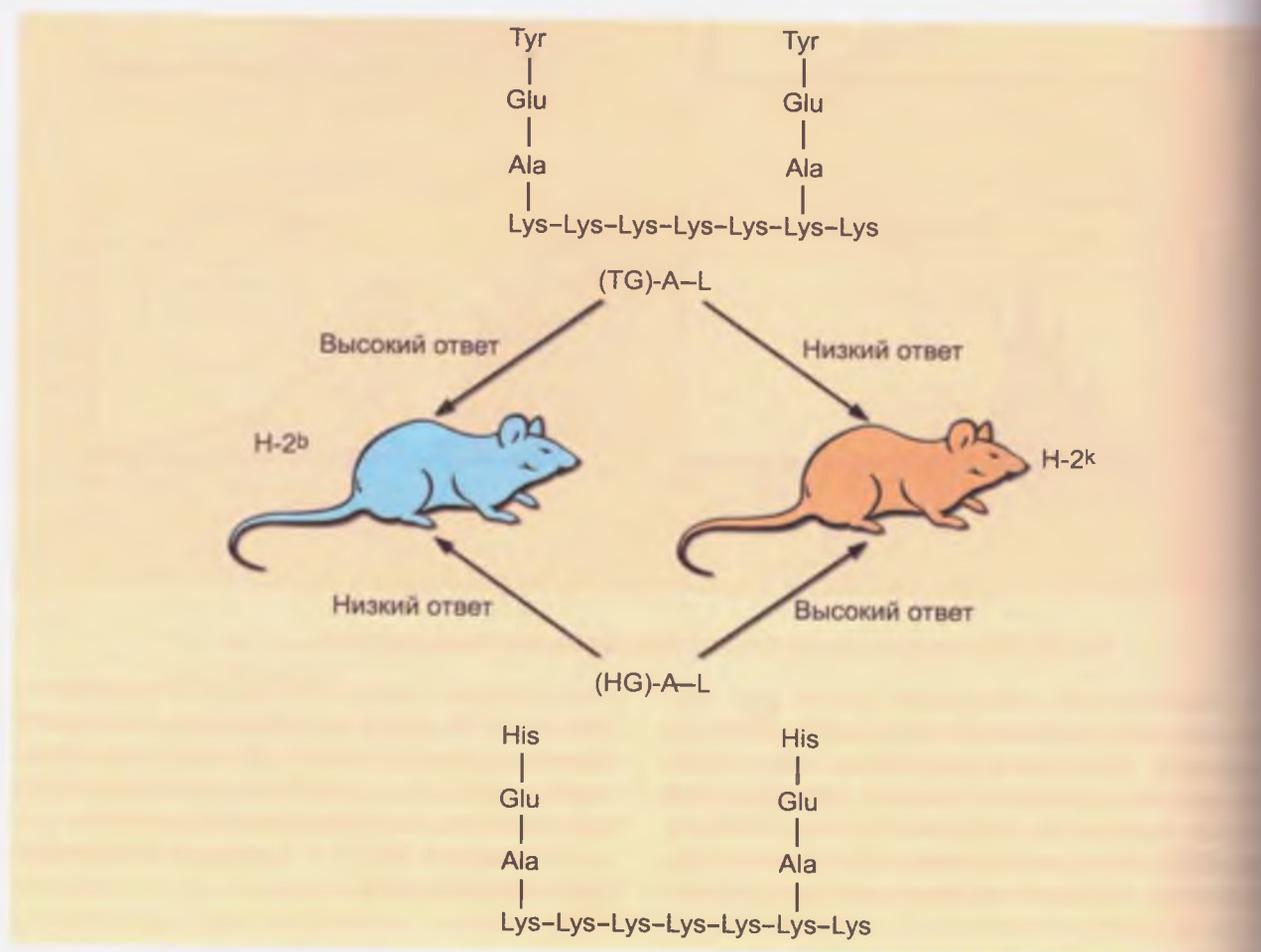


Рис. 406. Уровень гуморального иммунного ответа на синтетические пептиды детерминирован генами МНС (у мышей H-2)

два синтетических полипептида со сходной структурой (отличие по одному концевому остатку в боковых ветвях полипептида — Tyr/His) резко отличаются по способности индуцировать иммунный ответ у мы-

шей, причём уровень ответа противоположен у мышей, отличающихся по МНС. Эти данные послужили одним из обоснований связи генетического контроля уровня иммунного ответа с генами МНС класса II.

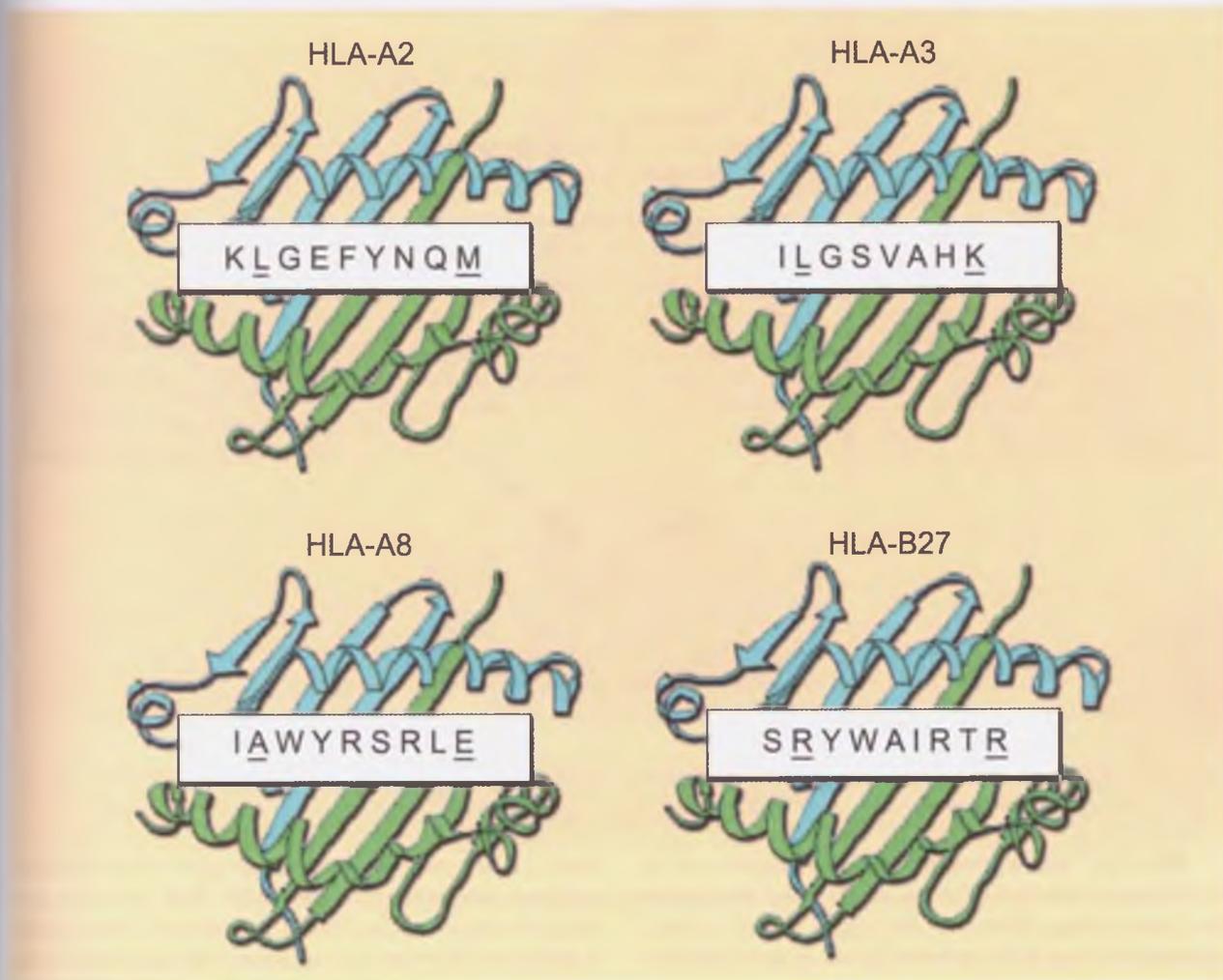


Рис. 407. В разные аллельные варианты молекулы МНС-I встраиваются различные пептиды белка NP вируса гриппа, что определяет специфичность ответа цитотоксических Т-клеток

Связь генов МНС с уровнем иммунного ответа на конкретные белковые АГ обусловлена способностью пептидных эпитопов встраиваться в антигенсвязывающую щель молекул МНС, кодируемых соответствующими генами. На примере молекул МНС класса I и эпитопов АГ NP вируса гриппа показано, что в состав МНС, кодируемых различными аллельными вариантами МНС, оптимально встраиваются различные пептидные фрагменты молекулы АГ (на рисунке обозначение пер-

вичной структуры этих фрагментов в однобуквенном коде помещено в антигенсвязывающую щель). Это означает, что у людей-носителей этих аллелей в качестве эпитопа будут выступать разные участки молекулы NP или ни один из эпитопов NP не сможет связываться с МНС-I, что исключает возможность полноценного иммунного ответа на этот АГ. У таких субъектов эффективность иммунной защиты против гриппа неизбежно снижается.



Рис. 408. Действие гормонов и вегетативных нервных стимулов на адаптивную иммунную систему

Факторы эндокринной, нейроэндокринной и вегетативной нервной систем могут быть объединены в две группы. Факторы, входящие в одну из них, оказывают (при всём многообразии и неоднозначности эффектов) по преимуществу стимулирующее действие на лимфоциты и их функции, определяющие активность адаптивного иммунитета. Факторы другой группы характеризуются преимущественно ингибирующим действием. Классическим и обще-

известным примером иммунодепрессивных факторов являются глюкокортикоиды. Эти гормоны подавляют также врождённый иммунитет, выступая в качестве противовоспалительных факторов (широко используется в клинической практике). Наиболее разнообразное иммуностимулирующее действие проявляет гормон роста. Однако иммуностимуляторы эндокринной или нейроэндокринной природы в клинике практически не применяются.

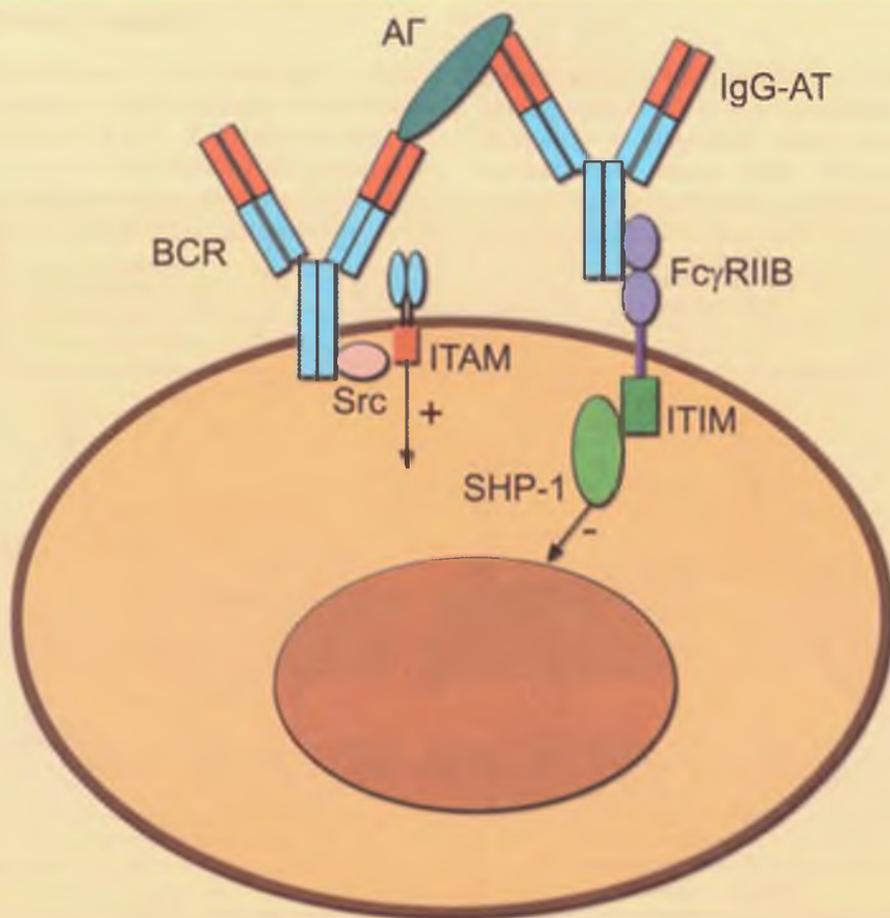


Рис. 409. Изотипическая регуляция образования антител, реализуемая через FcγRII

Перекрёстное «сшивание» молекул мембранных BCR АГ включает сигналы, которые обеспечивают активацию рецепторных Src-киназ (см. рис. 308) и включают другие пусковые механизмы активации В-клеток. Взаимодействие АГ одновременно с мембранными иммуноглобулинами и растворимыми антителами класса IgG, приводящее к «сшиванию» клеточного рецептора BCR и свободного антитела той же специфичности, оказывает противоположное действие. Оно реализуется через рецептор FcγRIIB, с которым взаимодействует антитело в составе иммунного комплекса. При этом фосфорилируются остатки тирозина в последовательности ITIM цитоплазматической части рецептора и активируются фосфатазы, связанные с названным Fc-рецептором (на рисунке — SHP-1). Эти события составляют основу ингибирующего

сигнала, который препятствует осуществлению активационной сигнализации. Таким образом, реализуется изотипическая регуляция иммунного ответа, суть которой состоит в подавлении образования IgG-антител при накоплении ИК, содержащих антитела соответствующего изотипа. Этот эффект обеспечивает регуляцию продукции антител по типу обратной связи.

Условные обозначения: BCR (*B-cell receptor*) — В-клеточный антигенраспознающий рецептор; ITAM (*Immunoreceptor tyrosine-based activating motif*) — активирующий мотив иммунорецептора, связанный с тирозином; ITIM (*Immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif*) — ингибирующий мотив иммунорецептора, связанный с тирозином; SHP-1 (*SH2-domain containing protein tyrosine phosphatase-1*) — тирозинфосфатаза, содержащая домен SH2.

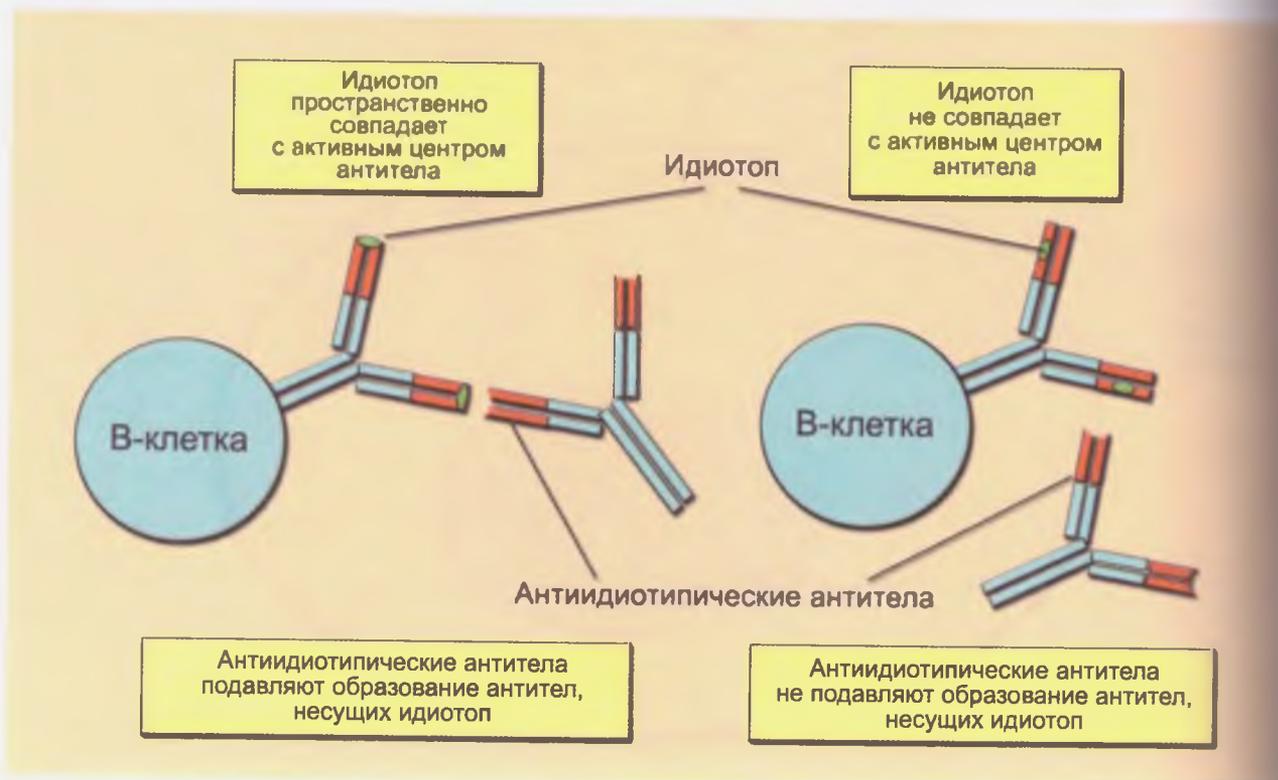


Рис. 410. Регуляторное действие антиидиотипических антител зависит от связи идиотопа с активным центром антител

Идиотипическая регуляция осуществляется на основе тех же событий, что и изотипическая регуляция. Однако способность подавить именно идиотипическую составляющую иммунного ответа зависит от того, в какой степени идиотоп совпадает с активным центром мембранных и растворимых антител. Лишь при их совпадении достигается пода-

вление идиотипической составляющей иммунного ответа. В реальности идиотоп редко точно соответствует антигенсвязывающему участку антител. Однако указанный механизм идиотипической регуляции тем не менее проявляется, что сказывается в смене доминирующего идиотипа антител в процессе гуморального иммунного ответа.

11.3. РЕГУЛЯТОРНЫЕ Т-КЛЕТКИ

Специализированные регуляторные клетки (раньше их называли супрессорными) представляют по преимуществу $CD4^+$ Т-лимфоцитами. Их назначение состоит в предотвращении реакции на собственные антигены (естественные регуляторные Т-клетки) и ограничении интенсивности и

продолжительности иммунного ответа (адаптивные регуляторные Т-клетки). В качестве «непрофессиональных» к регуляции иммунного ответа могут привлекаться также МФ, В-лимфоциты и НК-клетки, которые, однако, не формируют специализированных субпопуляций.

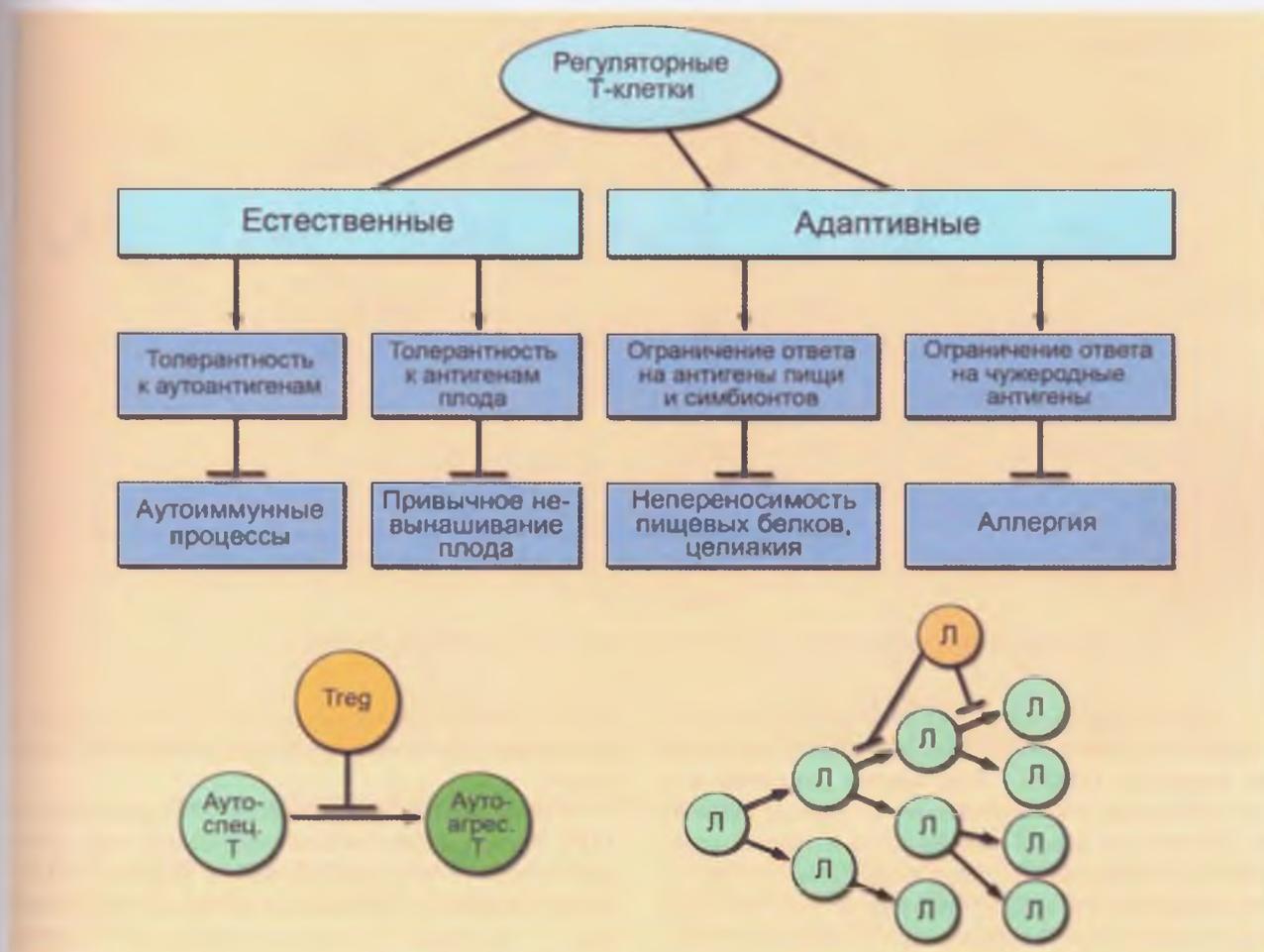


Рис. 411. Функциональное назначение разновидностей регуляторных Т-клеток

Регуляторные Т-клетки подразделяют на естественные и адаптивные. Первые дифференцируются в процессе нормального развития организма вне зависимости от антигенной стимуляции и предотвращают аутоиммунные процессы. Вторые формируются в ходе иммунного ответа под влиянием антигенного стимула и предназначены для ограничения и прекращения иммунного ответа. Указаны основные результаты активности Treg двух типов и

последствия нарушений их функции: естественные Treg блокируют активацию и дифференцировку аутоспецифических Т-клеток, а адаптивные Treg ограничивают экспансию клонов Т-клеток при иммунном ответе на любые АГ.

Условные обозначения: Treg (*Regulatory T-cell*) — естественные регуляторные Т-клетки; Th3 (*T helper, 3 type*) — Т-хелперы типа 3; Tr1 (*Regulatory T-cell 1*) — регуляторные Т-клетки 1.

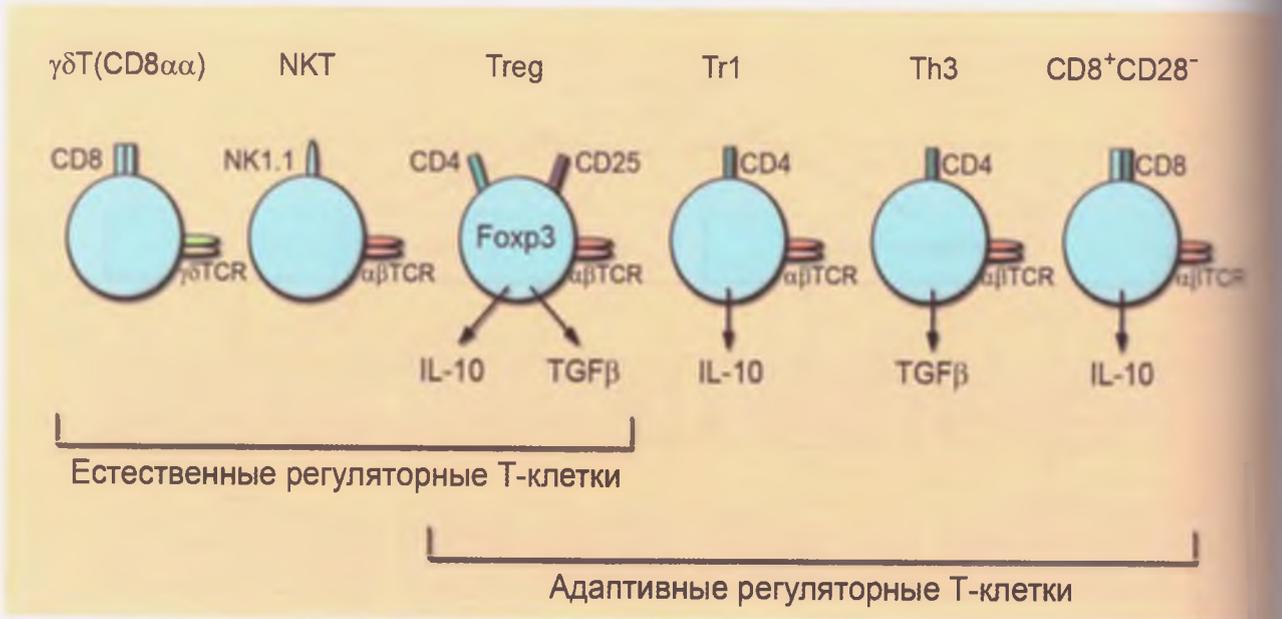


Рис. 412. Разновидности естественных и адаптивных регуляторных Т-клеток

Представлены основные разновидности естественных и адаптивных регуляторных Т-клеток и их маркёры. FOXP3⁺ Treg-клетки отнесены и к естественным, и к адаптивным, поскольку помимо их развития в ходе Т-лимфопоэза в тимусе установлена возможность индукции этих клеток в периферическом отделе иммунной системы при иммунном ответе. Надпись внутри кружка — внутриклеточный фактор (FOXP3), значки на повер-

ности клеток — мембранные молекулы, стрелки с указанием цитокинов означают секрецию цитокинов.

Условные обозначения: FOXP3 — ген семейства FOX, содержащий *forkhead box*; мастер-ген, который кодирует транскрипционный фактор FOXP3, необходимый для реализации функции естественных и некоторых других регуляторных Т-клеток (см. рис. 416).

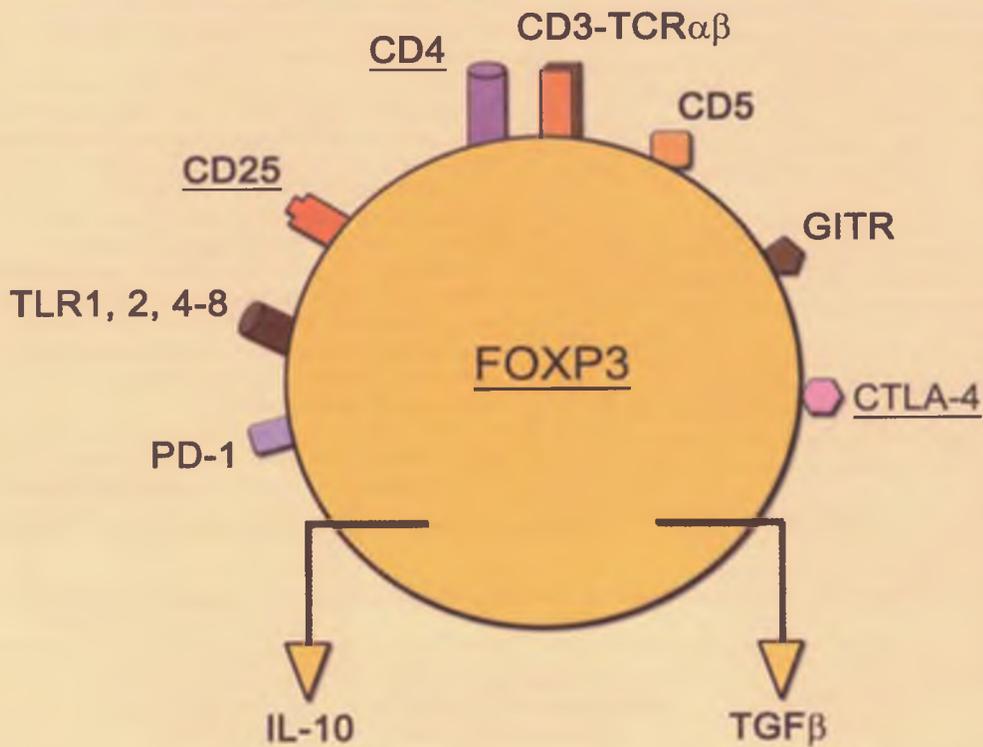


Рис. 413. Маркёры естественных регуляторных Т-клеток

Более детально отражены мембранные и внутриклеточный маркёры, а также гуморальные продукты Трег.

Помимо общеизвестных CD- и TL-маркёров, а также рецепторного комплекса CD3-TCR на поверхности Трег присутствуют CTLA-4 и PD-1, которые относятся к семейству костимулирующих молекул, но обладают ингибирующей активностью (см. рис. 297–298), и молекула GITR, относящаяся

к семейству TNFR. Оба цитокина, секретируемые Трег (TGFβ и IL-10), являются супрессорными цитокинами. О FOXP3 см. далее (рис. 414–416).

Условные обозначения: CTLA-4 (*Cytotoxic T-lymphocyte antigen-1*) и PD-1 (*Programmed death-1*) — гомологи костимулирующих молекул, передающие ингибирующие сигналы; GITR (*Glucocorticoid-induced TNFR-related*) — молекула из семейства рецепторов фактора некроза опухоли.

<p align="center">Ген <i>FOXP3</i></p> <p>Локализуется в X-хромосоме (p11.23-q13.3)</p>	<p>IPEX-синдром (Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome) – синдром дисрегуляции иммунитета, полиэндокринопатии, энтеропатии, сцеплённый с X-хромосомой</p> <p>Рецессивное заболевание, вызванное мутациями гена <i>FOXP3</i> (миссенс-мутации, мутации стоп-кодона)</p> <p>Заболевание начинается в раннем возрасте и характеризуется полиорганный аутоиммунной патологией (сахарный диабет 1-го типа, аутоиммунный тиреозит, тяжёлая энтеропатия), кахексией, низкорослостью, аллергическими проявлениями (экзема, пищевая аллергия, эозинофилия, увеличение уровня IgE), гематологическими нарушениями (гемолитическая анемия, тромбоцитопения) с высоким уровнем аутоантител и массивной Т-клеточной инфильтрацией кожи и пищеварительного тракта</p> <p>Больные дети (мальчики) гибнут в течение 1-го года жизни от инфекционных заболеваний</p>
<p>Относится к семейству генов <i>FOX</i>, которые кодируют транскрипционные факторы, содержащие ДНК-связывающий домен forkhead box, или winged helix</p>	
<p>Имеет 11 экзонов (3 из них кодируют forkhead домен)</p>	
<p>Продукт – консервативный белок скурфин (431 остаток).</p>	
<p>Мутация гена <i>FOXP3</i> приводит к развитию IPEX-синдрома (Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy X-linked syndrome)</p>	
<p>Гиперэкспрессия гена <i>FOXP3</i> и гиперпродукция скурфина нарушают функции CD4⁺ Т-клеток и приводят к развитию тяжёлого иммунодефицита</p>	

Рис. 414. Характеристика гена *FOXP3* и роль его мутации в формировании синдрома IPEX

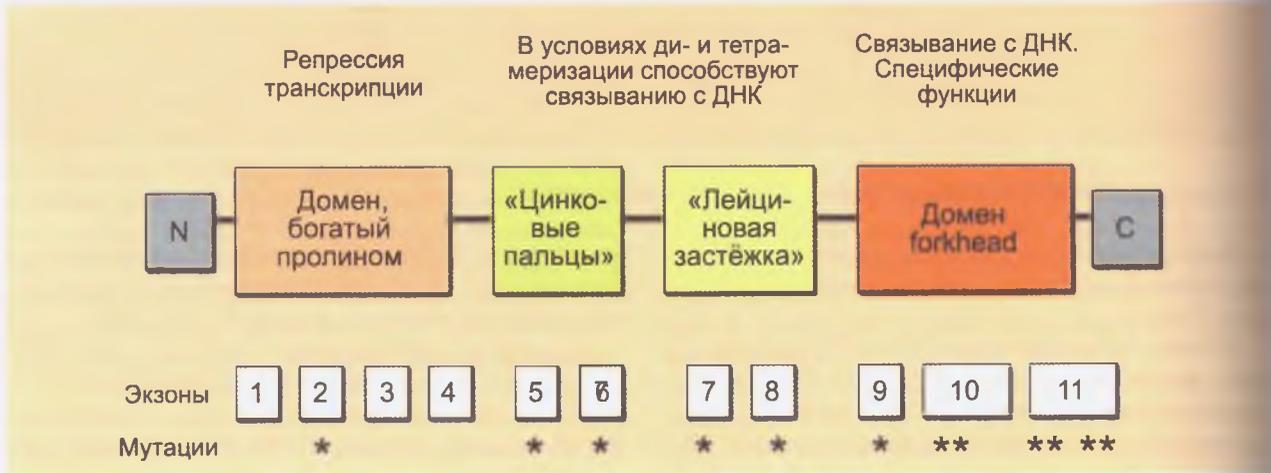


Рис. 415. Структура белка *FOXP3* и организация гена *FOXP3*

Доменная структура белка *FOXP3*, экзонная структура гена, кодирующего этот белок, и локализация мутаций гена. Специфическая активность белка, являющегося ядерным фактором, связана с С-концевым ДНК-связывающим доменом. Имен-

но мутации в экзонах гена, кодирующих этот домен, приводят к наиболее существенным нарушениям функции белка. Звёздочками помечены экзоны, в которых обнаруживались мутации.

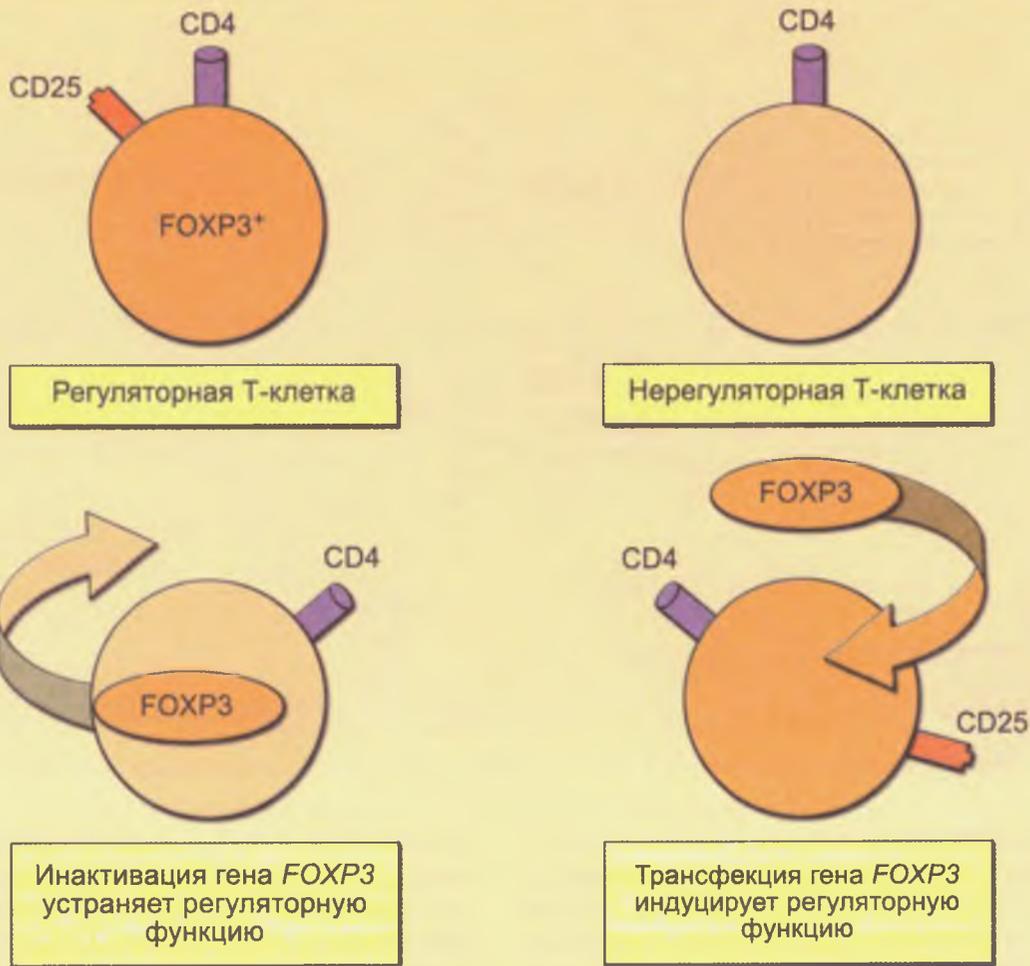


Рис. 416. Регуляторная активность CD4⁺ Т-клеток определяется экспрессией гена *FOXP3*

Инактивация гена *FOXP3* в CD4⁺CD25⁺-клетках сопровождается утратой их супрессорной активности, тогда как трансфекция этого гена в

CD4⁺-клетки, лишённые регуляторной активности, приводит к её приобретению и одновременно к экспрессии молекулы CD25.

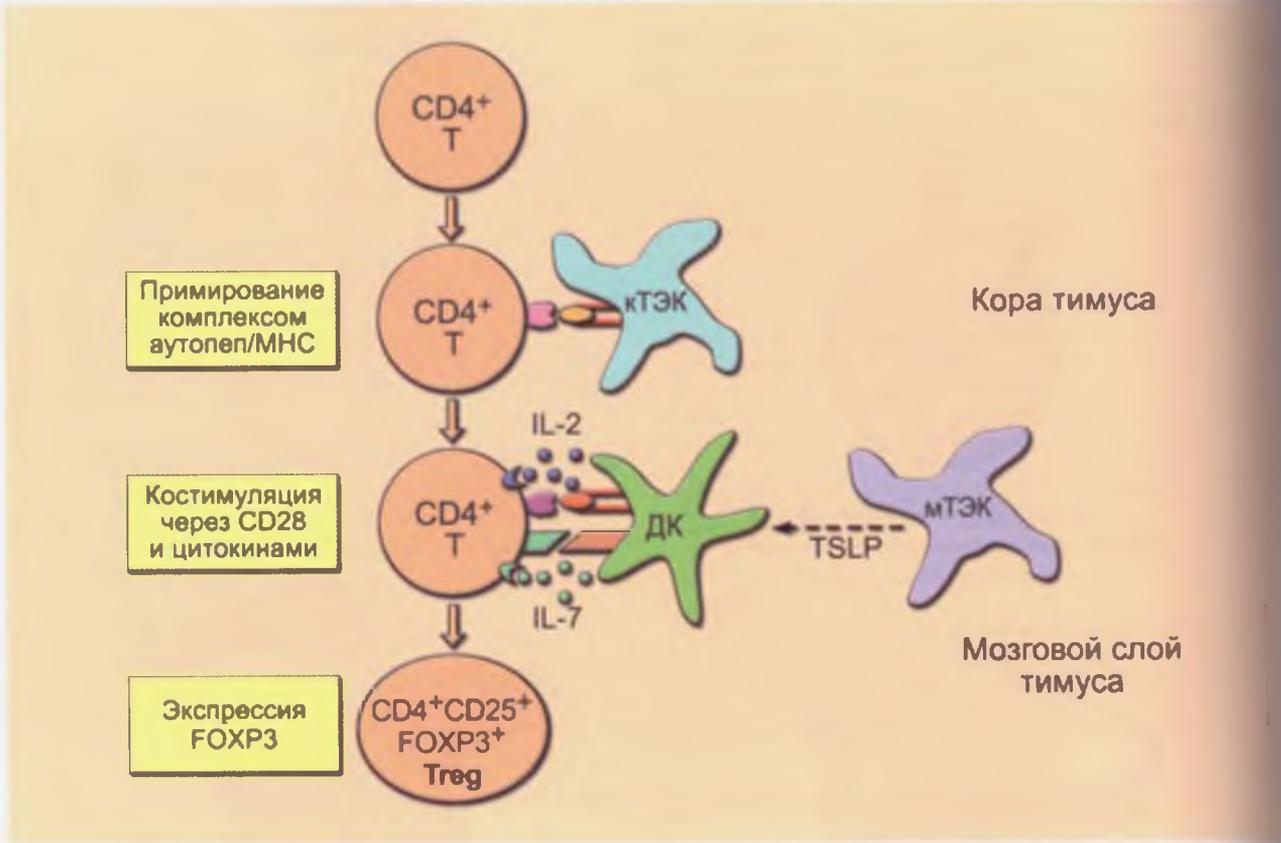


Рис. 417. Развитие регуляторных Т-клеток в тимусе. Роль эпителиальных и дендритных клеток

Для развития регуляторных Т-клеток в тимусе решающими являются сигналы, поступающие в клетку от TCR, CD28 и рецептора для IL-2. Первый сигнал возникает при распознавании комплексов аутологических пептидов с молекулами МНС, экспрессируемыми на поверхности эпителиальных клеток коры тимуса (кортикальных ТЭК). В результате клетка экспрессирует высокоаффинный рецептор для IL-2 (его α-цепь — молекула CD25 — является маркером Treg. На следующем этапе Т-клетка взаимодействует с дендритными клетками мозгового слоя тимуса и получает при этом стимулирующий сигнал через молекулу CD28, а также гуморальные сигналы, опосредованные IL-2 и IL-7 (оба цитокина продуцируются медул-

лярными ТЭК, а IL-7 — также дендритными клетками). Способность ДК поддерживать развитие Treg усиливается под влиянием цитокина TSLP, секретируемого медуллярными ТЭК телец Гассера. Получив полный набор сигналов (через TCR, CD28 и цитокиновые рецепторы), клетка экспрессирует внутриклеточный фактор FOXP3, ответственный за реализацию программы функционального созревания Treg. Дифференцировка в Treg позволяет клеткам избежать отрицательной селекции. Учитывая TSLP в индукции дифференцировки Treg объясняет локализацию этих клеток около телец Гассера, продуцирующих этот фактор.

Условные обозначения: TSLP (*Thymic stromal lymphopoietin*) — лимфопоэтин из стромы тимуса.

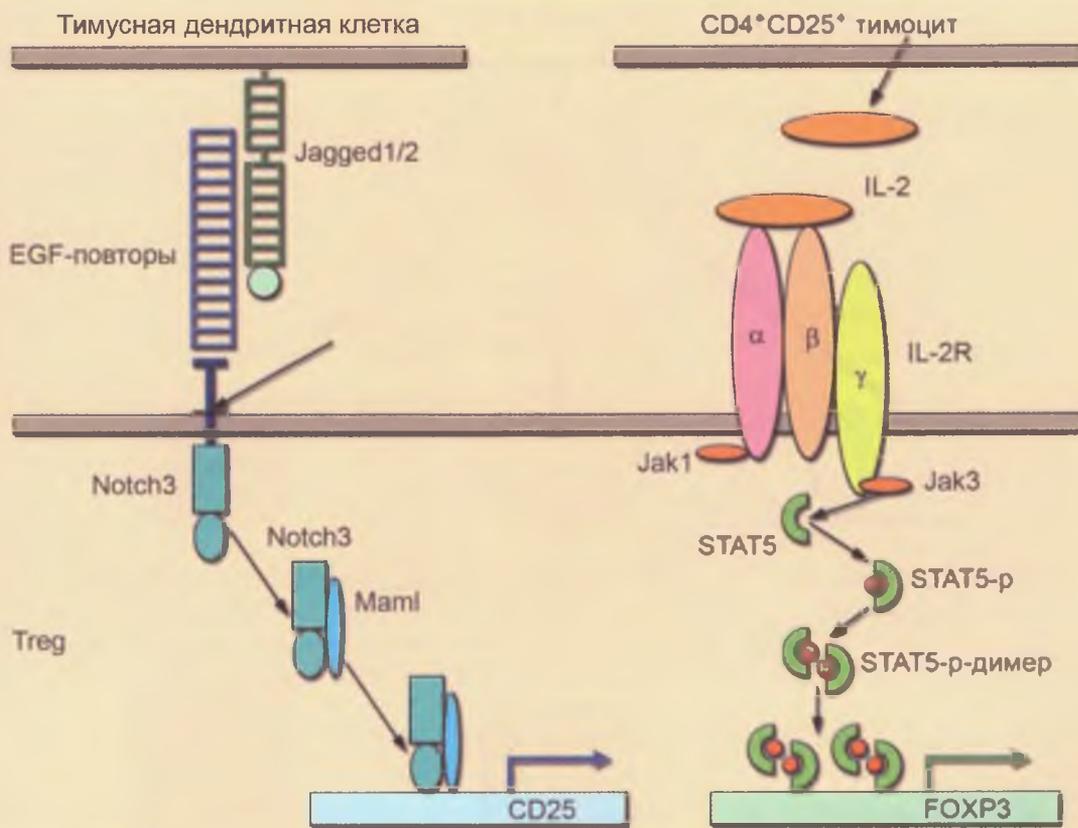


Рис. 418. Сигналы, запускающие экспрессию ключевых генов Treg

К функционально наиболее важным генам Treg относятся гены *FOXP3* и *CD25*. Экспрессия гена *CD25* осуществляется в ходе развития клеток в тимусе при ключевом участии фактора Notch3, с которым связывается его лиганд, экспрессируемый на эпителиальных клетках — Jagged 1/2. Связывание лиганда приводит к протеолитическому расщеплению молекулы Notch3. Свободная цитоплазматическая субъединица связывается с фактором Maml. Образующийся комплекс поступает в ядро, взаи-

модействует с ДНК промотора гена *CD25* и индуцирует его экспрессию. Это событие служит предпосылкой экспрессии гена *FOXP3*. При взаимодействии IL-2 с высокоаффинным рецептором IL-2R, содержащим CD25 в виде α -цепи, активируется киназа Jak3, связанная с γ (с)-цепью IL-2-рецептора. Формируется димер STAT5, который выступает в качестве ядерного фактора, индуцирующего экспрессию гена *FOXP3*.

Условные обозначения: см. рис. 239, 325.

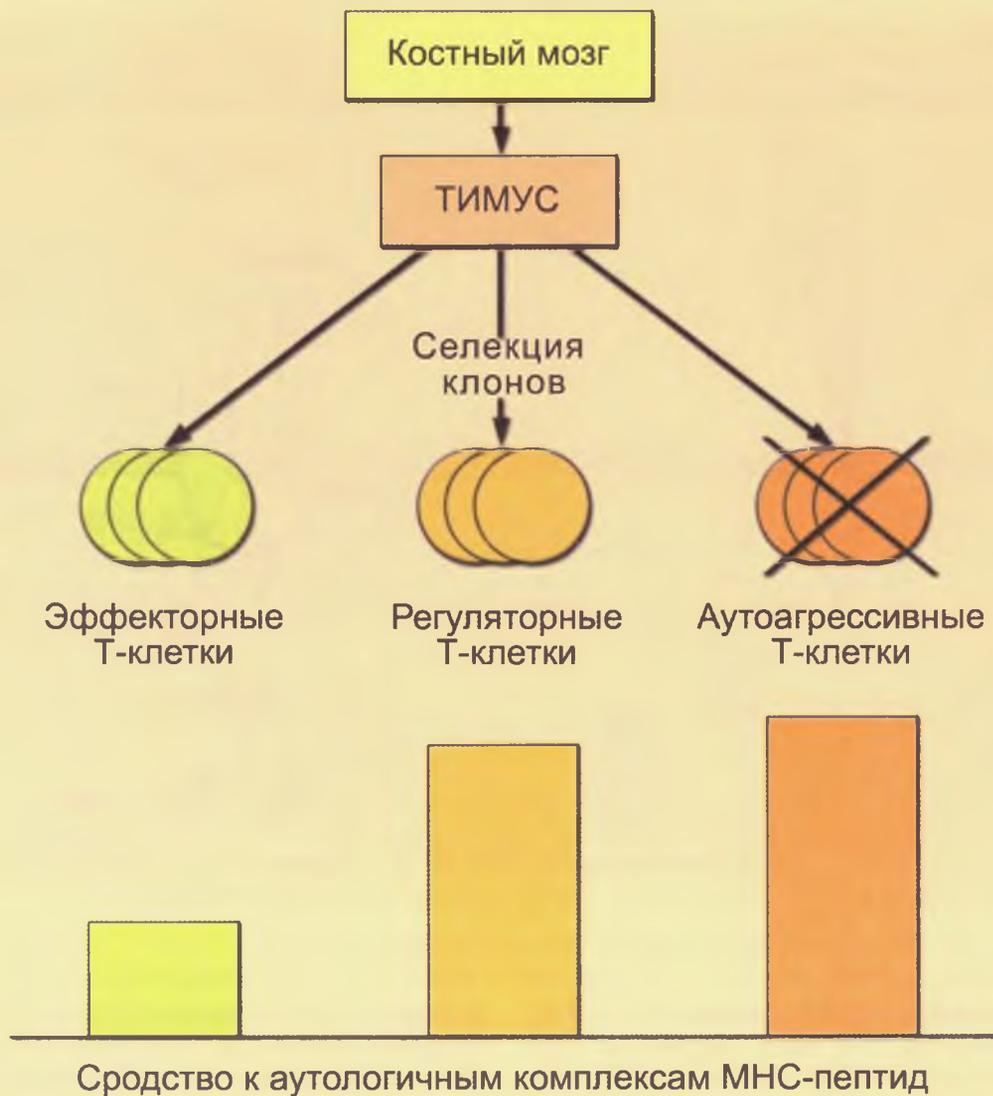


Рис. 419. Особенности селекции регуляторных Т-клеток в тимусе

В процессе отрицательной селекции в тимусе элиминируются потенциально аутоагрессивные клетки-тимоциты, несущие антигенраспознающий рецептор (TCR), обладающий высоким сродством к аутоантигенам — аутологичным пептидам в составе аутологических молекул МНС. Сохраняются клетки с умеренным сродством к аутоантигенам,

которые дифференцируются в эффекторные Т-лимфоциты (рис. 245, 247). Тимоциты, ставшие на путь дифференцировки в Treg, избегают отрицательной селекции. Эта особенность селекции Treg определяет одно из главных свойств естественных Treg — способность к высокоаффинному распознаванию аутоантигенов.

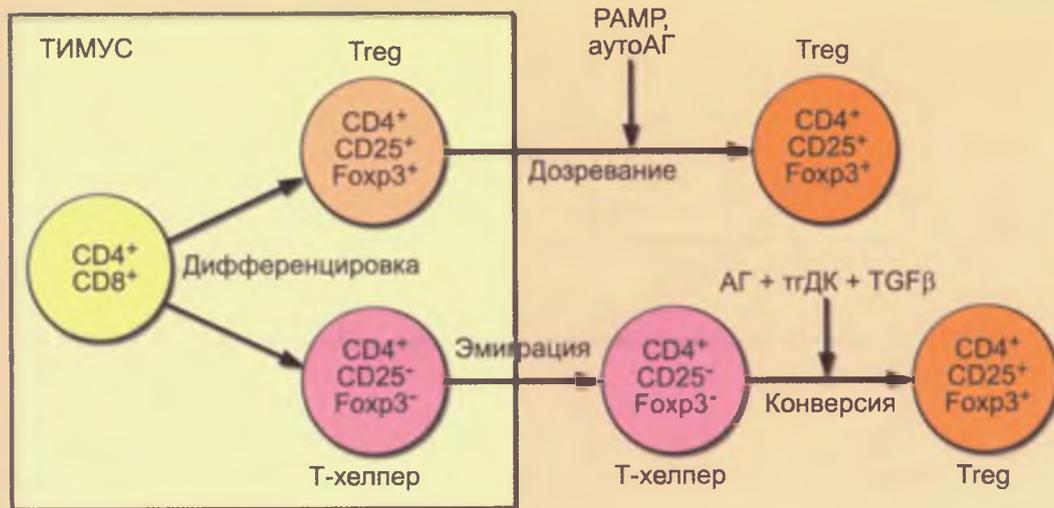


Рис. 420. Дозревание и конверсия FOXP3⁺ Treg-клеток на периферии

Основной путь развития естественных регуляторных Т-клеток — антигеннезависимая дифференцировка в тимусе. Treg, покидающие тимус, подвергаются дополнительным воздействиям как через TLR (ассоциированными с патогеном молекулярными группировками), так и через TCR (аутоантигенами), которые приводят к завершению их развития и повышению активности. Существует дополнительный путь развития Treg, обозначаемый как конверсия Т-хелперов в регуляторные Т-клетки. CD4⁺ Т-лимфоциты, дифференцировавшиеся в тимусе и эмигрирующие из тимуса в качестве предшественников Т-хелперов, под влиянием аутоантигенов в присутствии толерогенных ДК и TGFβ превращаются в Treg, экспрессируя молекулы CD25, FOXP3 и приобретая супрессорную активность. Конверсия Т-хелперов в Treg-клетки производится при действии цитокина TGFβ в со-

четании с АГ и костимулирующим воздействием или заменяющими эти естественные лиганды моноклональными антителами (анти-CD3 и анти-CD28). При индукции Treg человека, но не мыши, такой же эффект, как и TGFβ, оказывает IL-2; IL-2 способствует образованию Treg-клеток также на фоне действия TGFβ. Проявлением конверсии во всех случаях является экспрессия молекул FOXP3 внутри клетки, а также молекул CD25, CTLA-4 и других маркёров на её поверхности. Этот вариант происхождения Treg сближает их с адаптивными регуляторными Т-клетками.

Условные обозначения: Treg — регуляторные Т-клетки; PAMP (*Pathogen-associated molecular patterns*) — молекулярные группы, связанные с патогенами; аутоАГ — аутоантигены; тгДК — толерогенные ДК; TGFβ — трансформирующий фактор роста β.



Рис. 421. Схема активации Treg

Функциональная активность Treg, как и других естественных факторов иммунитета, проявляется при их предварительной активации. Она может быть вызвана любыми факторами, взаимодействующими с функционально значимыми рецепторами поверхности регуляторной клетки — (ауто)антигенами, связывающимися с TCR, патогенассоциированными молекулами (PAMP), взаимодействующими с TLR-рецепторами, цитокинами (TGF β , IL-2), действующими через свои рецепторы. Эти факторы мо-

гут активировать Treg, действуя порознь (в отличие от ситуации с конверсией Treg, когда эффективными являются сочетанные воздействия). Наиболее эффективным активатором Treg являются толерогенные ДК, которые воздействуют сразу на несколько типов мембранных рецепторов Treg.

Условные обозначения: TLR (*Toll-like receptors*) — толл-подобные рецепторы; PAMP (*Pathogen-associated molecular patterns*) — связанные с патогенами молекулярные образы.

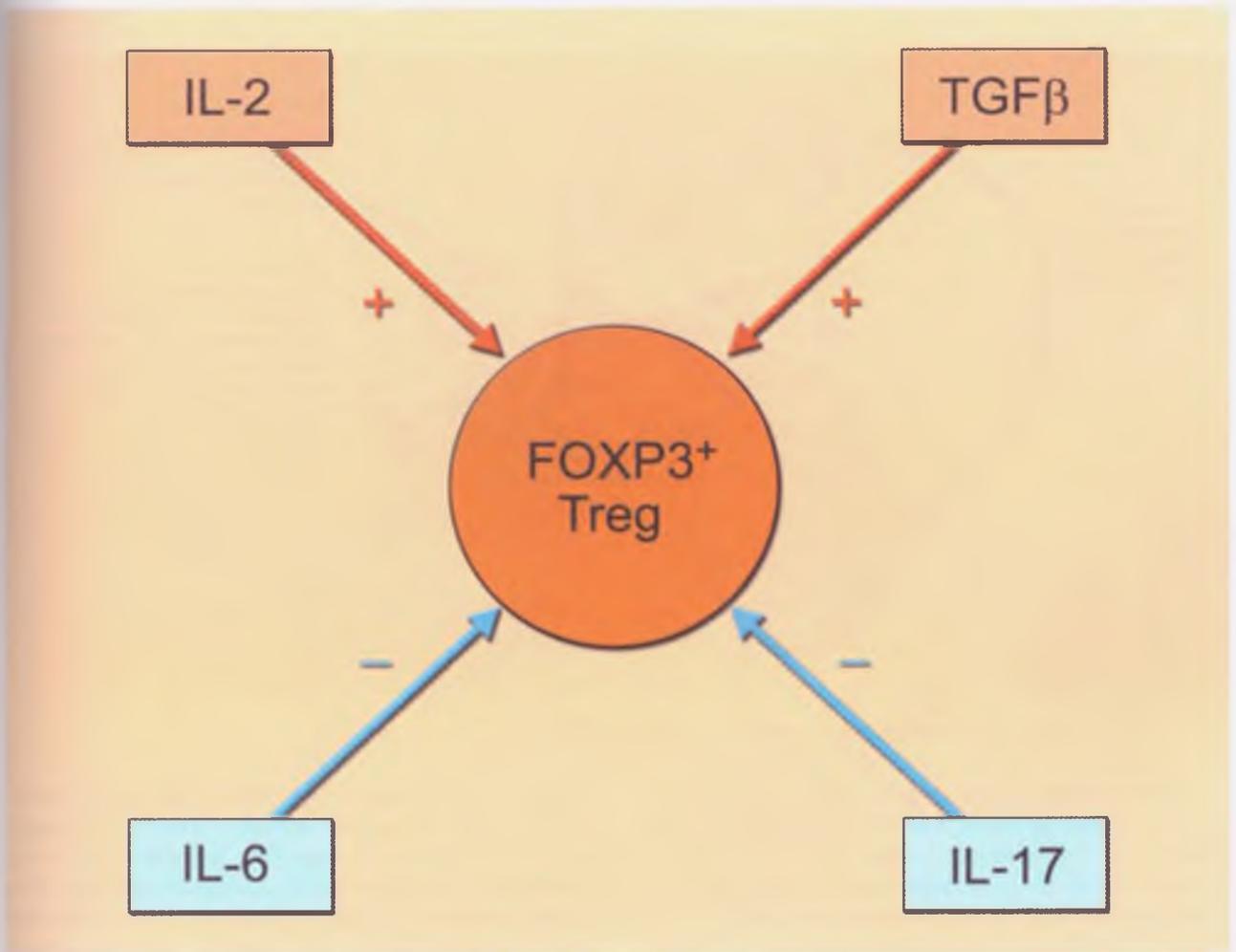


Рис. 422. Влияние цитокинов на содержание и функциональную активность Treg

Естественные Treg находятся под цитокиновым контролем. Наиболее выраженное усиливающее действие на них оказывают TGFβ (вызывает конверсию и активирует) и IL-2 (фактор дифференцировки и пролиферации, активатор). К цитокинам, ингибирующим Treg, относятся IL-6 (подавляет развитие) и IL-17 (функциональный антагонист).

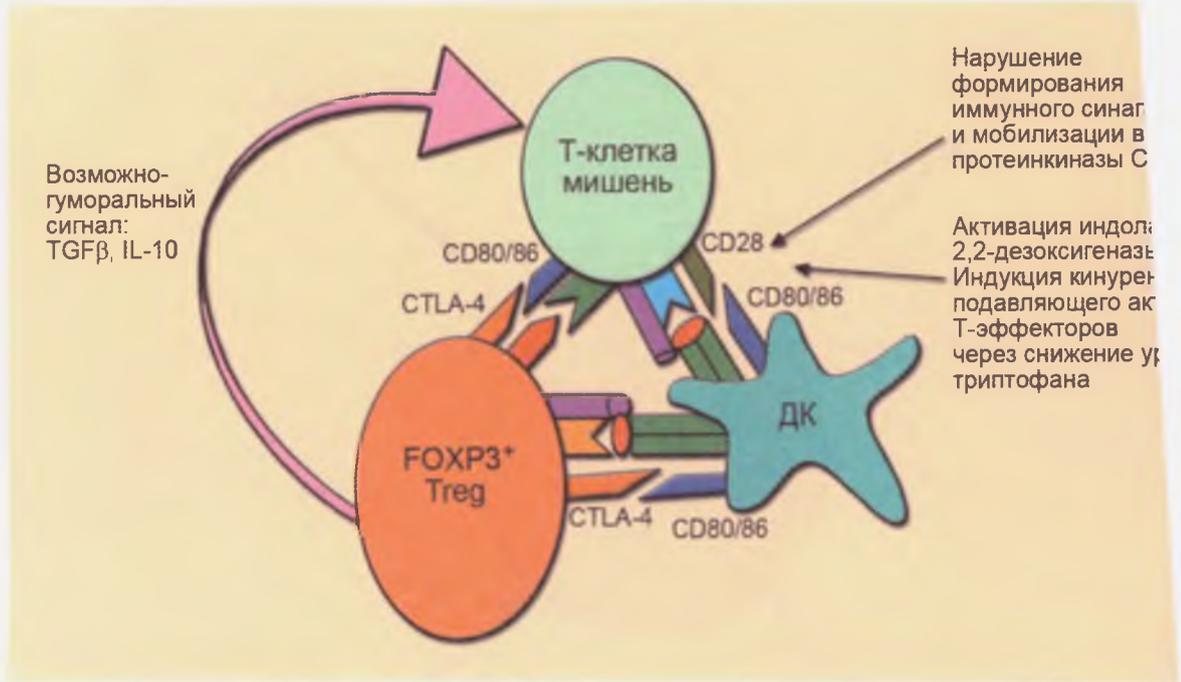


Рис. 423. Схема действия регуляторных Т-клеток

Допускается возможность прямого действия Treg на клетки-мишени, в качестве которых обычно выступают Т-хелперы или цитотоксические Т-лимфоциты. В этом случае предполагается контактное взаимодействие, в том числе с участием молекул CTLA-4 и их лигандов на поверхности клеток-мишеней (лиганды CTLA-4 — молекулы CD80 и CD86 в ограниченном количестве могут экспрессироваться на активированных Т-клетках). Другой вариант прямого взаимодействия основан на эффекте секретируемых Treg цитокинов — TGFβ и IL-10. Оба эти варианта проявлений действия Treg являются вспомогательными и не исчерпывают функций Treg. Главным путём реализации эффекта

Treg является тройное контактное взаимодействие в которое вовлекаются наряду с Treg и клетками-мишенями толерогенные ДК. Конкретные механизмы осуществления супрессорного эффекта не установлены. Допускается, что они способствуют формированию иммунного синапса эффекторной Т-клеткой и дендритной клеткой, в частности, вовлечению в него протеинкиназы (изоформы θ). Кроме того, под влиянием в дендритных клетках активируется индола 2,2-дезоксигеназа, что способствует накоплению кинуретина, под влиянием которого снижается синтез триптофана в эффекторных клетках, что подавляет их функциональную активность.

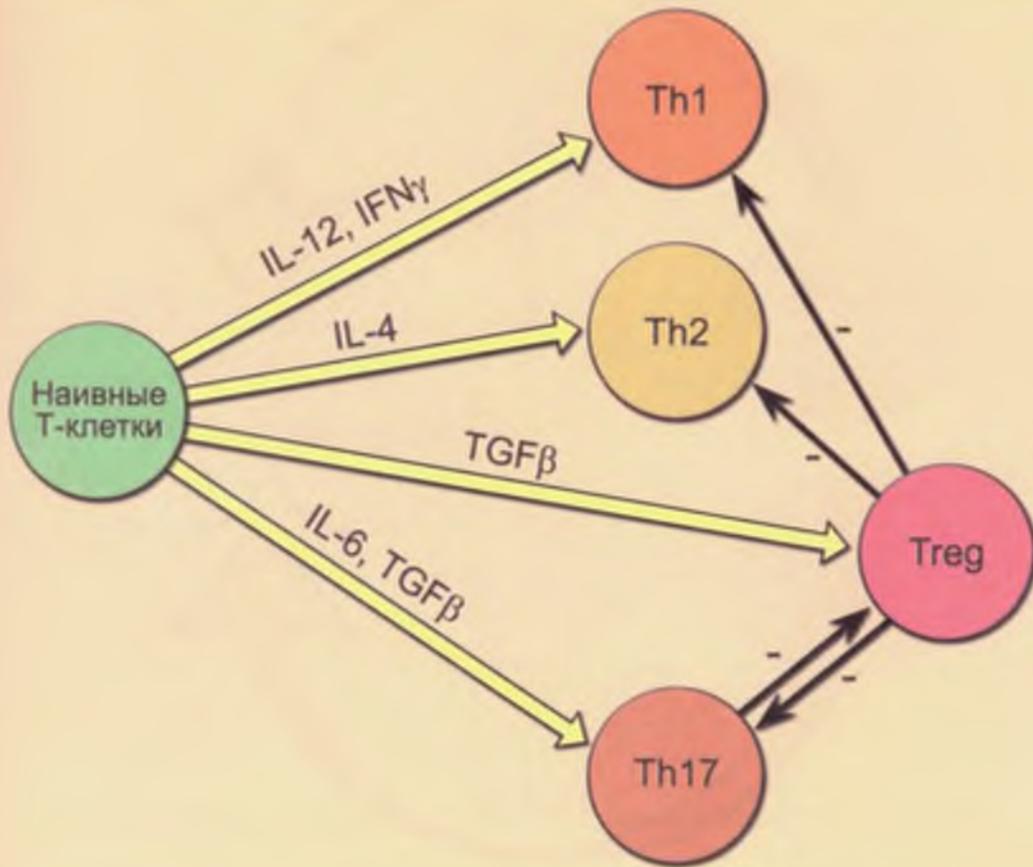


Рис. 424. Взаимосвязь развития адаптивных Treg и других субпопуляций CD4⁺ Т-клеток

В условиях иммунного ответа при участии цитокинов, указанных на рисунке, наивные CD4⁺ Т-лимфоциты дифференцируются в различные функционально активные субпопуляции Т-хелперов — Th1, Th2, Treg и Th17 (см. рис. 346). Treg контролируют функции указанных хелперных клеток, подавляя их активность. Th17 проявляет способность ингибировать активность Treg (см. также рис. 348).

В условиях иммунного ответа при участии цитокинов, указанных на рисунке, наивные CD4⁺ Т-лимфоциты дифференцируются в различные функционально активные субпопуляции Т-хелперов — Th1, Th2, Treg и Th17 (см. рис. 346). Treg контролируют функции указанных хелперных клеток, подавляя их активность. Th17 проявляет способность ингибировать активность Treg (см. также рис. 348).

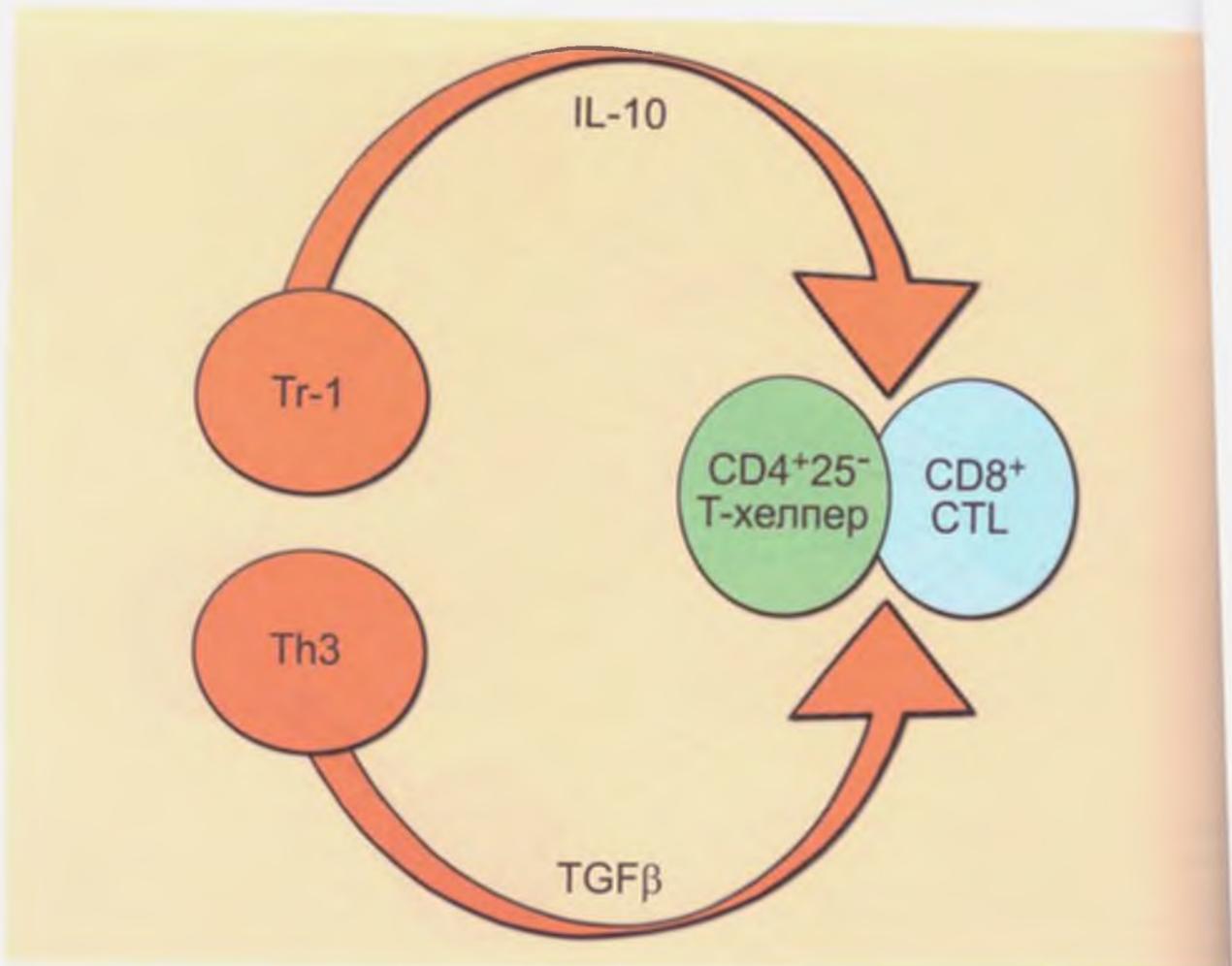


Рис. 425. Медиаторы действия адаптивных Treg

В отличие от естественных Treg, действующих в основном через клеточные контакты с привлечением ДК, адаптивные (индуцированные) Treg реализуют свое действие преимущественно или исклю-

чительно через выработку супрессорных медиаторов. Для Tr1-клеток таким медиатором служат IL-10, для Th3 – TGFB.

Условные обозначения: см. рис. 411.

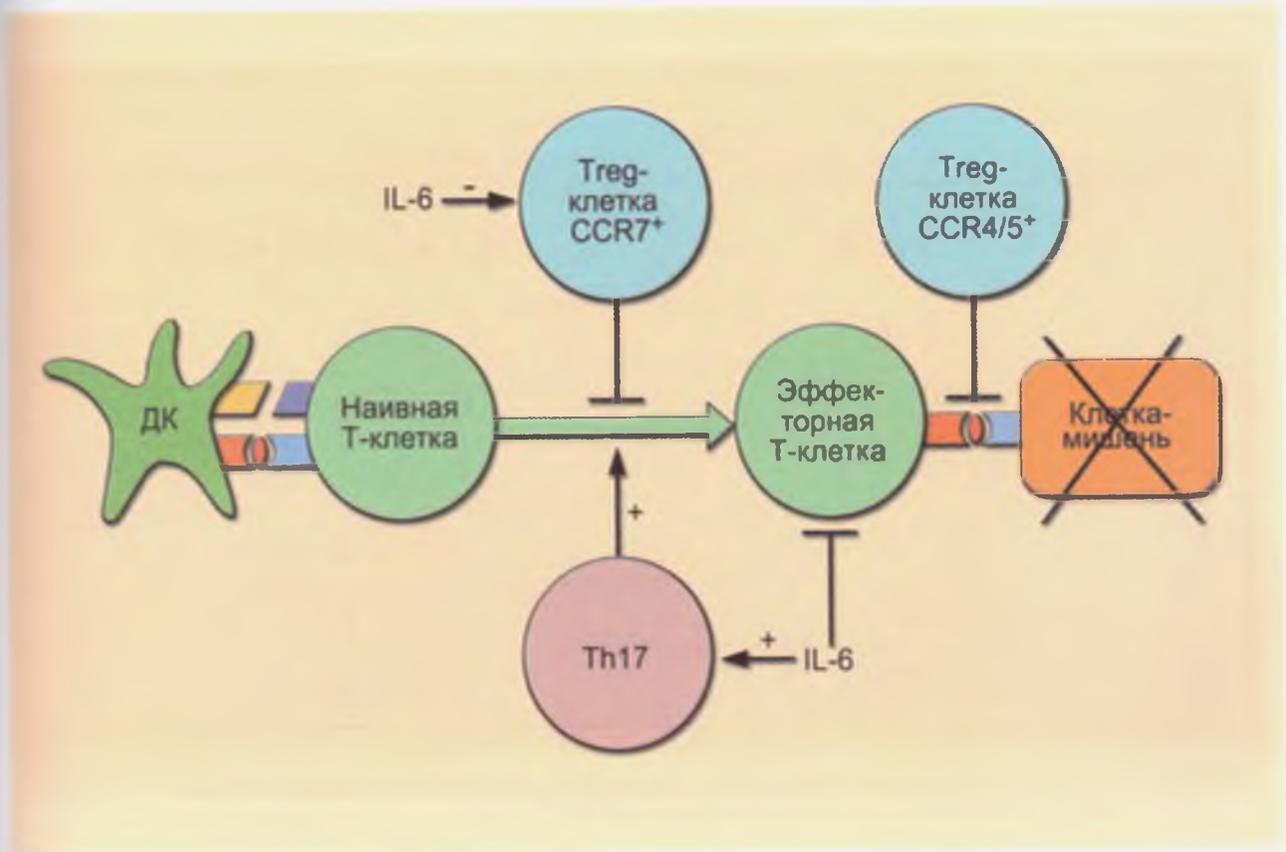


Рис. 426. Treg-клетки подавляют индукцию и реализацию аутоиммунных процессов

Treg подавляют и индуктивную, и эффекторную фазы аутоиммунного процесса, однако эти эффекты оказывают разные клетки, отличающиеся экспрессией хемокиновых рецепторов: индуктивную фазу процесса ингибируют Treg наивного типа, несущие CCR7 и поэтому (см. рис. 393) мигрирующие в лимфатические узлы, в том числе в те, в которых развивается процесс. Эффекторная фаза аутоиммунной

патологии происходит вне лимфоидных органов — в органах-мишенях, вовлечённых в воспалительный процесс. Поэтому в контроле осуществления аутоиммунных реакций участвуют другие Treg, несущие рецепторы CCR4, CCR5 и т.д., что определяет их миграцию в воспалённые ткани. IL-6, который препятствует развитию Treg и активирует Th17, тем самым способствует развитию аутоиммунных процессов.

В тимусе:	На периферии:
IL-2 -/-	IL-2 -/-
IL-2R α -/-	IL-2R α -/-
FOXP3 -/-	FOXP3 -/-
STAT5 -/-	STAT5 -/-
CD28 -/-	TGF β -/-
JAGGED ^{1/2} -/-	CTLA-4 -/-

Рис. 427. Генотипы, препятствующие развитию FOXP3⁺ Treg

Развитие Treg в тимусе оказывается невозможным при дефектности генов, которые кодируют факторы, ответственные за дифференцировку и пролиферацию этих клеток (IL-2, IL-2R, CD28, STAT5, Jagged1/2), а также за реализацию их генетической программы (FOXP3). Для осуществления конверсии

и функционирования Treg на периферии дополнительно требуется полноценность генов, кодирующих TGF- β и CTLA-4. Мутации некоторых генов, важных для развития и функционирования Treg (Notch3, V7 и т.д.), не препятствуют осуществлению этих процессов, очевидно, в силу избыточности.

Изменения T _R	Заболевания
Отсутствие	Иммунодефицит (IPEX-синдром)
Снижение содержания, гипофункция	<p>Аутоиммунные заболевания (сахарный диабет 1-го типа, рассеянный склероз, ревматоидный артрит, миастения гравис, болезнь Крона, язвенный колит, аутоиммунные орхит, оофорит, тиреоидит)</p> <p>Аллергические заболевания (бронхиальная астма, атопический дерматит, контактный дерматит, пищевая аллергия)</p> <p>Прочие (привычное невынашивание беременности, болезнь трансплантат-против-хозяина)</p>
Повышение содержания, гиперфункция	Новообразования (рак яичника, легкого и др. локализаций, хронический В-клеточный лимфолейкоз, Т-клеточный лимфолейкоз взрослых, кожная Т-клеточная лимфома). Инфекционные заболевания (вирусные инфекции, лейшманиоз, СПИД)

Рис. 428. Заболевания, патогенетически связанные с изменением содержания и активности Treg

Среди приведённых заболеваний лишь при IPEX-синдроме развитие Treg блокируется полностью, что обуславливает тяжесть и фатальность этого заболевания (рис. 414). При других заболеваниях численность и/или функция Treg нарушается частично. Нередко экспрессия FOXP3 нарушается независимо от изменений численности CD4⁺CD25^{hi} Treg, а ослабление их супрессорной функции проявляется при нормальной и даже повышенной численности этих клеток. Характер изменений содержания и функции Treg следует учи-

тывать при разработке патогенетической терапии болезней, обусловленных их дефицитом. Для предотвращения РТПХ, лечения аутоиммунных и тяжёлых аллергических заболеваний, а также привычных выкидышей разрабатываются методы адаптивной цитотерапии регуляторными Т-клетками.

Условные обозначения: IPEX-синдром (*Immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome*) — синдром дисрегуляции иммунитета, полиэндокринопатии, энтеропатии, сцепленный с X-хромосомой.

2.3.14. ГРУППЫ КРОВИ АВ0

Одним из первых известных феноменов, имеющих отношение к генетическому полиморфизму по иммунологически значимым молекулам, стала несовместимость по группам крови АВ0. Серьезность

этой проблемы усиливается предсуществование антител к отсутствующим антигенам АВ0, которые могут содержаться в несовместимой крови и вызывают немедленную и тяжелую реакцию на её переливание.

Группа крови	Генотип	Эритроцитарный антиген	Естественные антитела
0 (I)	h/h	H	Анти-А, анти-В
А (II)	A/A, A/h	A	Анти-В
В (III)	B/B, B/h	B	Анти-А
АВ (IV)	A/B	A, B	-

Рис. 429. Группы крови человека

На поверхности эритроцитов содержатся АГ групп крови АВ0 и в сыворотке — естественные антитела против этих АГ, которые могут вызвать агглютинацию и лизис эритроцитов в случае переливания несовместимой крови. Переливание несовместимых эритроцитов приводит к их агглютинации и лизису естественными антителами, присутствующими в сыворотке реципиентов, а также иммунокомплексную патологию, приводящую к нарушению микроциркуляции и повреждению почек.

Это происходит при следующих вариантах гемотрансфузий:

- эритроциты II гр. — реципиентам I или III гр.;
- эритроциты III гр. — реципиентам I или II гр.;
- эритроциты IV гр. — реципиентам I, II или III гр.

Хотя эффект антител, содержащихся в переливаемой крови, проявляется только при больших объемах вводимой крови, в настоящее время переливание крови осуществляется только при условии совпадения донора и реципиента по группам крови АВ0.

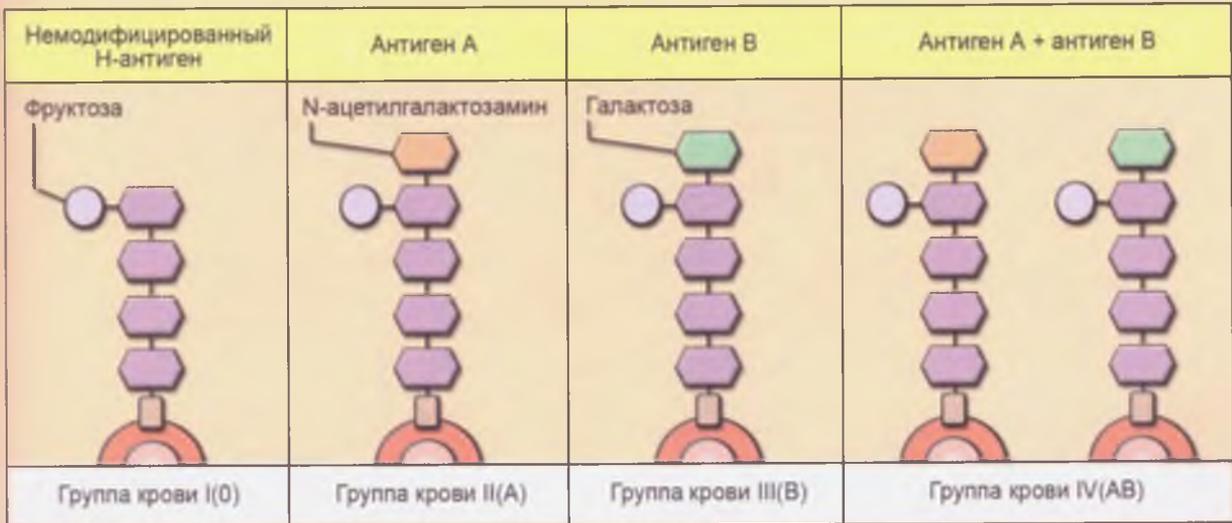


Рис. 430. Химическая структура антигенов групп крови

Вещества групп крови являются полисахаридами. При всех группах крови основой группового вещества является полимер галактозы с боковыми остатками фруктозы и N-ацетилгалактозамина. Это молекула-предшественник, обозначаемая как вещество H. В случае генотипа h/h дальнейшие превращения этой молекулы блокируются, и она

сохраняется в неизменном виде. Ген A обуславливает присоединение к галактозной цепи D-N-ацетилгалактозамина, а ген B — D-галактозы.

Продукты этих генов обозначаются, соответственно, как вещество A и вещество B. У гетерозигот AB на эритроцитах одновременно присутствуют оба вещества.

2.3.15. ТРАНСПЛАНТАЦИОННЫЙ ИММУНИТЕТ

Наиболее ярким свидетельством функционирования иммунной системы вне инфекционных процессов и примером неинфекционного иммунитета явилась иммунная реакция на несовместимый трансплантат и формирующийся при этом трансплантационный иммунитет. Изучение этого искусственного феномена

оказалось очень продуктивным: в связи с ним был открыт специфический клеточный иммунный ответ и изучен антигенный полиморфизм, что привело к созданию концепции главного комплекса гистосовместимости. На этой основе был достигнут значительный прогресс в практике пересадки органов и тканей.

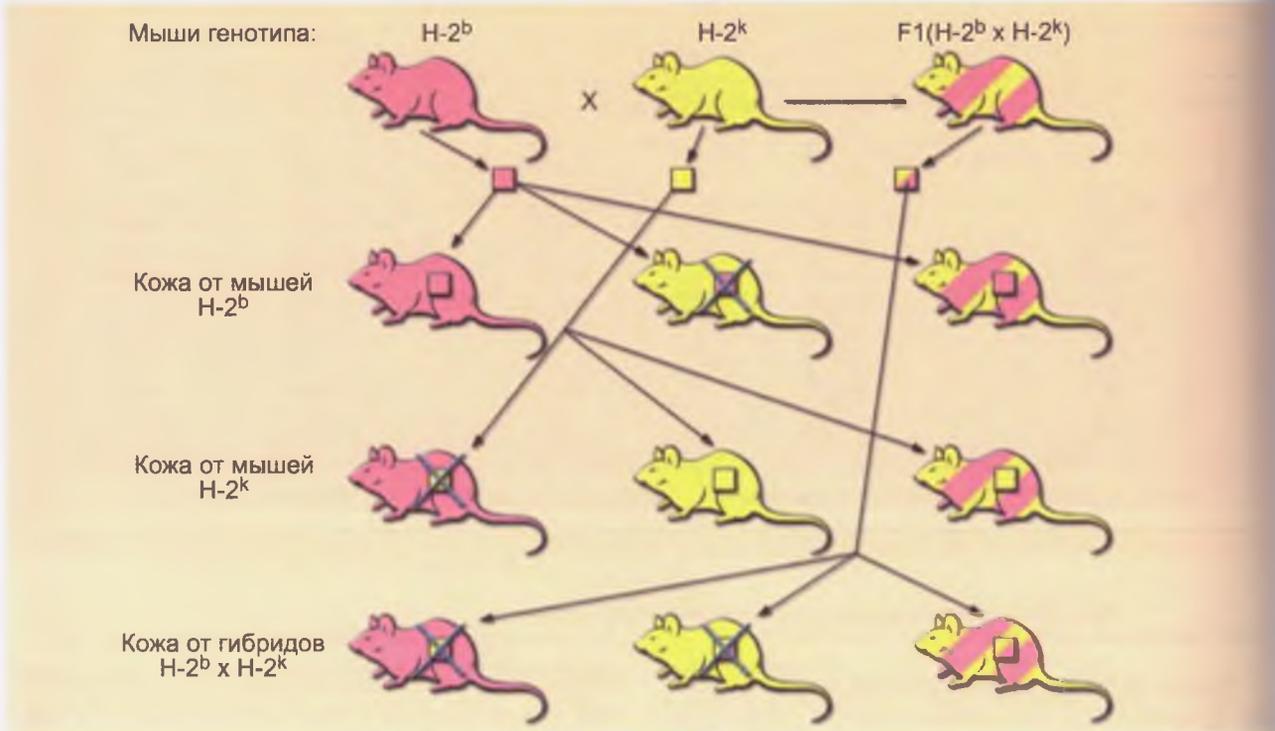


Рис. 431. Схема, иллюстрирующая генетические законы трансплантации

Реакции тканевой несовместимости (трансплантационного иммунитета) иллюстрируются примером пересадки кожного лоскута между мышами двух линий, отличающихся по комплексу H-2 (МНС мышей), а также гибридами первого поколения (F1) между животными родительских линий. Судьба трансплантатов — сингенных (от той же линии), аллогенных (от другой линии) или полуаллогенных (от гибридов) — отражает основные законы трансплантации:

- сингенные трансплантаты приживаются;
- аллогенные трансплантаты отторгаются;
- трансплантаты от мышей родительской линии приживаются у гибридов F1;

- трансплантаты от гибридов F1 приживаются у гибридов F1, но отторгаются у мышей обеих родительских линий.

Законы соответствуют представлениям о кодоминантной природе наследования АГ гистосовместимости, т.е. проявлении обоих аллельных признаков у гетерозигот. Это означает обязательную экспрессию аллелей генов МНС в условиях как гомозиготности, так и гетерозиготности.

Условные обозначения: различная окраска животных соответствует двум линиям мышей, чередующиеся полосы цветов родительских линий — гибридам первого поколения. Отторжение трансплантата обозначено его перечёркиванием. Отсутствие перечёркивания означает приживание.

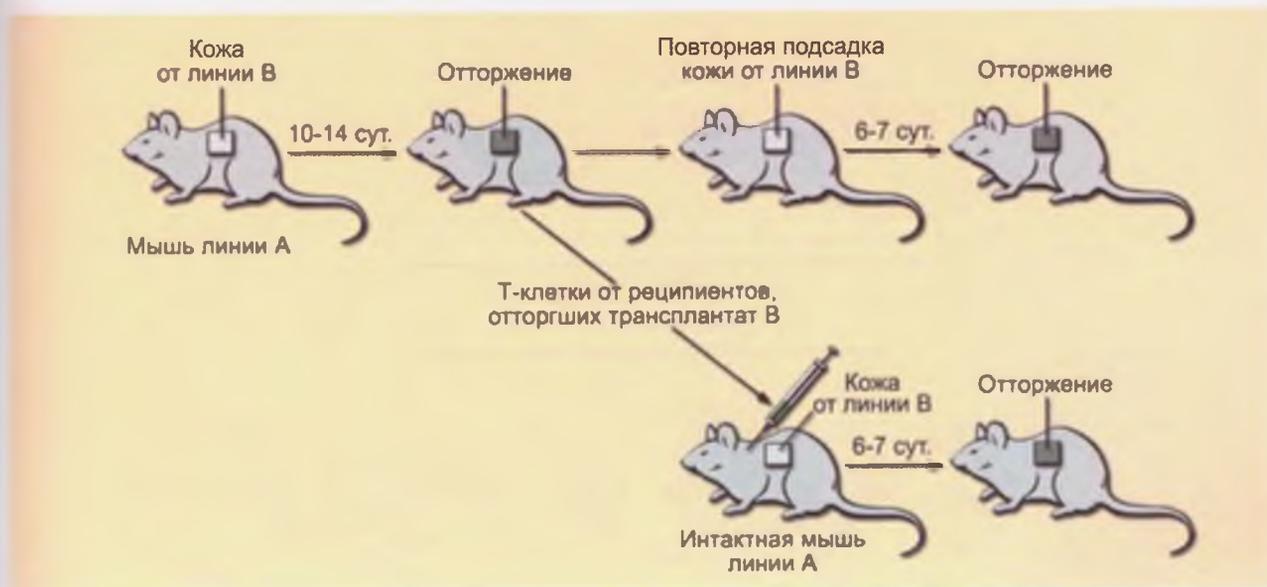


Рис. 432. Свидетельства иммунологической природы отторжения аллотрансплантата

Главными свидетельствами иммунологической природы отторжения чужеродных трансплантатов являются:

- наличие вторичного иммунного ответа — ускоренного отторжения при повторной подсадке ткани того же донора или идентичного ему по генам гистосовместимости (*феномен second set*);
- возможность переноса сенсibilизации к трансплантату интактному реципиенту с лимфоцитами реципиента, ранее отторгнувшего трансплантат данного гаплотипа. Невозможность переноса интакт-

ному животному сенсibilизации к трансплантату с сывороткой реципиента, отторгавшего трансплантат данного гаплотипа, свидетельствует о клеточной, но не гуморальной природе развивающейся иммунологической реакции.

На рисунке отражены обе указанные ситуации. Несенсibilизированная мышь отторгает кожу от донора, несовместимого по H-2, за 10–14 сут, активно или адаптивно (т.е. путём переноса лимфоцитов) сенсibilизированная мышь отторгает его за 6–7 сут.

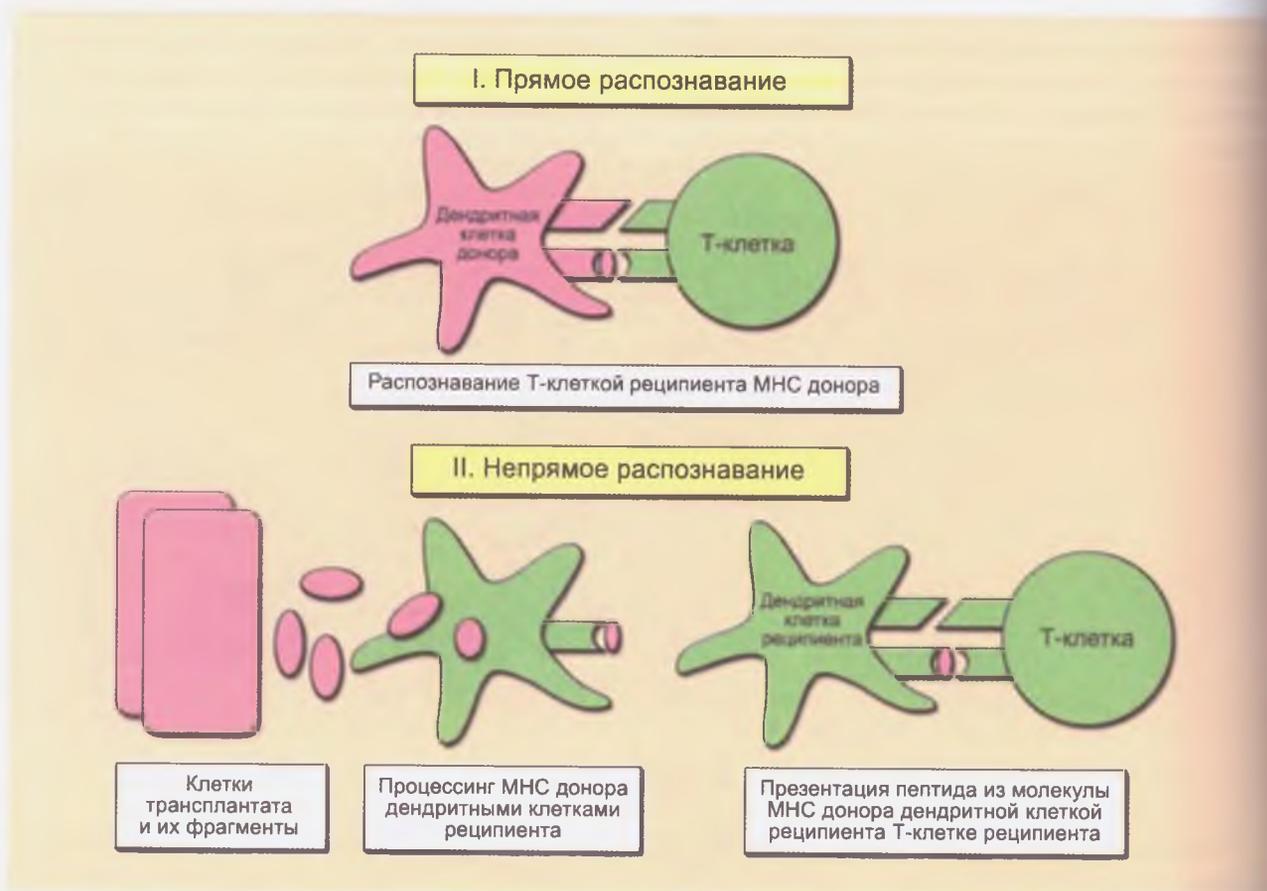


Рис. 433. Два типа распознавания аллогенных МНС Т-клетками

Существует два типа распознавания донорских АГ Т-клетками реципиента при аллогенной трансплантации — прямое и не прямое. В их осуществлении участвуют ДК донора или реципиента. В случае прямого распознавания донорская дендритная клетка презентует Т-клетке хозяина собственные (аллогенные для Т-клеток реципиента) молекулы МНС, несущие любой пептид. При этом чужеродная молекула МНС рассматривается рецептором Т-клетки как аналог аутологичной молекулы, мо-

дифицированной чужеродным пептидом. В случае непрямого распознавания молекулы МНС донора поглощаются дендритными клетками реципиента и обрабатываются обычным для экзогенных молекул путём. Их пептидные фрагменты встраиваются в молекулы МНС класса II ДК реципиента и презентуются, как обычно, Т-клеткам хозяина-реципиента. Прямое распознавание чаще реализуется при стимуляции $CD8^+$ Т-клеток, не прямое — при стимуляции $CD4^+$ Т-клеток.

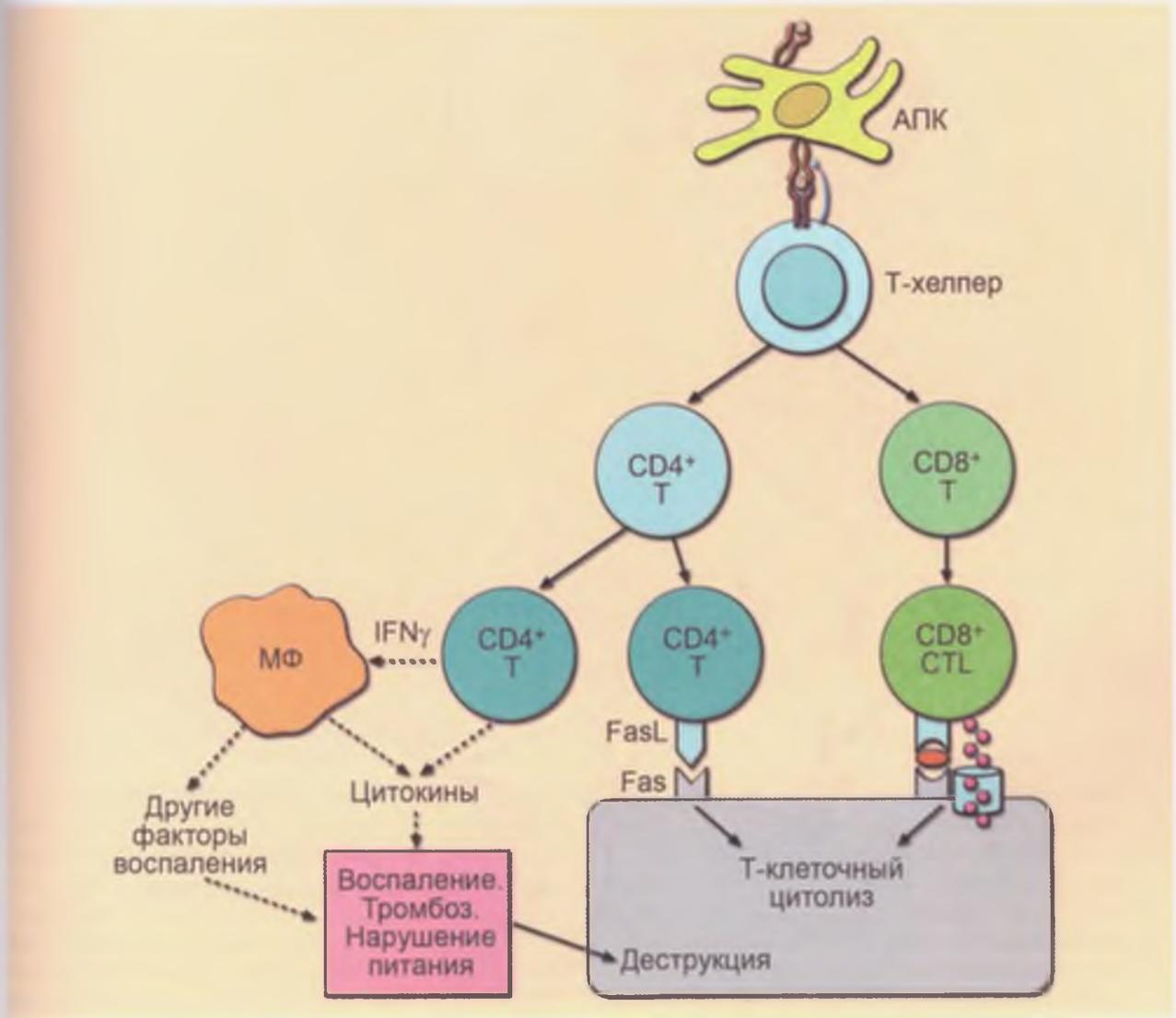


Рис. 434. Клеточные факторы и механизмы отторжения трансплантата

В отторжении аллогенного трансплантата участвуют практически все механизмы адаптивного иммунитета. Основными эффекторами отторжения являются клеточные факторы. $CD8^+$ Т-клетки, которые обычным путём (см. рис. 361) дифференцируются в цитотоксические Т-лимфоциты (CTL), вызывают гибель клеток трансплантата преимущественно по механизму перфоринзависимого и Fas-индуцированного цитолиза (рис. 363, 364). $CD4^+$ Т-клетки участвуют в отторжении с помощью двух групп механизмов. Одна из них включает

индукцию гибели клеток трансплантата по механизму Fas- и TNF-зависимого апоптоза (рис. 365). Вторая группа объединяет действие различных факторов воспаления, развивающегося в трансплантате вследствие развития Th1-клеток и активации с их участием МФ. Причиной гибели при этом в первую очередь является нарушение питания трансплантата, вызванное изменением микроциркуляции и развитием тромбозов, а также прямое действие цитокинов, ферментов и других факторов, выделяемых в очаге воспаления.

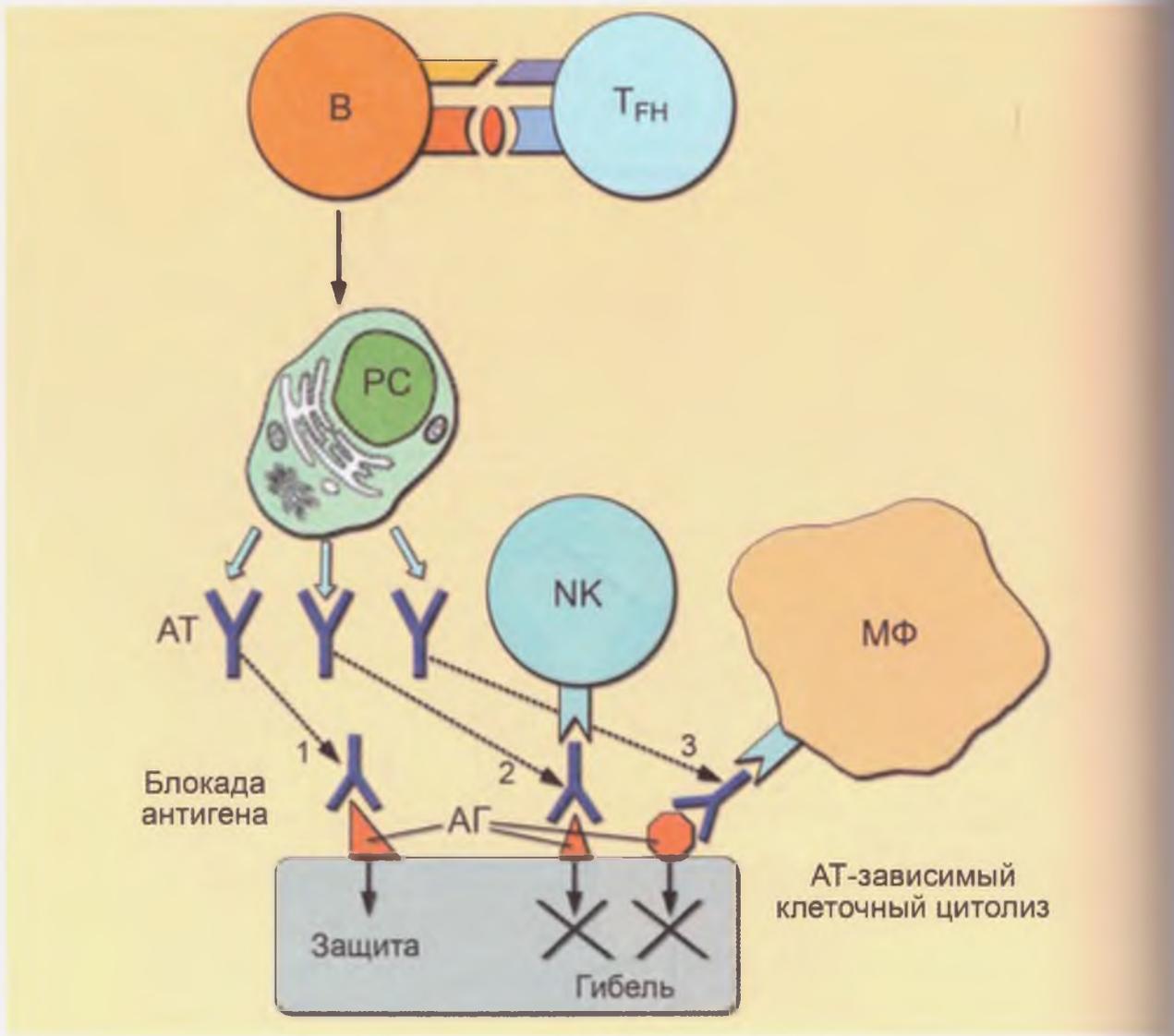


Рис. 435. Роль антителозависимых механизмов в реакции на аллотрансплантат

Роль антител в отторжении трансплантата заведомо второстепенна. Связываясь на АГ трансплантата, антитела блокируют их, не давая возможности проявиться клеточным механизмам защиты (на рисунке — 1). Привлечение в качестве эффекторных агентов факторов комплемента при этом невозможно в связи с активностью на аллогенных (как и на сингенных) клетках системы контроля комплемента, немедленно разрушающих связанные

факторы комплемента. В то же время ИК, образующиеся при соединении антител с мембранными антигенами трансплантата, могут привлечь клеточные эффекторные механизмы, основанные на распознавании Fc-частей молекул антитела (рис. 370). В роли эффекторных клеток-киллеров могут выступать FcR⁺-клетки — естественные киллеры и МФ (3). Такие реакции обозначают как антителозависимый клеточный цитолиз.

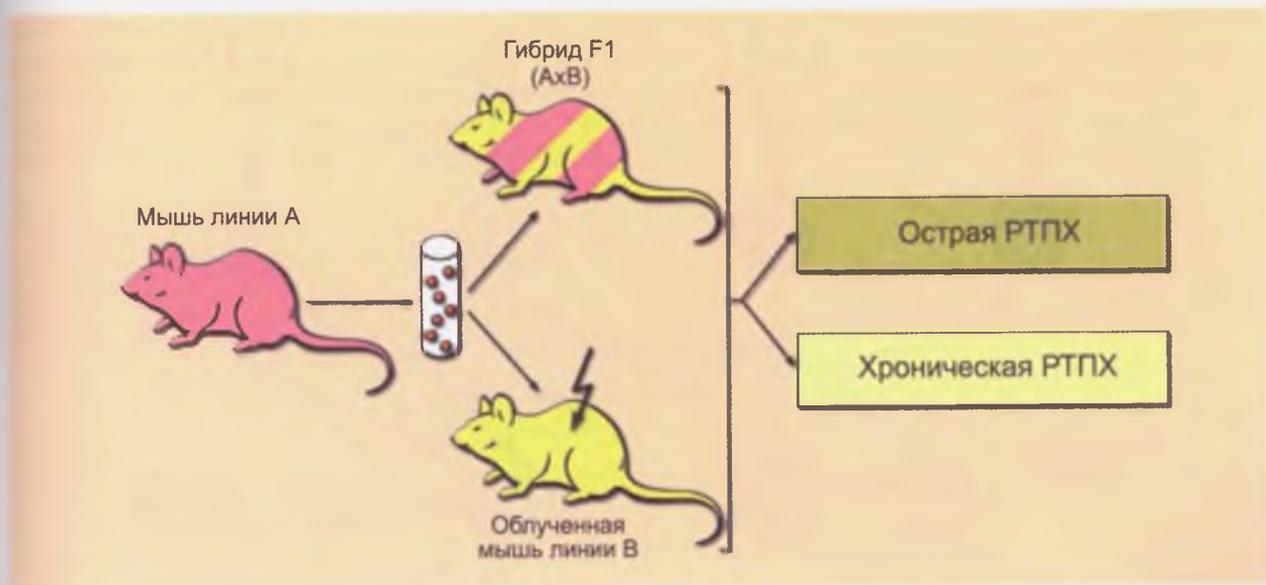


Рис. 436. Реакция трансплантат-против-хозяина (РТПХ)

Введение лимфоидных клеток мышей родительской линии гибридам F1 приводит к развитию реакции трансплантат-против-хозяина, поскольку Т-клетки реагируют на АГ второго родителя как на чужеродные, в то время как АГ введённых клеток воспринимаются реципиентом как собственные. Аналогичные последствия наблюдаются при введении аллогенных клеток мышам, иммунная система которых подавлена облучением или цитотоксическими препаратами. В этом случае введённые лимфоциты реагируют на аллоантигены хозяина, а реакция реципиента на их аллоантигены ингибирована. У человека РТПХ развивается в соответствии со второй моделью — при введении аллогенных клеток в орга-

низм с подавленным иммунитетом, например, при пересадках аллогенного костного мозга, содержащего Т-клетки, облучённым людям. РТПХ у человека обозначается как болезнь трансплантат-против-хозяина (ТПХ), которая в зависимости от выраженности генетических различий и дозы введённых клеток определяется в острой и хронической формах. Проявлениями острой болезни ТПХ являются спленомегалия, инволюция тимуса, анемия, задержка роста, поражение кишечника с диареей, поражение кожи и волосяного покрова; возможен летальный исход. Для хронической болезни ТПХ свойственно воспалительное поражение печени, кожи и слизистых оболочек с их лимфоидной инфильтрацией.

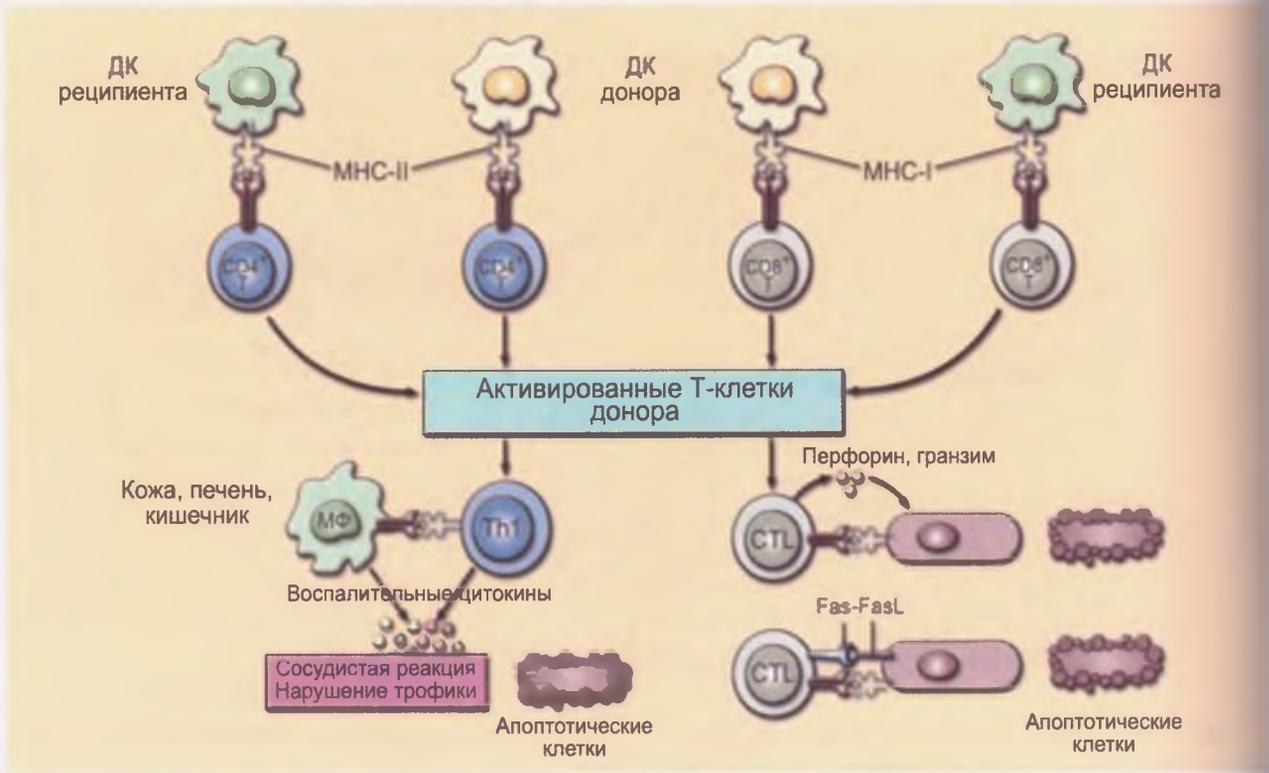


Рис. 437. Иммунопатогенез реакции трансплантат-против-хозяина

При РТПХ АГ (пептидный фрагмент аллоантигена) презентуется ДК как донора, так и реципиента CD8⁺ и CD4⁺ Т-лимфоцитам реципиента. В результате формируются эффекторные Т-лимфоциты. Цитотоксические CD8⁺ Т-лимфоциты (CTL) вызывают гибель клеток реципиента по перфориновому и Fas-зависимому механизмам. CD4⁺ Т-клетки дифференцируются преимуще-

ственно в хелперы Th1-типа. Они активируют МФ, которые выделяют воспалительные цитокины и другие факторы, обуславливающие сосудистую реакцию и развитие воспаления. Это приводит к нарушению трофики и функции органа и гибели клеток реципиента. CD4⁺ Т-клетки способны вызвать апоптоз клеток-мишеней по Fas-зависимому пути.

2.16. ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ ТОЛЕРАНТНОСТЬ – ЕСТЕСТВЕННАЯ И ИНДУЦИРОВАННАЯ

Иммунологическая «неотвечаемость», сейчас рассматриваемая как фундаментальный тип ответа иммунной системы на чужеродные АГ, была открыта как феномен терпимости (толерантности) к пересаженной чужеродной ткани при условии предварительного контакта с ней в раннем онтогенезе — до определенных временных точек, знаменующих завершение иммунологического созревания организма. Позже

иммунологическая толерантность была воспроизведена в различных вариантах и были вскрыты многочисленные механизмы, которые её обеспечивают. Тем не менее, основы иммунологической толерантности к несовместимому плоду, а также механизмы выбора типа реакции (ответ или толерантность) на опасные или полезные чужеродные антигены в барьерных тканях до сих пор полностью не вскрыты.

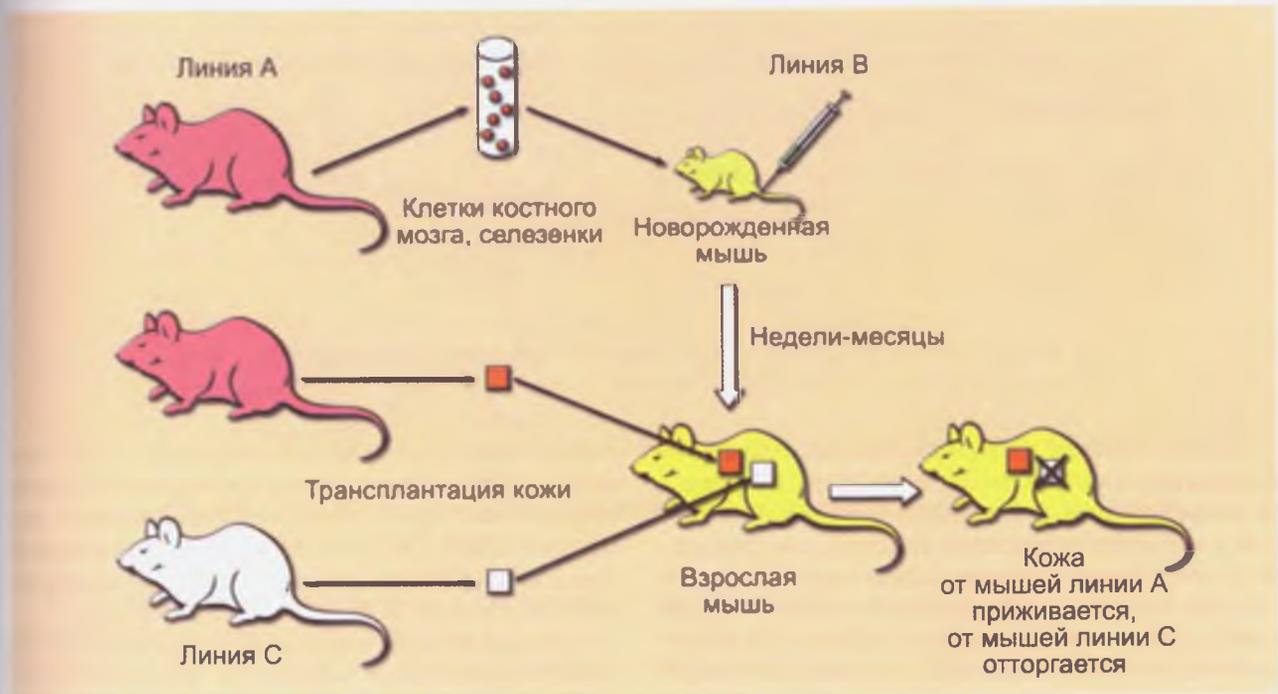


Рис. 438. Индукция иммунологической толерантности к аллотрансплантату

Введение кроветворных и лимфоидных клеток от мышей одной линии (А) новорождённым мышатам (или эмбрионам) другой линии (В), отличающейся по генам гистосовместимости, приводит к формированию у мышат терпимости (толерантности) к АГ донора, которая сохраняется и у взрослых мышей при условии сохранения химеризма (т.е.

существования в организме собственных кроветворных клеток и аллогенных клеток — потомков введённых донорских клеток). Если обработанным таким образом мышам через определённый срок пересадить кожу или иной трансплантат от донора, ткань приживётся, хотя пересаженная параллельно ткань постороннего донора (С) отторгнется.

Типы толерантности	
Рецессивная толерантность	Доминантная толерантность
Механизмы толерантности	
<p>Элиминация аутоспецифических клонов</p> <p>Анергия аутоспецифических клонов</p> <p>Редактирование аутоспецифических рецепторов</p>	<p>Развитие регуляторных Т-клеток:</p> <p>FOXP3⁺ Treg</p> <p>NKT</p> <p>CD8αα⁺γδT</p>

Рис. 439. Механизмы предотвращения аутоагрессии, реализуемые при индукции иммунологической толерантности к аллоантигенам

Искусственная иммунологическая толерантность к аллотрансплантатам формируется благодаря реализации тех естественных механизмов, которые в норме предотвращают аутоагрессию. Эти механизмы разделяют на рецессивные (не срабатывают при переносе в другой организм) и доминантные (срабатывают при переносе). К первым относятся механизмы элиминации или инактивации специфических клонов. Элиминация клонов — наиболее радикальный механизм устранения иммунологической реактивности на конкретный АГ. Она осуществляется в тимусе в процессе отрицательной селекции (см. рис. 245, 247). Некоторые клоны Т-клеток, распознающих собственные АГ, выживают в тимусе и оказываются в периферическом отделе иммунной системы. Их контакт с аутоантигенами в условиях неоптимальной презентации

(в отсутствие костимуляции) индуцирует состояние анергии с укорочением продолжительности жизни таких клеток. Однако возможен другой исход — активация генов RAG и повторение реарранжирования гена α-цепи TCR (см. далее рис. 441), что приводит к формированию TCR иной специфичности.

Доминантный механизм формирования (ауто)толерантности состоит в развитии естественных регуляторных Т-клеток. Основным типом естественных регуляторных Т-клеток, препятствующих развитию аутоагрессии и поддерживающих искусственную иммунологическую толерантность, являются CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺-клетки (см. рис. 412, 413). Вспомогательную роль могут играть NKT- и γδТ-клетки, несущие гомодимерную форму корцептора — CD8αα, однако их функция в качестве регуляторных Т-клеток изучены слабо.

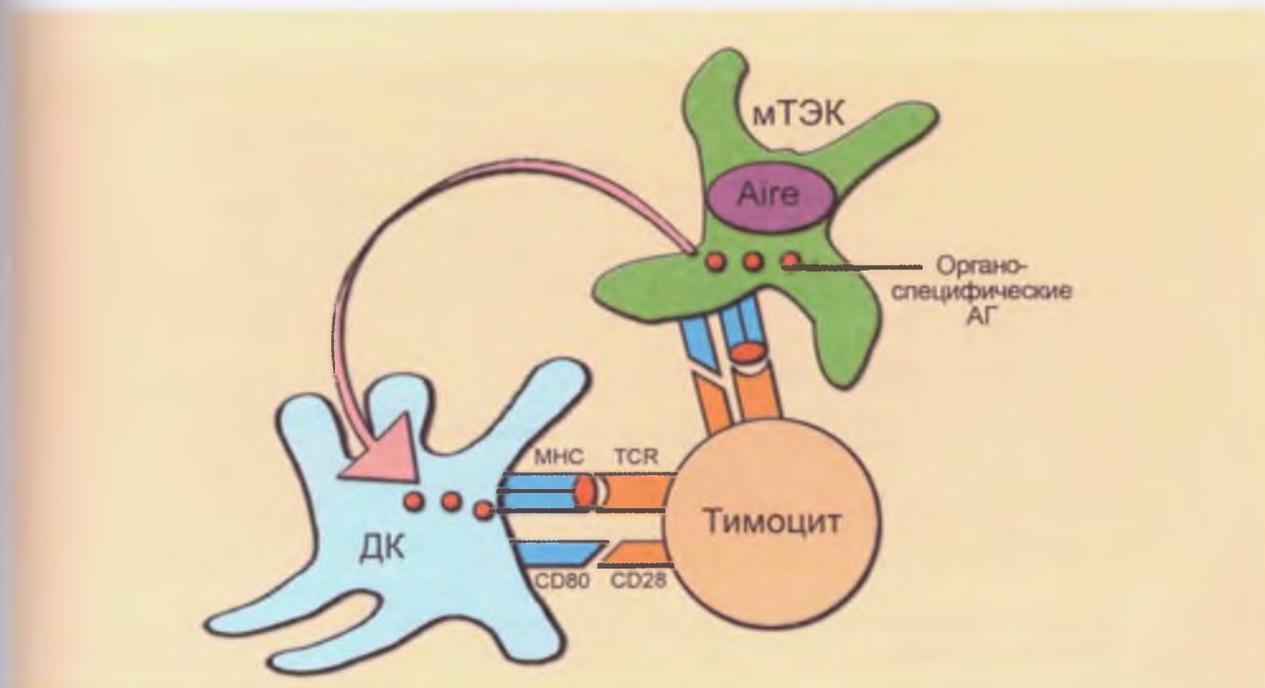


Рис. 440. Схема презентации органоспецифических антигенов эпителиальными и дендритными клетками в тимусе

Возможность элиминации клонов тимокитов, специфичных к органоспецифическим АГ нелимфоидных органов, достигается благодаря специальному механизму экспрессии этих АГ в тимусе, контролируемому геном *Aire*. Он экспрессируется в клетках медуллярного эпителия тимуса и определяет проявление около 500 органоспецифических АГ. Экспрессия мозаична: каждый АГ синтезируется примерно в 100 клетках. Презентацию этих АГ ти-

моцитам осуществляют ДК тимуса за счёт поглощения фрагментов эпителиальных клеток, подвергшихся апоптозу. Результатом распознавания аутоспецифическими тимокитами эпитопов этих молекул, презентруемых дендритными клетками, является элиминация тимокитов соответствующего клона.

Условные обозначения: мТЭК — клетки медуллярного эпителия тимуса; ДК — дендритные клетки.

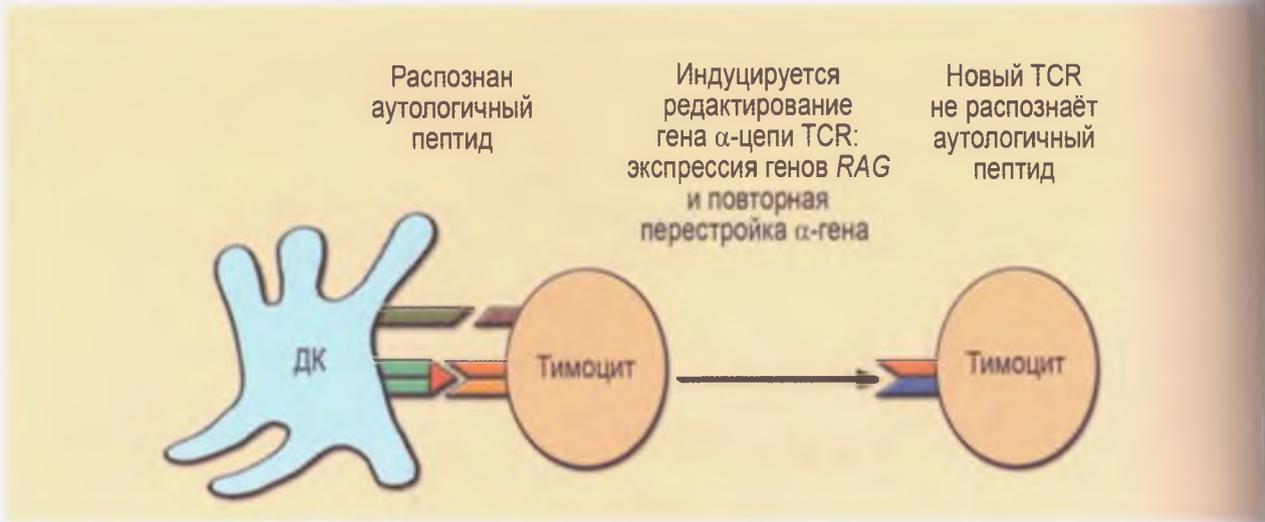


Рис. 441. Редактирование генов TCR как один из механизмов устранения аутоспецифических клонов Т-клеток

Рисунок иллюстрирует механизм повторной перестройки гена α -цепи TCR для изменения специфичности потенциально аутоагрессивных клонов Т-клеток. Он складывается из трёх этапов: А — рас-

познавание аутологичного АГ; Б — собственно редактирование гена α -цепи TCR: экспрессия генов *RAG* и повторная перестройка α -гена; В — экспрессия нового TCR, не способного распознать аутоантиген

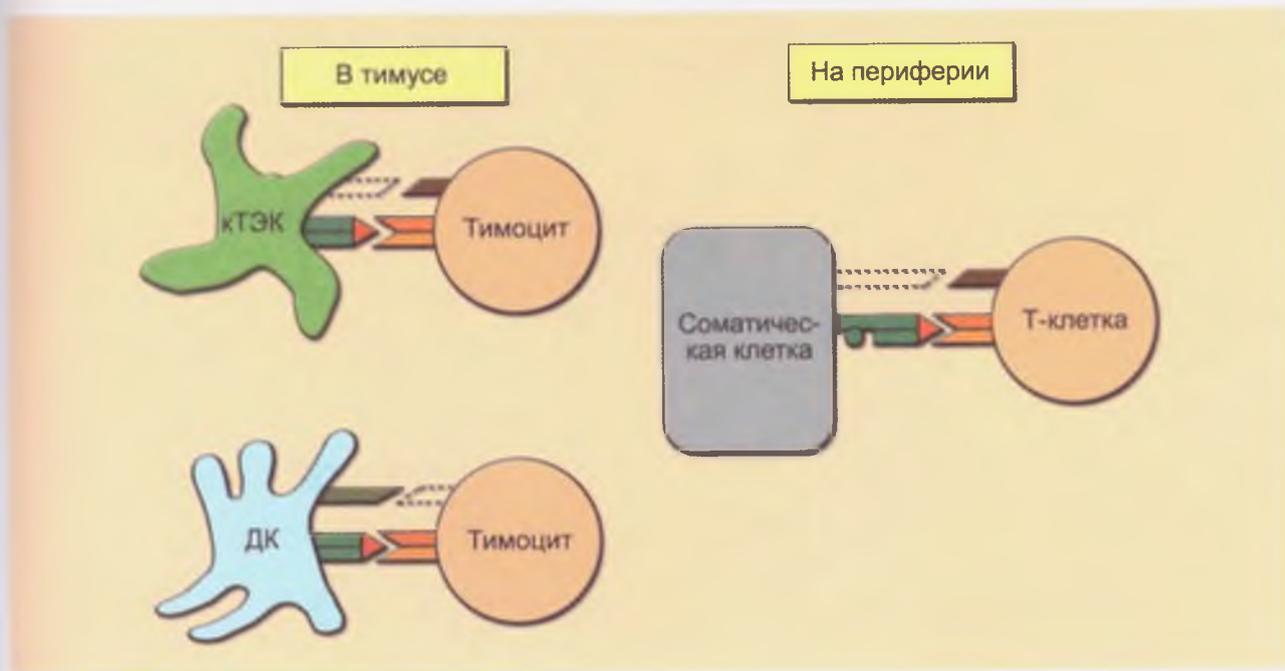


Рис. 442. Индукция анергии путём ослабления костимуляции

Одним из механизмов индукции (ауто)толерантности является развитие анергии Т-клеток соответствующего клона. Наиболее общей причиной индукции анергии является отсутствие или дефектность костимуляции при презентации АГ Т-клетке. Это может иметь место и в тимусе, и в периферическом отделе иммунной системы. Так, анергию могут индуцировать кортикальные эпителиальные клетки тимуса (ТЭК), не экспрессирующие костимулирующие молекулы В7 (на рисунке здесь и далее отсутствующую молекулу символизирует её изображение прерывистой линией без цветовой заливки). С другой стороны, анергии подвергаются

timoциты, не экспрессирующие костимулирующую молекулу CD28. В периферическом отделе иммунной системы анергия чаще всего развивается в случаях презентации антигена непрофессиональными АПК, которые лишены молекул В7 (CD80/CD86). Это особенно часто происходит в случае презентации АГ клетками вне очага воспаления, способствующего экспрессии молекул В7 даже на непрофессиональных АПК, таких, как эпителиальные клетки.

Условные обозначения: кТЭК — клетки кортикального эпителия тимуса; ДК — дендритные клетки.

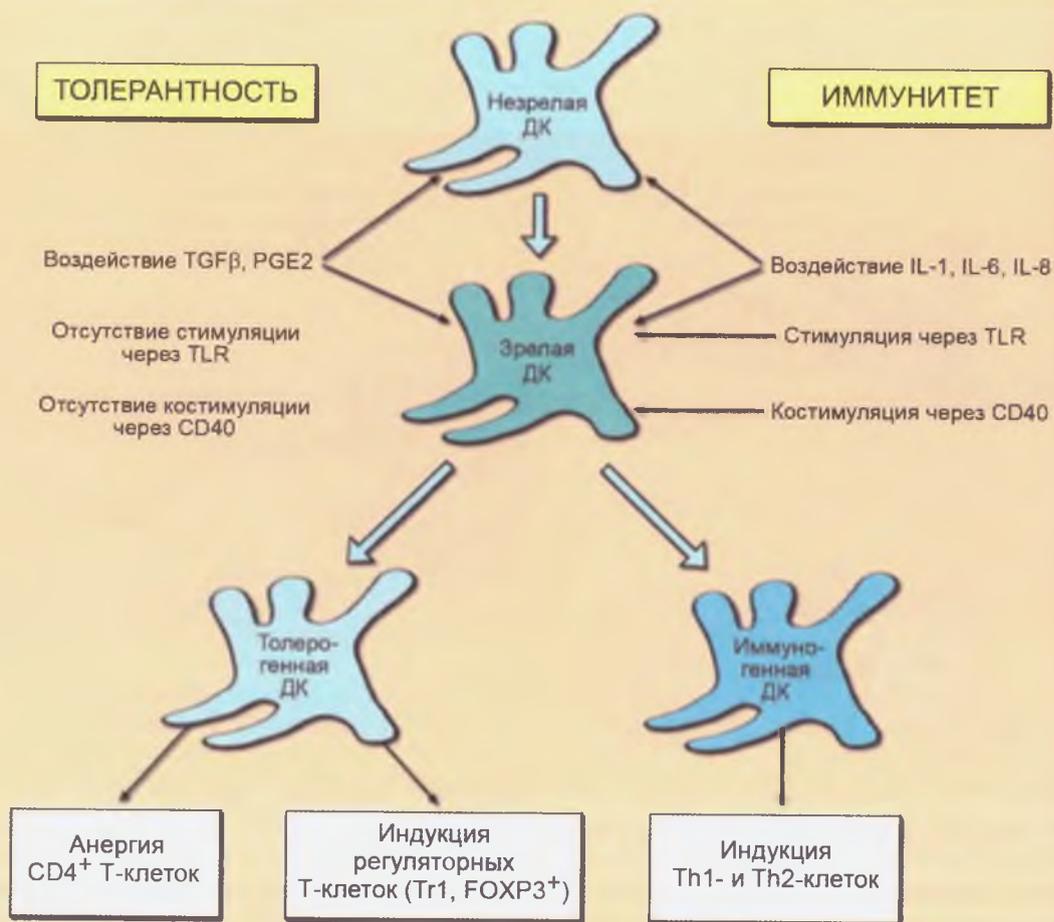


Рис. 443. Роль дендритных клеток в выборе между иммунитетом и толерантностью

Часто выбор между индукцией иммунного ответа или толерантности осуществляется на уровне дендритных клеток (ДК) — единственных антиген-презентирующих клеток, способных эффективно представлять антиген наивным Т-лимфоцитам. Развитие анергии могут индуцировать два варианта ДК — незрелые ДК, особенно в условиях воздействия на них супрессирующих агентов — цитокина TGFβ и простагландина PGE2. При действии этих агентов на зрелую ДК в условиях отсутствия активации через TLR, а также костимуляции через

CD40 (в условиях отсутствия воспалительных стимулов) ДК дифференцируется в толерогенную клетку. Толерогенная ДК индуцирует толерантность с помощью двух механизмов: вызывая анергию CD4⁺Т-клеток и обеспечивая дифференцировку FOXP3⁺ Treg- или Tr1-клеток.

Условные обозначения: ДК — дендритная клетка; TLR — толл-подобные (TL) рецепторы; FOXP3⁺ Treg — естественные регуляторные Т-клетки, экспрессирующие транскрипционный фактор FOXP3; Tr1 — адаптивные регуляторные Т-клетки.

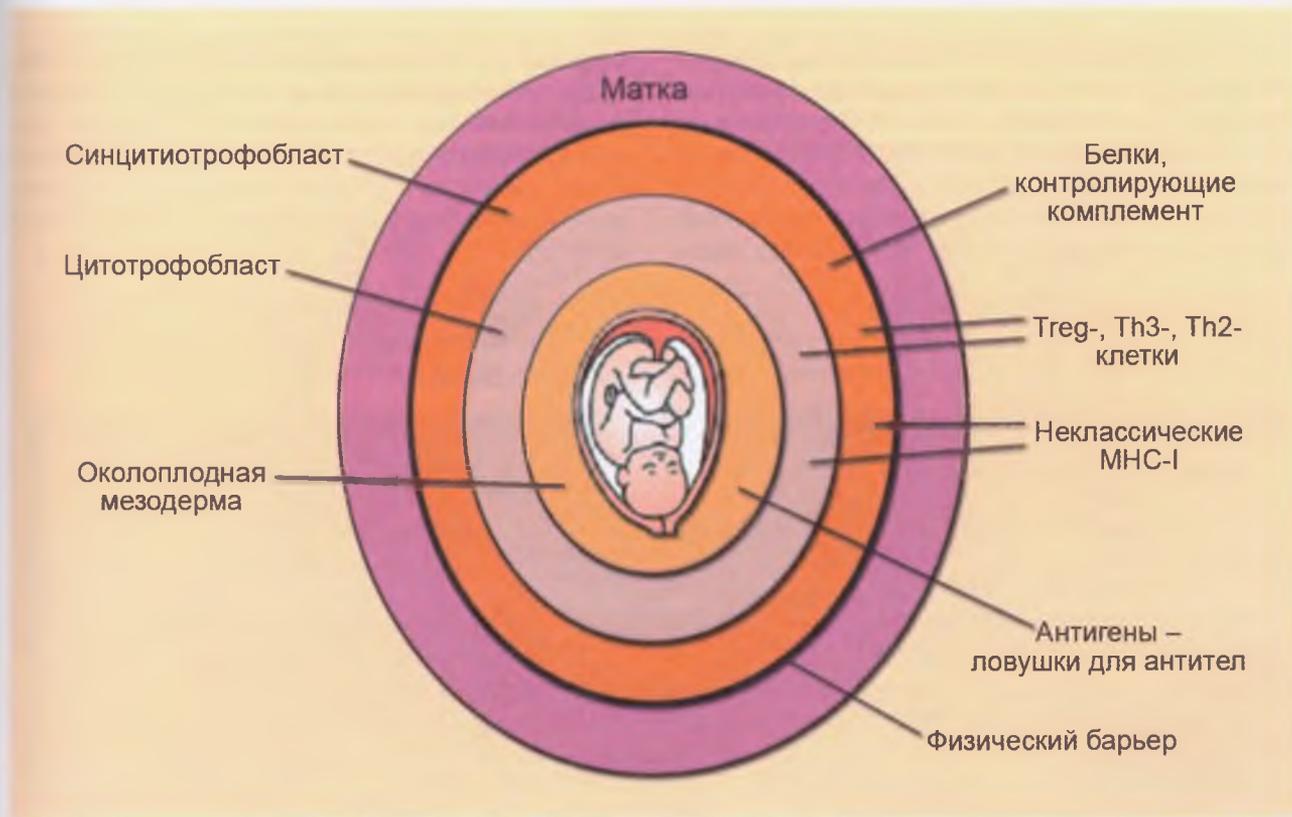


Рис. 444. Локализация факторов, предотвращающих иммунное повреждение плода

Развивающийся плод млекопитающих в естественных условиях всегда содержит трансплантационные (в том числе МНС) АГ, унаследованные от отца. По законам трансплантационной иммунологии он неизбежно должен отторгаться, однако этого обычно не происходит, что свидетельствует о его чрезвычайно надёжной защите. Факторы, предотвращающие отторжение, локализованы в разных слоях плацентарного барьера, отделяющего плод от организма матери. Так, в синцитиотрофобласте локализуются белки, контролирующие систему комплемента, регуляторные Т-клетки и продукты неклассических генов МНС класса I.

Факторы двух последних групп присутствуют также в цитотрофобласте. В околоплодной мезодерме содержатся АГ плода, способные связывать антитела, направленные против молекул плода, т.е. служащие ловушками этих антител. Эти факторы направлены или на предотвращение процесса сенсибилизации, или на подавление уже сформированных эффекторных иммунных механизмов.

Условные обозначения: МНС-I — молекулы главного комплекса гистосовместимости класса I; Treg, Th3 — разновидности регуляторных Т-клеток; Th2 — Т-хелперы 2-го типа.

2.3.17. ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ИММУНИТЕТ

Опухоли представляют собой вариант «биологической агрессии изнутри», родственной по своей природе с феноменом тканевой несовместимости. Неэффективность иммунитета в отношении сформировавшихся опухолей является следствием предшествующих взаимоотношений опухолевых клеток с организмом. Можно полагать, что пода-

вляющая часть трансформированных клеток элиминируется иммунными механизмами и опухоль формируется лишь при условии преодоления иммунной защиты организма. Практически значимая задача состоит в восстановлении и усилении иммунных механизмов, подавленных в процессе адаптации.

Группа антигенов	Антигены	Тип белка, функция	Опухоли
Тканеспецифические	Тирозиназа Melan A PSA mIlg, CD20	Участие в синтезе меланина? Простата-специфический АГ Рецептор и корецептор В-клеток	Меланома Меланома Рак простаты В-клеточный лейкоз
Эмбриональные	MAGE-1-12 CEA α -фетопротеин	Белки семенников Мембранный белок Эмбриональный белок	Меланома Рак кишечника, молочной и поджелудочной желез Рак печени
Уникальные (мутантные)	Cdk4 β -катенин Каспаза	Регулятор митоза Сигнальный белок Фактор апоптоза	Меланома Меланома Сквamousноклеточный рак головы и шеи
Онковирусные	Белки E6 и E7 HPV-16 EBNA-1 HTLV-1	Белки папилломавируса Белок вируса Эпштейна–Барр Белок вируса Т-лейкоза	Меланома Рак желудочно-кишечного тракта Рак печени
Продукты онкогенов	Her-2/Neu Ctr/Abl	Рецептор EGF-тирозинкиназа Сигнальный белок	Рак молочной железы, яичников Хронический миелолейкоз
Продукты аномальной модификации	MUC-1, MUC-2	Недостаточно гликозилированный муцин	Рак молочной и поджелудочной желез
Ганглиозиды	GM2, GD2, GD3	Мембранные молекулы	Различные формы рака

Рис. 445. Основные группы опухолевых антигенов

Представлен один из вариантов классификации опухолевых антигенов.

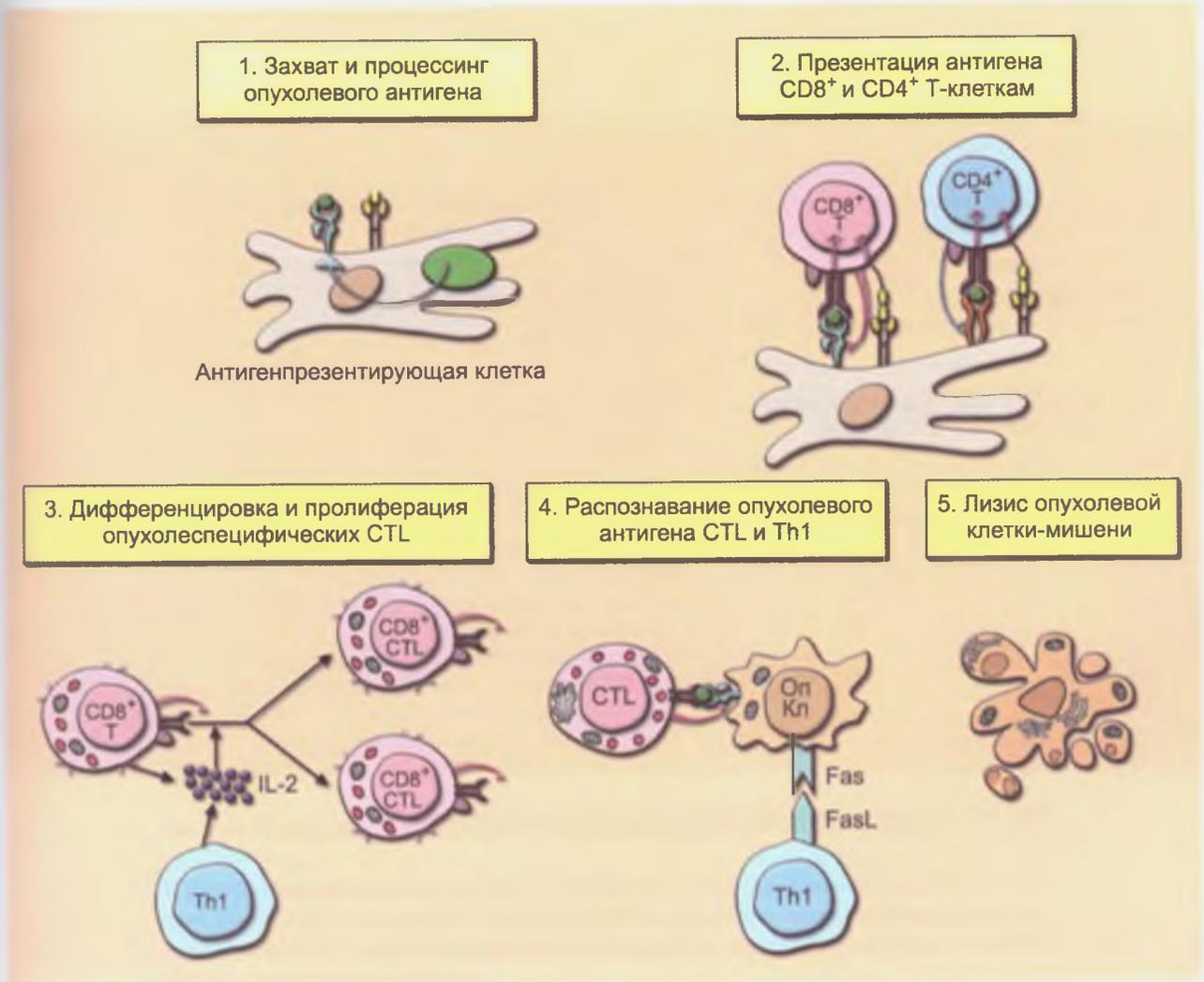


Рис. 446. Распознавание и иммунный цитолиз опухолевых клеток

Механизмы индукции и реализации иммунного ответа на опухолевые АГ аналогичны механизмам реакции на АГ гистосовместимости при отторжении трансплантата (см. рис. 434). Этапы 1–4 со-

ответствуют индукции ответа CD8⁺ CTL и CD4⁺ Th1-клеток, этапы 5–6 — эффекторной реакции, сводящейся к индукции апоптоза и гибели опухолевых клеток.

Механизмы ослабления иммунного ответа	Конкретные причины ослабления ответа
Слабость антигенного стимула	Отсутствие опухолевых антигенов Слабая экспрессия МНС-I или ее отсутствие Отсутствие костимуляции
Изменчивость и модуляция опухолевых антигенов	Мутационная изменчивость антигенов Модуляция экспрессии антигенов (в частности, под влиянием антител)
Супрессия иммунного ответа	Выделение растворимых антигенов Секреция супрессорных цитокинов (TGF β и др.) Повышение содержания и активация супрессорных клеток (Treg и др.) Экспрессия FasL, индуцирующего гибель Fas ⁺ эффекторных клеток Индукция анергии или толерантности к опухолевым антигенам (в частности, в связи с отсутствием костимуляции)

Рис. 447. Механизмы избегания опухолями иммунного отторжения

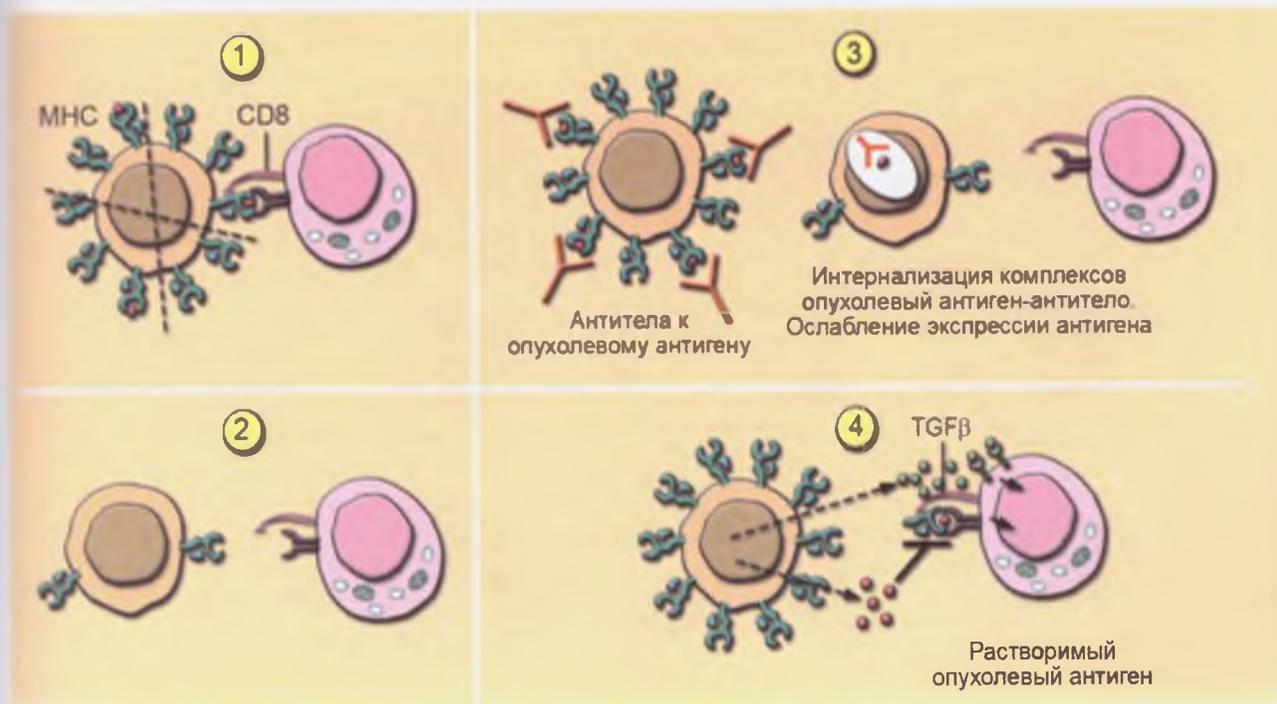


Рис. 448. Иммунный цитоллиз опухолевой клетки и механизмы его подавления

1. Вариант выраженного ответа на опухолевый АГ, предотвращающего развитие опухоли: $CD8^+$ Т-клетка различает и убивает опухолевую клетку, сильно экспрессирующую комплексы МНС-I-пептид (опущен этап презентации опухолевого антигена Т-лимфоцитам дендритными клетками).
2. $CD8^+$ Т-клетка игнорирует опухолевую клетку, слабо экспрессирующую комплексы МНС-I-пептид.
3. Экспрессия комплексов МНС-I-пептид ослабляется под влиянием антител к опухолевому АГ. В результате интернализации комплекса опухолевый АГ (красные кружки) — антитело $CD8^+$ Т-клетки не распознают опухолевую клетку.
4. Ответ $CD8^+$ Т-клетки против опухолевой клетки подавляется растворимым опухолевым АГ (красные кружки; эффект АГ помечен знаком блокады) и супрессорными цитокинами (TGFB и др. — зелёные кружки): из взаимодействия с рецептором на поверхности Т-клетки порождает ингибирующий сигнал.

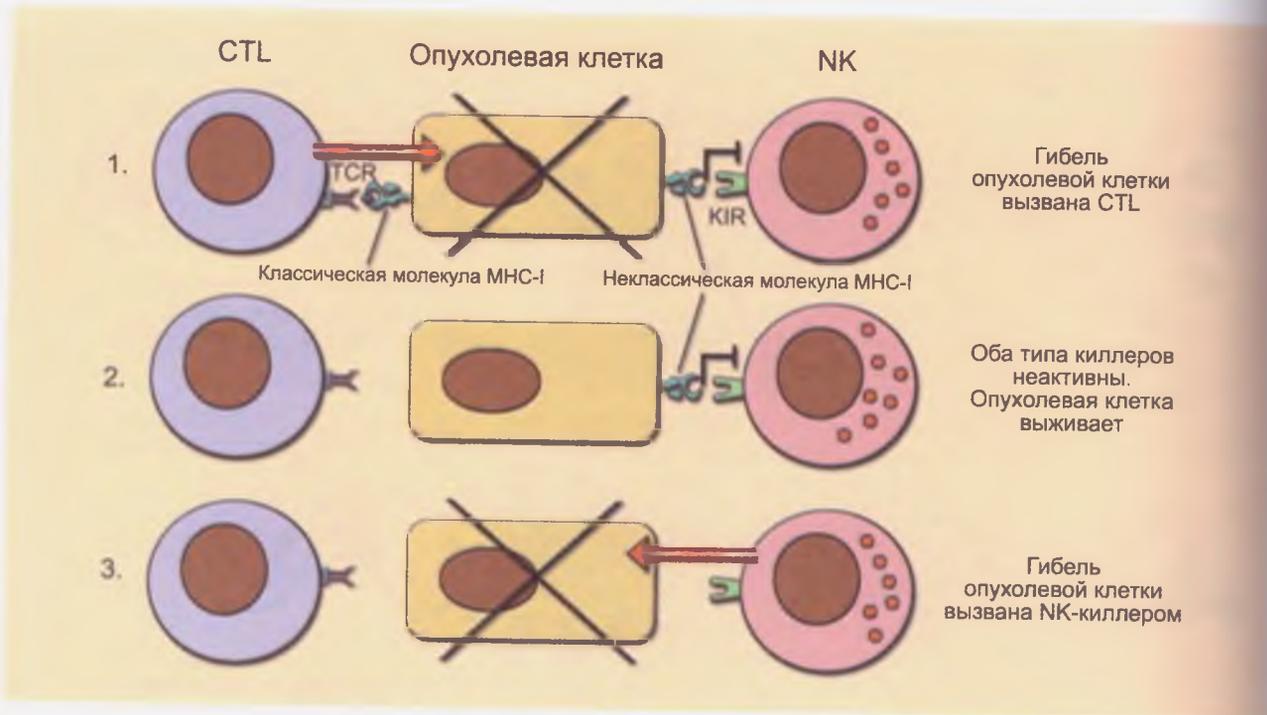


Рис. 449. Участие Т- и NK-киллеров в цитоллизе опухолевой клетки в зависимости от экспрессии на ней различных типов молекул МНС-I

Экспрессия классических молекул МНС класса I (у человека — HLA- A, B, C) опухолевой клеткой делает её мишенью цитотоксического действия CD8⁺ цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL). Экспрессия неклассических молекул МНС (у человека — HLA- F, G, H) защищает её от цитотоксического действия NK-клеток (запрет повреждения «своего»). Из представленных на рисунке вариантов экспрессии опухолевой клеткой классических

и неклассических молекул МНС только вариант 2 (отсутствие классических и наличие неклассических молекул МНС) обеспечивает избегание опухолевой клеткой цитоллиза. Наличие молекул обоих типов (вариант 1) делает клетку чувствительной к действию CTL, а отсутствие молекул МНС обоих типов (вариант 3) — к действию NK-клеток.

Условные обозначения: CTL — цитотоксические Т-лимфоциты; NK — естественные киллеры.

I. Первоначальные подходы к иммунотерапии опухолей

1. Вакцинация убитыми опухолевыми клетками
2. Вакцинация очищенными опухолеспецифическими трансплантационными антигенами (ОСТА)
3. Использование опухолевых клеток/антигенов в сочетании с микобактериями или коринебактериями

II. Современные подходы к иммунотерапии опухолей

1. Использование дендритных клеток, процессировавших ОСТА
2. Цитокинотерапия (интерфероны, интерлейкины)
3. Адаптивная цитотерапия (LAK, CIK, TIL)
4. Терапия гуманизированными моноклональными антителами к ОСТА
5. Применение иммунотоксинов
6. Генотерапия (использование клеток, трансфицированных генами B7, цитокинов и т.д.)

Рис. 450. Направления и средства иммунотерапии злокачественных опухолей

Первоначальные подходы основывались на традиционных методах вакцинации. Они не дали ожидаемых результатов, однако должны быть упомянуты как отправная точка иммунотерапии опухолей. Современные подходы к иммунотерапии опухолей основываются на использовании клеточных и молекулярно-биологических технологий. Они используются в клинической практике, хотя

их эффективность обычно не достигает желаемого уровня.

Условные обозначения: LAK (*Lymphokine-activated killers*) — киллеры, активированные лимфокинами; CIK (*Cytokine-induced killers*) — киллеры, активированные цитокинами; TIL (*Tumor-infiltrating lymphocytes*) — лимфоциты, инфильтрирующие опухоль.

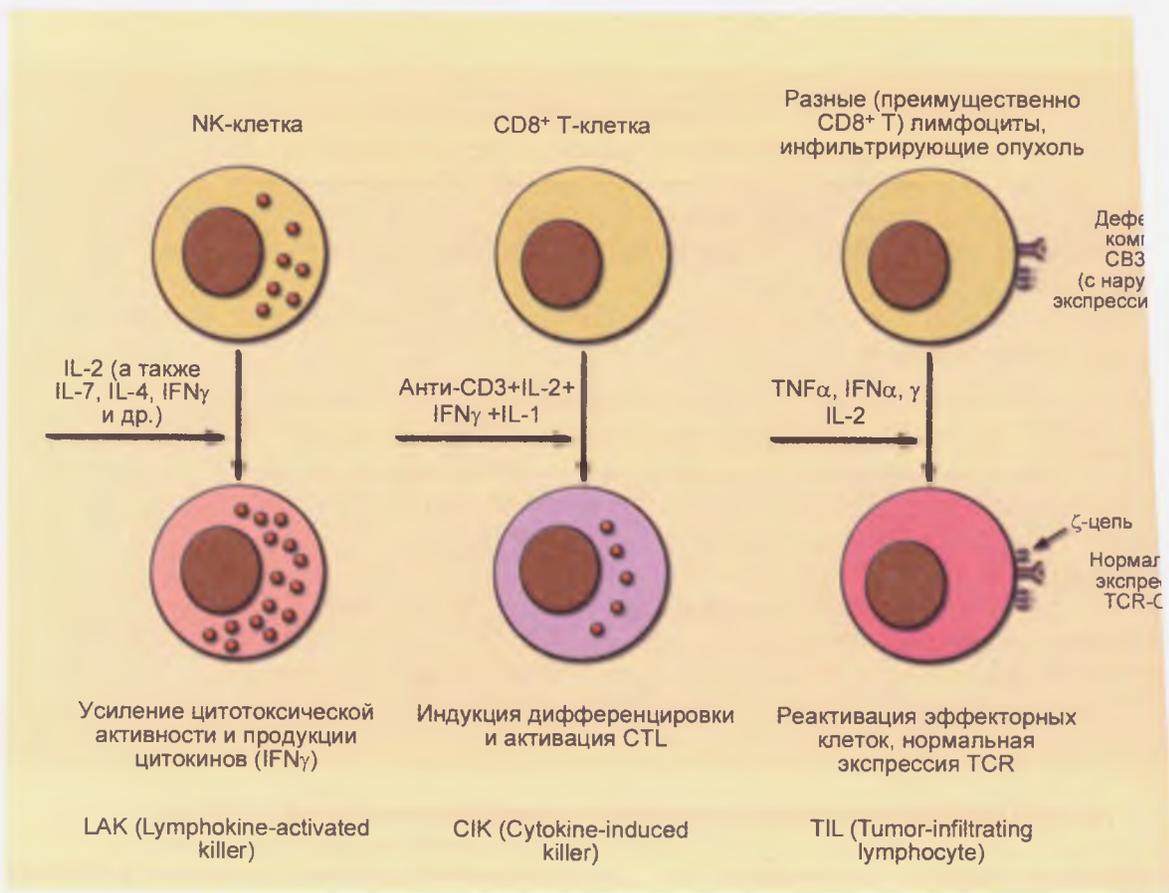


Рис. 451. Индукция эффекторных клеток для адаптивной цитотерапии опухолей

Для получения клеток, предназначенных для адаптивной иммуноцитотерапии, используют нормальные NK- и Т-клетки, которые подвергают *in vitro* активации цитокинами, или лимфоциты, инфильтрирующие опухоль (другой источник этих клеток — асцитная жидкость, образующаяся при прорастании опухолей в серозные полости). В случае TIL эффект активации сводится преимущественно к восстановлению экспрессии ζ -цепей ком-

плекса CD3-TCR, утраченной под влиянием левых продуктов. В результате восстановления передача внутриклеточных сигналов от TCR, являющаяся активацией Т-клетки. На рисунке представлены обозначения исходного клеточного материала, ниже — цитокины, используемые для обработки клеток *in vitro*, внизу указан эффект обработки и название получаемых клеток, которые используют для адаптивной иммуноцитотерапии.

Цитокин	Использование для терапии опухолей
IFN α	Применяется в клинике в сочетании с базисной терапией
IL-2	Клиническое применение приостановлено в связи с риском индукции Treg
IL-15	Испытывается в качестве заменителя IL-2
TNF α	Применяется для локальной терапии (перфузия), а также в форме мутеинов
GM-CSF	Применяется для активации макрофагов и стимуляции миелопоэза
G-CSF, IL-1	Применяется для стимуляции миелопоэза на фоне химиотерапии
IFN γ , IL-12	Испытываются в качестве дополнительных средств иммуно- и генотерапии
IL-4, 5, 6, 7	Испытываются в качестве дополнительных средств иммунотерапии
Хемокины	Испытываются в качестве антиангиогенных средств

Рис. 452. Цитокины, используемые для иммунотерапии опухолей

В качестве средства иммунотерапии наиболее регулярно и успешно используется IFN α . Его противоопухолевая активность обусловлена активирующим действием на эффекторные клетки (CTL, NK), усилением экспрессии МНС-I, антиангиогенным, антипролиферативным и дифференцирующим действием. Применение препаратов на основе IL-2, ранее использовавшихся для иммунотерапии опухолей, приостановлено в связи со способностью этого цитокина поддерживать развитие и пролиферацию

естественных регуляторных Т-клеток (Treg). В качестве аналогов эффективного, но токсичного цитокина TNF используют его мутантные формы (с ослабленной токсичностью) — мутеины. Цитокины с миелопоэтической активностью применяют для устранения цитопений, индуцированных химиотерапией. Большинство других цитокинов или используется в ограниченном масштабе в специальных случаях, или находится на разных стадиях испытаний.

Условные обозначения: см. рис. 315.

Злокачественный процесс	Мишени моноклональных антител
В-клеточные лейкозы и лимфомы	CD5 CD20 (Mabthera) CD52 (CAMPATH-1) Идиотип mlg
Солідные эпителиально-клеточные опухоли	Гликопротеины, углеводы: CEA, Muc-1, CA-125, Le ^x Рецепторы ростовых факторов: EGF-R, HER2/Neu, IL-2R Белки межклеточного матрикса: тенасцин, металлопротеиназа, FAP α

Рис. 453. Моноклональные антитела, используемые для иммунотерапии злокачественных опухолей

Условные обозначения: CEA (*Carcino-embryonal antigen*) — ракоэмбриональный АГ; MUC-1 — муцин 1, CA-125, Le^x — АГ группы крови Le^x; EGF-R — рецептор эпидермального фактора роста,

тип 1; HER2/Neu — продукт онкогена neu; IL-2R — рецептор интерлейкина 2; FAP α (*Fetal α -protein*) — альфафетопроtein.

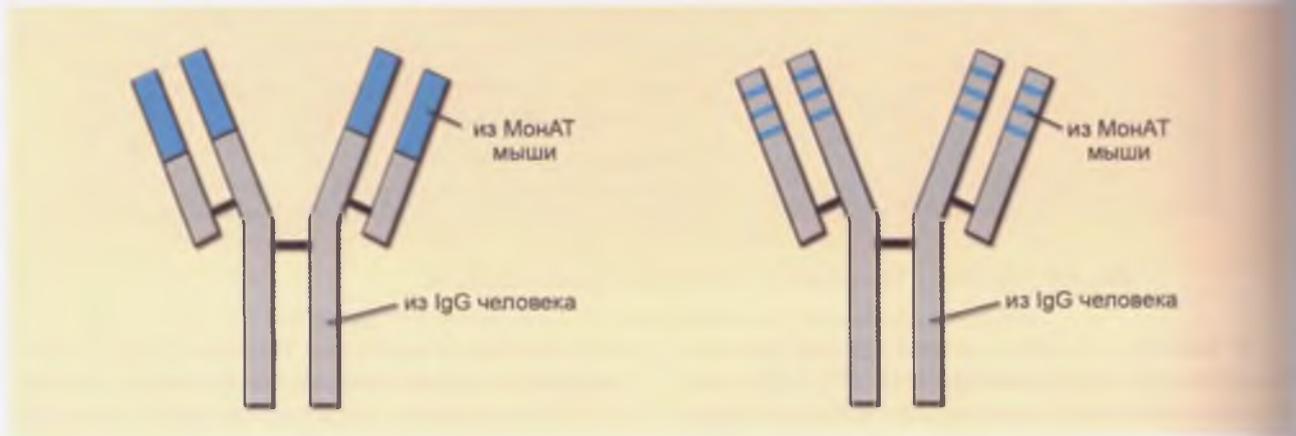


Рис. 454. «Гуманизация» моноклональных антител для целей иммунотерапии

В связи с иммуногенностью мышиных моноклональных антител (МоНАТ) для человека их повторное введение с лечебной целью приводит к образованию антител против видовых эпитопов молекул иммуноглобулинов, которые связывают вводимые антитела и полностью нивелируют их терапевтическое действие. Для устранения иммуногенности моноклональных антител с помощью методов геной инженерии в их молекуле замещают наиболее иммуногенную часть — С-домены (на ри-

сунке слева) или С-домены и каркасную последовательность V-доменов (на рисунке справа). В последнем случае от исходных антител остаются лишь три гипервариабельных участка в V-доменах H- и L-цепей. В этом случае в принципе возможно полное проявление иммуногенности идиотопов, которая свойственна и аутологичным антителам. На рисунке мышиная составляющая моноклональных антител отмечена голубым цветом, а человеческая (введенная в молекулу) — серым цветом.

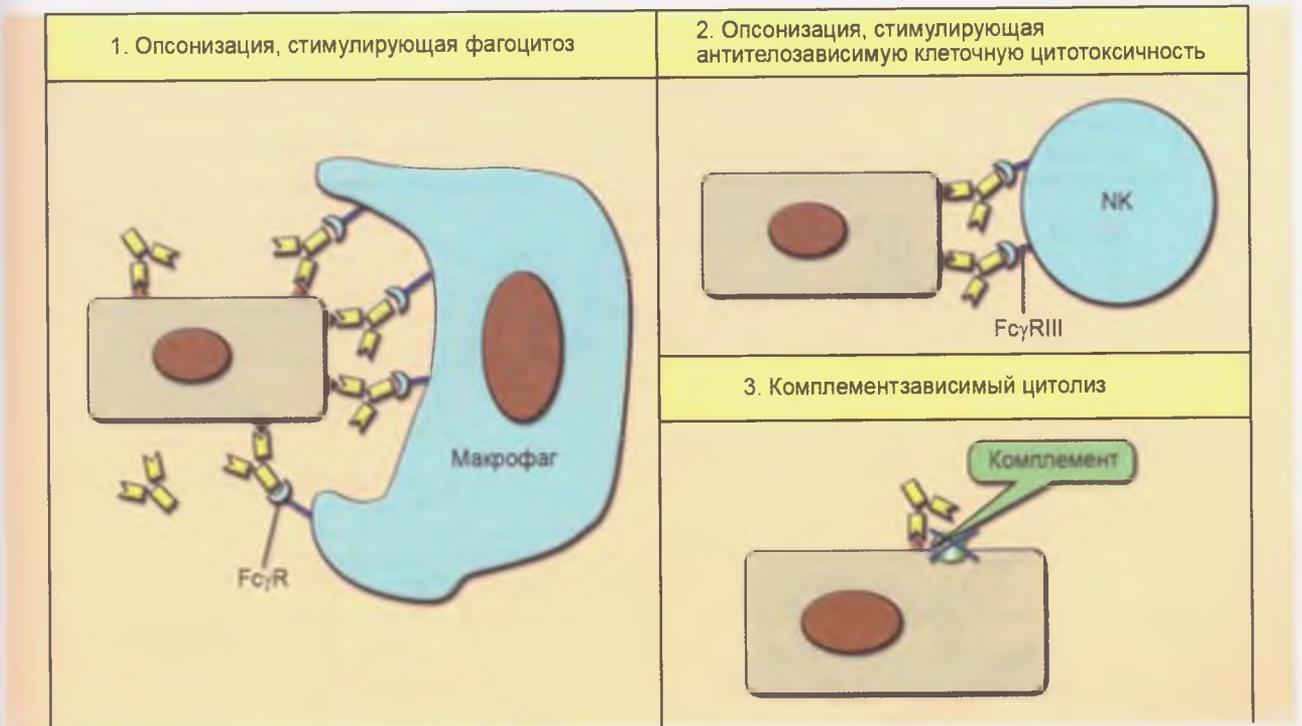


Рис. 455. Механизм противоопухолевого действия моноклональных антител

Моноклональные антитела оказывают противоопухолевое действие по механизму антителозависимого клеточного цитолиза, опосредованного МФ (на рисунке — механизм 1) или NK-клетками (механизм 2). Оба типа эффекторных клеток распознают Fc-часть антител, связавшихся с опухолевым АГ, с помощью Fc-рецепторов (FcγI, II и III на МФ и FcγIII на NK-клетках). Для МФ это служит сигналом для фагоцитоза или внутриклеточного цитолиза клетки-мишени, для NK-клеток — для

контактного цитолиза. Комплементзависимый цитолиз опухолевых клеток (механизм 3) не играет существенной роли в реализации лечебного действия антител, так как мембрана опухолевых клеток располагает факторами, инактивирующими компоненты комплемента (на рисунке — значок, символизирующий комплемент, перечёркнут).

Условные обозначения: NK — естественный киллер; FcγR — любой Fcγ-рецептор; FcγRIII — Fcγ-рецептор типа III.

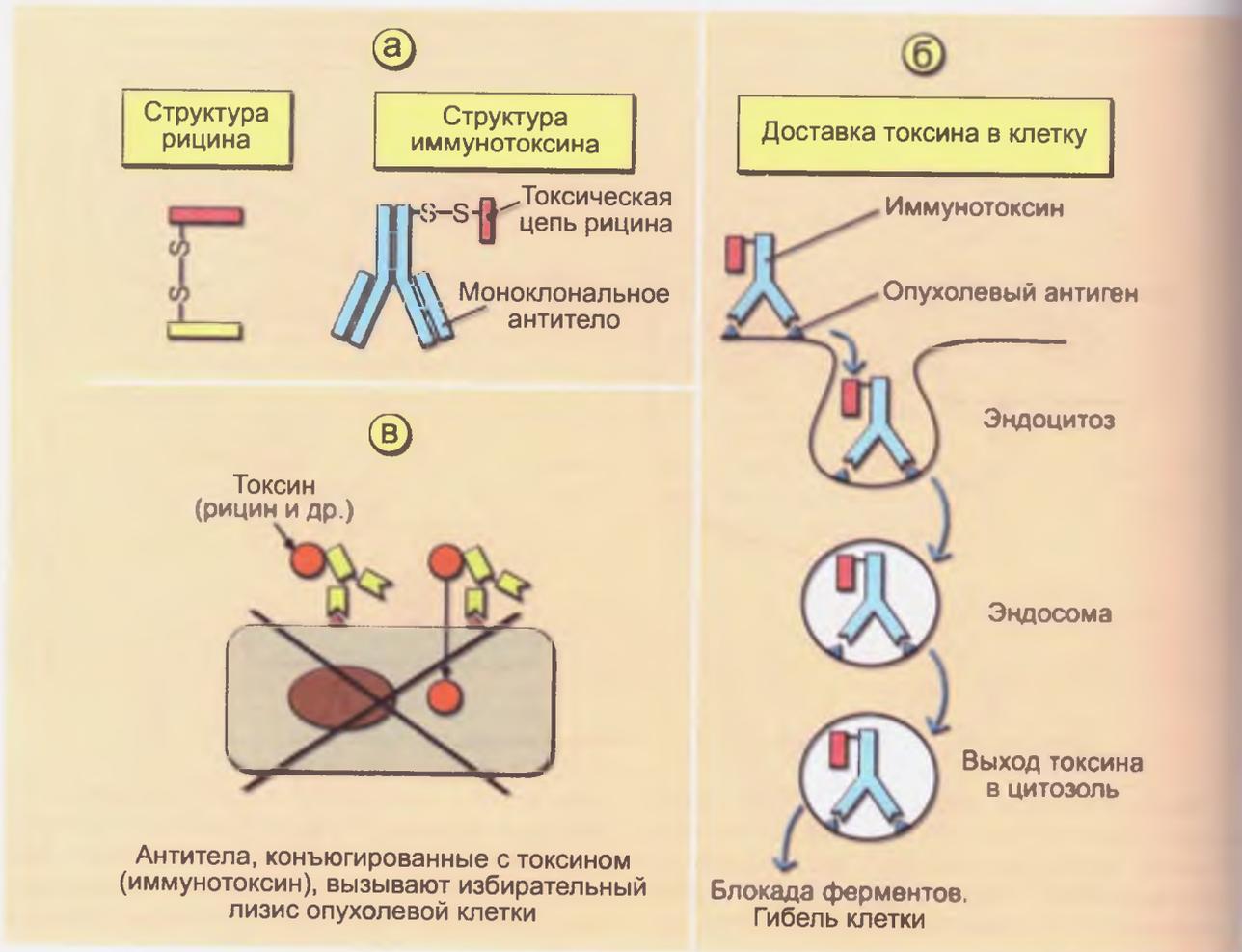


Рис. 456. Доставка и действие иммунотоксинов

Растительные токсины обычно имеют две полипептидные цепи, одна из которых ответственна за доставку, другая — за токсичность молекулы. Для получения иммунотоксина изолированную токсическую цепь ковалентно подсоединяют к моноклональному антителу, направленному против опухолевого АГ (а). После связывания иммунотоксина с мембранным АГ происходит ин-

тернализация комплекса в составе эндосомы. Токсическая субъединица иммунотоксина поступает в цитозоль, где реализует своё токсическое действие, результатом чего является гибель клетки (б). Таким образом, иммунотоксин вызывает специфический цитолиз опухолевой клетки, несущей АГ, против которого направлены моноклональные антитела (в).

1. Выделение пептидов из комплексов с молекулами МНС-I (биохимический подход)



2. Получение пептидов с помощью клонирования ДНК (молекулярно-биологический подход)

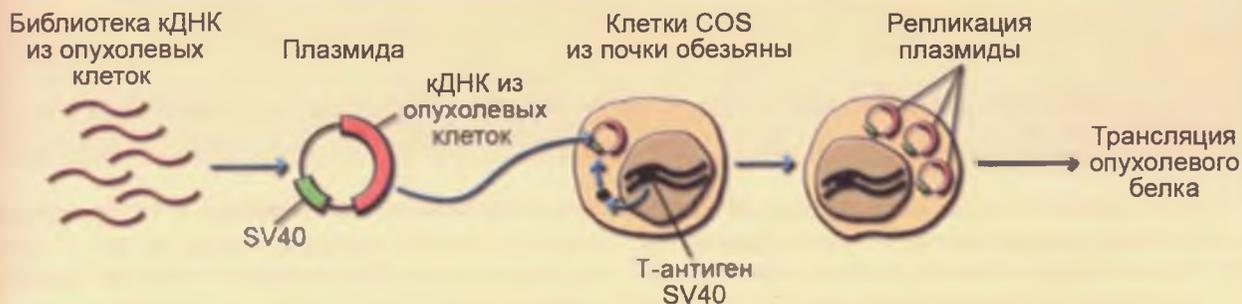


Рис. 457. Методы получения опухолевых антигенов

Для различных целей (тестирование, иммунотерапия и т.д.) требуется получение опухолеассоциированных АГ или их Т-эпитопов. В связи с низким содержанием в опухолевой клетке их выделение представляет собой трудную задачу, которая решается с помощью разных методов. Биохимический подход основан на элюции пептидов из комплекса с мембранными молекулами МНС-I опухолевых клеток. Наиболее трудной задачей является отделение опухолевых пептидов от других

аутологических пептидов, содержащихся в составе молекул МНС.

Молекулярно-биологический подход (наиболее распространённый в настоящее время) состоит в клонировании генов опухолевых АГ из библиотеки ДНК опухолевой клетки, введении клонированных генов в плазмиду, трансфекции плазмидой клетки и трансляции гена. В этом методе наиболее сложной является процедура отбора клонов ДНК, кодирующих опухолевый АГ.

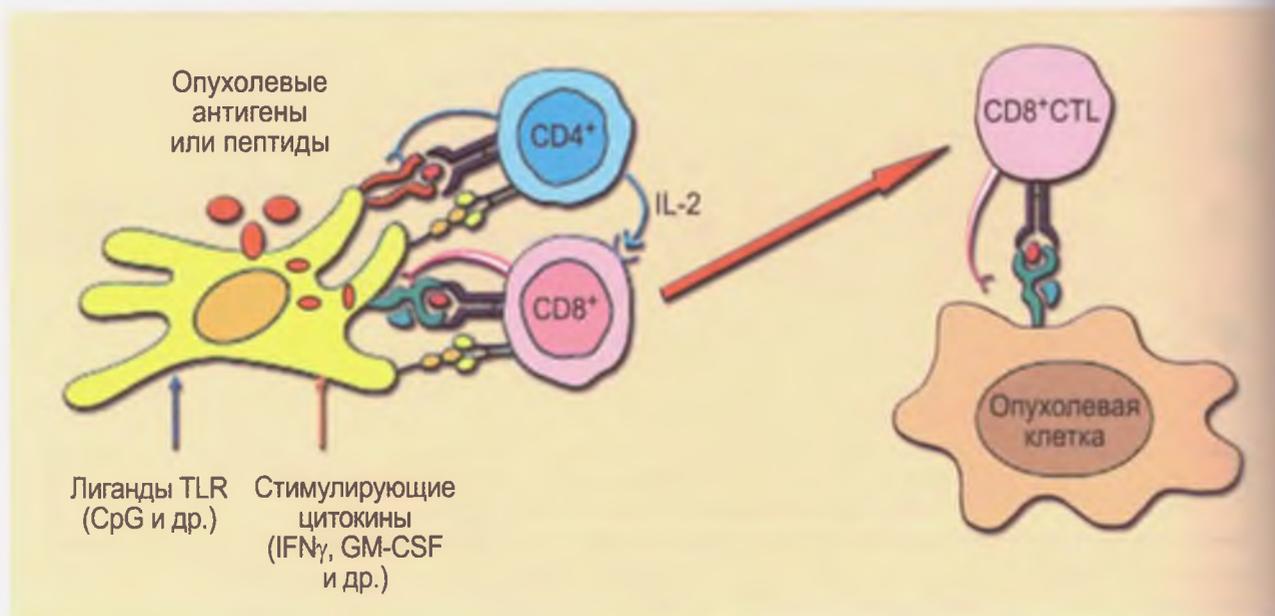


Рис. 458. Принцип создания и действия противоопухолевых вакцин на основе дендритных клеток

Магистральное направление в создании противоопухолевых вакцин основано на использовании ДК. Выращенные *in vitro* дендритные клетки носителя опухоли нагружают опухолевым АГ или пептидом и активируют воздействием лигандов TLR и CD40, а также цитокинов (IFN γ и др.). При инкубации таких клеток с сингенными Т-лимфоцитами в соответствии с известными механизмами (см. рис. 360) происходит индукция цитотоксических Т-лимфоцитов (CTL), специфичных к опухолевым эпитопам, а также Т-хелперов (Th1), способствующих развитию CTL. С лечебной целью используют как ДК, нагруженные опухолевым АГ

in vitro (в этом случае индукция CTL происходит *in vivo*), или CTL, индуцированные *in vitro*. В обоих случаях именно CTL реализуют цитотоксический эффект на опухолевых клетках.

Эта схема идеализирована: на практике возникают различные препятствия на пути реализации указанной программы (одно из них — отсутствие эффективной доставки CTL к опухоли).

Условные обозначения: TLR — толл-подобные рецепторы; CpG — олигонуклеотиды, обогащенные последовательностями CG, соединенными фосфатной связью; сокращения названий цитокинов — см. рис. 315.

Глава 3 КЛИНИЧЕСКАЯ ИММУНОЛОГИЯ И АЛЛЕРГОЛОГИЯ

3.1. ИММУНОДЕФИЦИТЫ

3.1.1. X-СЦЕПЛЕННАЯ АГАММАГЛОБУЛИНЕМИЯ

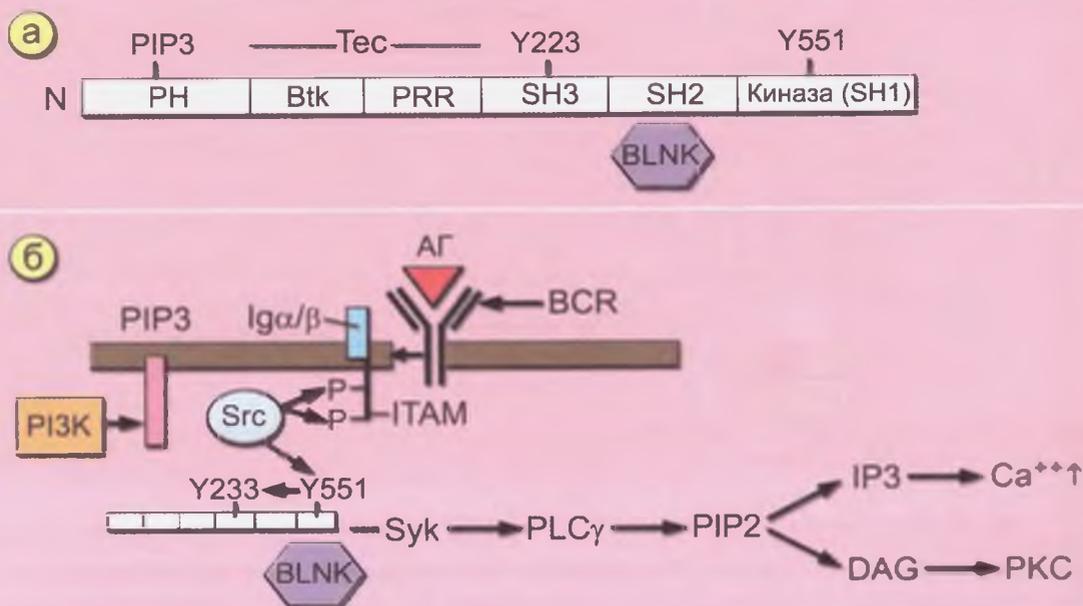


Рис. 459. Строение и принцип функционирования гена *Btk*

а. *Btk* является членом семейства тирозинкиназ *Tec*, экспрессируемых в Т-лимфоцитах, В-лимфоцитах и НФ. Фермент *Btk* экспрессируется в В-клетках и НФ. Присутствие в клетке нормального фермента *Btk* требуется для развития В-клеток. *Btk* состоит из 5 доменов: PH-домена (*pleckstrin-homology domain*); *Tek*-домена, состоящего из двух частей: *Btk* и *PRR* (богатый пролином); SH3- и SH2-доменов (*Src-homology domain*) и киназного домена. Мутации, ведущие к XLA, обнаружены во всех доменах. PH-домен способствует взаимодействию тирозинкиназ *Tec* с фосфолипидами, локализованными во внутреннем слое ЦПМ. SH2- и SH3-домены обеспечивают взаимосвязь тирозинкиназ *Tec* с адапторными белками *LAT*, *SLP-76*, *BLNK*. Этот процесс помогает тирозинкиназам *Tec* образовывать кластеры около активированного рецептора, где они фосфорилируются и стимулируются другими киназами семейства *Src*.

б. При взаимодействии АГ с BCR тирозиновые остатки ITAM-мотива цитоплазматического хвоста вспомогательных белков *Igα* и *Igβ* фосфорилируются протеинкиназами *Src*, создавая докингу-участки для нерецепторных тирозинкиназ и адапторных белков. В результате активации фосфоинозитид-3-киназы (*PI3K*) образуется фосфатидилинозитол-3, -4, -5-трифосфат (*PIP3*), который локализуется во внутреннем слое ЦПМ и является сайтом для прикрепления PH-домена *Btk*-киназы. Тирозин Y551 в киназном домене *Btk*-киназы фосфорилируется членом семьи *Src*-киназ, и затем происходит аутофосфорилирование тирозина Y233 в SH3-домене *Btk*. Активированная *Btk*-киназа привлекает в мембрану связующий адапторный белок *BLNK* и фосфолипазу *PLCγ2*, приводя их в тесное соприкосновение с киназой *Syk*, результатом чего является фосфорилирование обоих ферментов. *PLCγ2* расщепляет мембранный фосфолипид фосфатидилинозитол-дифосфат (*PIP2*) с образованием диацилглицерола (*DAG*) и инозитол-трифосфата (*IP3*). Последние два вещества являются мощными активаторами клетки.

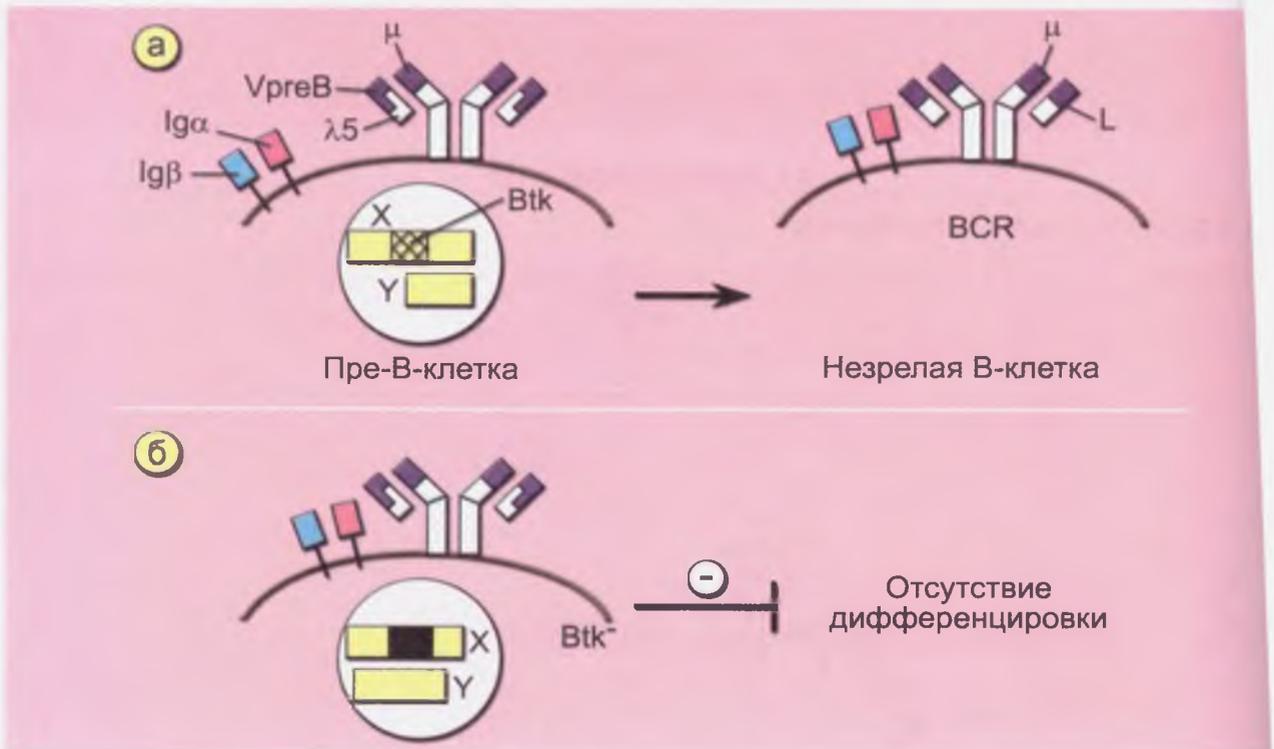


Рис. 460. Нарушение дифференцировки В-клеток при X-сцепленной агаммаглобулинемии

а. На стадии пре-В-клетки (пре-В1а) происходит образование пре-В-клеточного рецептора, который состоит из μ -цепи и суррогатной лёгкой цепи (SL). SL состоит из двух полипептидов: VpreB и $\lambda 5$. Важной составной частью BCR является гетеродимер Ig α /Ig β (CD79 α / β), который участвует в транспорте μ -цепи из цитоплазмы, а также отвечает за передачу сигнала от антигенсвязывающих цепей BCR в ядро. Замена SL-цепи на L-цепь зависит от функционирования протеинкиназы Btk.

б. Мутация в гене *Btk* ведёт к нарушению образования нормального BCR на В-клетке и «застреванию» В-клетки на стадии пре-В. Пре-В-клетки при отсутствии киназы Btk быстро подвергаются апоптозу в костном мозге и в кровотоке не поступают.

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

При X-сцепленной агаммаглобулинемии не происходит дифференцировки пре-В-клеток в незрелые В-клетки. В результате этого не образуются зрелые В-клетки и не синтезируются иммуноглобулины. Этот дефект связан с мутациями в гене *Btk*, кодирующем брутоновскую тирозинкиназу (*Btk* — *Bruton's tyrosine kinase*), по имени О.С. Bruton, описавшего в 1952 г. мальчика с клиническими признаками X-сцепленной агаммаглобулинемии (*Bruton's X-linked agammaglobulinemia, XLA*). Эта тирозинкиназа ответственна за нормальное развитие В-клеток. Только В-клетки, обладающие нормальным аллелем гена *Btk*, могут перейти в зрелые В-клетки. Ген *Btk* локализован на X-хромосоме. Носителями мутантного гена являются здоровые женщины-гетерозиготы, у которых формирование зрелых В-клеток осуществляется посредством функционирования нормального аллеля, поэтому XLA поражает преимущественно мальчиков. Существуют, однако, и очень редкие аутосомно-рецессивные формы XLA. Частота этого заболевания составляет один случай на 150 000–200 000 человек.



Рис. 461. Диагностика X-сцепленной агаммаглобулинемии

Диагноз XLA может быть достоверным, вероятным и возможным. Достоверный диагноз XLA ставится на основании иммуногенетического исследования. Определение иммуноглобулинов тоже игра-

Помимо *Btk* семейство Тес включает киназы Тес, *Itk*, *Txk*, *Vmx*. В Т-клетках работают Тес, *Itk* и *Txk*, в В-клетках — *Btk* и Тес. Главной функцией Тес-киназ является проведение сигнала к ядру от поверхностных рецепторов. Киназа *Btk* играет главную роль в развитии, дифференцировке В-клеток и в процессах проведения сигнала. Последние данные показывают, что *Btk* участвует в регуляции транскрипции. Этот фермент фосфорилирует и тем самым активирует многие транскрипционные факторы, в частности NF-κB и NF-AT. При кросс-связывании BCR происходят активация фактора NF-κB и перемещение его в ядро. В *Btk*-дефектных В-клетках активность NF-κB резко понижена. При сверхэкспрессии субъединицы p65 фактора NF-κB резко повышается и функциональная активность *Btk*. Ингибция NF-κB-сигнального пути существенно снижает синтез *Btk*. Оказалось, что промотор гена *Btk* имеет два сайта для связывания субъединиц NF-κB p50 и p65. Таким образом, *Btk* позитивно регулирует свой собственный промотор с помощью NF-κB-сигналинга. В мембране В-клеток *Btk* находится в липидных рафтах в ассоциации с В-клеточным рестрикционным фактором Bright. При кросс-связывании BCR фактор Bright уходит из рафт, что способствует проведению сигнала от BCR. В этом случае киназа *Btk* фосфори-

рует другую уникальную мультифункциональную транскрипционный фактор TFII-I, который перемещается в ядро и инициирует транскрипцию гена Н-цепи иммуноглобулинов (Schmidt C. et al., 2009). Функциональная активность *Btk* сопряжена с негативным регулятором В-клеточного развития Id2. В *Btk*-дефектных В-клетках активность этого регулятора повышена. Напротив, активность транскрипционного фактора NFATc1, являющегося позитивным регулятором развития В1-клеток, в *Btk*-дефектных клетках существенно понижена.

Киназа *Btk* взаимодействует практически со всеми рецепторами TLR В-клеток. Более подробно изучено взаимодействие этого фермента с TLR9. При стимуляции лигандом CpG *Btk*-дефектные В-клетки селезенки мышей синтезируют провоспалительные цитокины IL-6, IL-12h40 и TNFα значительно интенсивнее, чем нормальные В-клетки. Но по сравнению с В-клетками дикого типа *Btk*-дефектные клетки синтезируют значительно меньше IL-10 (Mohamed A.J. et al., 2009). Можно предположить, что повышенная способность к синтезу провоспалительных цитокинов, стимулирующих клетки врожденного иммунитета, является попыткой хотя бы частично перекрыть недостатки в защите организма, связанные с дефицитом AT.

Киназа *Btk* взаимодействует практически со всеми рецепторами TLR В-клеток. Более подробно изучено взаимодействие этого фермента с TLR9. При стимуляции лигандом CpG *Btk*-дефектные В-клетки селезенки мышей синтезируют провоспалительные цитокины IL-6, IL-12h40 и TNFα значительно интенсивнее, чем нормальные В-клетки. Но по сравнению с В-клетками дикого типа *Btk*-дефектные клетки синтезируют значительно меньше IL-10 (Mohamed A.J. et al., 2009). Можно предположить, что повышенная способность к синтезу провоспалительных цитокинов, стимулирующих клетки врожденного иммунитета, является попыткой хотя бы частично перекрыть недостатки в защите организма, связанные с дефицитом AT.



Рис. 462. Клиническая картина X-сцепленной агаммаглобулинемии

- а.** Деформация грудной клетки, вызванная хроническим бронхолёгочным процессом (фото предоставлено проф. И.В. Кондратенко).
- б.** Склередема (фото предоставлено проф. И.В. Кондратенко).

Клиническая картина XLA развивается с 5–6-го мес жизни ребенка, когда практически исчезают материнские Ig. Для большинства пациентов характерны хронические рецидивирующие инфекционные процессы, наиболее часто связанные с *Str. pneumoniae* и *H. influenzae*. Эти бактерии вызывают пневмонии, отиты, синуситы, конъюнктивиты и т.д. Больные с XLA обладают пониженной резистентностью к микоплазмам и уреоплазмам, что ведёт к развитию хронических пневмоний, артритов, циститов, инфекций подкожной клетчатки. У больных с XLA могут развиваться Th1-зависимые аутоиммунные процессы: ревматоидный артрит, склеродермоподобный синдром, неспецифический язвенный колит и др.

3.1.2. ГИПЕР-IgM СИНДРОМ

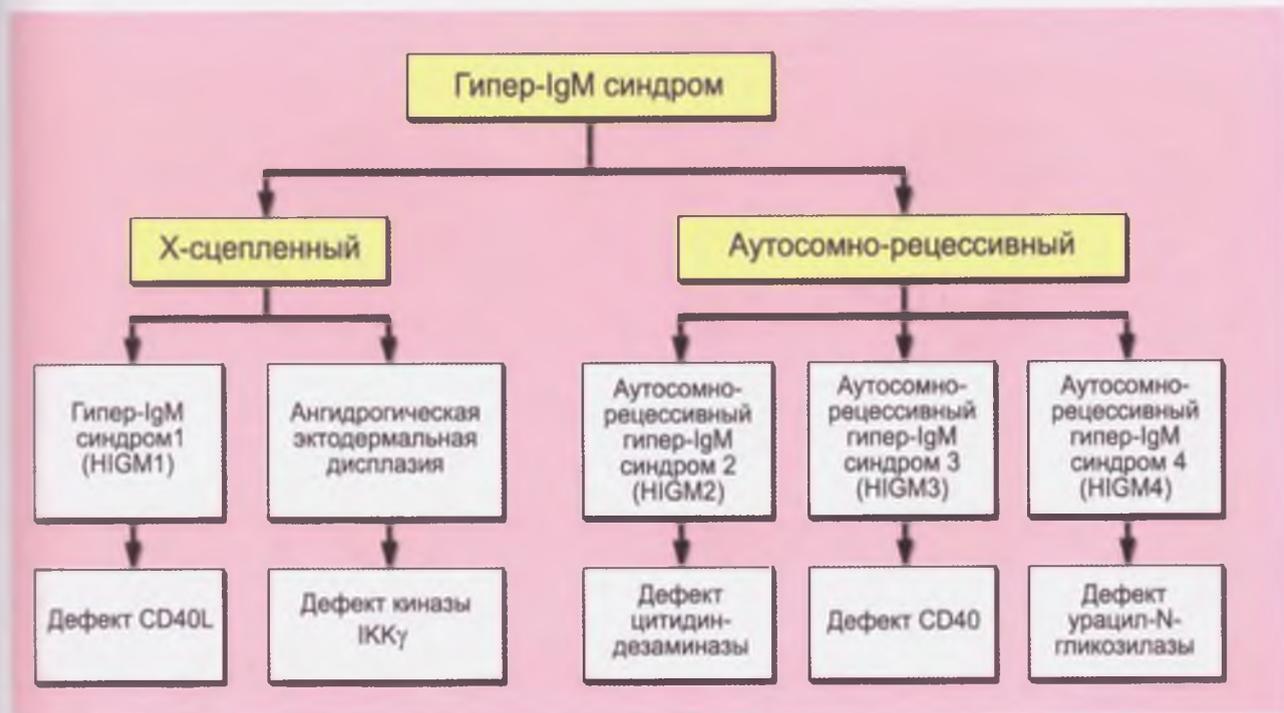


Рис. 463. Формы гипер-IgM синдрома

В 1961 г. F. Rosen и соавторы описали случай рецидивирующих гнойных инфекций у двух братьев: у обоих был низкий уровень сывороточного IgG на фоне повышенного IgM. Были описаны и другие клинические случаи со сходной картиной заболевания. В 1974 г. на совещании рабочей группы ВОЗ эти случаи получили название гипер-IgM синдрома (*hyper-IgM syndrome* — *HIGM*). Гипер-IgM синдром — гетерогенный первичный иммунодефицит, вызванный мутациями, сцепленными и не сцепленными с полом. К X-сцепленным заболеваниям относят гипер-IgM-синдром 1, в основе которого лежит дефект поверхностной молекулы Т-клеток CD40L (CD154), и ангидротическая эктодермальная дисплазия, возникающая в результате мутации в сигнальной молекуле IκBγ (NEMO). Частота гипер-IgM-синдрома 1-го типа примерно такая же, как и

X1A. Описано три варианта аутосомно-рецессивных форм HIGM: HIGM2, HIGM3 и HIGM4. Синдром HIGM2 связан с мутацией в гене, кодирующем активационно-индуцируемую цитидин-дезаминазу (AID). AID принимает участие в переключении классов иммуноглобулинов. У больных с мутацией AID повышен уровень IgM и снижен уровень IgG при нормальной экспрессии CD40L. Синдром HIGM3 связан с мутацией в гене, кодирующем рецептор CD40 у В-клеток, проявляющийся аналогично, как при патологии CD40L. При генетическом анализе больных с картиной гипер-IgM синдрома, но без мутаций в генах, кодирующих CD40, CD40L или AID, обнаружена мутация в гене, кодирующем фермент урацил-N-гликозилазу (UNG). Этот фермент участвует в переключении классов иммуноглобулинов в В-клетках.

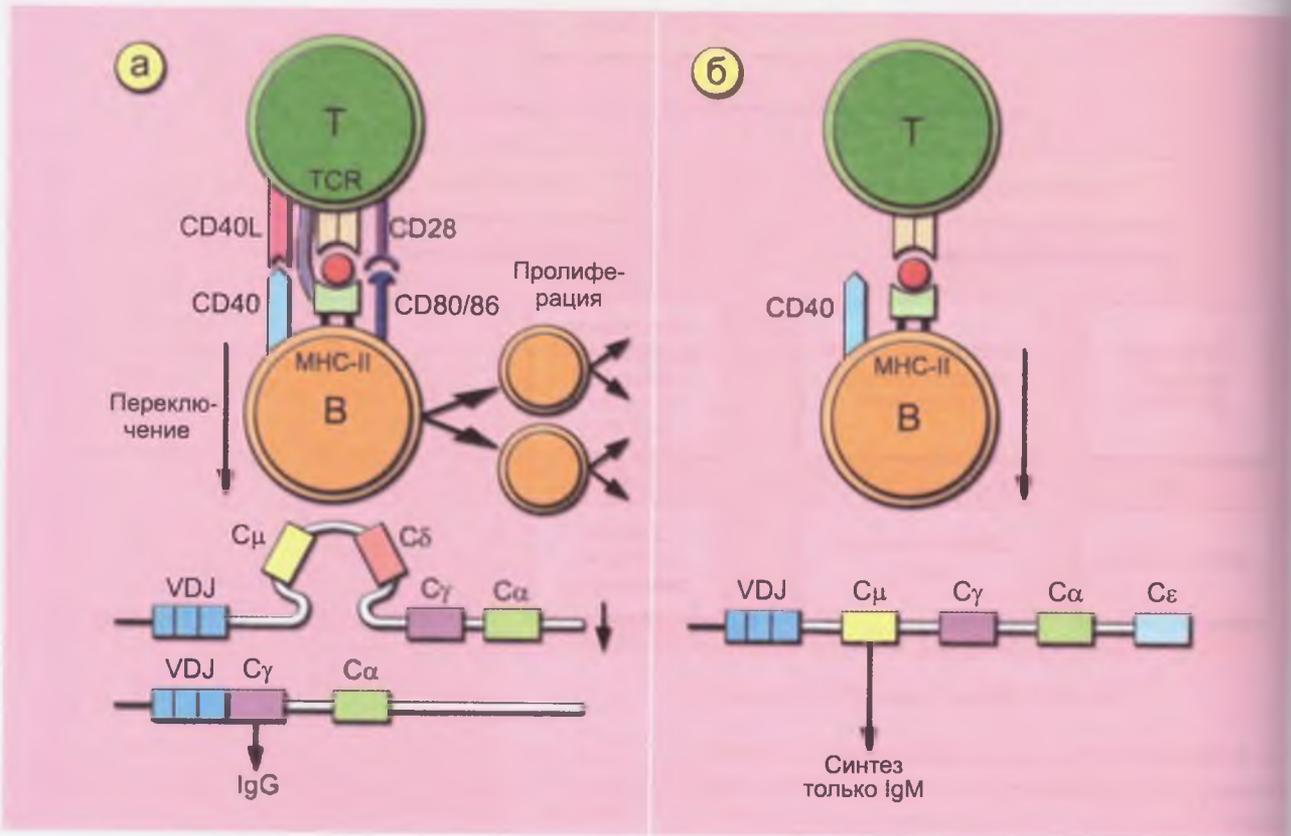


Рис. 464. Молекулярный механизм X-сцепленной формы гипер-IgM-синдрома

а. Активированные $CD4^+$ Т-хелперы несут на своей поверхности молекулу CD40L (CD154). Когда такой Т-хелпер с помощью TCR распознаёт «свой» АГ, представленный на поверхности В-клетки в комплексе с МНС II класса, то CD40L взаимодействует с конститутивным рецептором CD40 В-клетки. Эта взаимосвязь является ключевой в процессе активации В-клетки, заключающемся в переключении с синтеза IgM на синтез IgG, IgA или IgE. В основе процесса лежит рекомбинационный процесс, ведущий к удалению генов $C\mu$ и $C\delta$. Комплекс CD40—CD40L индуцирует также пролиферацию В-клеток и экспрессию молекул CD80 на их поверхности. CD80 В-клеток взаимодействует с рецепторами CD28 Т-клеток, активируя Т-клетки.

б. При X-сцепленном гипер-IgM синдроме 1 наблюдается мутация в гене *CD40L*, приводящая к отсутствию экспрессии молекулы CD40L на активированных Т-хелперах. Следствием этого является отсутствие рекомбинационного процесса и переключения синтеза с IgM на IgG и IgA. Именно поэтому в сыворотке больных гипер-IgM-синдромом 1 наблюдается повышенное или нормальное количество IgM при сниженном количестве IgG и IgA.



Рис. 465. Иммунодиагностика гипер-IgM-синдрома I

Диагноз может быть поставлен только у лиц мужского пола. При наличии иммунологических изменений в разделе «вероятен» для постановки этого диагноза необходимо наличие одного из следующих признаков: пневмоцистной пневмонии на 1-м году жизни, нейтропении, диареи, вызванной *Cryptosporidium*, склерозирующего холангита, парвовирус-индуцированной апластической анемии.

В целом, для больных с HIGM1 характерны тяжёлые рецидивирующие инфекции на 1-м году жизни. Важно исключить у больных наличие Т-клеточных дефектов, ВИЧ-инфекции и др.

Из иммунологических показателей важным является уровень IgG, который в типичных случаях заболевания ниже 200 мг%. Уровень IgM может быть как повышенным, так и нормальным.

ЗАТЕКСТОВОЕ ПРИМЕЧАНИЕ

Одной из причин склонности больных с гипер-IgM-синдромом к развитию тяжёлых инфекционных процессов является дисбаланс цитокинов, синтезируемых МН/МФ и ДК. При стимуляции лигандом CD154 или комплексом IFN γ +ЛПС ДК, полученные из МН периферической крови здоровых детей, синтезируют нормальные количества IL-12. При стимуляции лигандом CD40 ДК, полученные от детей с гипер-IgM-синдромом, не синтезировали IL-12 и значительно слабее синтезировали этот цитокин при стимуляции IFN γ +ЛПС по сравнению со здоровыми детьми. В то же время при стимуляции этим комплексом ДК детей с гипер-IgM-синдромом синтезировали значительно большие количества IL-10, чем ДК здоровых детей. Как известно, IL-10 является мощным ингибитором активации Т-клеток и синтеза ДК Th1-цитокинов, что может быть причиной подавления иммунной системы у больных с гипер-IgM-синдромом.



Рис. 466. Клинические проявления

а. X-сцепленный гипер-IgM-синдром — это тяжёлый первичный иммунодефицит, характеризующийся повторными инфекциями, аутоиммунными заболеваниями, высокой частотой онкологических осложнений. Взаимодействие CD40-CD40L необходимо для индукции Th1-иммунного ответа, поэтому у данных больных снижены уровни IL-12 и IFN γ , ключевых цитокинов Th1-ответа, что обуславливает склонность к инфекциям, вызываемым внутриклеточными бактериями. Несмотря на применение адекватной антиинфекционной терапии, прогноз заболевания неблагоприятен. Вероятность дожить до 35 лет составляет 42%.

б. Внешний вид ребёнка, перенёсшего флегмону орбиты и остеомиелит верхней челюсти (фото предоставлено проф. И.В. Кондратенко).

а. Условно причины развития ОВИН можно разделить на доказанные и возможные. В первом случае речь идёт о пяти идентифицированных генах, мутации в которых приводят к развитию ОВИН: ICOS (*inducible costimulator*), кодирующий рецептор с таким же названием, TNFRSF13B, кодирующий рецептор TAC1 (*transmembrane activator and calcium modulator and cytophilin ligand interactor*), TNFRSF13C, кодирующий рецептор BAFF-R (*B-cell acting factor of TNF family или Blys*), CD19 и MSH5. Продукты этих генов необходимы для замены различных классов иммуноглобулинов, образования зародышевых центров в лимфоидной ткани и В-клеток памяти. Доказанные причины составляют примерно 15% всех случаев ОВИН. Оставшиеся 85% условно, до выяснения точной причины, можно назвать возможными, и их причинами могут быть изменения в ДК и Т-клетках, которые представлены на рисунке.

б. ICOS — трансмембранный гомодимерный рецептор I типа с Ig-подобным внеклеточным доменом, экспрессируемый антиген-активированными Т-хелперами, преимущественно Th2-типа. Внутриклеточный участок рецептора ICOS содержит два тирозиновых остатка, взаимодействующих с адапторным белком Grb-2 (*growth factor receptor-bound protein-2*). Мутация по одному из тирозиновых остатков приводит к отсутствию взаимодействия рецептора ICOS с этим адаптором. Результатом этого является снижение активации Т-клеток и синтеза IL-2. Активированные Т-клетки синтезируют ряд цитокинов (TNF α , IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 и др.), повышающих экспрессию конститутивного лиганда В-клеток ICOS-L (или B7h). Взаимодействие ICOS–ICOS-L необходимо для развития зародышевых центров, для дифференцировки наивных В-клеток в В-клетки памяти и плазматические клетки, являющиеся основными продуцентами иммуноглобулинов. Мутации гена *ICOS* являются одной из причин ОВИН (примерно в 2% случаев). Гомозиготные мутации вызывают выраженное нарушение образования антител. Клинически эти мутации обуславливают развитие тяжёлых рекуррентных инфекций, аутоиммунных процессов, спленомегалии, лимфоаденопатии, злокачественных заболеваний.

в. Рецептор TAC1 экспрессируется на всех В-клетках. Он взаимодействует с TNF-подобными лигандами BAFF и April (*a proliferation-inducing ligand*), экспрессируемых в виде гомо- или гетеротриммеров на моноцитах/макрофагах, ДК и Т-клетках. Эти лиганды могут существовать также в растворимой форме. Гомозиготные и гетерозиготные мутации в гене, кодирующем TAC1, являются причиной примерно 10% случаев ОВИН. При гомозиготных мутациях отсутствует взаимодействие рецептора TAC1 с лигандами BAFF и April, в результате чего резко снижена пролиферация В-клеток и количество CD27⁺ В-клеток памяти, а также не происходит переключения генов иммуноглобулинов. Кроме того, эта взаимосвязь необходима для развития Т-независимого ответа к полисахаридным АГ. Больные с мутациями в рецепторе TAC1 страдают от инфекций, вызванных инкапсулированными бактериями, в частности *Str. pneumoniae* и *H. influenzae*. Поверхностные молекулы В-клеток BCMA (*B-cell maturation antigen*) и BAFF-R, являющиеся, соответственно, рецепторами для April и BAFF, тоже необходимы для терминальной дифференцировки В-клеток в плазматические клетки и клетки памяти. Однако мутации по этим рецепторам и лигандам, ведущие к развитию ОВИН, в настоящее время неизвестны.

г. Характеристика мышей с нокаутом по АГ В-клеток CD19. Больные с мутациями по этому АГ (<1% случаев ОВИН) имеют практически такие же изменения в иммунной системе.

д. Возможной причиной ОВИН может быть точковая мутация в генах, кодирующих белки, исправляющие ошибки рекомбинации (*mismatch repair protein*) — Msh4 и Msh5. При рекомбинации, ведущей к переключению изотипов Ig, эти два белка соединяются в гетеродимер — MutS μ , который образует «скользящий зажим», связывающий область S μ вырезаемого C μ -гена с областями S γ или S α (на рисунке не показано) S γ - или S α -генов, на которые происходит переключение. Рекомбинация осуществляется благодаря взаимодействию S-областей, находящихся в начале каждого C-гена и имеющих между собой до 70% гомологии. Гетеродимер MutS μ привлекает в область рекомбинации белки репарации Mlh1 и Pms2, образуя мультимолекулярный комплекс. Мутации в белке Msh5 препятствуют его взаимодействию с белком Msh4 и, возможно, могут быть причиной отсутствия переключения генов Ig, по крайней мере у части больных ОВИН.

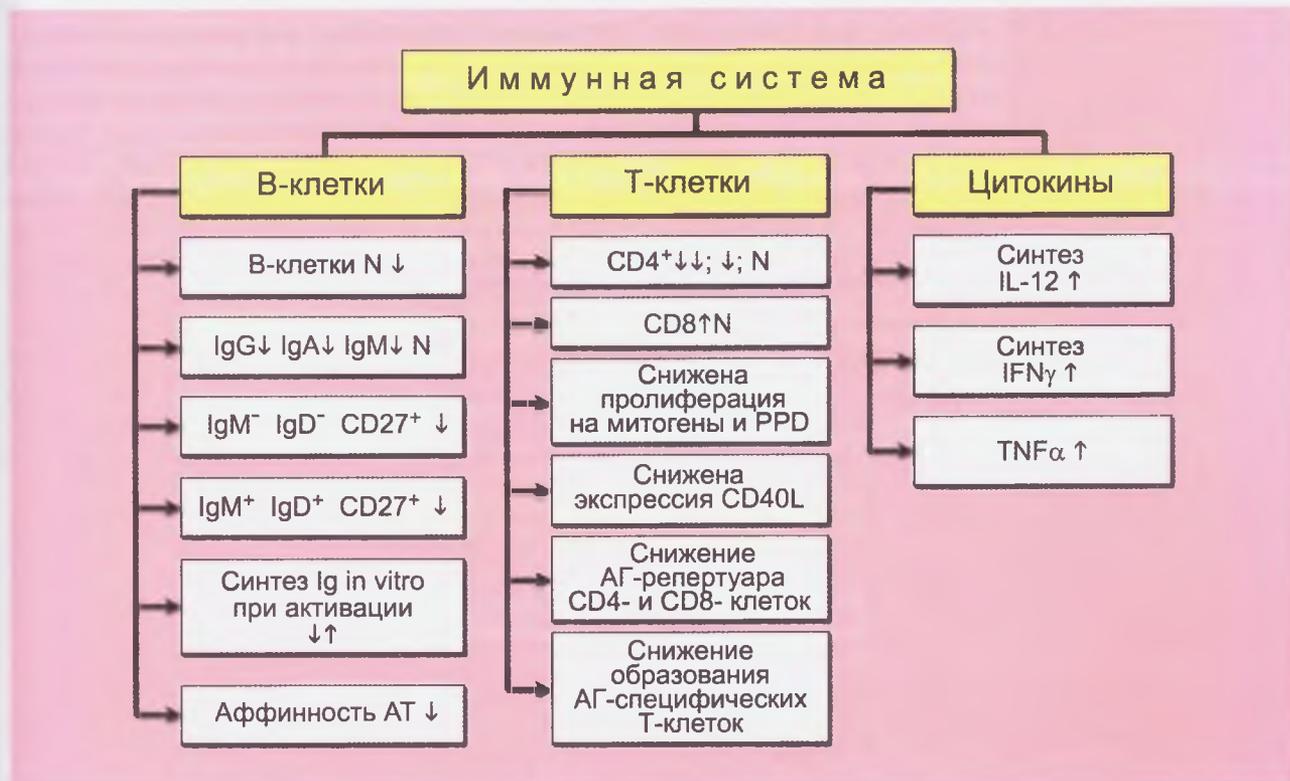


Рис. 468. Иммунная система больных с общей вариабельной иммунной недостаточностью

ОВИН характеризуется комплексом нарушений в Т- и В-клеточном звеньях иммунитета, а также нарушениями выработки цитокинов. Одной из характерных черт иммунной системы больных ОВИН служит снижение уровней IgM^+CD27^+ (с непереключённым изотипом) и $IgM^-IgD^-CD27^+$ (с переключённым изотипом) В-клеток памяти. Для большинства больных с ICOS- и TAC1-мутациями характерно резкое снижение В-клеток памяти IgM^-CD27^+ . По функциональной активности В-клеток популяция больных ОВИН гетерогенна. При стимуляции *in vitro* В-митогенами их можно разделить на три группы: В-клетки больных 1-й группы синтезируют повышенные количества IgG, IgA и IgM; В-клетки больных 2-й группы —

только IgM; В-клетки 3-й группы не образуют иммуноглобулины. Эти данные говорят о том, что у определённой части больных ОВИН В-клетки не имеют органических поражений и при соответствующей стимуляции могут синтезировать иммуноглобулины. Аналогичная ситуация характерна и в отношении $CD4^+$ Т-клеток. Выделяют несколько групп больных ОВИН, различающихся по количеству этих клеток. Некоторые больные имеют резкое снижение количества $CD4^+$ Т-клеток с существенным нарушением их функциональной активности и ограничением TCR-репертуара. В таком случае заболевание протекает наиболее тяжело, сопровождаясь спленомегалией и лимфаденопатией.

3.1.4. СЕЛЕКТИВНЫЙ IgA-ДЕФИЦИТ

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

Селективный IgA-дефицит — наиболее часто встречающийся иммунодефицит с частотой один случай на 500–1500 человек. В 50% случаев этот дефицит клинически не проявляется. При манифестации заболевание проявляется рекуррентными инфекциями. Селективный IgA-дефицит иногда сочетается с дефицитом IgG2. В этом случае наблюдается более тяжёлое течение заболевания.

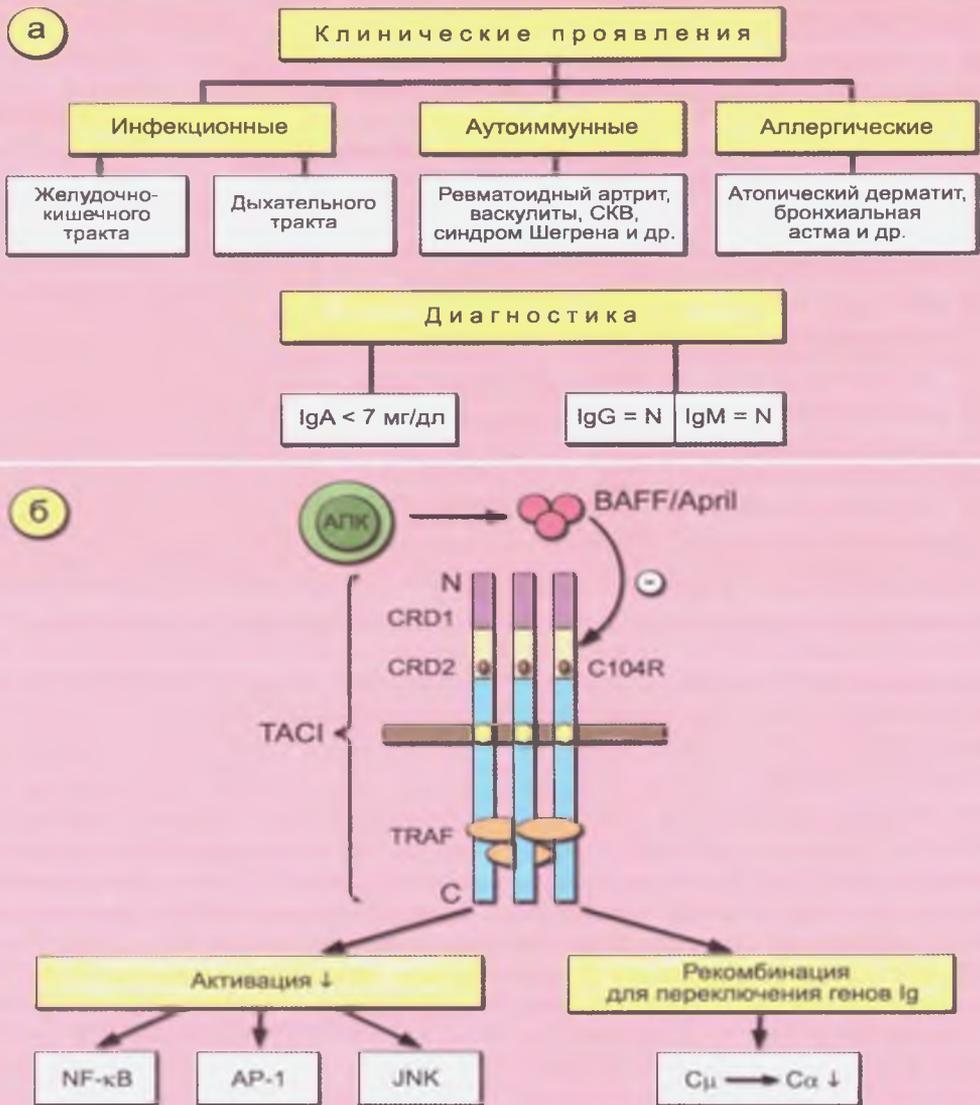


Рис. 469. Селективный IgA-дефицит

- а. Диагностика и клиническая картина селективного IgA-дефицита.
- б. Молекулярный механизм селективного IgA-дефицита.

Мутации в рецепторе TAC1 В-клеток могут быть причиной развития ОВИН и селективного IgA-дефицита. Лигандами для этого рецептора являются мембранные и растворимые молекулы BAFF/Аргil, экспрессируемые АПК и Т-лимфоцитами. Во внеклеточной части рецептор TAC1 содержит два участка, богатых цистеином (CRD1 и CRD2). Лиганды BAFF/Аргil связываются в основном с CRD2-участком рецептора TAC1, в результате чего эти рецепторы образуют тримеры. Это приводит к привлечению к внутриклеточному участку рецептора TAC1-адапторных белков TRAF 2, 3, 5 и 6 (*TNFR-associated factor*) и индуцирует активацию транскрипционных факторов NF-κB, AP-1 и киназы JNK. Связывание лигандов BAFF/Аргil с рецептором TAC1 также способствует ре-

комбинации для переключения генов Ig: Сμ-Сγ₂ε и Сμ-Сα. У больного селективным IgA-дефицитом выявлена гетерозиготная мутация С104R (замена цистеина на аргинин в положении 104), которая приводит к отсутствию связывания лигандов BAFF/Аргil с рецептором TAC1 и отсутствию переключения генов Сμ-Сα. У этого больного уровень IgA меньше 7 мг% при нормальном уровне IgM и IgG. Больной страдает от синусопульмонарных и гастроинтестинальных инфекций. Следует отметить, что мутации С104R выявлены и у больных с типичными формами ОВИН. Неясно, почему в одних случаях эта мутация вызывает ОВИН, в других — селективный IgA-дефицит. Можно думать, что у этих двух иммунодефицитов имеется общий генетический дефект.

3.1.5. ГИПЕР-IgE СИНДРОМ

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Гипер-IgE-синдром, или синдром Джоба (*hyper-IgE syndrome, syndrome Job*), был описан S.D. Davis и соавт. в 1966 г. и R.H. Buckley и соавт. в 1972 г. Для заболевания характерны рекуррентные холодные стафилококковые абсцессы, пневмонии, экземы, повышенная растяжимость суставов, а также высокий уровень сывороточного IgE (>2000 МЕ/мл) и эозинофилия. Различают 2 типа гипер-IgE-синдрома: 1-й тип (спорадические и аутосомно-доминантные формы) и 2-й тип (аутосомно-рецессивные формы) (Minegishi Y., Karasuyama H., 2007) с существенным преобладанием 1-го типа.



Рис. 470. Этиология и клиника гипер-IgE-синдрома

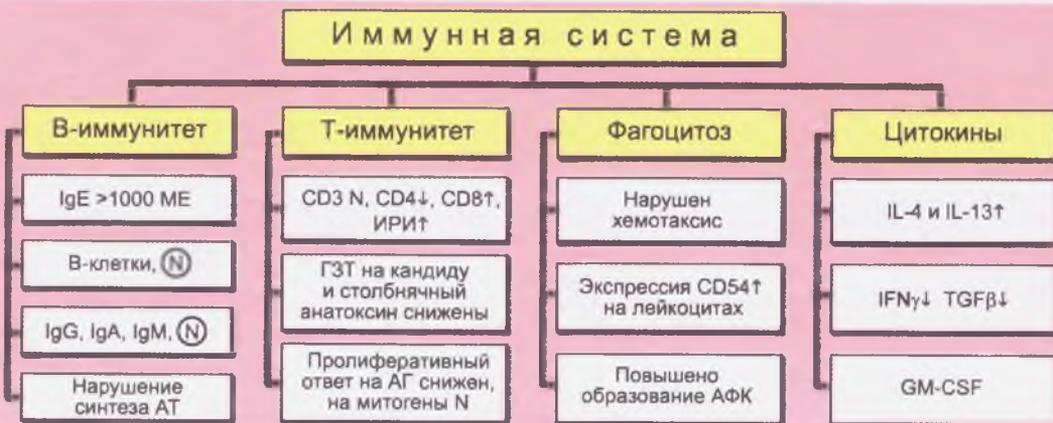


Рис. 471. Иммунная система больных гипер-IgE-синдромом

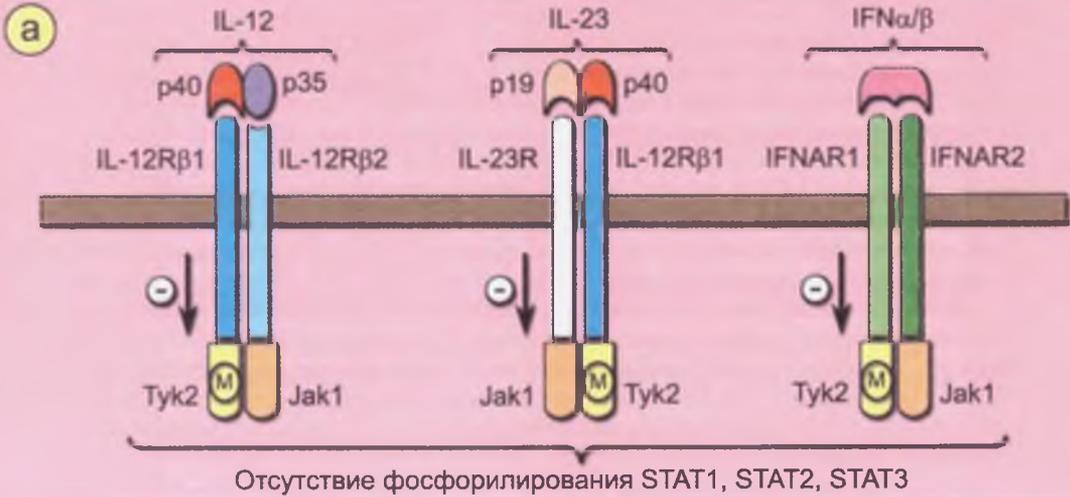


Рис. 472, а. Молекулярный механизм гипер-IgE-синдрома 2-го типа

а. Гипер-IgE-синдром 2-го типа характеризуется наличием рецессивной гомозиготной мутации в гене тирозинкиназы-2 (Тук2), ведущей к отсутствию этого фермента. Киназа Тук2 вовлечена в передачу сигнала от рецепторов для цитокинов IL-12, IL-23, IFN α/β , IL-6, IL-10, синтез которых у больных резко понижен. Так, IFN α/β индуцирует с помощью Тук2 фосфорилирование киназы Jak1, транскрипционных факторов STAT1, STAT2 и STAT3, которое в клетках больных гипер-IgE-синдромом 2-го типа полностью отсутствует. Следствием этого является повышенная чувствительность к вирусным инфекциям. Отсутствие сигналинга, опосредованного IL-12 и IL-23, снижает синтез IFN γ и IL-12, следствием чего является повышенная чувствительность к инфекциям, вызываемым сальмонеллами и микобактериями. Отсутствие передачи информации от IL-10 (на рисунке не показано) может быть причиной развития аллергических процессов: бронхиальной астмы и атопического дерматита.

б. Строение транскрипционного фактора STAT3. Транскрипционный фактор STAT3 состоит из шести доменов. В функциональном отношении наибольшее значение имеют три домена: трансактивационный, SH2 и ДНК-связывающий. SH2-домен создаёт сайт для связывания киназы Jak, которая фосфорилирует в трансактивационном домене две аминокислоты (тирозин и серин). Это ведёт к активации транскрипционного фактора, образованию димера и его транслокации в ядро, где этот фактор с помощью ДНК-связывающего домена взаимодействует с промоторами соответствующих генов. Изучая геном больных с гипер-IgE-синдромом 1-го типа, S.V.Holland и соавт. (2007) выявили «горячие» участки (*hot spots*) с точковыми мутациями и единичными делециями в двух доменах: SH2 (3 участка) и ДНК-связывающем (1 участок).

На рисунке в кружках показано количество выявленных мутаций. В результате указанных мутаций количество белка STAT3 может не меняться. Но такие белки не фосфорилируются киназами Jak или не связываются с ДНК, т.е. функционально не активны.

Транскрипционный фактор STAT3 является многофункциональной сигнальной молекулой, участвующей в развитии не только лимфоидной, но и мезенхимальной и эктодермальной ткани, включая кожу, зубы, череп, кости. Кроме того, STAT3 является интегральной молекулой, передающей сигналы с ряда цитокиновых рецепторов. Дефицит STAT3 может вести к усилению синтеза цитокинов Th1-профиля (IFN γ и TNF α) и ингибировать как воспалительные, так и противовоспалительные реакции, регулируемые IL-6 и IL-10. При дефиците STAT3 в коже снижается уровень антимикробных пептидов β -дефензинов, что может быть одной из причин развития при этом заболевании стафилококковых абсцессов.

3.1.6. СЕЛЕКТИВНЫЙ ДЕФИЦИТ АНТИТЕЛ ПРИ НОРМАЛЬНЫХ УРОВНЯХ Ig



Рис. 473. Клинические проявления дефицита специфических антител



Рис. 474. Сводная таблица по иммунодефицитам, связанным с нарушениями синтеза антител

На первом году жизни ребёнка важно дифференцировать XLA от транзиторной гипогаммаглобулинемии, развивающейся в некоторых случаях после исчезновения материнских антител. Между 1-м и 2-м годами жизни транзиторная гипогаммаглобулинемия самостоятельно проходит. Селективный дефицит IgG1, как основного субкласса IgG, часто описывают под диагнозом ОВИН. Снижение уровня IgG2 и IgG3 может не оказать существенного влияния на общий уровень IgG. Антитела к поли-

сахаридным бактериальным АГ относятся преимущественно к подклассу IgG2. Такие люди часто страдают рецидивирующими синусопульмональными инфекциями. Снижение IgG2 чаще наблюдается у детей, IgG3 — у взрослых. Снижение IgG2 иногда сочетается с селективным IgA-дефицитом. Следует помнить, что уменьшение IgG2-антительного ответа на полисахаридные АГ может встречаться у больных с синдромом Вискотта–Олдрича и Ди Джорджи.

3.1.7. ТЯЖЁЛАЯ КОМБИНИРОВАННАЯ ИММУННАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ

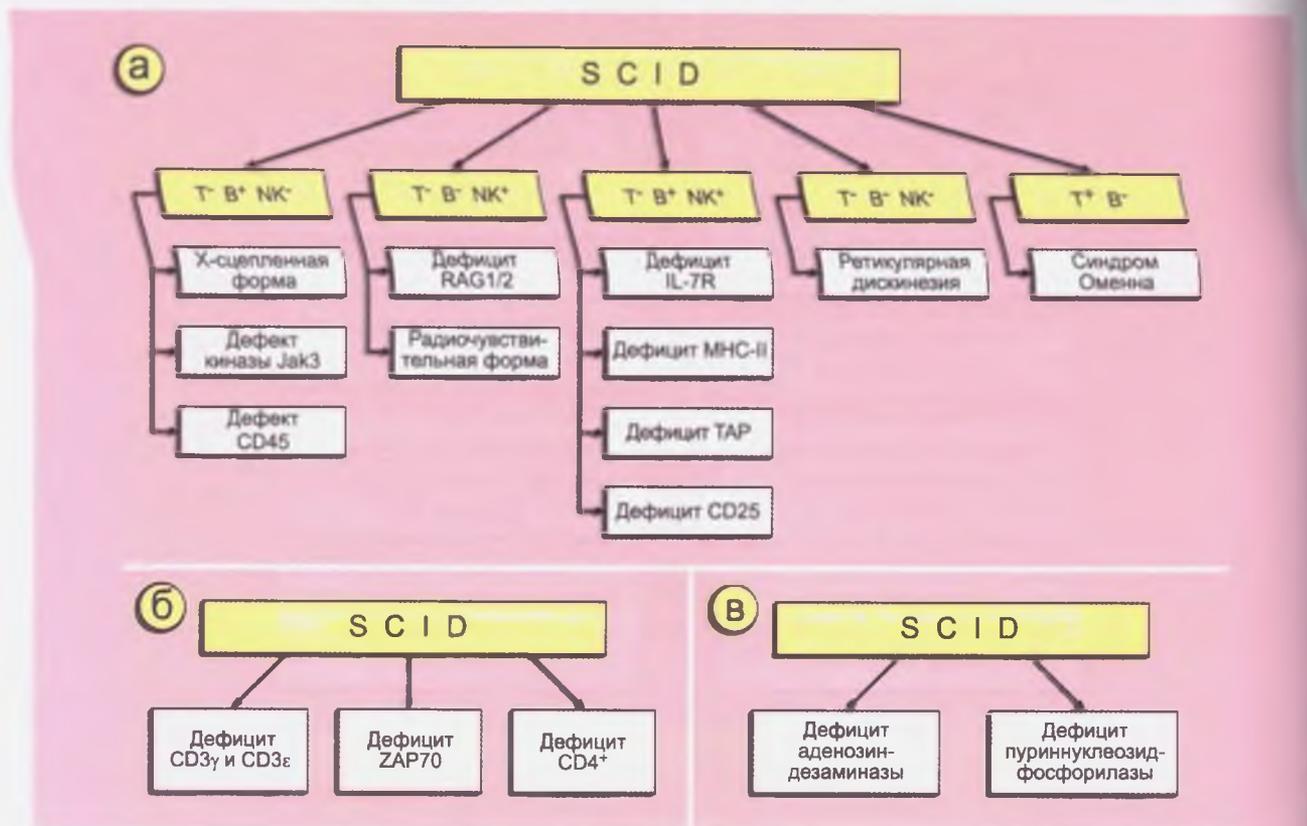


Рис. 475. Основные типы тяжёлой комбинированной иммунной недостаточности

Тяжёлая комбинированная иммунная недостаточность, ТКИН (*severe combined immune deficiency, SCID*), характеризуется отсутствием Т-клеток и нарушениями адаптивного иммунитета. У больных ТКИН наблюдается ранняя клиническая манифестация заболевания, практически в первые недели жизни ребёнка. Основными проявлениями являются упорная диарея, мальабсорбция, прогрессирующее поражение бронхолёчного аппарата, гнойные инфекции кожи и слизистых оболочек.

Лимфоидная ткань недоразвита. Возбудителями чаще всего являются условно-патогенные бактерии, грибы, вирусы, простейшие (*Pneumocystis carinii*). Заболевание может начать проявляться после вакцинации BCG в виде локальной или генерализованной BCG-инфекции.

При оценке иммунного статуса выявляются лимфоцитопения, снижение Т-клеток и отсутствие их пролиферативного ответа на митогены, гипогаммаглобулинемия.

а. Формы ТКИН, связанные с дефектами Т-, В- или NK-клеток.

Т⁻В⁺НК⁻ ТКИН:

1. При X-сцепленной форме ТКИН мутации поражают ген γ -цепи (CD132), общей для рецепторов IL-2, 4, 7, 9, 15, следствием чего является отсутствие передачи сигналов от этих рецепторов в ядро клетки.
2. При дефиците тирозинкиназы Jak3 не происходит переход сигнала с γ -цепи, общей для рецепторов IL-2, 4, 7, 9, 15.
3. При дефиците трансмембранной тирозинкиназы CD45 не происходит передачи сигналов с TCR и BCR Т- и В-клеткам.

Т⁻В⁻НК⁺ ТКИН:

1. При мутациях в генах *RAG1/RAG2* (*recombination activating genes*), ведущих к полному отсутствию продуктов этих генов, инициирующих разрывы ДНК, не происходит образования TCR и BCR Т- и В-клеток соответственно.
2. Радиочувствительная форма ТКИН связана с мутациями в гене *Artemis*, продукты которого восстанавливают двухцепочечные разрывы в ДНК, индуцированные белками RAG.

Т⁻В⁺НК⁺ ТКИН:

1. Дефицит IL-7R приводит к отсутствию созревания Т-клеток, для развития которых этот цитокин, в отличие от В-клеток, является критичным.
2. Дефицит МНС-II связан с мутациями в генах, кодирующих транскрипционные факторы (RFXNK, RFX5, RFXAP, SIPA), регулирующих экспрессию МНС-II. Следствием этого является нарушение селекции и дифференцировки Т-клеток в тимусе.
3. Дефицит TAP (*transporter for antigen presentation*) способствует ингибированию транспорта антигенных пептидов и присоединению их к молекулам МНС-I.
4. Дефицит CD25 связан с мутацией гена α -цепи CD25.

Т⁻В⁻НК⁻ ТКИН: молекулярно-клеточные механизмы неизвестны.

Синдром Оменна возникает при миссенс-мутациях генов *RAG1/RAG2*, когда их функция частично сохранена и происходит рекомбинация генов *V-D-J*, необходимая для создания репертуара TCR и BCR.

б. Дефициты субпопуляций Т-клеток.

1. Дефицит CD3 γ и CD3 ϵ приводит к снижению количества CD8⁺ Т-клеток и CD4⁺CD45RA⁺ Т-клеток.
2. Дефицит ZAP70 способствует уменьшению количества CD8⁺ Т-клеток. Количество CD4⁺ Т-клеток нормальное, но резко снижены их функции.
3. Молекулярно-генетические механизмы дефицита CD4⁺ Т-клеток неизвестны.

в. Дефициты ферментов пуринового обмена обуславливают развитие клинической симптоматики ТКИН. При дефицитах аденозиндезаминазы (ADA) и пуриннуклеозид-фосфорилазы (PNP) происходит накопление токсических продуктов пуринового обмена, ингибирующих пролиферацию и функции Т- и В-клеток.

Иммунодефицит	Тип наследования	IgG	Лимфоциты		
			T	B	NK
Ретикулярная дискинезия	AR	↓↓	↓↓	↓↓	↓↓
Rag1/Rag2 SCID	AR	↓↓	↓↓	↓↓	N
Синдром Оменна	AR	↓↓	↓/N	↓↓	N/↑
Радиочувствительный SCID	AR	?	↓↓	↓↓	N
X-сцепленная SCID	XL	↓↓	↓↓	N/↑	↓↓
Jak3-дефект	AR	↓↓	↓↓	N/↑	↓↓
Il-7 R-дефект	AR	↓↓	↓↓	N/↑	N
CD45-дефицит	AR	↓	↓↓	N/↑	↓
Дефицит ADA*	AR	↓↓	↓↓	↓	↓
Дефицит PNP**	AR	↓/N	↓↓	↓/N	↓/N
Дефицит ZAP70	AR	↓/N	↓(CD8↓↓)	N	N
Дефицит CD25	AR	N	↓	N	N
Дефицит CD3γ	AR	N	N(↓CD3)	N	N
Дефицит CD3ε	AR	N	N(↓CD3)	N	N
TAP-дефицит	AR	N	↓(↓↓↓CD8)	N	N
Дефицит MHC-II	AR	↓/N	↓(↓↓↓CD4)	N	N

Рис. 476. Тяжёлая комбинированная иммунная недостаточность: тип наследования и иммунные нарушения (Кондратенко И.В., Бологов А.А., 2005)

11.8. СИНДРОМ ДИ ДЖОРДЖИ

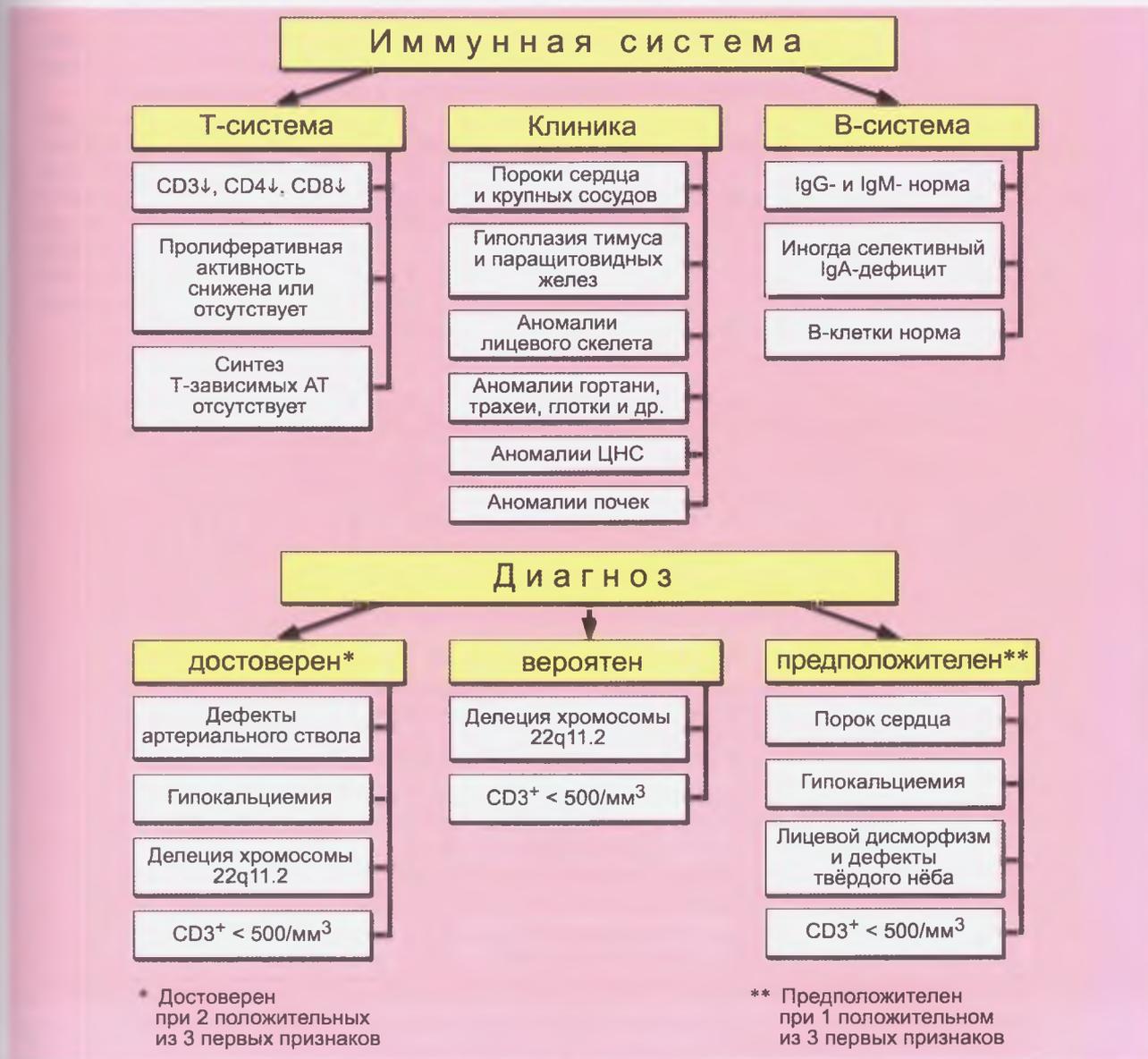


Рис. 477. Иммунодиагностика и клинические проявления синдрома Ди Джорджи

Синдром Ди Джорджи (СДД) является тяжёлым комбинированным иммунодефицитом, затрагивающим прежде всего Т-систему иммунитета. Заболевание связано с гипоплазией тимуса, в основе которой лежит отсутствие развития тимического эпителия вследствие делеции в хромосоме 22q11. Делеция составляет от 1,5 до 5 млн оснований (*megabases*) с потерей минимум 24 генов. Важным геном внутри этого интервала является *Tbx1*, кодирующий транс-

крипционный фактор T-box 1. СДД может возникать из-за мутации только этого гена. Тимус и паращитовидная железа развиваются в эмбриогенезе из инвагинации жаберных дуг. Предполагают, что главной функцией T-box 1 является инициация и поддержание инвагинации жаберных дуг при закладке тимуса. Однако при мутации *Tbx1* не происходит правильной закладки не только тимуса, но и нервной трубки крупных сосудов, сердца.

3.1.9. СИНДРОМ ВИСКОТТА-ОЛДРИЧА

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

Синдром Вискотта–Олдрича является X-сцепленным иммунодефицитом, встречающимся с частотой 1–10 человек на 10⁶. Мутация поражает белок WASP (*WAS protein*), являющийся регулятором полимеризации актина в гематопоэтических клетках. В соответствии с данными ВОЗ больные синдромом Вискотта–Олдрича в среднем доживают до 20 лет. Смерть возникает в результате инфекций, кровотечений и злокачественных заболеваний. Поддерживающая терапия включает антибактериальные и противовирусные препараты. При наличии эпизодов кровотечения назначают препараты крови; при дефицитах АТ — внутривенно Ig; при аутоиммунной цитопении — Rituximab (анти-CD20-МАТ). Наиболее перспективным методом лечения является трансплантация гематопоэтических клеток (ТГК). Эффективной является ТГК от HLA-совместимых сиблингов: выживаемость в течение трёх лет составляет 81% (Ochs GD et al., 2009).

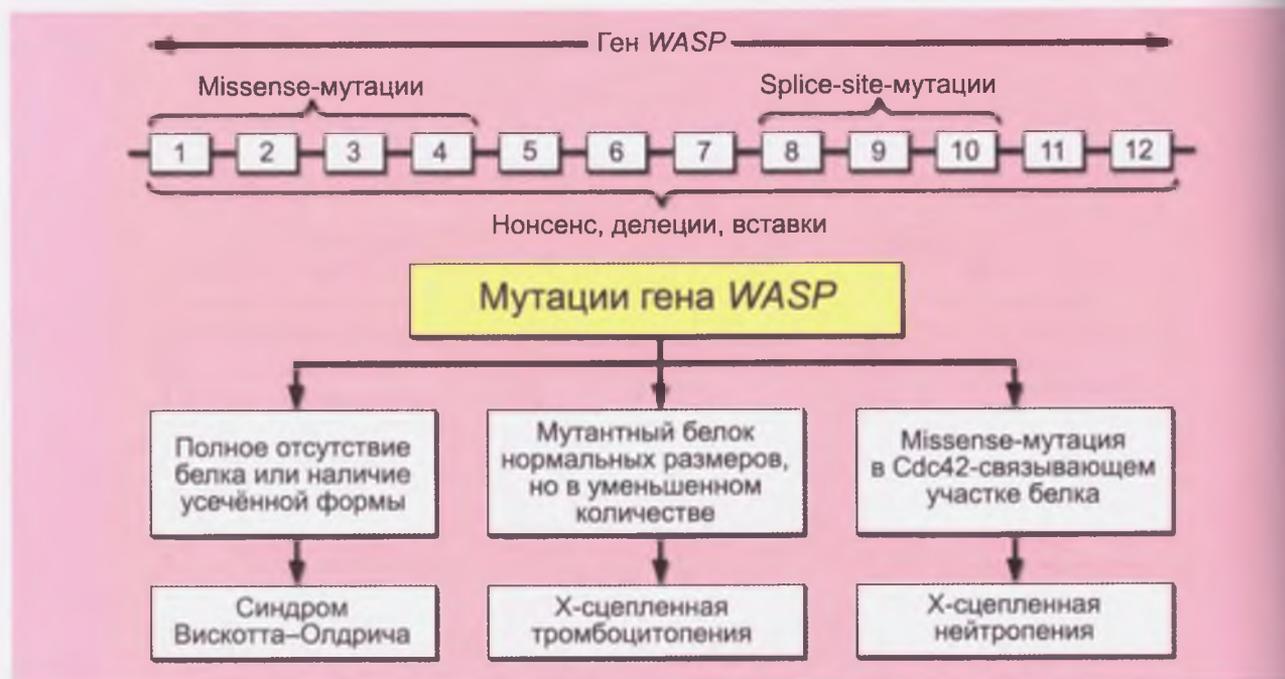


Рис. 478. Мутации гена WASP

Ген *WASP* картирован в области Xp11.22–Xp11.3, состоит из 12 экзонов. Мутации в гене *WASP* ведут к развитию трёх X-сцепленных наследственных заболеваний: синдрому Вискотта–Олдрича, X-сцепленной тромбоцитопении и X-сцепленной нейтропении. К формированию классической картины синдрома Вискотта–Олдрича,

характеризующейся тромбоцитопенией с тромбоцитами малых размеров, экземой и рекуррентными инфекциями, приводят мутации типа делеций, когда белок WASP практически отсутствует. При X-сцепленной тромбоцитопении образуется нормальных размеров мутантный белок, но в уменьшенном количестве.

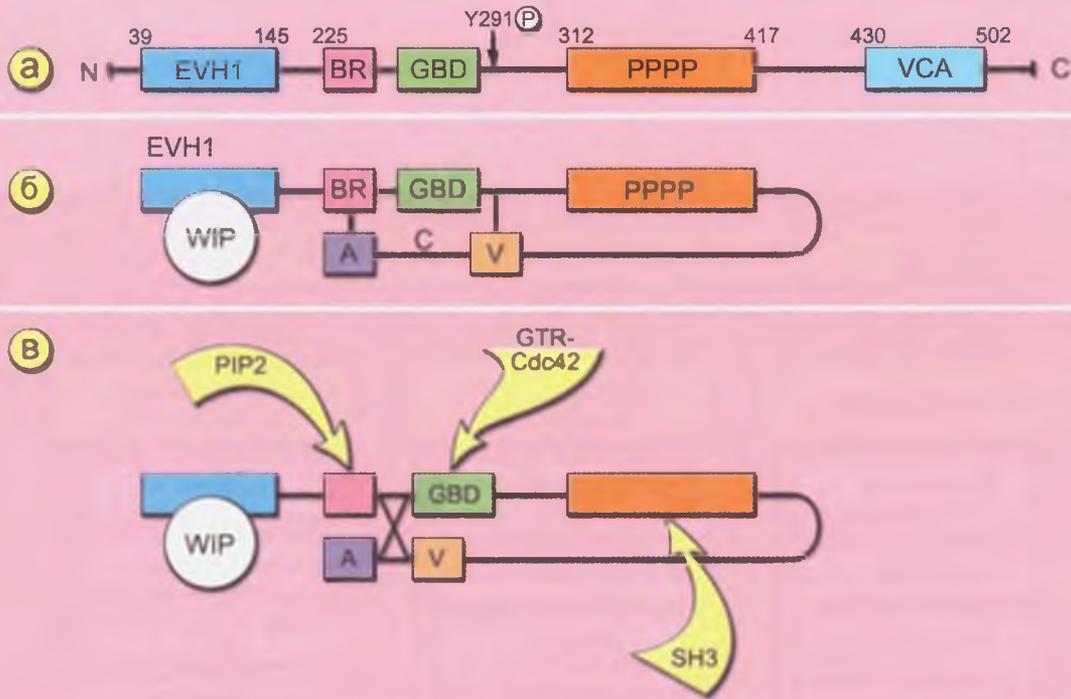


Рис. 479. Структура WASP

а. Белок WASP является адапторным белком, состоящим из 12 экзонов, 5 функциональных доменов и 502 аминокислотных остатков. На N-конце находится домен EVH1 [*enabled/VASP (vasodilator-stimulated phosphoprotein) homology-1*], имеющий складчатость PH-домена (*pleckstrin homology*). Этот домен взаимодействует с белками, содержащими SH3-домены, и липидами, а также участвует в связывании белков с мембраной. В интактной клетке домен EVH1 взаимодействует с белком WIP (*WASP interacting protein*), что ведёт к его стабилизации. Далее следует домен BR (*basic region*), домен GBD (или CRIB – *Cdc42- and Rac-interactive binding domain*), связывающий GTP-азу Cdc-42, и домен, богатый пролином, также участвующий во взаимодействии с белками, содержащими SH3-домены. На C-конце находится трёхчленная область VCA, состоящая из верпролина (*verprolin*) – специфического эффектора, участвующего в полимеризации актина с помощью Rac GTP-аз; кофилина (*cofilin*) – актинсвязывающего белка, способствующего его деполимеризации, и кислой области (*acidic region*), связывающей комплекс Arp2/3 (*actin-related protein*), являющегося ядром полимеризации актина.

б. В покое происходит аутоингибция белка WASP за счёт образования гидрофобных связей между трёхчленным VCA-доменом и доменами BR и GBD.

в. Активация WASP происходит путём связывания с доменом GBD ГТФ-азы Cdc42, члена Rho-семьи малых ГТФ-аз, контролирующих хемотаксис, образование филоподий, клеточную адгезию, особенно Т-В-клеточную кооперацию. Для активации необходимо взаимодействие SH3-доменов тирозинкиназ и адапторных белков с пролиновым регионом (PPPP), фосфатидилинозитол (4,5)-дифосфата (PIP2) – с доменом BR, WASP-взаимодействующего белка (WIP) – с доменом EVH1 и трансдуктором Cdc42-зависимой сборки актина – Toca-1 (на рисунке не показан). Важным моментом для активации белка WASP является фосфорилирование его единственного тирозина в положении 291 (H.D. Ochs и др., 2006).



Рис. 480. Особенности иммунной системы больных синдромом Вискотта–Олдрича

При синдроме Вискотта–Олдрича имеются множественные нарушения в иммунной системе, возникающие из-за отсутствия белка WASP, играющего важную роль в реорганизации актинового цитоскелета. В частности, не происходит образования

иммунного синапса между Т-клетками и АПК — одного из центральных событий как клеточного, так и гуморального иммунного ответа. Реорганизация цитоскелета лежит также в основе фагоцитарного процесса и цитолитической активности НК-клеток.



Рис. 481. Диагностика синдрома Вискотга–Олдрича

3.1.10. АТАКСИЯ-ТЕЛЕАНГИЭКТАЗИЯ (А-Т)

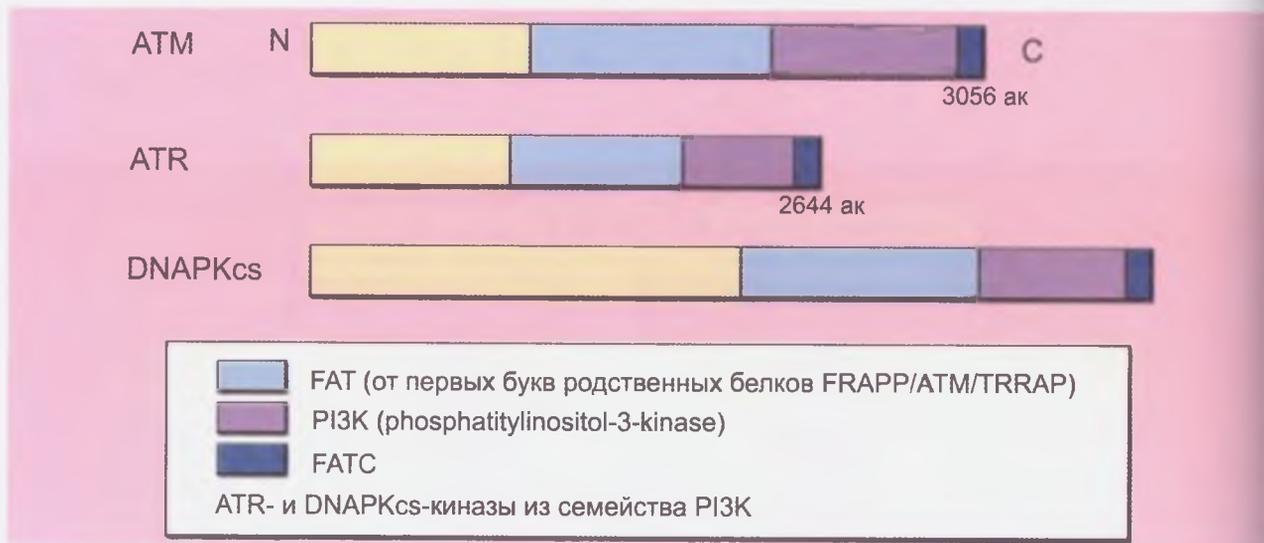


Рис. 482. Строение протеинкиназы ATM

Ген *ATM* локализован на хромосоме 11q23 и был клонирован в 1995 г. К. Stavitsky и соавт. Ген имеет протяжённость более чем 150 kb, состоит из 66 экзонов и кодирует белок ATM с М.М. 350 кДа. Мутации в гене *ATM* являются единственной причиной развития атаксии-телеангиэктазии (А-Т). Идентифицировано 400 гетерозиготных уникальных мутаций, не повторяющихся при других заболеваниях. Иначе говоря, «горячие» точки мутагенеза отсутствуют. В 85% случаев мутации являются нулевыми, ведущими к полной инактивации гена и отсутствию белка. В 15% случаев выявляются миссенс-мутации, небольшие делеции и вставки. Такие мутации ведут к пониженной продукции функционального белка или к нормальной продукции белка со сниженной функциональной активностью. В таких случаях наблюдается относительно лёгкое течение А-Т.

Главной функцией ATM является инициация комплекса ферментативных процессов, направленных на восстановление разрывов ДНК. Кроме того, при наличии разрывов ДНК ATM контролирует клеточное деление путём замедления процесса вступления этой клетки в клеточный цикл (*checkpoint kinase*). В силу этого протеинкиназа ATM участвует в ряде важнейших клеточных событий: в контроле за клеточным делением, за рекомбинациями при митозе и мейозе, за длиной теломера, принимает участие в апоптозе. ATM является серин-треониновой протеинкиназой из семейства PI3K, объединяющих киназы, родственные фосфоинозитид-3-киназе (PI3K). Помимо

ATM в это семейство входят киназа ATR (Rad3-родственный белок), каталитическая субъединица ДНК-зависимой протеинкиназы (DNAPKcs) и протеинкиназа SMG1, участвующая в разрушении ДНК (на рисунке не показана).

Белок ATM представлен во всех клетках организма. Около 80% этого белка локализовано в ядре. Оставшаяся часть его находится в цитоплазме. Киназный домен ATM находится ближе к С-концу. Протеомный анализ показал, что ATM и ATR имеют более 700 субстратов, включая транскрипционный фактор p53. Этот фактор является одним из центральных в клеточном делении. Поэтому клетки больных А-Т имеют дефекты в развитии клеточного цикла на этапе G1-S. Помимо киназного ATM содержит FAT-домен, общий у всех киназ семьи PI3K, и С-терминальный FATC-домен, сходный по химическому строению с предыдущим. N-концевой домен, называемый иногда SBS (*substrate binding site*), содержит лейциновую «застёжку», много пролина и связывает различные субстраты. Это связывание является критическим моментом в активации всей киназы. При активации ATM происходит аутофосфорилирование трёх серинов: Ser367 в SBS-домене, Ser1893 и Ser1981 в FAT-домене (на рис. не показаны). В FATC-домене Lys3016 подвергается ацетилированию ацетилтрансферазой TIP60, что также необходимо для активации ATM. Киназа ATM находится в комплексе с тремя протеинфосфатазами: PPA2, PPS и WIP1, осуществляющими контроль за активацией ATM (Lavin M.F., 2008).

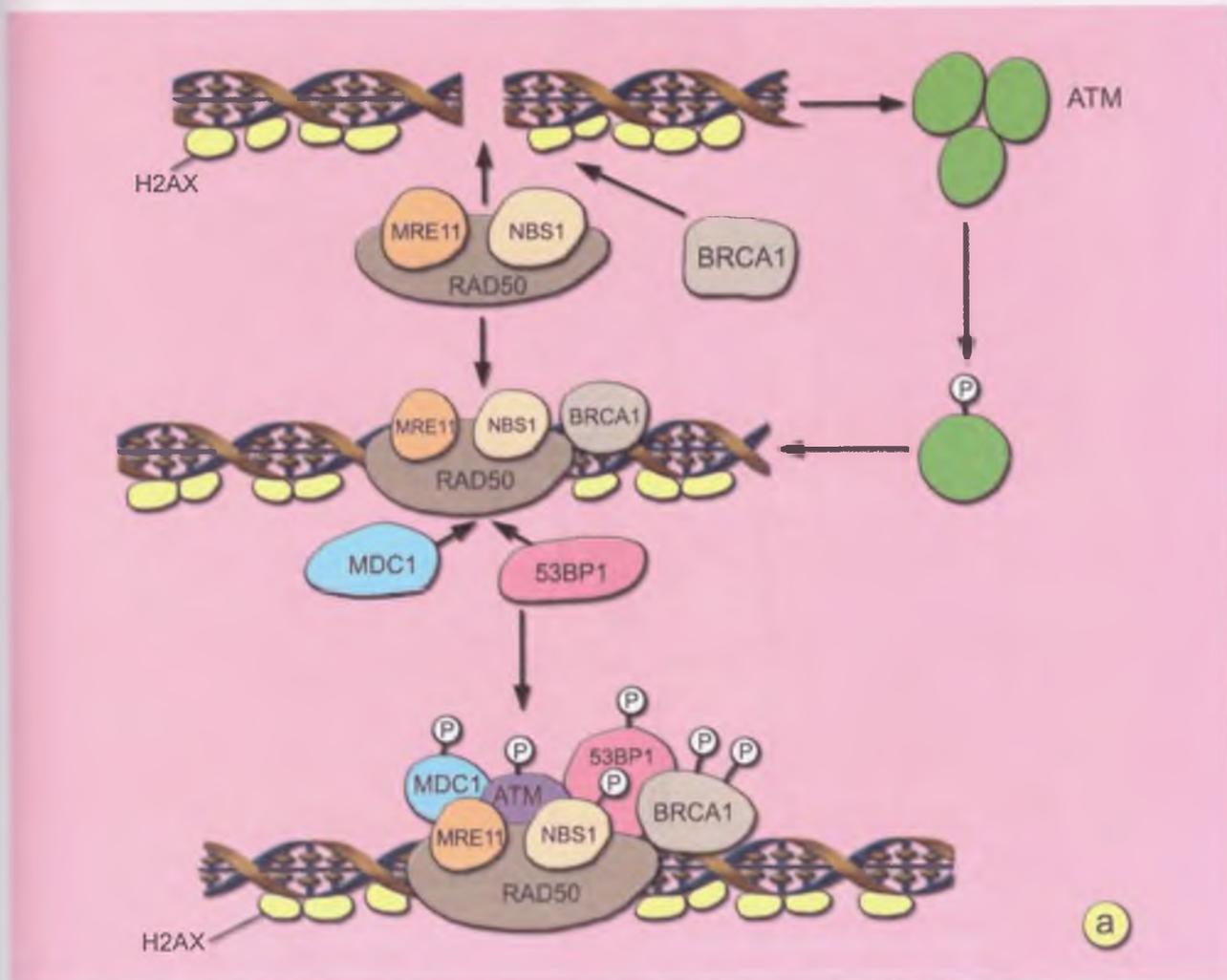


Рис. 483, а. Участие протеинкиназы ATM в восстановлении повреждений ДНК

Неактивированная киназа ATM находится в димерном или мультимерном состоянии. При разрыве ДНК киназа аутофосфорилируется и переходит в мономерную форму. Активированная киназа ATM ассоциируется с комплексом MRN, состоящим из трёх компонентов: MRE11, RAD50 и NBS1. Помимо киназы ATM и комплекса MRN в ответе на разрывы ДНК участвуют гистоны H2AX, 53BP1, медиатор контроля разрыва (MDC1) и BRCA1. Все эти факторы являются субстратами для фосфорилирования киназой ATM. После разрыва ДНК все эти факторы мобилизуются в место патологии и инициируют сигнальный ATM-зависимый каскад. В случае небольших дефектов это приводит к репарации ДНК, в случае чрезмерных — к p53-зависимому апоптозу. Все перечисленные факторы играют определённую роль в репарации ДНК, и инактивация любого из этих факторов делает клетку гиперчувствительной к разрывам ДНК (Me Kinnon P.I., 2004).

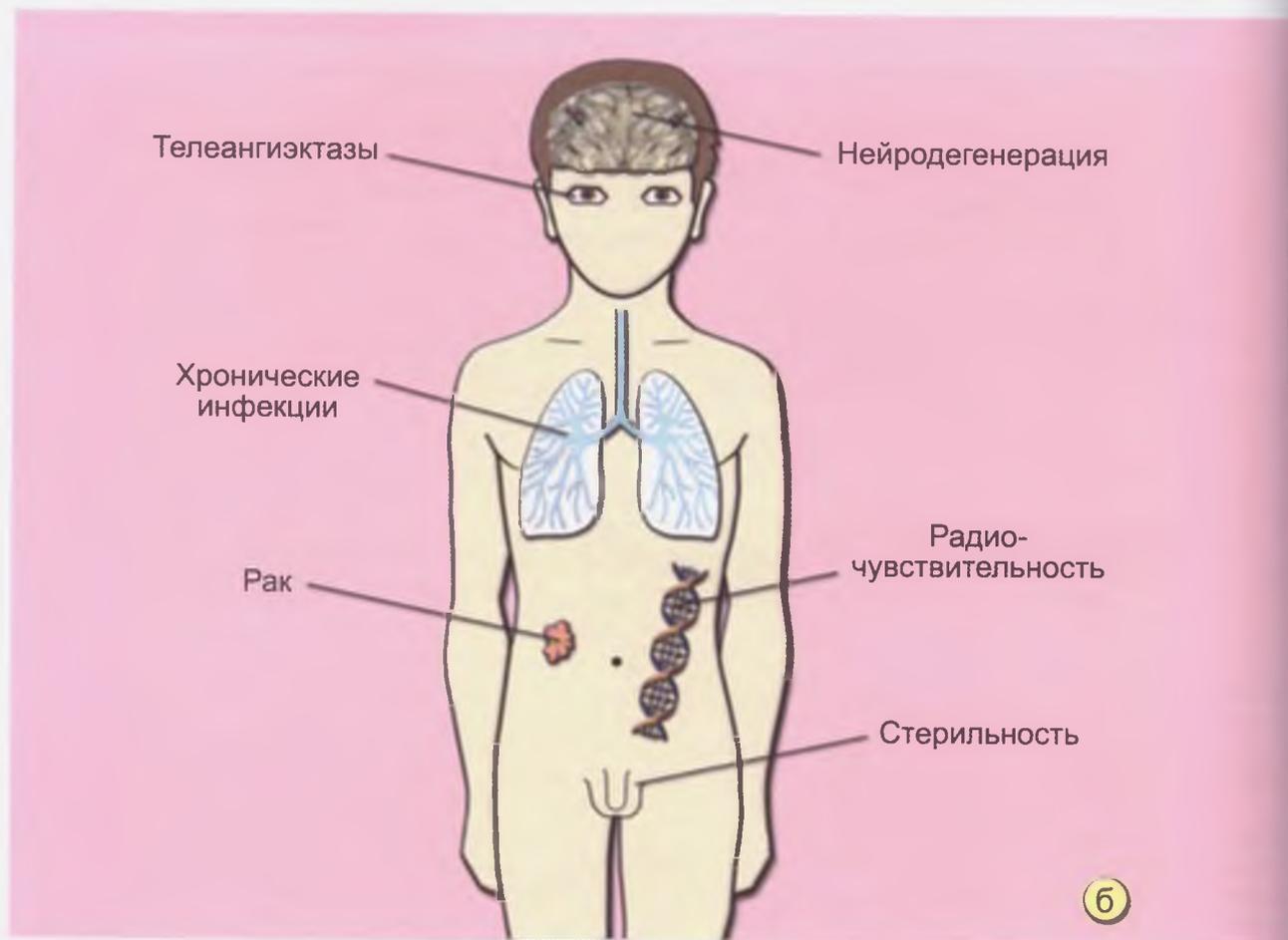


Рис. 483, б. Участие протеинкиназы АТМ в восстановлении повреждений ДНК

Клинические проявления А-Т.

Всё многообразие клинических проявлений А-Т объясняется мутациями в гене *ATM*. Наиболее характерным признаком А-Т является нарастающая атаксия, проявляющаяся уже к концу первого года жизни изменением походки. В основе этого лежат процессы нейродегенерации. Развивается атрофия мозжечка. Другим характерным клиническим признаком А-Т является развитие глазных и лицевых телеангиэктазий — расширенных кровеносных сосудов. Поскольку белок АТМ участвует в репарации ДНК, то в результате его дефекта развивается геномная нестабильность, проявляющаяся, в частности, в повышенной радиочувствительности клеток больного. В результате геномной нестабильности наблюдается повышенная склонность к раз-

витию злокачественных заболеваний, наиболее часто лимфом и лейкозов. Цитогенетический анализ этих клеток обнаружил aberrantную онкогенную перестройку TCR. Развитие этих опухолей у больных А-Т доказывает значимость киназы АТМ в обеспечении правильной рекомбинации иммуноглобулиновых генов после физиологических разрывов ДНК, происходящих при созревании иммунной системы. Мутации гена *ATM* лежат в основе иммунодефицита, всегда сопровождающего А-Т. Этот иммунодефицит проявляется, прежде всего, в хронических рецидивирующих бактериальных и вирусных инфекциях бронхолёгочного аппарата, что чаще всего и является причиной смерти больного.



Рис. 483, в. Участие протеинкиназы АТМ в восстановлении повреждений ДНК
Телеангиэктазии на бульбарной конъюнктиве глаза больной с А-Т (фото предоставлено проф. И.В. Кондратенко).



Рис. 484. Диагностика А-Т

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Протеинкиназа ATM реагирует на физиологические разрывы в ДНК, возникающие при V(D)J-рекомбинациях В-клеток и V α -J α -рекомбинациях CD4⁺ и CD8⁺ тимоцитов, необходимых для создания рецепторов TCR и BCR. ATM мгновенно реагирует на возникновение двойных разрывов в ДНК этих клеток и участвует в восстановлении целостности ДНК. У больных А-Т в Т- и В-клетках накапливается большое количество не восстановленных концов ДНК рецепторов TCR и BCR, что ведёт к нарушению процессов созревания Т- и В-клеток. Это объясняет наличие в Т- и В-клетках больных А-Т большого количества хромосомных аномалий и, соответственно, склонность к развитию опухолей лимфоидной ткани (до 30%), преимущественно Т-клеточного происхождения. Нарушение созревания Т- и В-клеток является одной из основных причин развития иммунодефицитного состояния. Но имеется ещё одна причина развития иммунодефицита. У человека ATM предохраняет хромосомы от ускоренной потери теломер — структур, находящихся на конце хромосом и препятствующих их разрушению. Так как в норме при созревании лимфоциты проходят этапы быстрой пролиферации, то отсутствие ATM у больных А-Т ведёт к повышенному разрушению хромосом и развитию дисфункций Т- и В-клеток. Ускоренная потеря теломер — одна из главных причин преждевременного старения больных А-Т.

Неспособность к восстановлению разрывов ДНК является основной причиной повышенной чувствительности больных А-Т к ионизирующей радиации. Это было впервые обнаружено в 1960 г. при попытке лечения рентгеновскими лучами рака у больного А-Т. В дальнейшем это наблюдение было подтверждено на модели культуры клеток. Идентификация *in vitro* хромосомных поломок под влиянием рентгеновского облучения — один из основных лабораторных методов диагностики А-Т. Накопление разрывов ДНК, хромосомных aberrаций и дефектный контроль за клеточным циклом являются главными причинами развития раковых заболеваний у больных А-Т. Одни из наиболее ярких клинических проявлений А-Т — симптомы нейродегенерации, начинающиеся на 4-м году жизни ребёнка и связанные с потерей клеток Пуркинье.

Точная функция ATM в нервной ткани неизвестна. Есть предположение, что при возникновении в нервных клетках разрывов ДНК ATM инициирует их апоптоз. При отсутствии ATM происходит накопление дефектных клеток с различными аномалиями, что и является причиной развития нейродегенеративных процессов.



Рис. 485, а. Диагностика и клинические проявления синдрома Ниймегена (Nijmegen)

Синдром Ниймегена был впервые описан в 1981 г. С.М. Weemaes и соавт. Этот синдром относится к группе редких аутосомно-рецессивных заболеваний, связанных с хромосомными поломками. Развитие этого заболевания связано с мутацией в гене *NBS1*, локализованном на хромосоме 8q21. У 90% больных имеется гомозиготная мутация 657del5, ведущая к образованию укороченного варианта белка. Продуктом гена *NBS1* является белок нибрин, состоящий из 754 аминокислотных остатков. Этот белок является инициатором образования комплекса RAD50/MRE11/NBS1, взаимодействуя с С-концами белков RAD50 и MRE11. Он усиливает ферментативную активность MRE11 и направляет весь комплекс MRN к месту разрыва ДНК, непосредственно связываясь с гистонами H2AX, которые фосфорилируются АТМ. Помимо разрывов в ДНК сам комплекс MRN является мощным активатором протеинкиназы АТМ. Происходят её конформационные изменения, что повышает аффинитет к белкам-мишеням. Совместно с белком АТМ нибрин участвует в контроле за клеточным делением. Кроме того, *NBS1* совместно с белком PML (*promyelocytic leukemia protein*) образует нуклеарные тельца, которые участвуют в репарации ДНК и сохранении теломер. Клетки больных характеризуются повышенной способностью к хромосомным aberrациям и повышенному образованию разрывов ДНК при ионизирующей радиации.

Клиника синдрома Ниймегена имеет сходство с А-Т: в обоих случаях имеются выраженные нейродегенеративные изменения. В случае синдрома Ниймегена преобладают явления микроцефалии. Процессы рекомбинации ДНК происходят при созревании нейронов головного мозга. С отсутствием восстановления разрывов ДНК, вероятно, и связаны неврологические изменения, наблюдаемые при этих заболеваниях. Имеется также редкое заболевание, связанное с хромосомными поломками, — синдром ATLD, связанный с мутациями в гене *MRE11* из комплекса MRN. Это заболевание тоже характеризуется нейродегенеративными изменениями, но протекает легче, чем А-Т.



Рис. 485, б. Диагностика и клинические проявления синдрома Ниймегена (Nijmegen)

Гигантский невус у больного с синдромом Ниймегена (фото предоставлено проф. И.В. Кондратенко).

3.1.11. АУТОИММУННЫЙ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ СИНДРОМ

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Аутоиммунный лимфопролиферативный синдром (*autoimmune lymphoproliferative syndrome, ALPS*) является первым выявленным заболеванием человека, при котором первичный дефект связан с нарушением апоптоза. ALPS характеризуется незлокачественной лимфопролиферацией, гипериммуноглобулинемией, аутоиммунными процессами, увеличением содержания $CD3^+CD4^-CD8^-$ клеток в крови и нарушением запрограммированной клеточной гибели.

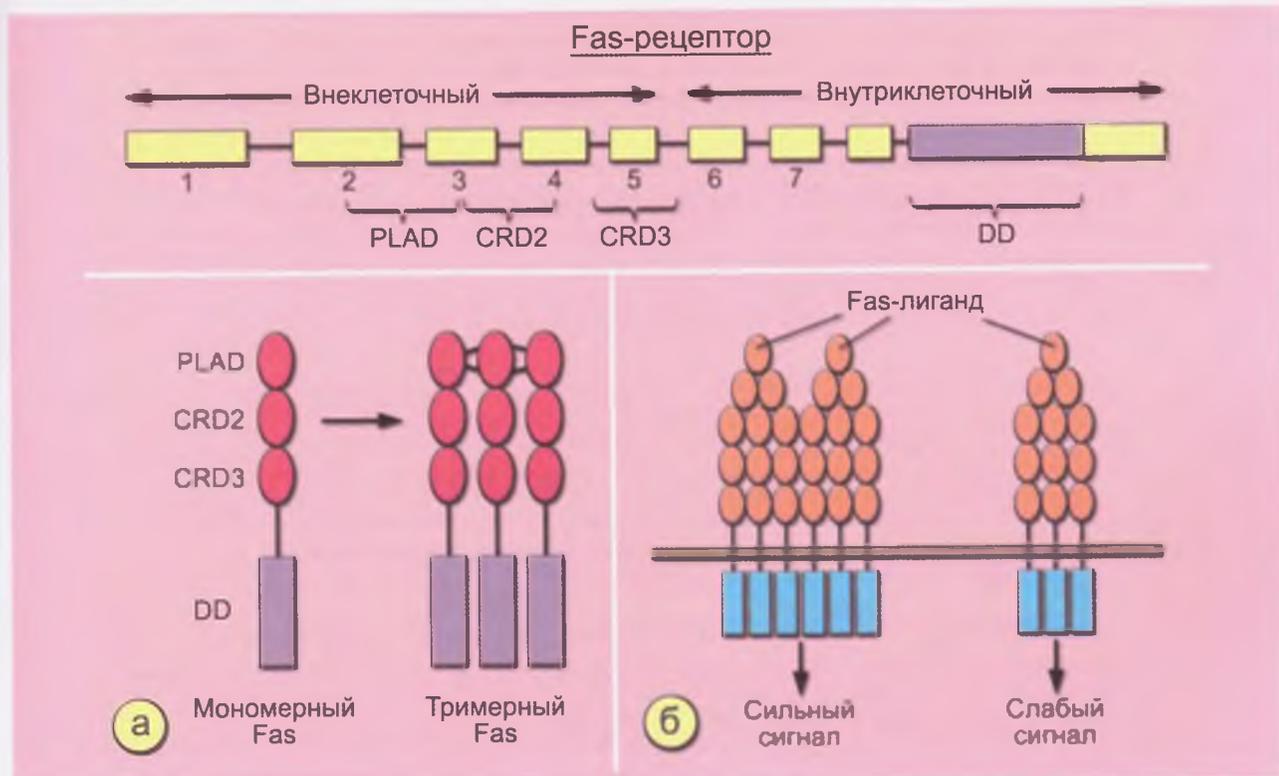


Рис. 486. Молекулярный механизм аутоиммунного лимфопролиферативного синдрома

Заболевание связано с гетерозиготными мутациями в гене *TNFRSF6* (*tumour necrosis family receptor super family 6*), локализованном на хромосоме 10q24.1.

а. Ген кодирует Fas-рецептор (синонимы CD95, APO-1, APT1), который во внеклеточной области содержит три домена, богатых цистеином: CRD1 (*cysteine rich domain*), CRD2 и CRD3. В состав CRD1-домена входит PLAD-домен (*preligand assembly domain*), инициирующий активацию рецептора. Главной функциональной частью рецептора является его внутриклеточный участок, содержащий сигнальный домен DD (*death domain*). Лигандом для этого рецептора является член суперсемьи TNF – FasL (TNFSF6), который имеет внеклеточный домен из 150 аминокислотных остатков, распознающий и взаимодействующий с Fas-рецептором. В распознавании лиганда участвуют только CRD2- и CRD3-домены рецептора. В результате деятельности металлопротеиназ как лиганд, так и рецептор могут находиться в растворимом состоянии. До связывания с лигандом PLAD-домен индуцирует образование тримера из Fas-рецептора. Лиганд FasL также образует тримеры, что может происходить как в растворе, так и на клеточной поверхности.

б. Сразу после присоединения лиганда происходит полимеризация Fas-рецептора с образованием кластеров (примерно через 10 мин), доступных анализу с помощью иммунофлуоресценции. Через 30 мин образуются «шапочки» (*capping*) из рецепторов, которые подвергаются эндоцитозу (на рис. не показано). Кластеризация рецепторов вызывает модификацию DD-доменов, которые связываются с адапторным белком FADD (*Fas-associated death domain*) и прокаспазы 8 и 10. Из DD-домена, FADD-адаптора и прокаспаз образуется комплекс DISC, в котором происходит активация каспаз и инициируется апоптоз. Возможность развития апоптоза зависит от степени кластеризации Fas-рецептора образования комплекса DISC. При суперкластеризации рецептора происходит преодоление негативных сигналов от ингибиторов каспаз. В этом случае концентрации каспазы 8, имеющейся внутри клетки, достаточно для запуска апоптоза (Worth A. et al., 2006). Мутации гена Fas-рецепторов ведут к отсутствию или недостаточной экспрессии этих рецепторов на поверхности клетки, следствием чего является слабый апоптотический сигнал. Наиболее тяжёлые – гомозиготные мутации, которые ведут к слабой экспрессии Fas-рецептора на поверхности клетки и к слабому или полному отсутствию апоптотического сигнала. Мутации, поражающие цитоплазматический участок, в отличие от внеклеточного, в 90% случаев ведут к клиническим проявлениям.

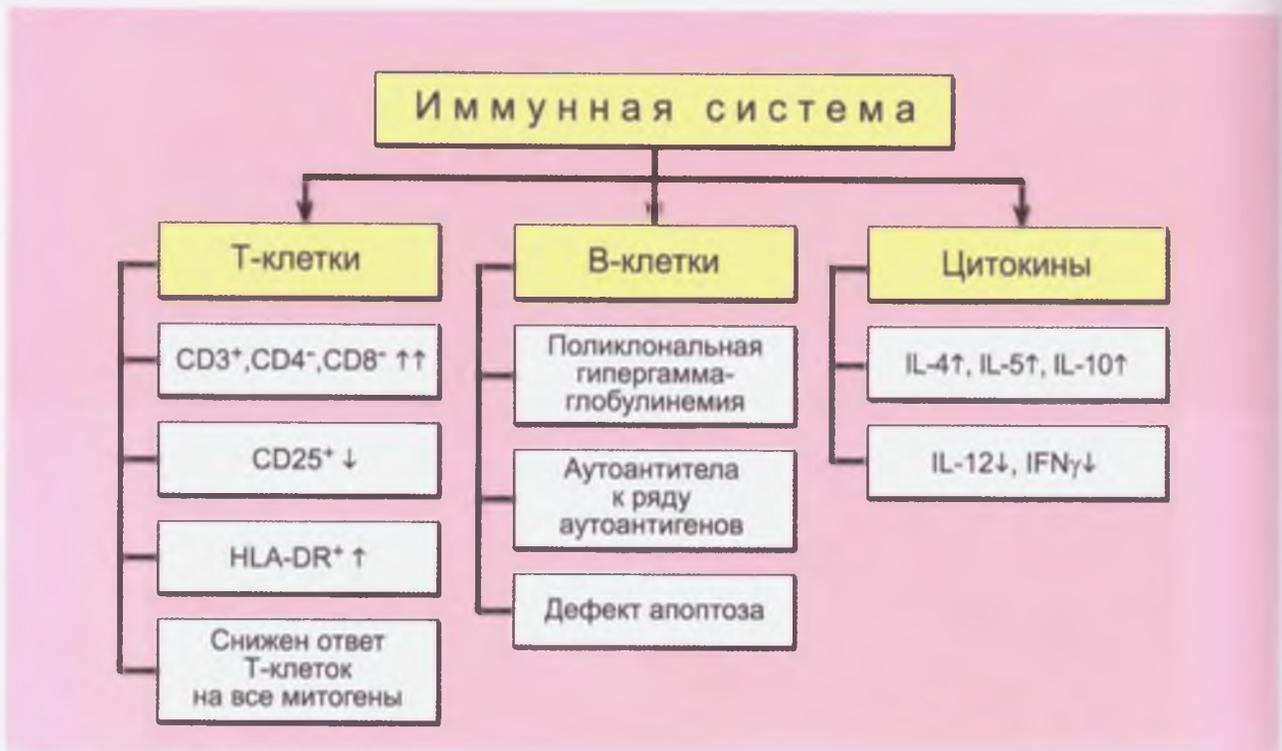


Рис. 487. Иммунная система больных аутоиммунным лимфопролиферативным синдромом

Диагностические критерии	
Обязательные	
1.	Хроническая незлокачественная лимфопролиферация
2.	Дефекты апоптоза лимфоцитов <i>in vitro</i>
3.	TCR α/β ⁺ , CD4 ⁻ , CD8 ⁻ , Т-клетки в периферической крови
Сопроводительные	
1.	Аутоиммунные проявления (аутоантитела)
2.	Мутации в генах <i>TNF RS F6</i> , <i>FasL</i> или каспазы-10
Классификация	
ALPS1a	Мутация гена <i>TNF RS F6</i>
ALPS1b	Мутация гена <i>Fas</i> лиганда
ALP8II	Мутация гена каспазы 10
ALP8III	Не уточнена генетическая причина

Рис. 488. Диагностические критерии и классификация аутоиммунного лимфопролиферативного синдрома

3.1.12. X-СЦЕПЛЕННЫЙ ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫЙ СИНДРОМ

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

В 1975 г. Purtilo и соавт. описали тяжёлый первичный иммунодефицит, который характеризуется неспособностью развивать иммунный ответ к вирусу Эпштейна–Барр (EBV). Вирус проникает в В-клетки путём взаимодействия gp150 вируса с рецептором CD21 клетки. У больных происходит поликлональная активация В-клеток и беспрепятственная репликация вируса. Это заболевание получило название X-сцепленный лимфопролиферативный синдром (*X-linked lymphoproliferative syndrome*) — XLP. Для XLP характерны три особенности: скоротечный инфекционный мононуклеоз, В-клеточные лимфомы (или лимфопролиферация) и дисгаммаглобулинемия, прогрессирующая к гипогаммаглобулинемии. Заболевание встречается с частотой 1–3 случая на 10⁶. XLP является смертельным заболеванием; 70% больных умирают в возрасте до 10 лет.

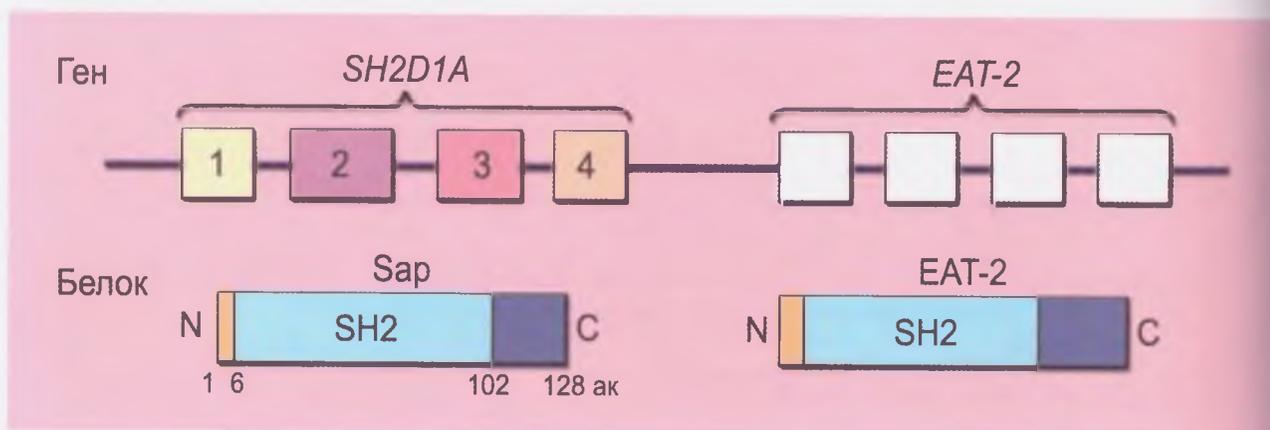


Рис. 489. Строение гена *SH2D1A*

XLP является результатом мутации в гене *SH2D1A* [*Src homology 2 (SH2) domain 1A*], который кодирует небольшой адапторный белок Sap [*signaling lymphocytic activation molecule (SLAM) – associated protein*] с молекулярной массой 15–17 kDa, состоящий из 128 аминокислотных остатков. Мутации могут затрагивать любой из четырёх экзонов гена и представляют собой большие и малые делеции, вставки, замены нуклеотидов, сплайсин-

говые мутации. Чаще страдает экзон 2. Характерной чертой белка Sap является большой N-терминальный SH2-домен (остатки 6–102) и маленький (остатки 103–128) C-терминальный конец. Рядом с геном *SH2D1A* локализуется ген *EAT-2*, кодирующий белок с таким же названием и имеющей с Sap сходное строение. Однако в отличие от Sap, EAT-2 не содержит сайта для взаимодействия с киназой Fyn и поэтому в передаче сигнала не участвует.

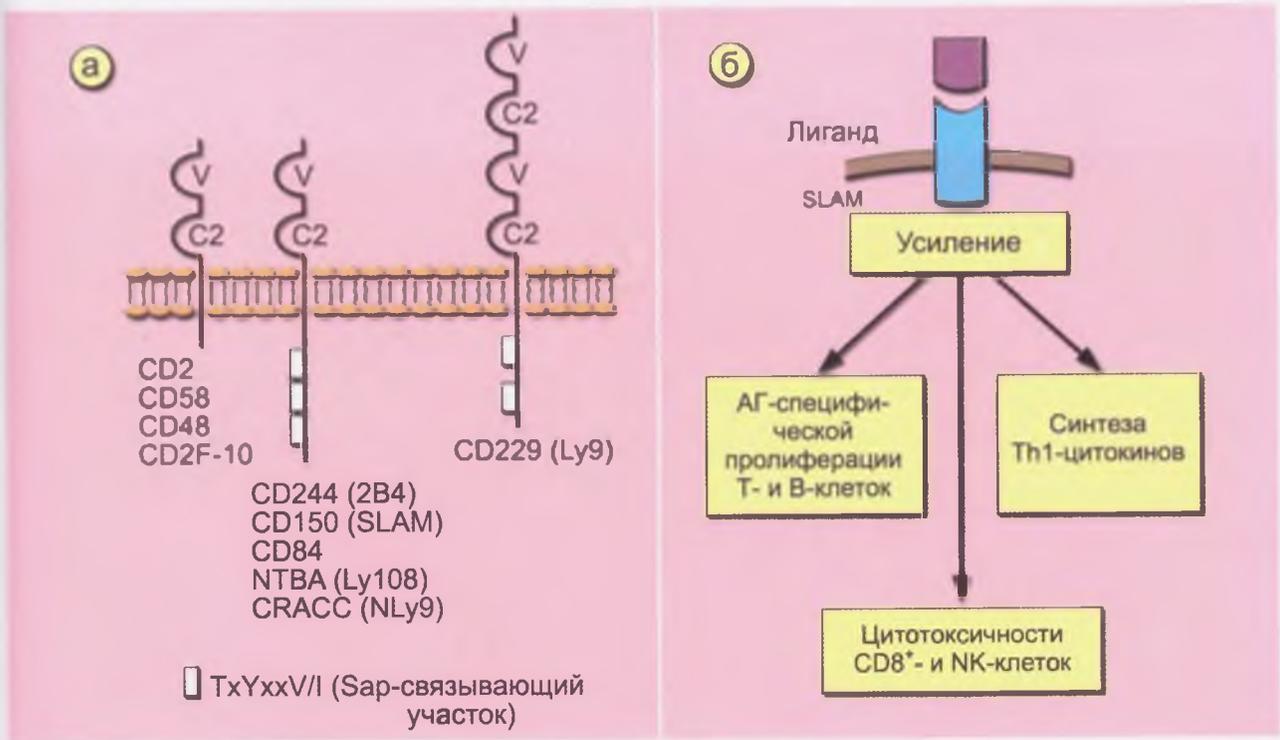


Рис. 490. Строение рецепторов CD2-подкласса суперсемьи Ig-рецепторов (SLAM)

а. Семья Ig-рецепторов SLAM включает SLAM-рецептор (CD150), 2B4-рецептор (CD244), CD84, АГ NK-, Т- и В-лимфоцитов (NTBA), CD2-подобный рецептор активированных цитотоксических клеток (CRACC, CD319), CD2, CD58, CD48, Ly9 у мышей (CD229). В норме SLAM-рецепторы слабо экспрессируются на МФ, ДК, Т- и В-лимфоцитах. При активации их экспрессия сильно возрастает. За исключением мышиных рецепторов все SLAM-рецепторы человека имеют два внеклеточных распознающих Ig-домена. Цитоплазматический участок некоторых SLAM-рецепторов (SLAM, 2B4, NBTA, CRACC, Ly9) содержит консервативный тирозиновый сигнальный мотив TxYxxV/I. Этот участок ответствен за связывание с адапторным белком Sar. Большинство SLAM-рецепторов способны к гомофильному взаимодействию, т.е. одна и та же молекула является и лигандом, и рецептором. Исключение составляет рецептор 2B4, экспрессируемый на NK- и CD8⁺-Т-клетках. Для него лигандом является молекула CD48, экспрессируемая на В-клетках. При инфекции EBV экспрессия этой молекулы резко понижается и, соответственно, резко понижается цитотоксическая активность, опосредованная NK- и CD8⁺-клетками. Это может быть одной из причин плохого ответа иммунной системы на этот вирус. При связывании SLAM-рецептора с лигандом белок Sar движется к сигнальному участку SLAM-рецептора и активирует протеинкиназу Fyn. Эта киназа фосфорилирует тирозин цитоплазматического участка SLAM-рецептора, что инициирует комплекс сигналов, приводящих к развитию противовирусного ответа. Очевидно, что SLAM-рецепторы играют важную роль в развитии иммунитета против EBV. Однако в мышиной модели нокауты ни одного из этих рецепторов не вызвали повышенной чувствительности мышей к данному вирусу. В то же время единичная мутация в положении 78 белка Sar полностью отменяет привлечение киназы Fyn к сигнальному участку SLAM-рецептора, его фосфорилирование и проведение сигнала. Причина, почему мутация в одном SH2-доме адапторного белка Sar, обслуживающего большое количество рецепторов, ведёт к таким драматическим последствиям, как развитие XLA, неясна. Возможные причины обсуждаются на следующем рисунке. Следует отметить, что не все SLAM-рецепторы являются сигнальными. Рецепторы CD2, CD58 и другие не содержат тирозинового домена. Как известно, эти рецепторы играют важную роль в образовании иммунного синапса.

б. На рисунке представлен комплекс событий, который развивается при связывании лигандом SLAM-рецептора.

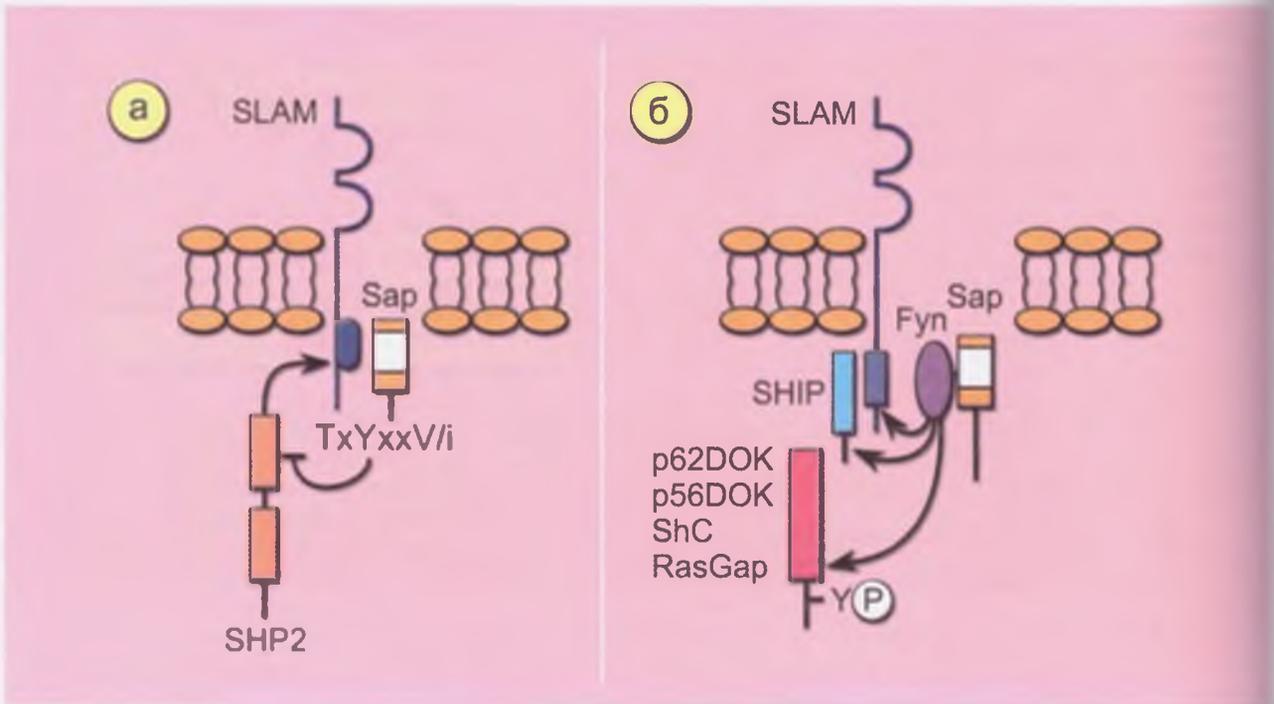


Рис. 491. Модели взаимодействия SLAM-рецептора с белком Sap

Имеется несколько моделей регуляторного действия Sap-белка как ингибитора (а) и как адаптора (б).

а. Предполагают, что Sap ингибирует присоединение к субстрату тирозинфосфатаз. Когда рецептор SLAM взаимодействует с лигандом, происходит фосфорилирование его TxyxxV/I-домена Src-киназами Fyn или Lck. Тогда этот домен реагирует с SH2-доменом белка Sap и препятствует взаимодействию фосфатазы SHP-2 с тирозиновым доменом рецептора SLAM, что делает возможным проведение активационного сигнала от этого рецептора. В Т- или NK-клетках, мутантных по Sap, фосфатаза SHP-2 свободно соединяется с рецептором SLAM, дефосфорилирует его и ингибирует передачу сигнала. Не происходит активации основных противовирусных эффекторов — Т- и NK-клеток, что ведёт к бесконтрольному размножению EBV.

б. Показано, что белок Sap связывается с тирозинкиназой Fyn и «подтягивает» её к цитоплазматическому домену рецептора SLAM. Происходит фосфорилирование тирозинового домена SLAM, что и создаёт участок для «причаливания» (докинг-сайт) фосфатазы SHIP (*SH2-domain containing inositol phosphatase*), которая фосфорилируется и связывается с адапторными белками p62DOK, p56DOK, ShC и RasGap. Всё это инициирует сигнальные пути, приводящие в конечном итоге к активации Т- и NK-клеток.

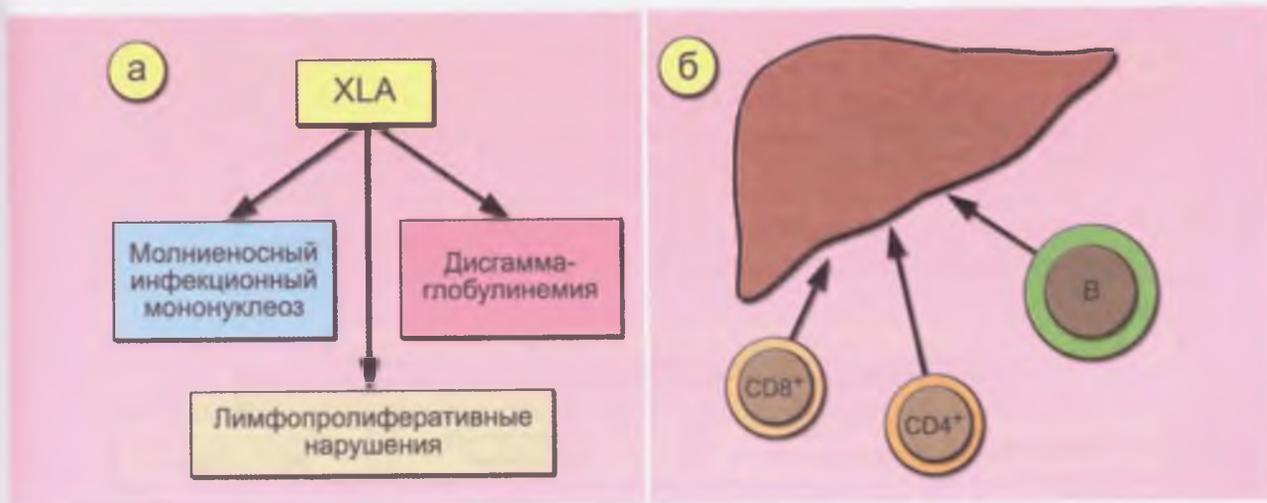


Рис. 492. Клиническая картина X-сцепленного лимфопролиферативного синдрома

а. Спектр клинических проявлений и лабораторных изменений при XLP очень разнообразен. У 50% больных EBV вызывает поликлональную пролиферацию В-, Т-клеток, МН/МФ. Эти клетки инфильтрируют печень и почки, вызывая нарушение функций этих органов. Примерно у 30% больных XLP развиваются злокачественные и доброкачественные лимфоидные новообразования. В большинстве случаев эти новообразования являются лимфомами В-клеточного происхождения, но встречаются и Т-лимфомы. Как правило, выявить EBV в этих клетках не удаётся. У 30% больных наблюдается дисгаммаглобулинемия, проявляющаяся на 1-м этапе в понижении IgG1 и IgG3 и в повышении IgA и IgM. Далее происходит понижение всех классов иммуноглобулинов. В 3% случаев встречается апластическая анемия, некротизирующий васкулит, лёгочные лимфоидные гранулёмы и эозинофилия. Отсутствуют НКТ-клетки и резко снижено количество NK-клеток.

б. При XLP поражается ряд органов и тканей, но превалирующим является поражение печени. Этот орган инфильтрируется EBV-инфицированными В-клетками, а также активированными CD8⁺ и CD4⁺ Т-клетками, вызывающими некроз печёночной ткани. Печёночная недостаточность — одна из главных причин смертности больных XLP.

3.1.13. X-СЦЕПЛЕННЫЙ СИНДРОМ ИММУНОДИСРЕГУЛЯЦИИ, ПОЛИЭНДОКРИНОПАТИИ И ЭНТЕРОПАТИИ

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

X-сцепленный синдром иммунодисрегуляции, полиэндокринопатии и энтеропатии (*Immunodysregulation, Polyendocrinopathy, Enteropathy, X-linked, IPEX*) является результатом мутаций в гене *FOXP3*, ведущих к нарушению развития регуляторных Т-клеток (Treg) в тимусе и появлению аутоагрессивных лимфоцитов, обуславливающих развитие перечисленных выше синдромов.

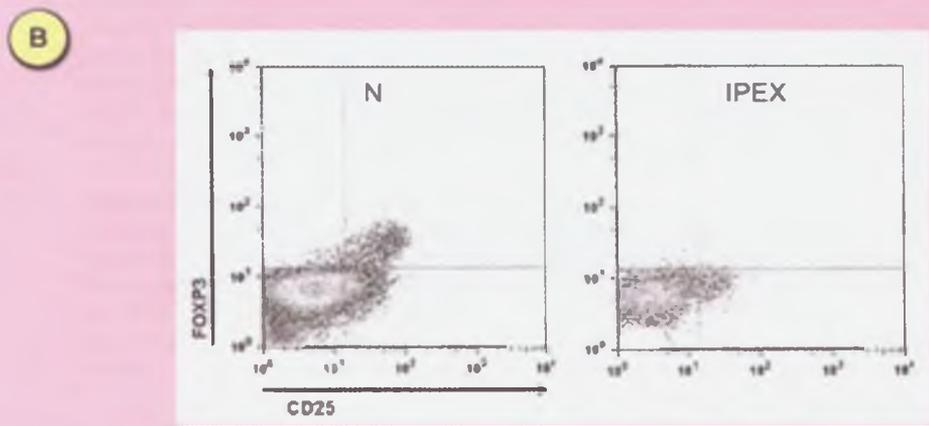
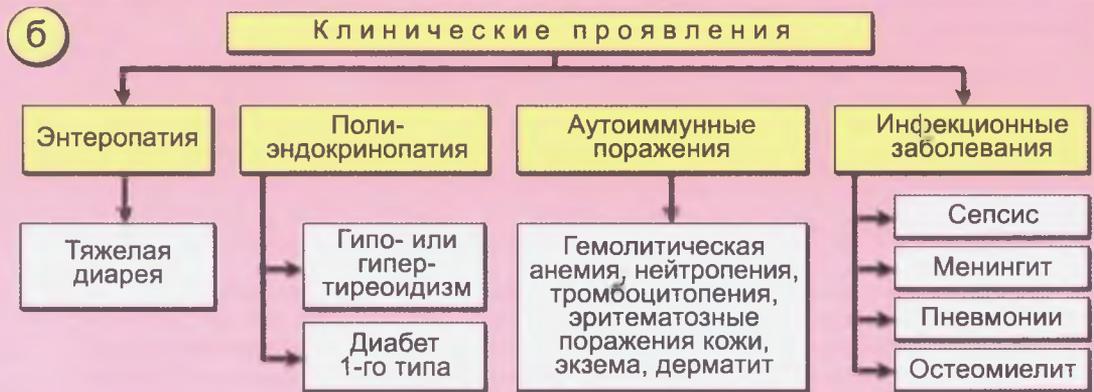


Рис. 493. X-сцепленный синдром иммунодисрегуляции, полиэндокринопатии и энтеропатии: патогенез и клиника

а. IPЕХ-синдром возникает в результате мутаций в гене *FOXP3*, преимущественно экспрессируемом в клетках лимфоидной ткани, в частности в $CD4^+CD25^{\text{bright}}$ Т-клетках. Этот ген кодирует синтез транскрипционного фактора FOXP3, играющего ведущую роль в эмбриогенезе, онтогенезе и метаболизме. На С-конце этот фактор содержит вилкообразный (по данным рентгеноструктурного анализа) ДНК-связывающий домен (1), от которого зависит соединение с ДНК при транслокации фактора в ядро. Затем располагаются богатая лейцином последовательность в виде молнии (2), участвующая во взаимодействии белок–белок, и пальцеобразная последовательность, связывающая Zp (3). С помощью последовательности в виде молнии молекулы FOXP3 взаимодействуют друг с другом, образуя гомодимер, который транслоцируется в ядро. На N-конце FOXP3 находится супрессорный домен (4), определяющий функцию этого белка как супрессорного фактора (4). Этот домен распознаёт последовательности ДНК, расположенные по соседству с промоторами генов ряда цитокинов, активируемых транскрипционными факторами NF-AT и NF-κB. Следствием этого является ингибция синтеза IL-2, IL-4 и IFNγ. Как видно из рисунка, мутации, ведущие к развитию IPЕХ-синдрома, поражают практически все домены гена *FOXP3*. Эти мутации ведут к резкому понижению уровня $CD4^+$ Т-лимфоцитов, понижению экспрессии транскрипционного фактора FOXP3 и гиперактивации иммунной системы вследствие дефицита регуляторных Т-клеток.

б. Клинические проявления X-сцепленного синдрома иммунодисрегуляции, полиэндокринопатии и энтеропатии.

Самыми ранними проявлениями заболевания являются сахарный диабет 1-го типа и диарея, которые развиваются на первом году жизни ребёнка. Другие клинические симптомы проявляются позже, и они представлены поражениями кожи, крови, инфекционными процессами, которые в основном вызывают *Enterococcus* и *St. aureus*.

в. Главным методом иммунодиагностики является идентификация в $CD4^+CD25^+$ Т-лимфоцитах транскрипционного фактора FOXP3, что достигается с помощью моноклональных антител и проточной цитометрии. На рисунке в верхнем правом квадрате представлены $CD25^+$ -клетки, содержащие FOXP3. В отличие от здорового человека у больного IPЕХ-синдромом такие клетки отсутствуют.

3.1.14. ГЕМОФАГОЦИТАРНЫЙ ЛИМФОГИСТИОЦИТОЗ

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

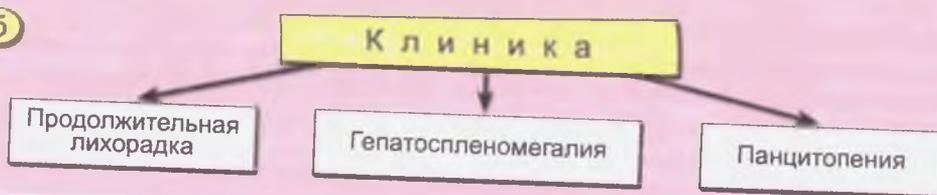
Гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (*hemophagocytic lymphohistiocytosis, HLH*) — это группа заболеваний, при которой имеется генетический дефект цитолитических гранул. Заболевания характеризуются неконтролируемой пролиферацией гистиоцитов и лимфоцитов без признаков злокачественного перерождения, синтезирующих избыточные количества провоспалительных цитокинов.

а

Формы гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза



б



в

Показатели иммунной системы

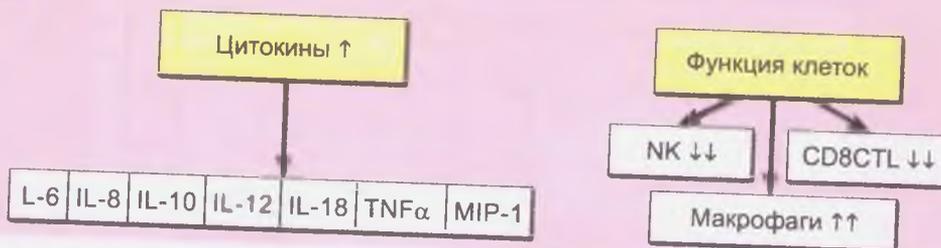


Рис. 494. Этиология и клиническая картина гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза

а. HLH бывает наследственным (генетическим) и приобретённым. Генетические формы включают семейный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (FHLH), синдромы Грисцелли и Чедиака-Хигаси, X-сцепленный лимфопролиферативный синдром, более подробно представленные на соответствующих рисунках.

б. Клиника гемофагоцитарного лимфогистиоцитоза.

в. Иммунная система больных гемофагоцитарным лимфогистиоцитозом.

3.1.15. ДЕФИЦИТЫ НК-КЛЕТОК

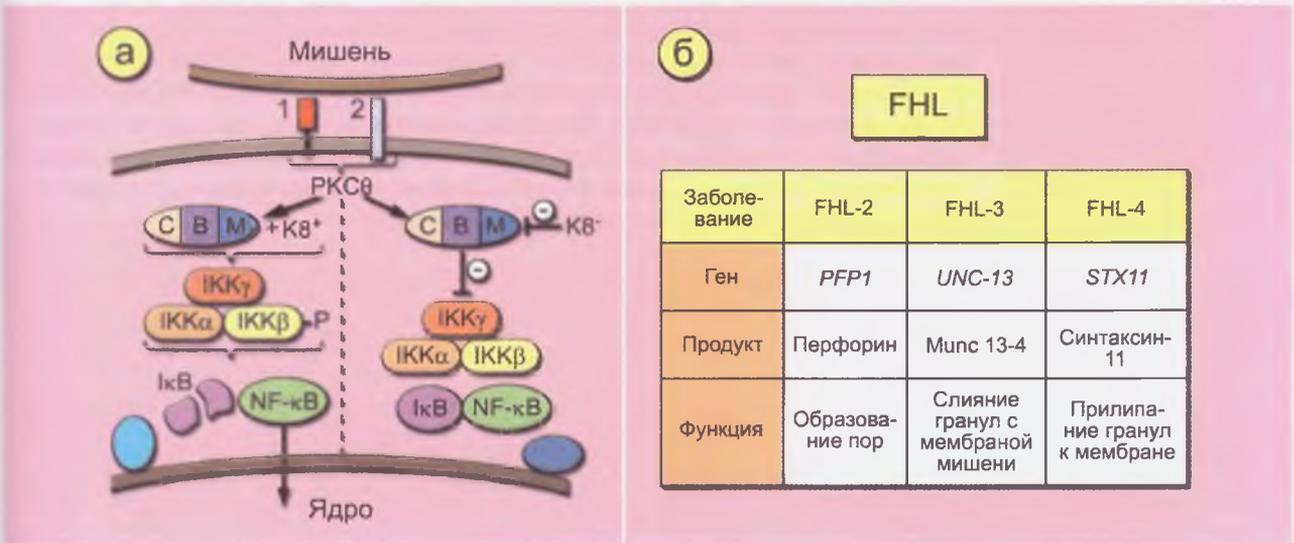


Рис. 495. Заболевания, сопровождающиеся дефицитом НК-клеток

а. Дефицит каспазы 8 (*caspase 8 deficiency, CAD*). При взаимодействии с мишенями, опосредованном через рецепторы FcγRIII (1) или 2B4 (2), в НК-клетках больных CAD не происходит транслокации транскрипционного фактора NF-κB в ядро. Это связано с тем, что в норме при связывании с мишенью протеинкиназа РКС вовлекает в иммунный синапс три адапторных белка CARMA1, Vcl10 и MALT1 (CBM). Эти адапторные белки с участием каспазы 8 активируют комплекс киназ IKK, следствием чего является разрушение ингибитора IκB и транслокация транскрипционного фактора NF-κB в ядро. У больных CAD каспаза 8 не связывается с комплексом CBM и не происходит последующих этапов активации, ведущих к транслокации транскрипционного фактора NF-κB в ядро. Эта транслокация необходима для нормального функционирования НК-клеток. Снижение функциональной активности НК-клеток, а также Т- и В-клеток является причиной развития иммунодефицитных состояний у больных CAD, в частности герпетических поражений кожи и других инфекций. Больные с CAD имеют некоторые общие клинические признаки с больными ALPS. Однако у больных ALPS нет таких комбинированных нарушений НК-, Т- и В-клеток, как у больных CAD.

б. Семейный гемофагоцитарный лимфогистиоцитоз (*familial hemophagocytic lymphohistiocytosis, FHLH*) был впервые описан в 1952 г. J. Faquhar и A. Claireaux. Это заболевание характеризуется гиперактивацией МФ и Т-клеток, преимущественно CD8⁺-HLA-DR⁺, гиперцитокинемией и гемофагоцитозом, особенно в костном мозгу. Заболевание характеризуется также развитием герпетических инфекций, неспособностью развивать цитотоксическую активность и элиминировать возбудителя, что ведёт к системному воспалительному процессу. Встречается с частотой 1:50 000. Различают три вида мутаций, ведущих к развитию различных форм FHLH: FHLH-2, -3 и -4 (см. таблицу). Генетическая природа формы FHLH-1 неизвестна.

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

Синдром Германски–Пудлака (*Hermansky–Pudlak syndrome, HPS*) — редкое аутосомно-рецессивное заболевание, характеризуется нейтропенией, кровотечениями, рекуррентными инфекциями. Как синдром Чедиака–Хигаси и Грисцелли, это заболевание также характеризуется альбинизмом кожи и глазного яблока. Заболевание развивается в результате мутации в гене *ADTB3A*, кодирующем β -цепь адапторного белка AP-3. Этот белок участвует в транспорте других белков во вновь синтезированные везикулы и в дальнейшем способствует перемещению этих везикул в поздний эндосомальный компартмент. Следствием этого дефекта является образование гигантских литических гранул.

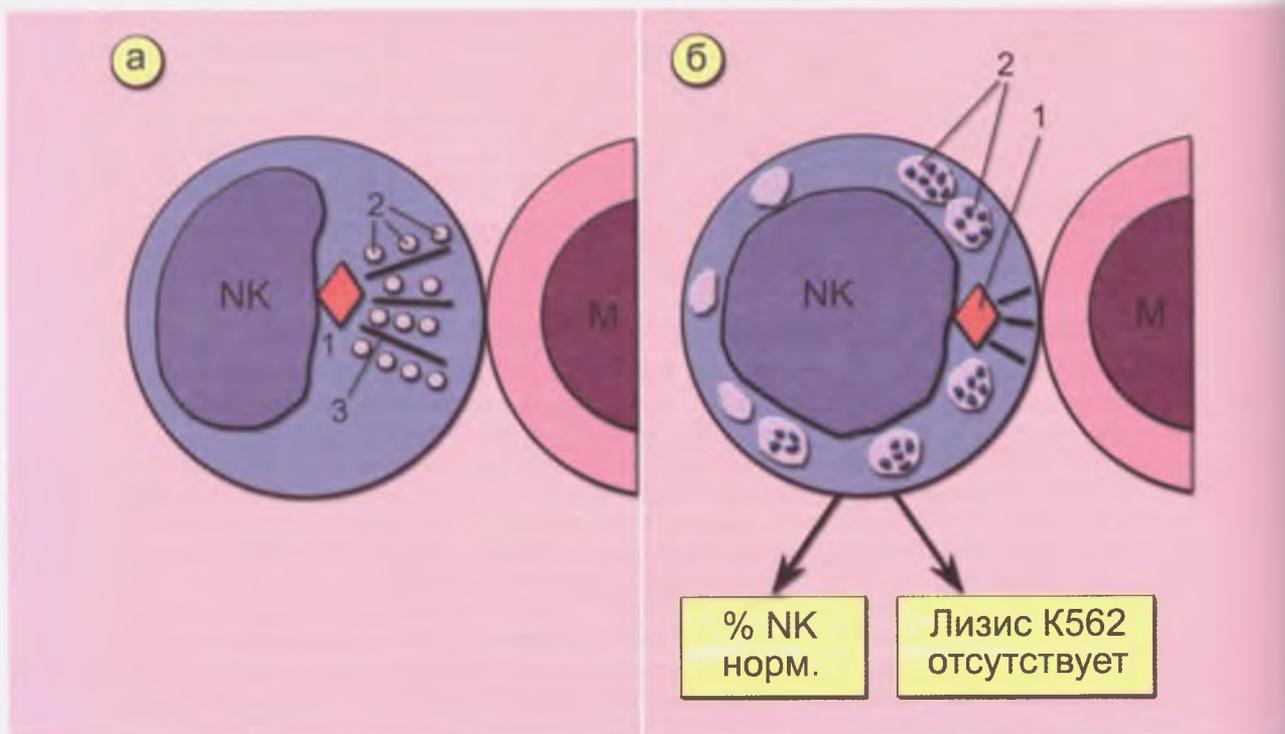


Рис. 496. Синдром Германски–Пудлака II типа, или дефицит AP-3

- а.** После взаимодействия с мишенью в нормальных NK-клетках или CTL центр организации микротрубочек МТОС (1) поляризуется по направлению к мишени, микротрубочки (3) вытягиваются к иммунологическому синапсу, а литические гранулы выстраиваются вдоль этих микротрубочек.
- б.** После взаимодействия с мишенью литические гранулы (2) NK-клетки больных HPS продолжают оставаться разбросанными по цитоплазме, хотя и могут быть в ассоциации с микротрубочками. Движения литических гранул по направлению иммунологического синапса не происходит. Цитолитическая реакция не развивается.

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Синдром Папийона–Левевра (*Papillon–Lefevre syndrome, PLS*) — редкое аутомно-рецессивное заболевание, характеризующееся гиперкератозом ладоней и подошв, тяжёлым периодонтитом, абсцессами печени и инфекционными поражениями кожи.

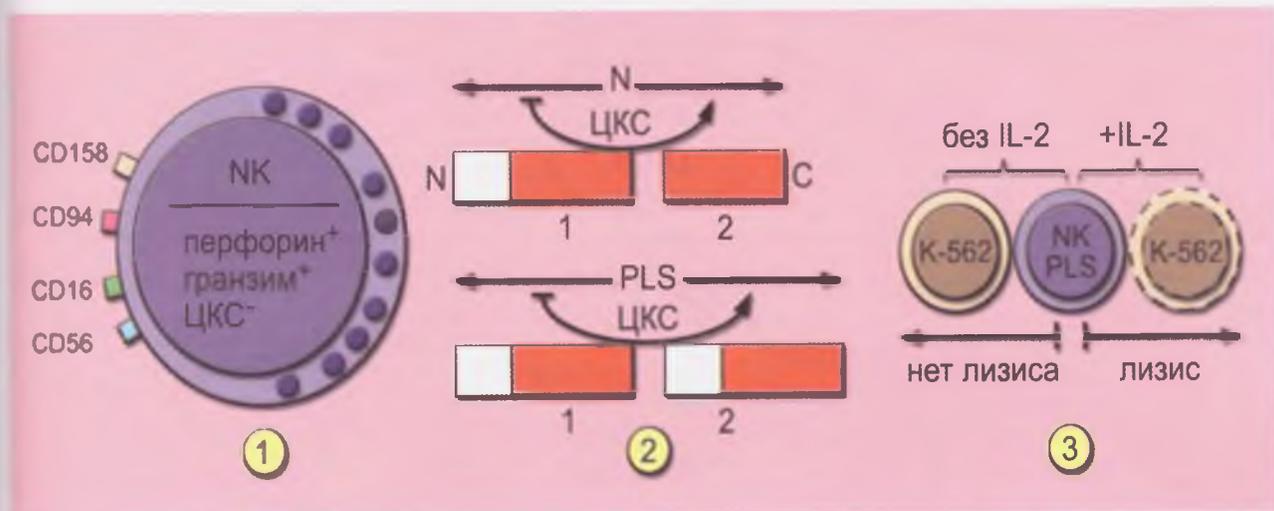


Рис. 497. Синдром Папийона–Левевра, или дефицит катепсина С

1. В NK-клетках больных PLS отсутствуют активные гранзимы А и В и имеется дефект цистеиновой протеазы катепсина С (ЦКС). Уровень перфорины в таких NK-клетках нормальный, иммунофенотип не изменен. Дефект ЦКС возникает в результате мутации в гене *CTSC*, кодирующем эту протеазу.

2. В нормальных NK-клетках гранзимы А и В находятся в виде неактивной проформы (1). ЦКС отщепляет от этой проформы N-концевой пептид с образованием активных гранзимов, которые являются сериновыми протеазами (2). Такие NK-клетки вызывают цитоллиз клеток-мишеней К-562. При PLS в результате мутации в гене *CTSC* не происходит образования активных гранзимов из проформы, не происходит активации каспазного каскада и цитолитическая реакция не развивается.

3. При культивировании мононуклеаров больного PLS с IL-2 способность NK-клеток больного лизировать клетки К-562 восстанавливается, причём количество активных гранзимов после IL-2-активации примерно одинаковое в мутантных и нормальных лимфоцитах, что говорит о наличии ЦКС-независимого пути расщепления гранзимов.

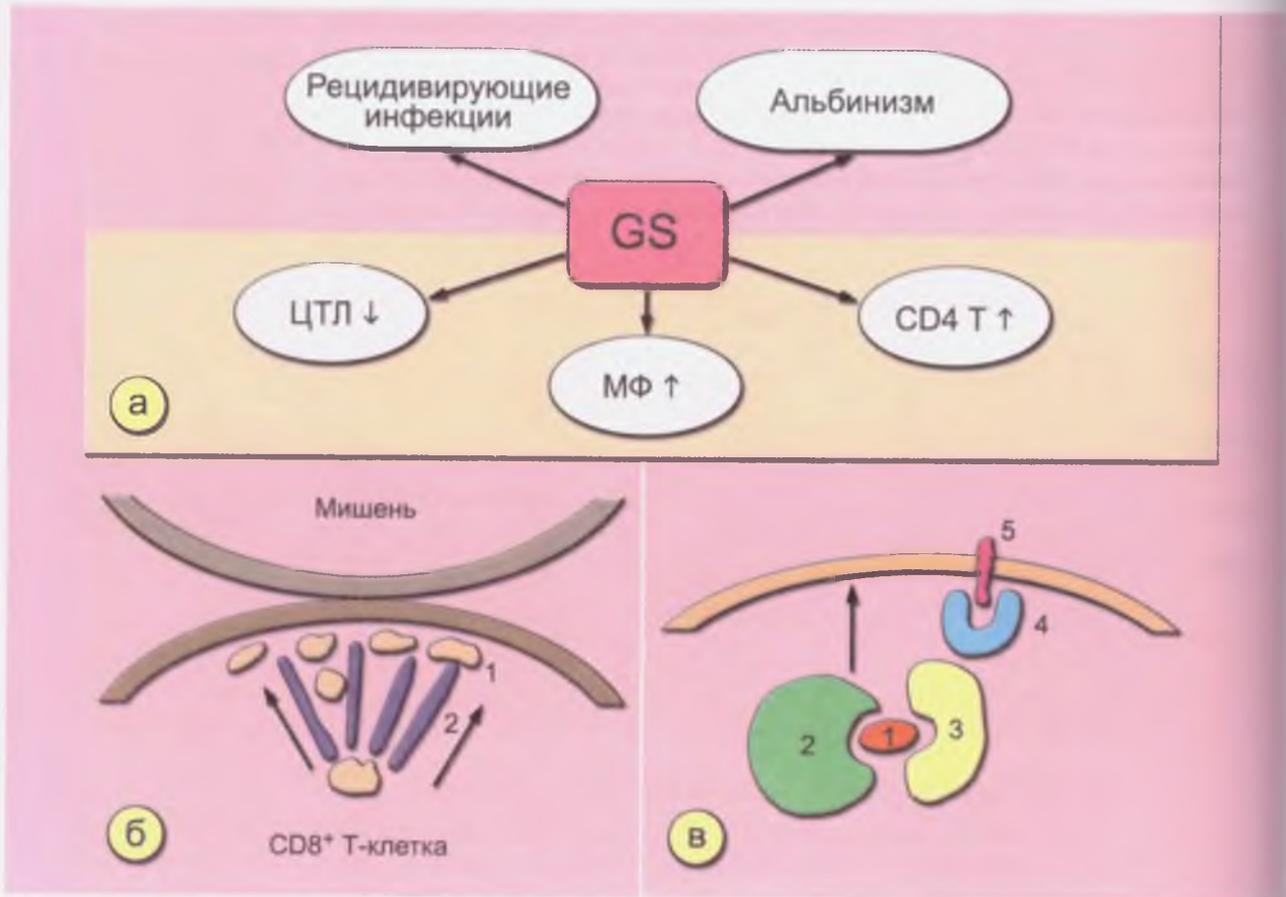


Рис. 498. Синдром Грисцелли II типа

а. Синдром Грисцелли (*Griscelli syndrome, GS*) характеризуется дефектом цитотоксических CD8⁺ Т-клеток, гиперактивацией Т-клеток и МФ и развитием гемофагоцитарного синдрома.

б. При взаимодействии с мишенью в CD8⁺ Т-клетках происходит поляризация микротрубочек (2) по направлению к иммунологическому синапсу, движение цитолитических гранул (1) по этим микротрубочкам и накопление их в районе иммунологического синапса. Однако слияния гранул с мембраной CD8⁺ Т-клетки и экзоцитоза гранул у больных GS не происходит, поэтому не развивается киллинг мишени. Это является главной причиной появления у больных GS тяжёлых рецидивирующих инфекций.

в. Развитие GS связано с мутациями в гене, кодирующем транспортный белок Rab27a. В клетке этот белок (1) находится в ассоциации с цитолитическими гранулами (2), а также с рядом других лизосомоподобных структур, например меланосомами. При образовании иммунологического синапса Rab27a реагирует с вспомогательным белком (3), который, в свою очередь, с помощью белков Munc 13-4 (4) и синтаксина 1a (5) связывается с мембраной CD8⁺ Т-клетки. При наличии мутантного белка Rab27a комплекс Munc 13-4 + синтаксин 1a не образуется и не происходит слияния цитолитических гранул с мембраной.



Рис. 499. Изолированные дефициты NK-клеток

Описаны больные с изолированными дефицитами NK-клеток. При всех видах дефицитов NK-клеток наблюдается преобладание вирусных инфекций, преимущественно герпетических.

3.1.16. ХРОНИЧЕСКАЯ ГРАНУЛЁМАТОЗНАЯ БОЛЕЗНЬ

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Хроническая гранулёматозная болезнь (*chronic granulomatous disease, CGD*) — тяжёлое наследственное заболевание врождённого иммунитета, характеризующееся неспособностью фагоцитов убивать поглощённые бактерии. Причиной заболевания являются мутации в генах, кодирующих любой из 7 составляющих компонентов NADPH-оксидазы (см. рис. 14). Гены *CYBB* и *CYBA* кодируют соответственно компоненты gp91phox и p22phox цитохрома b558. Ген *CYBB* расположен на коротком плече X-хромосомы. Мутации этого гена ведут к развитию X-сцепленной формы заболевания, поражающей только мальчиков. Эти мутации выявляются в 65–70% всех случаев CGD. Гены, кодирующие p22phox, Rap1a и цитозольные компоненты, локализованы на различных аутосомах. Мутации этих генов составляют 30–35% всех случаев CGD. Они вызывают аутосомно-рецессивные формы заболевания. CGD встречается с частотой 1:100 000–1:250 000. История открытия этого заболевания представлена в примечании к рис. 14.

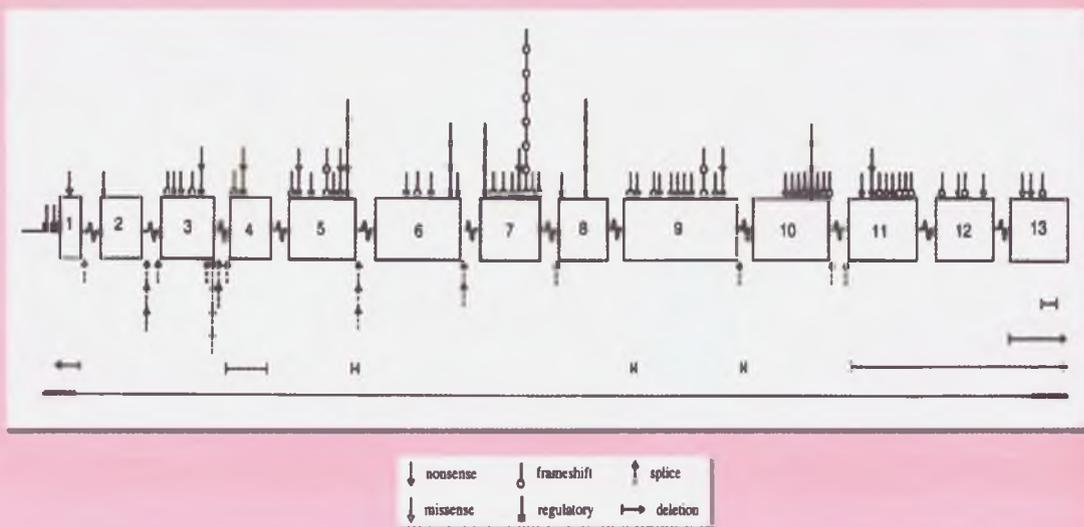


Рис. 500. Мутации гена *CYBB*, кодирующего субъединицу gp91phox флавоцитохрома b558

Ген *CYBB* локализован на хромосоме Xp21.1, имеет длину 30 kb и состоит из 13 экзонов. Мутации в этом гене ведут к развитию X-сцепленной хронической гранулёматозной болезни. Rae J. и соавт. (1998) осуществили анализ ДНК gp91phox у 131 ребёнка с клинической картиной CGD. У 15 человек (11%) выявлены делеции >3 kb, причем у 6 человек ген *CYBB* отсутствовал полностью. В этих случаях отсутствует и образование АФК, и сам цитохром (тип X91⁰). У одного ребёнка делеция затрагивала только один аминокислотный остаток. У такого ребёнка сохранилось 13% нормального уровня цитохрома и 19% нормального уровня АФК (тип X91⁺). У 24% детей обнаружена делеция или вставка одного нуклеотида (мутация со сдвигом рамки считывания). Эти мутации ведут к развитию CGD типа X91⁰.

При замене одного или двух оснований развиваются нонсенс- или миссенс-мутации. При нонсенс-мутации формируется стоп-кодон, считывание прекращается и все больные (23%) имеют X91⁰-фенотип. При миссенс-мутациях (23%) происходит считывание информации, однако вставляются «неправильные» аминокислоты, функция белка нарушена, но количество белка может быть нормальным (тип X91⁺). Сплайсинговые мутации (17%) происходят вблизи участков соединения экзонов. Эти мутации ведут к типу X91⁰. Описаны двое детей с необычными мутациями в регуляторной области с фенотипом X91⁺. У этих детей 90% АФК не образовывалось, а 10% образовывало нормальные количества.

Примечание. Каждая стрелка обозначает одного ребёнка.



Рис. 501. Принципы диагностики хронической гранулёматозной болезни

В основе иммунодиагностики CGD лежит идентификация продуктов кислородного взрыва, который происходит во всех фагоцитарных клетках при их активации и заключается в образовании АФК. Самым простым, но и вполне надежным является морфологический NBT-тест. Сущность его заключается в следующем. При поглощении фагоцитами красителя нитросинего тетразолия (NBT) этот краситель АФК, в основном супероксид-анионом (O_2^-), восстанавливается с образованием зёрен формазана,

легко подсчитываемых при световой микроскопии. Более надёжным является определение активных АФК с помощью хемилюминесценции, способной выявлять сверхслабое свечение. При окислении люминола перекисью водорода или люцигенина супероксид-анионом выделяются кванты света, и по интенсивности излучения можно судить о функциональной активности лейкоцитов. Высоконадёжным методом является определение внутриклеточной перекиси водорода с помощью проточной цитометрии.

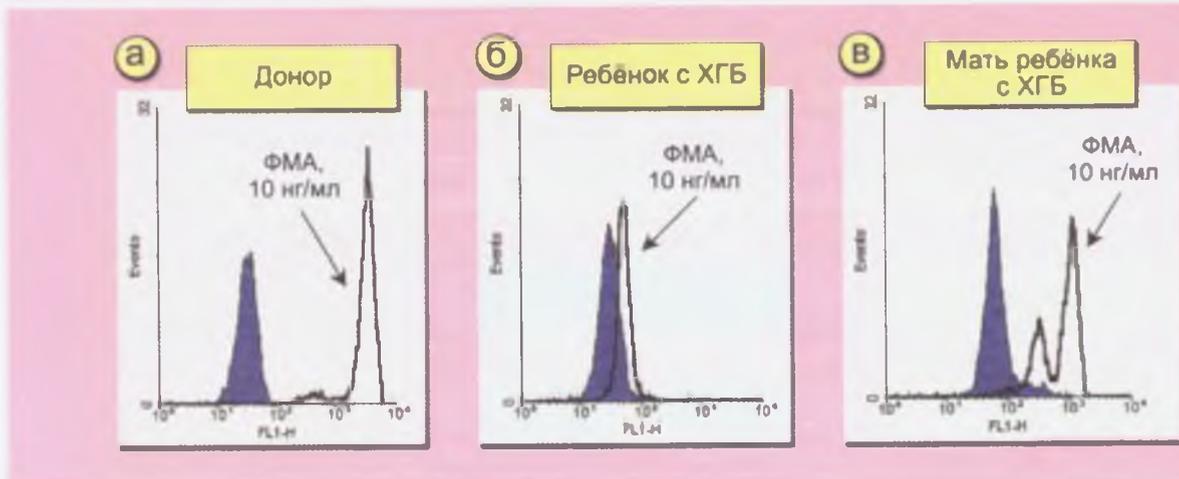


Рис. 502. Идентификация внутриклеточной перекиси водорода в лейкоцитах человека, страдающего хронической гранулёматозной болезнью, и его матери

К лейкоцитам больного добавляют изначально нефлуоресцирующий краситель дихлорфлуоресцеин-диацетат, который проникает в клетки. Под влиянием клеточных эстераз отщепляется ацетатная группа, и краситель теряет способность диффундировать из клетки.

При взаимодействии с перекисью водорода, образующейся во время кислородного взрыва, дихлорфлуоресцеин становится флуоресцирующим соединением, что позволяет анализировать клетки по интенсивности свечения с помощью проточной цитометрии.

- а. Образование перекиси водорода лейкоцитами здорового донора под влиянием форболмирикат-ацетата (ФМА), мощного индуктора кислородного взрыва.
- б. Образование перекиси водорода лейкоцитами больного под влиянием ФМА (практически отсутствует).
- в. Образование перекиси водорода лейкоцитами матери ребёнка под влиянием ФМА: часть лейкоцитов несёт здоровый ген, часть — мутантный. Следствием этого является наличие двух пиков светящихся клеток (с высоким и низким уровнем перекиси соответственно).

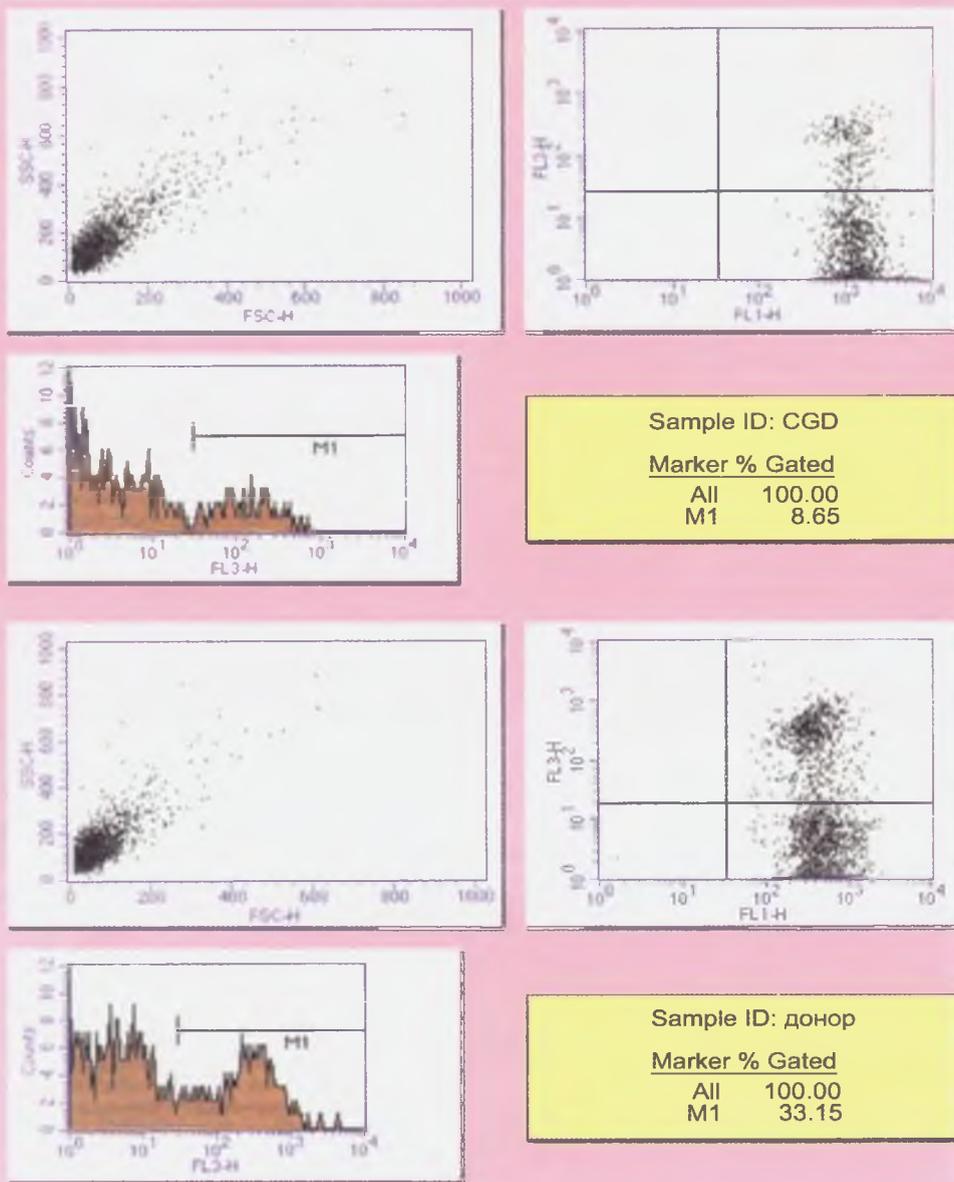


Рис. 503. Бактерицидная активность лейкоцитов человека, страдающего хронической гранулематозной болезнью

St. aureus красят зелёным флюорохромом флюоресцеин-изотиоцианатом и смешивают с лейкоцитами периферической крови больного. Инкубируют 20 мин при 37°. Удаляют бактерии, не проникшие в клетку, лейкоциты инкубируют ещё 60 мин и затем лизируют. Освободившиеся бактерии докрашивают красным красителем пропидиум-йодидом. Общая популяция бактерий

светится зелёным светом, убитые бактерии — зелёным и красным. С помощью проточного цитометра определяют процент красных клеток среди зелёных.

Нижнее окно: за 60 мин лейкоциты здорового донора убили 33% поглощённых бактерий. Верхнее окно: за это время лейкоциты больного CGD убили 8% поглощённых бактерий.

Клинические проявления

Инфекции	%
Пневмония	70-80
Лимфаденит	60-80
Кожные инфекции	60-70
Печёночные и поддиафрагмальные абсцессы	30-40
Остеомиелиты	20-30
Параректальные абсцессы и свищи	15-30
Сепсис	10-20
Средний отит	10-20

Хронические состояния	%
Лимфаденопатия	98
Гипергаммаглобулинемия	60-90
Гепатоспленомегалия	50-90
Анемия	~100
Дефицит массы тела	70
Отставание роста	50
Хроническая диарея	20-60
Гингивиты	50

Рис. 504. Клиника хронической гранулёматозной болезни

CGD — это первичный иммунодефицит, проявляющийся на первом году жизни тяжёлыми рецидивирующими бактериальными и грибковыми инфекциями. Поражаются в первую очередь органы, контактирующие с внешней средой: лёгкие, желу-

дочно-кишечный тракт, кожа и лимфатические узлы, дренирующие эти органы. Затем, вследствие гематогенного распространения инфекций, поражаются печень, мозг, кости, почки. Частыми возбудителями являются *St. aureus*, *Aspergillus*, *E. coli* и др.



Рис. 505. Воспалительная гранулёма человека, страдающего хронической гранулёматозной болезнью (фото предоставлено проф. И.В. Кондратенко)

3.1.17. СИНДРОМ ЧЕДИАКА–ХИГАСИ

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Синдром Чедиака–Хигаси (*Chediak–Higashi syndrome, CHS*) — редкое аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся частичным альбинизмом глаз и кожи, нарушениями функций тромбоцитов и тяжёлым иммунологическим дефицитом, проявляющимся в рецидивирующих бактериальных инфекциях. Характерным диагностическим признаком является наличие гигантских гранул, которые являются видоизменёнными лизосомами.

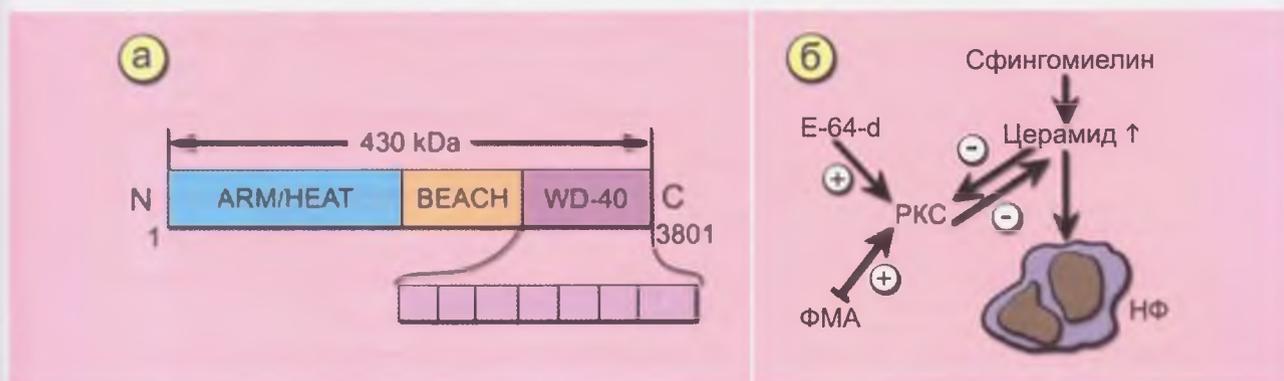


Рис. 506. Строение белка CHS/Beige (LIST)

а. Идентифицирован ген *CHS/Beige* (другое название *LIST*), мутация которого ответственна за синдром Чедиака–Хигаси. Доказано, что один и тот же ген ответствен за образование гигантских гранул у больных CHS, у мышей с мутацией *beige* и у алеутских норок со сходной мутацией. Ген кодирует белок из 3801 аминокислотных остатков. Установлены мутации, ведущие к образованию преждевременного стоп-кодона и укороченной формы белка. N-конец белка содержит последовательность ARM, которая, как предполагают, помогает белку взаимодействовать с мембраной. HEAT-последовательность связана с транспортом везикул. С-концевая половина белка содержит два домена (BEACH и WD-40), которые консервативны у всех гомологов данного белка. WD-40 состоит из семи идентичных последовательностей. Первая последовательность идентична β -субъединице G-белка. Считается, что домен WD-40 ответствен за белок-белковое взаимодействие.

б. Возможный механизм развития CHS. Лейкоциты больных CHS имеют повышенную скорость распада сфингомиелина. Соответственно, клетки этих больных имеют пониженный уровень сфингомиелина и повышенный уровень церамида. Церамид обладает двумя свойствами: во-первых, он индуцирует образование гигантских лизосом и эндосом, во-вторых, он ингибирует активность протеинкиназы C (ПКС). Есть предположение, что ПКС ингибирует эффект церамида. ФМА, индуктор ПКС, и E-64d (протектор ПКС от протеолиза) уменьшают размер лизосом в клетках мышей *beige* и у больных CHS. В этой схеме не совсем ясна роль белка CHS. Вероятно, этот белок участвует как адапторный или строительный (*scaffold*) белок в комплексе сигнальных путей, ведущих к развитию везикул и их движению.

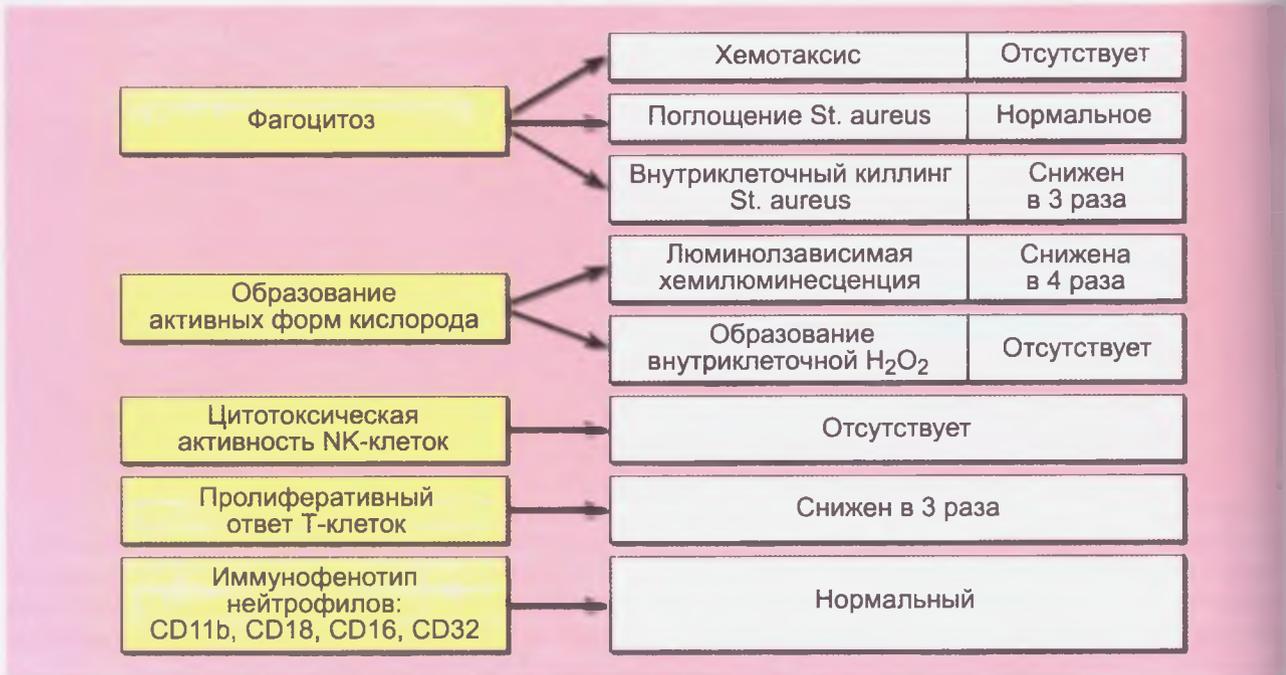


Рис. 507. Иммунная система больного синдромом Чедиака–Хигаси

На рисунке представлены данные иммунного статуса единственного ребёнка с CHS, выявленным в России проф. И.В. Кондратенко. Наиболее драматические изменения выявлены в фагоцитарной системе, НК- и Т-клетках, что согласуется с данными обследования девяти детей с CHS, выявленными в других странах. Неспособность НК-клеток и цито-

литических Т-клеток осуществлять свою функцию связана с неспособностью гигантских гранул к дегрануляции и, соответственно, к выделению литических молекул гранзимов и перфорина. Дефект фагоцитоза является результатом неспособности к образованию фагосом и АКФ. Таким образом, главный дефект касается образования гранул и их движения.

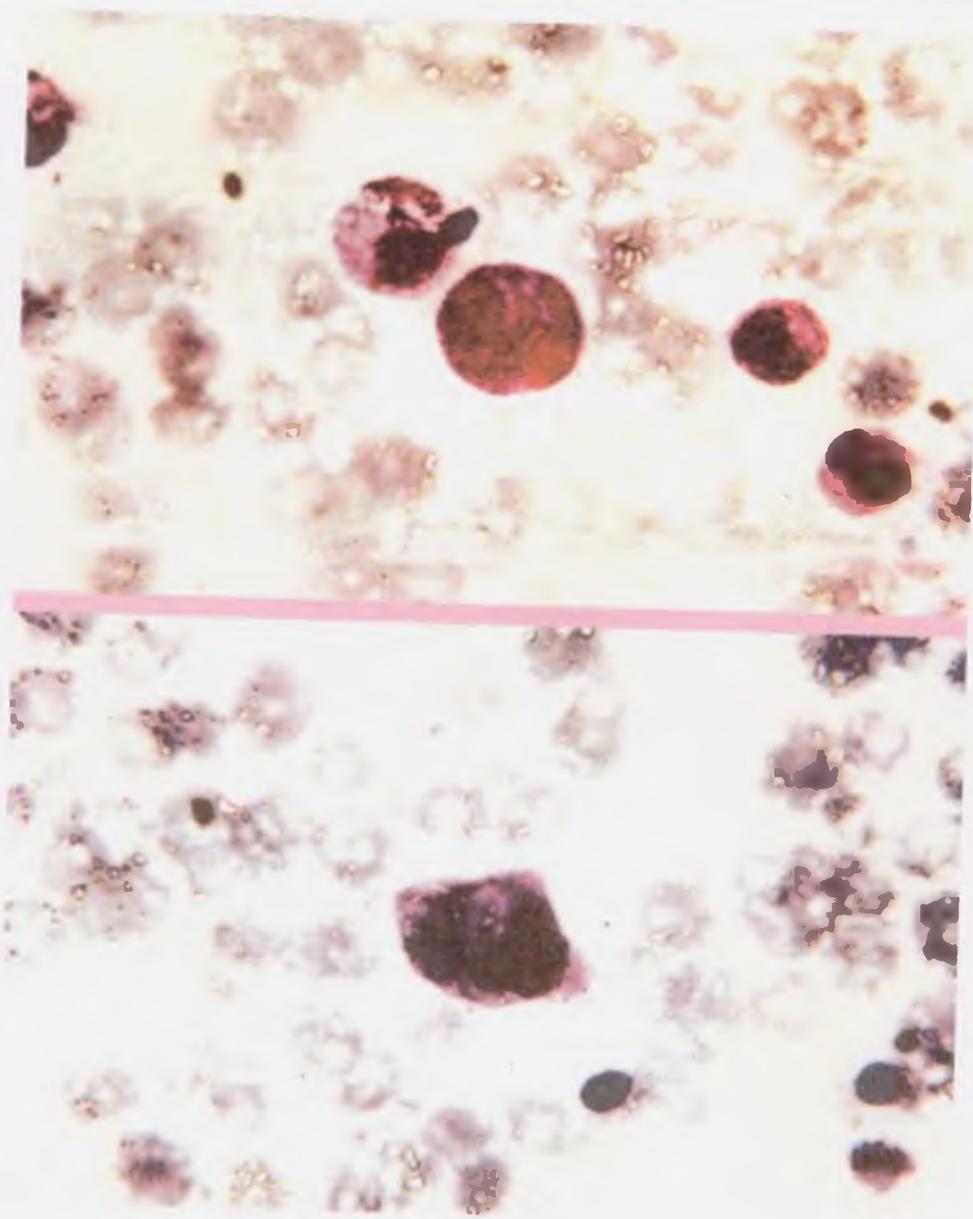


Рис. 508. Нейтрофилы больного синдромом Чедиака–Хигаси

На рисунке представлены гигантские гранулы НФ. Такие же гигантские гранулы обнаруживаются у цитотоксических $CD8^+$ Т-клеток и NK-клеток, в норме содержащих несколько небольших секреторных гранул. В меланоцитах кожи выявляются гигантские меланосомы (вариант секреторных ли-

зосом), содержащие меланин. Отсутствие выделения меланина из гигантских гранул, вероятно, является причиной альбинизма. Дефект, идентичный таковому у больных CHS, выявлен у мышей линии beige, крыс, коров, алеутских норок (фото представлено проф. И.В. Кондратенко).

3.1.18. ДЕФЕКТ АДГЕЗИИ ЛЕЙКОЦИТОВ

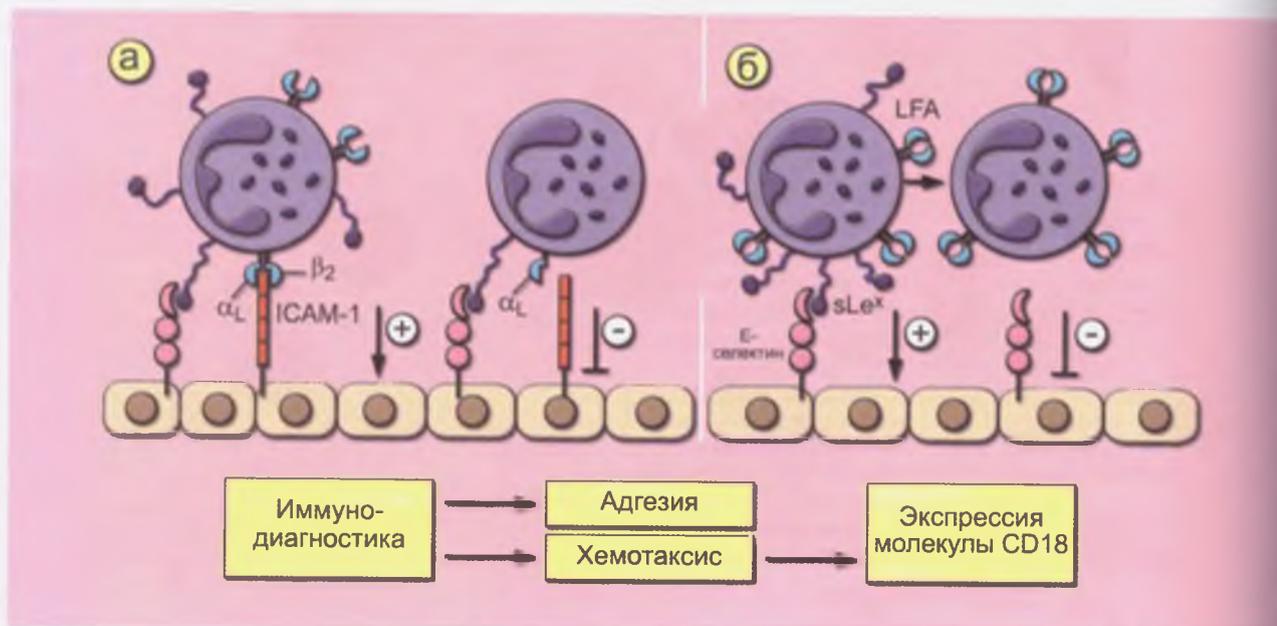


Рис. 509. Синдромы LAD-I и LAD-II

а. Дефект адгезии лейкоцитов II типа (*Leukocyte Adhesion Deficiency II, LAD-II*) является редким аутомсомно-рецессивным заболеванием, проявляющимся хроническими бактериальными и грибковыми инфекциями, не сопровождающимися образованием гноя. При LAD-II происходит мутация в гене β_2 -цепи интегринов. Прочное прикрепление мигрирующего нейтрофила к эндотелию сосуда происходит за счёт взаимодействия интегрина LFA (CD11a/CD18 или $\alpha_L \beta_2$) с молекулой из суперсемейства иммуноглобулинов ICAM-1. При LAD-II синтез молекулы β_2 не происходит или синтезируется неполноценная молекула, не способная взаимодействовать с ICAM-1. Миграции нейтрофила в очаг инфекции не происходит.

б. Синдром LAD-I характеризуется нарушением экспрессии гликопротеина НФ сиалил-Люисх (sLe^x или CD15s), что ведёт к отсутствию первого этапа взаимодействия нейтрофила с эндотелием — роллинга. Нейтрофил не проникает в воспалительный очаг. Иммунодиагностика такая же, как и при LAD-II-синдроме. Сходной является и клиническая картина. У части этих больных выявляется задержка умственного развития.

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Недавно была выявлена новая форма синдрома LAD — LAD-III, связанная с дефектом Rac-2. Этот белок является ГФ-азой из семьи Rho-белков, регулирующих активацию НФ и функционирование цитоскелета. Клиническая картина у больных LAD-III практически такая же, как и при других формах LAD.

3.1.19. ХРОНИЧЕСКИЙ КОЖНО-СЛИЗИСТЫЙ КАНДИДОЗ

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Главной чертой хронического кожно-слизистого кандидоза (ХКСК) является неспособность элиминировать дрожжи, преимущественно *Candida albicans*, вследствие чего происходит поражение этими микроорганизмами кожи и слизистых оболочек. Генетические причины, ведущие к развитию ХКСК, полностью не выяснены. При формах ХКСК, сопровождающихся развитием синдрома APECED, на хромосоме 21 выявлен дефектный ген, обозначенный как аутоиммунный иммунорегулятор 1 (AIRE-1), в котором обнаружено около 20 мутаций. Ген *AIRE-1* кодирует белок с молекулярной массой 58 kDa, который, вероятно, является транскрипционным фактором. Точная функция его неизвестна (Lilic D., 2002).

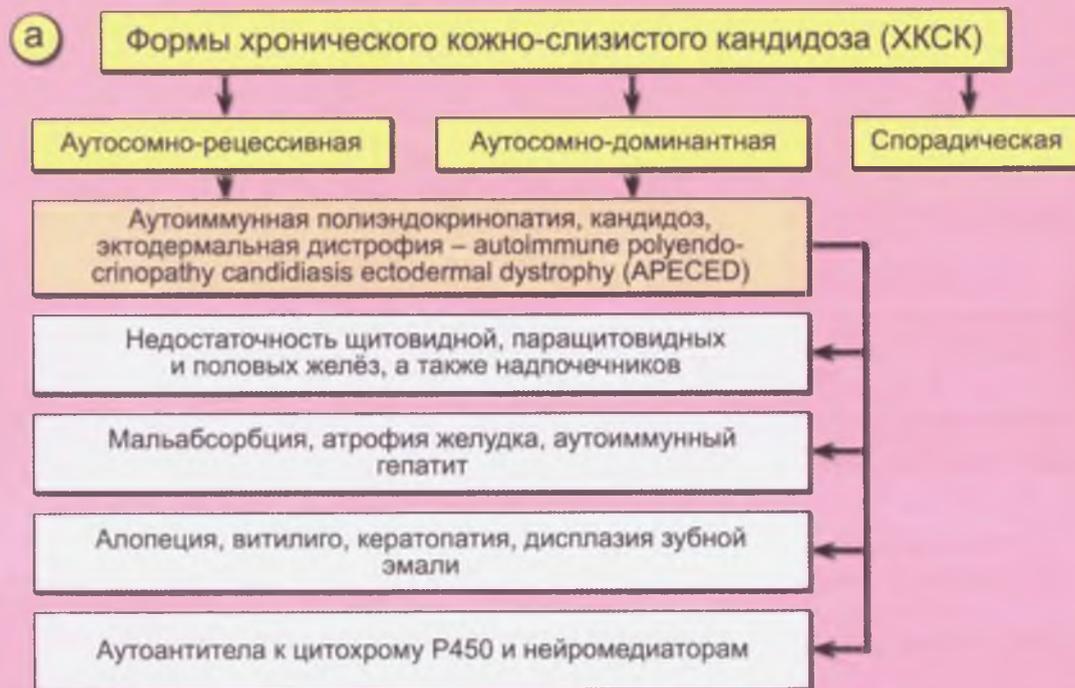


Рис. 510, а. Формы, клиника и иммунология хронического кожно-слизистого кандидоза
а. Формы ХКСК.

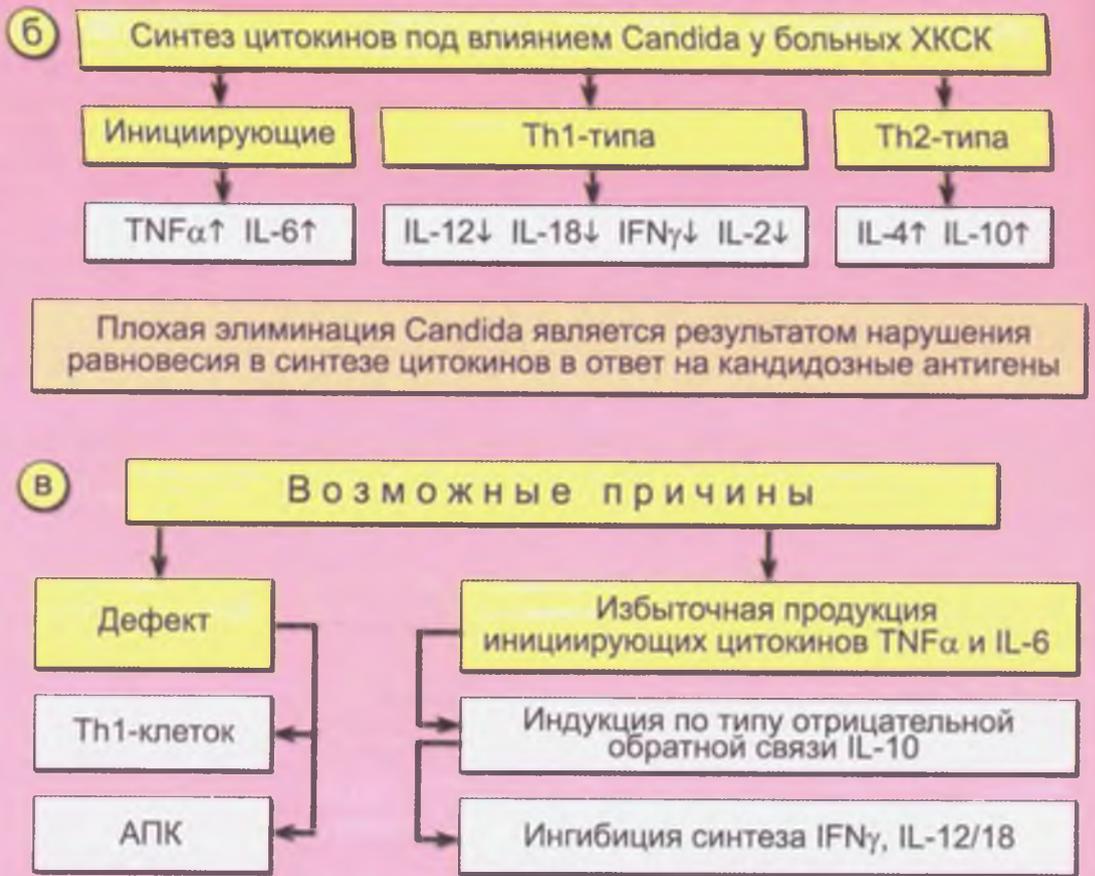


Рис. 510, б, в. Формы, клиника и иммунология хронического кожно-слизистого кандидоза
 б. Синтез цитокинов у больных ХКСК.
 в. Возможные причины ХКСК.

**ЗАТЕКСТОВОЕ
 ПРИМЕЧАНИЕ**

В целом при ХКСК нарушен Т-клеточный иммунитет. На первых этапах изучения иммунных нарушений была выявлена неспособность больных развивать ГЗТ, отсутствие *in vitro* пролиферации Т-клеток и синтеза MIF на кандидозные АГ. В последующем был выявлен дисбаланс в иммунорегуляторных клетках с подавлением функций Th1-клеток и преобладанием функций Th2-клеток, что может быть причиной неспособности организма элиминировать возбудителя. Эти данные являются обоснованием возможности применения Th1-цитокинов при ХКСК. Основным методом лечения этого заболевания является антигрибковая терапия, которая весьма эффективна. Но при этой терапии бывает много побочных эффектов. У возбудителя часто развивается резистентность. Вскоре после окончания терапии заболевание, как правило, возвращается. Цитокинотерапия и, в частности, применение IFN γ является перспективным направлением в лечении ХКСК.



Рис. 511. Кожно-слизистый кандидоз новорождённых (по Rowen J.L., 2003)

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

Общие принципы лечения иммунодефицитов (И.В. Кондратенко).

1. При всех формах иммунодефицитов с нарушениями антителопродукции обязательно проведение регулярной заместительной терапии иммуноглобулином для внутривенного введения в дозе 400 мг/кг массы пациента 1 раз в 4 нед. Претрансфузионная концентрация сывороточного IgG должна составлять не менее 500 мг/дл. Хорошее состояние пациента не является показанием для уменьшения дозы и кратности введения иммуноглобулина.
2. При комбинированных иммунодефицитах обязательно назначение профилактической терапии сульфаметоксазолом-триметопримом для профилактики пневмоцистных пневмоний.
3. При хронической гранулёматозной болезни обязательно назначение итраконазола или вориконазола для профилактики аспергиллёза.

3.1.20. ДЕФЕКТЫ СИСТЕМЫ КОМПЛЕМЕНТА

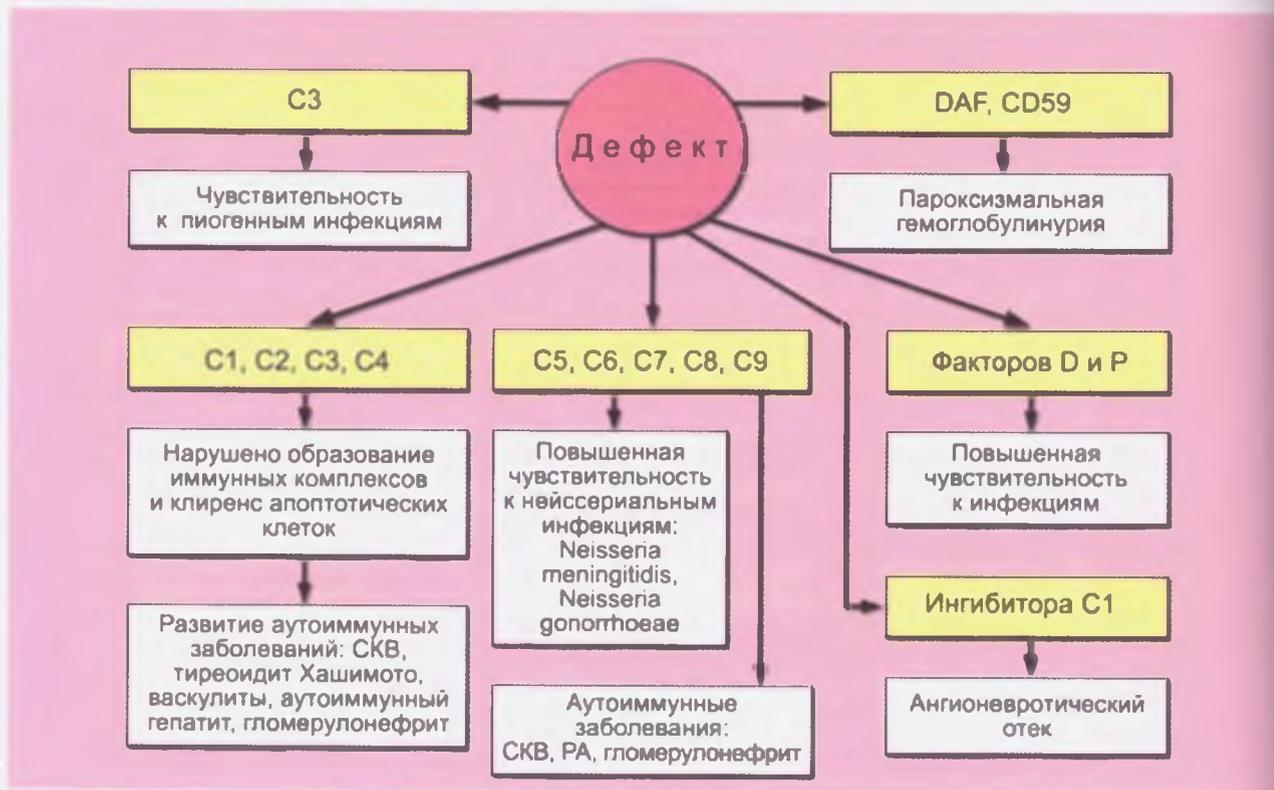


Рис. 512. Дефекты системы комплемента

Количественные и качественные дефекты C3 могут явиться причиной развития гнойных инфекций. Дефекты в мембраноатакующем литическом комплексе (C5–C9) ведут к повышенной чувствительности к инфекциям, вызываемым нейссериями. Поэтому внеклеточный лизис, вероятно, играет ведущую роль в антинейссерияльной защите. Ранние компоненты классического пути (C1–C4) участвуют в удалении ИК и апоптотических клеток. Понижение их активности может быть одной из причин развития аутоиммунных заболеваний. При недостатке комплементрегуляторного белка DAF (*decay-accelerating factor, CD55*), экспрессируемого на клетках хозяина, не происходит вытеснения пептида Bb из комплекса C3bBb, образующегося на поверхности клетки хозяина (см. рис. 517). Такие клетки атакуются компонентами комплемента и лизируются. Рецептор клеток хозяина CD59 (или протектин) препятствует связыванию компонента C9 с комплексом C5b678 на поверхности клетки хозяина, препятствуя тем самым литической атаке. Как фак-

тор DAF, так и рецептор CD59 связаны с поверхностью клетки с помощью гликозилфосфатидилинозитола. Ген одного из ферментов, участвующих в синтезе этой связки, локализован на X-хромосоме. Мутации этого фермента ведут к одновременной потере фактора DAF и CD59. Развивается заболевание пароксизмальная ночная гемоглобинурия, для которой характерен внутрисосудистый лизис эритроцитов. При недостаточности фактора D – сывороточной протеазы, расщепляющей фактор В на пептиды Va и Vb, не происходит образования жидкостнофазной C3-конвертазы C3(H₂O)Vb и, соответственно, инициации альтернативного пути активации комплемента. При недостаточности комплементрегуляторного фактора P (пропердина), связывающегося с пептидом Vb и препятствующего его вытеснению из C3-конвертазы на поверхности микробной клетки, C3-конвертаза нестабильна или вовсе не образуется. Дефекты как фактора D, так и фактора P ведут к повышенной чувствительности к пиогенным и нейссерияльным инфекциям.

Травматическое воздействие создаёт отрицательный заряд на поверхности клеток эндотелия сосудов. Отрицательно заряженная поверхность эндотелия способствует взаимной активации фактора свёртывания XII (fXII) и прекалликреина (ПК), которые превращаются, соответственно, в фактор XIIa (fXIIa) и калликреин (КК). Одновременно с этим на поверхности эндотелия активируется кининоген (НК). Калликреин совместно с фактором fXIIa способствуют образованию плазмина из пламиногена (3). При участии плазмينا калликреин, находящийся на поверхности эндотелиальных клеток, расщепляет кининоген с образованием вазоактивного медиатора брадикинина (4),

имеющего сходный с C2-кинином механизм действия. Этот медиатор реагирует с рецептором B2-клеток эндотелия, следствием чего является повышение проницаемости сосудов, выход жидкости во внесосудистое пространство и развитие отёка. Ингибитор C1INH действует в двух направлениях: подавляет образование плазмина из пламиногена и расщепление калликреином кининогена. В результате этого не происходит образования брадикинина. Таким образом, C1INH участвует в регулировании всех трёх путей (комплементарного, фибринолитического и кининового), активация которых ведёт к развитию наследственного ангионевротического отёка.



Рис. 514. Формы (а), признаки и лечение (б) наследственного ангионевротического отёка

3.1.21. ДЕФЕКТЫ В СИСТЕМЕ Th1-ЦИТОКИНОВ

З а б о л е в а н и я

I. С большой вероятностью связанные с дефектом в Th1-цитокиновом пути

рецидивирующие и диссеминированные инфекции, вызываемые BCG или непатогенными микобактериями

системные инфекции, вызываемые нетифозными сальмонеллами

II. Возможно связанные, но с меньшей вероятностью, с дефектом в Th1-цитокиновом пути

внекишечные заболевания, вызываемые *S. typhi* и *S. paratyphi*

инфекции, вызванные лекарствочувствительными *M. tuberculosis*, поддающиеся лечению, но имеющие рецидивирующий и диссеминированный характер

тяжелые вирусные инфекции, особенно герпетические

заболевания, сопровождающиеся персистирующей необъяснимой лихорадкой, ночным потом, потерей веса, лимфоаденопатией и гепатоспленомегалией

гистиоцитоз-Х с атипическими патологическими чертами

тяжелый листериоз, токсоплазмоз, гистоплазмоз и другие заболевания, при которых страдает клеточный иммунитет

Рис. 515. Инфекции, связанные с дефектом в системе IL-12/IFN γ (Lammas D.A. et al., 2000)

Нарушения клеточного иммунитета чаще всего связаны с наличием дефектов в системе Th1-цитокинов, более конкретно — дефектов цитокинов IFN γ , IL-12 или их рецепторов. Индивидуумы с такими нарушениями обладают повышенной чувствительностью к инфекциям, вызываемым оппортунистическими, малопатогенными (нетуберкулёзными) микобактериями, БЦЖ и сальмонеллами. Среди оппортунистических микобактерий причиной микобактериальных инфекций чаще всего является *M. avium*. Описаны случаи этих инфекций, вызываемых *M. chelonae*, *M. fortuitum*, *M. smegmatis*

и др. Инфекции, вызываемые этими микроорганизмами, у таких больных часто протекают в виде тяжёлых, диссеминированных, нередко летальных форм. В основе этих инфекций, как правило, лежат генетические дефекты, ведущие к отсутствию синтеза IL-12 или IFN γ , отсутствию или слабой экспрессии рецепторов для этих цитокинов либо к отсутствию компонентов сигнальных путей, передающих сигнал от этих рецепторов в ядро клетки. Классическим примером является БЦЖ-инфекция, возникающая в раннем детском возрасте после прививки вакциной БЦЖ.

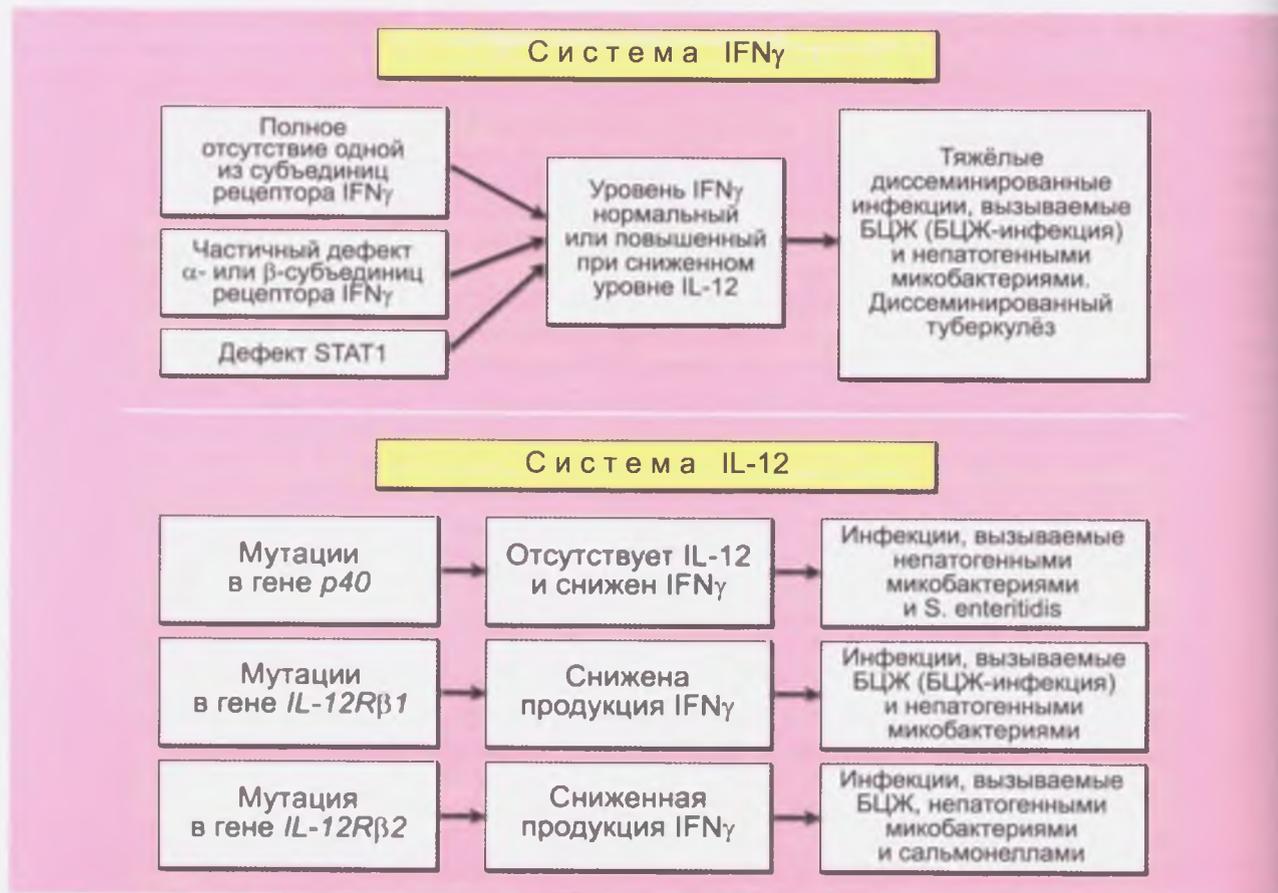


Рис. 516. Дефекты в системе IL-12/IFN γ

В настоящее время выявлено три группы мутаций, которые ведут к нарушению в системе IL-12/IFN γ . Первая группа мутаций приводит к полному отсутствию или сниженной экспрессии IFN γ R либо к экспрессии функционально неполноценного рецептора. Следствием этого является катастрофическое снижение синтеза IL-12, недостаточная активация МФ и развитие БЦЖ-инфекции. У таких детей развиваются микобактериальные гранулёмы, напоминающие аналогичное поражение при лепре. Большинство больных БЦЖ-инфекцией погибают, несмотря на интенсивное антимикобактериальное лечение и назначение IFN γ . Вторая группа мутаций связана с аналогичными изменениями в рецепторном аппарате IL-12, следствием чего является снижение синтеза IFN γ при нормальном уровне IL-12. Описан больной с полным отсутствием IL-12R β 2 вследствие образования стоп-кодона в участке гена, кодирующем внеклеточную часть рецептора.

У больного в возрасте 20 лет развились гранулёматозные поражения туберкулоидного типа, вызванные БЦЖ и *M. abscessus*. Применение антимикобактериальной терапии и IFN γ дало хороший клинический эффект. У больных с дефектом IL-12R β 1 при вакцинации БЦЖ развиваются тяжёлые инфекционные процессы с образованием гранулём туберкулоидного типа. Возбудителями являются БЦЖ, *M. avium*, *M. kansasii* и неидентифицированные микобактерии. Характерной чертой дефектов IL-12R β 1 и IL-12 является развитие сальмонеллёзных инфекций. У нескольких больных описаны внекишечные формы инфекций, вызванных *S. typhi* и *S. paratyphi*. Третья группа мутаций поражает ген(ы), ответственный(ые) за синтез IL-12, следствием чего является отсутствие и заметное снижение, соответственно, IL-12 и IFN γ . В случае этих мутаций повышается чувствительность организма не только к микобактериям, но и к сальмонеллам.

3.1. Иммунодефициты

Дефекты в системе IL-12/IL-23 ведут к повышенной чувствительности к инфекциям, вызываемым сальмонеллами и микобактериями.

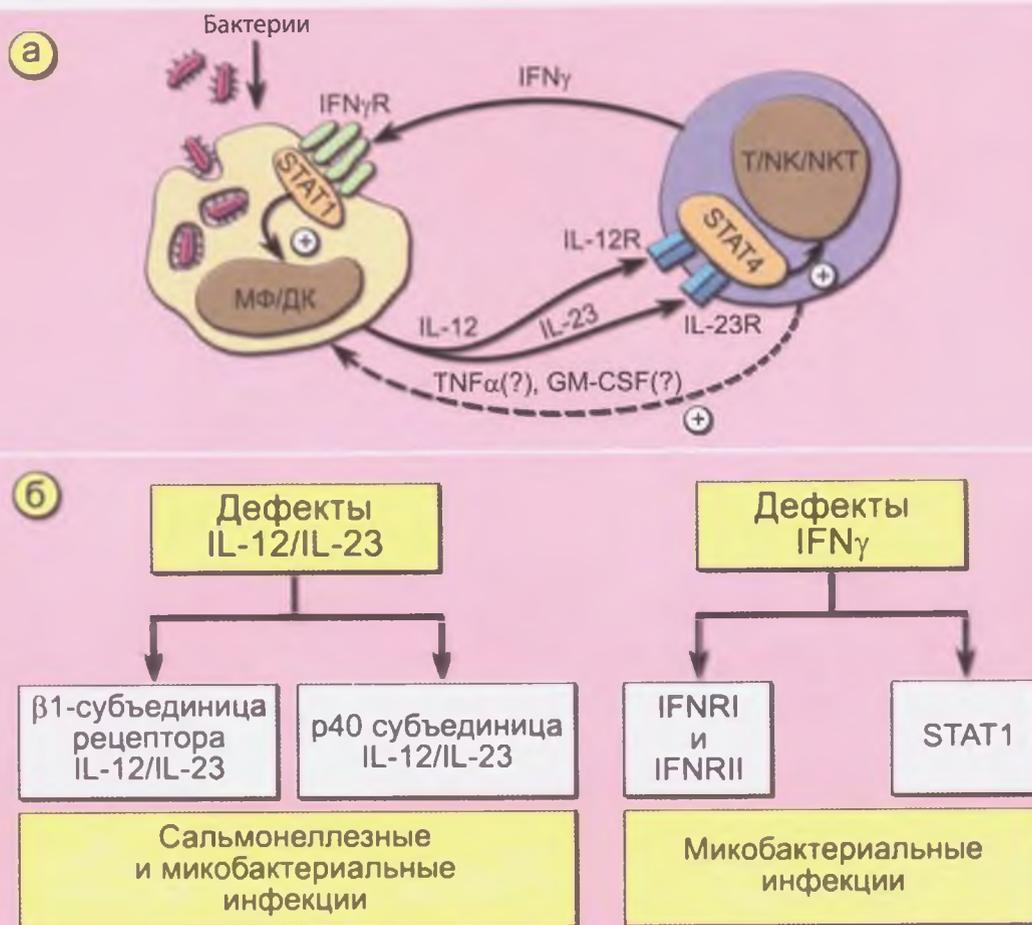


Рис. 517. Дефекты в системе IL-12/IL-23

а. Система IL-12/IL-23 состоит из двух компонентов. К первому компоненту относятся собственно IL-12 и IL-23, синтезируемые МФ и ДК в ответ на бактериальную инвазию. Эти интерлейкины действуют на NKT-, NK- и Т-клетки, индуцируя у них синтез IFN γ (второй компонент). Этот цитокин через транскрипционный фактор STAT1, в свою очередь, активирует МФ, следствием чего является элиминация бактерий из МФ.

б. IL-12 и IL-23, являясь гетеродимерами, имеют одну общую субъединицу — IL-12p40. Рецепторы к этим цитокинам тоже имеют общую субъединицу — IL-12R β 1. Мутации в компоненте IL-12/IL-23 выявлены как в гене *IL-12R β 1*, так и в гене *IL-12p40*. Эти мутации ведут к развитию тяжёлых внекишечных сальмонеллёзных (небрюшнотифозных) инфекций, чаще всего протекающих по типу сепсиса, а также микобактериальных (нетуберкулёзных) инфекций. Мутации в компоненте IFN γ поражают IFN γ R и STAT1. Эти мутации ведут к развитию преимущественно микобактериальных (нетуберкулёзных) инфекций. Следовательно, в действии компонента IL-12/IL-23 могут существовать IFN γ -независимые механизмы, обуславливающие устойчивость к сальмонеллам. К таким механизмам может относиться способность IL-12 и IL-23 индуцировать синтез TNF α и GM-CSF, а также способность IL-23 вызывать Th17-ответ, который необходим для элиминации внеклеточных форм бактерий.

3.1.22. ДЕФЕКТЫ В NF-κB-ЗАВИСИМОМ ПУТИ

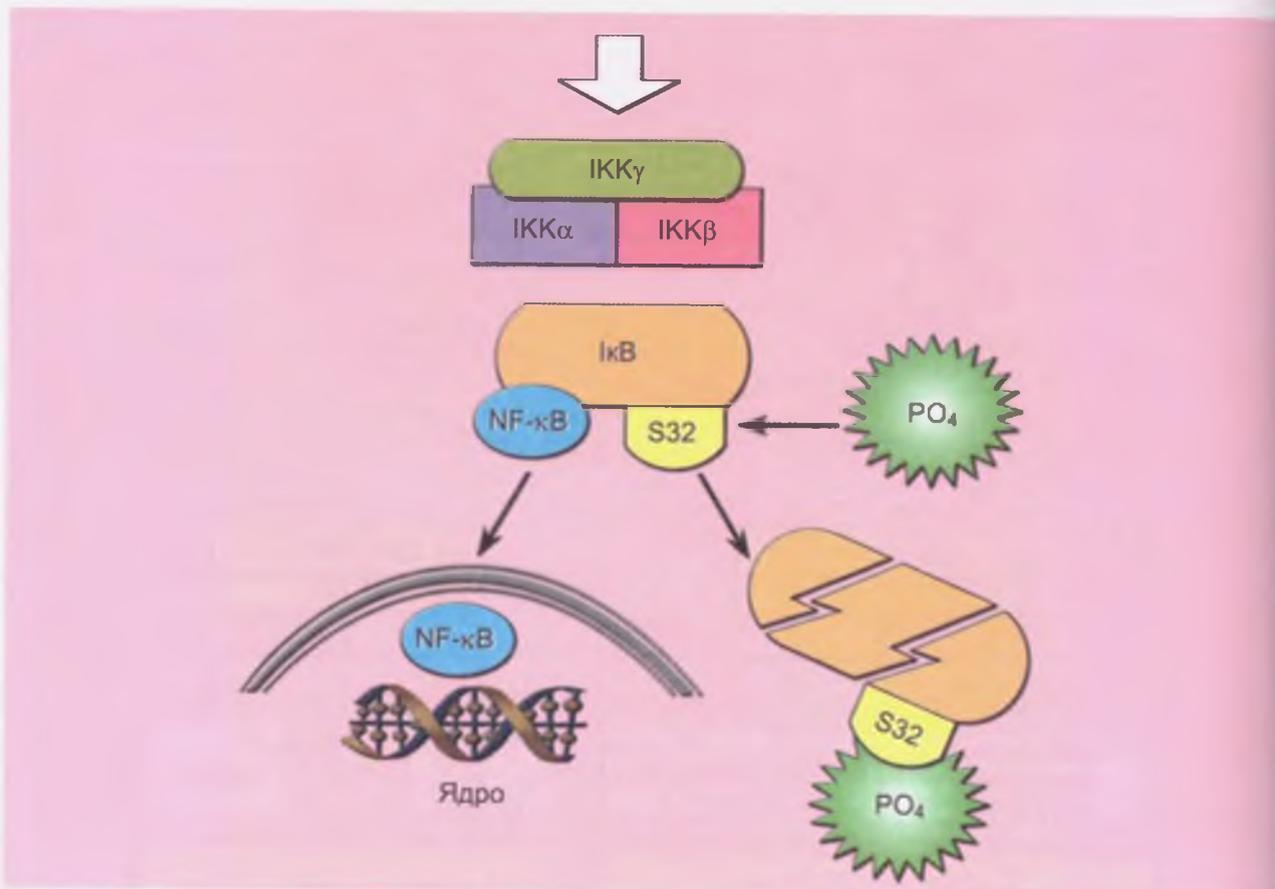


Рис. 518. Дефекты IKK-комплекса

Киназа IKK γ (NEMO) является ключевым ферментом, осуществляющим фосфорилирование ингибитора I κ B. Результатом этого фосфорилирования является распад I κ B, высвобождение транскрипционного фактора NF- κ B и транслокация его в ядро. Мутации киназы IKK- γ ведут к развитию редкого заболевания — X-сцепленной рецессивной (XR) ангидротической эктодермальной дисплазии с иммунодефицитом (EDA-ID). В настоящее время описано 36 детей с этим заболеванием. Выявлен один ребёнок с аутосомно-доминантной (AD) формой EDA-ID. Обе формы заболевания характеризуются гипотрихозом, отсутствием волос, бровей, ресниц, потовых желёз, наличием конических зубов или их недоразвитием (*hypodontia*). Развивается также иммунодефицит, характеризующийся тяжёлыми рекуррентными инфекциями, вызываемыми инкапсулированными пиогенными бактериями (*H. influenzae*, *Str. pneumoniae*, *St. aureus*), а также малопатогенными микобактериями. Для иммун-

ной системы таких больных характерна слабая продукция провоспалительных цитокинов (IL-1 α , TNF α) мононуклеарами крови, стимулированными ЛПС. Для этих больных также характерна слабая продукция антител на бактериальные углеводные АГ. Описан один больной с EDA-ID, имеющий одновременно XR-мутацию в NEMO и AD-мутацию в I κ B. Эта мутация ведёт к замене в ингибиторе I κ B серина в положении 32 на другую аминокислоту. В нормальной клетке киназа IKK γ фосфорилирует серин 32 этого ингибитора, после чего ингибитор подвергается протеолизу и распадается. При замене этого серина фосфорилирование ингибитора не происходит, поэтому не активируется транскрипционный фактор NF- κ B и нет транслокации его в ядро. Больной с мутацией в ингибиторе I κ B характеризуется резким снижением количества и функциональной активности Т-клеток, что показывает значимость транскрипционного NF- κ B в развитии Т-лимфоцитов.

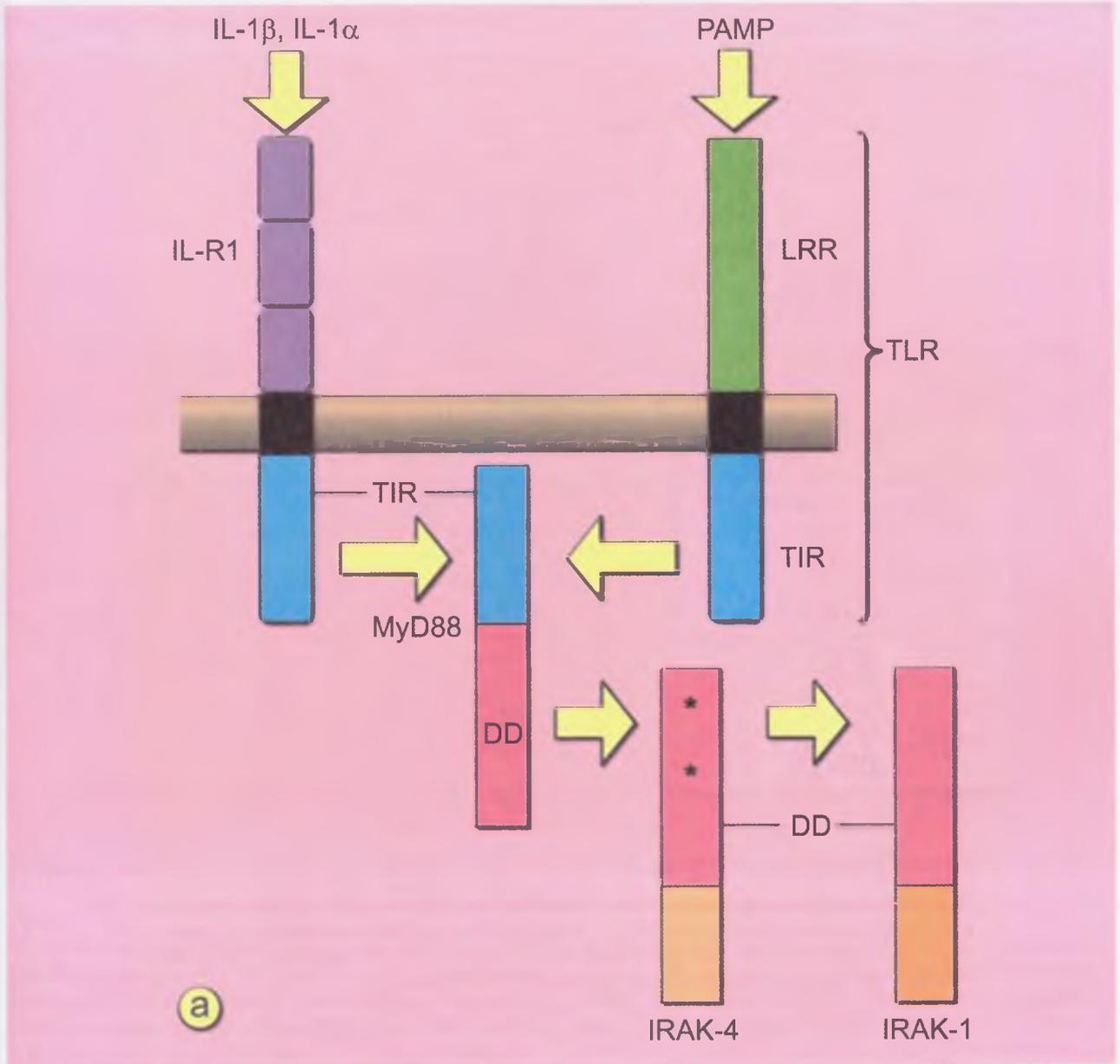


Рис. 519, а. Дефекты киназы IRAK-4

Серин-треониновые киназы IRAK (*IL-1 receptor-associated kinase*) играют исключительно важную роль в активации клетки. Сигналы передаются от поверхностных (мембранных) рецепторов TLR и IL-1R1 через адапторный белок MyD88 киназам IRAK-4/IRAK-1, а далее через ряд адапторов и киназ (показаны на предыдущих рисунках) транскрипционному фактору NF- κ B. На 2005 г. идентифицировано 10 человек с доказанными и 3 человека с предполагаемыми мутациями IRAK-4. У 7 человек выявлено полное отсутствие IRAK-4, у остальных — точковые мутации. В отличие от EDA-ID клинические проявления при дефекте IRAK-4 относительно мягкие. Они характеризуются частыми инфекционными процессами, вызванными грамположительными бактериями (*Str. pneumoniae*, *St. aureus*). С возрастом имеется общая тенденция к более мягкому течению инфекционных процессов.

б

Дефекты в культуре лейкоцитов	
Стимулятор	Эффект
IL-1 β	TNF α ↓
IL-18	IFN γ
ЛПС	IL-1 β ↓, IL-6↓, IL-8↓, IL-12↓, TNF α ↓
ЛПС	p38↓, ERK1/2↓, Jak1/2↓
ЛПС	NF- κ B ↓

Рис. 519, б. Дефекты киназы IRAK-4

При иммунологическом обследовании выявлено, что мононуклеары периферической крови больных практически не синтезируют провоспалительных цитокинов под влиянием как бактериальных лигандов, так и IL-1. В клетках нет активации киназ группы MAPK и NF- κ B под действием вышеуказанных стимулов.

3.1.23. ПРИОБРЕТЁННЫЙ ИММУНОДЕФИЦИТ ЧЕЛОВЕКА

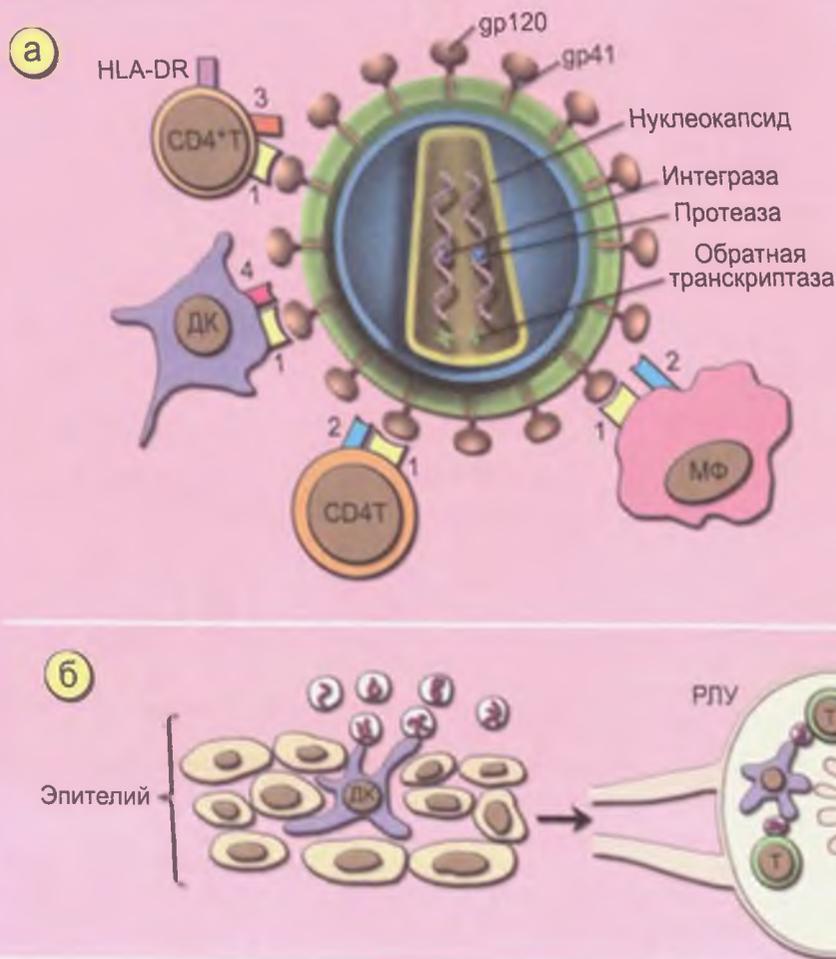


Рис. 520. Строение вируса иммунодефицита человека и его взаимодействие с чувствительными клетками

Вирус иммунодефицита человека (ВИЧ) — оболочечный ретровирус из группы лентивирусов, содержащий в нуклеокапсиде две молекулы геномной РНК. В инфицированной клетке РНК путём обратной транскрипции превращается в ДНК, которая интегрируется в геном этой клетки. При активации вируса синтезирующаяся РНК работает и как мРНК для построения вирусных белков, и как геномная РНК для включения во вновь образующиеся вирионы.

А. Вирус поступает в клетку с помощью двух гликопротеинов: gp120 и gp41. Молекула gp120 связывается с высокой аффинностью с рецептором CD4 (1), который экспрессируется на Т-хелперах, МФ, ДК. ДК взаимодействуют с ВИЧ в основном с помощью лектинового рецептора DC-SIGN (4). Молекула gp41 вызывает слияние вирусной оболочки с мембраной клетки. Однако перед слиянием

gp120 должен провзаимодействовать с корецептором CCR5 (2), экспрессирующимся на МФ и CD4⁺ Т-клетках, либо с CXCR4 (3), экспрессирующимся на активированных CD4⁺ Т-клетках. CCR5 — рецептор для хемокинов CCL3, -4, -5 — является корецептором для так называемых макрофаготропных вариантов ВИЧ. Лимфоцитотропные варианты вируса используют в качестве корецептора CXCR4.

Б. Основными входными воротами инфекции являются слизистые оболочки мочеполового тракта и прямой кишки. При неповреждённых слизистых оболочках первая клетка, взаимодействующая с ВИЧ, — ДК, отростки которой могут проникать в просвет органа. Взаимодействие с вирусом происходит путём связывания DC-SIGN ДК и gp120 ВИЧ; ДК транспортирует вирус в регионарный лимфатический узел, где он инфицирует CD4⁺ Т-лимфоциты.

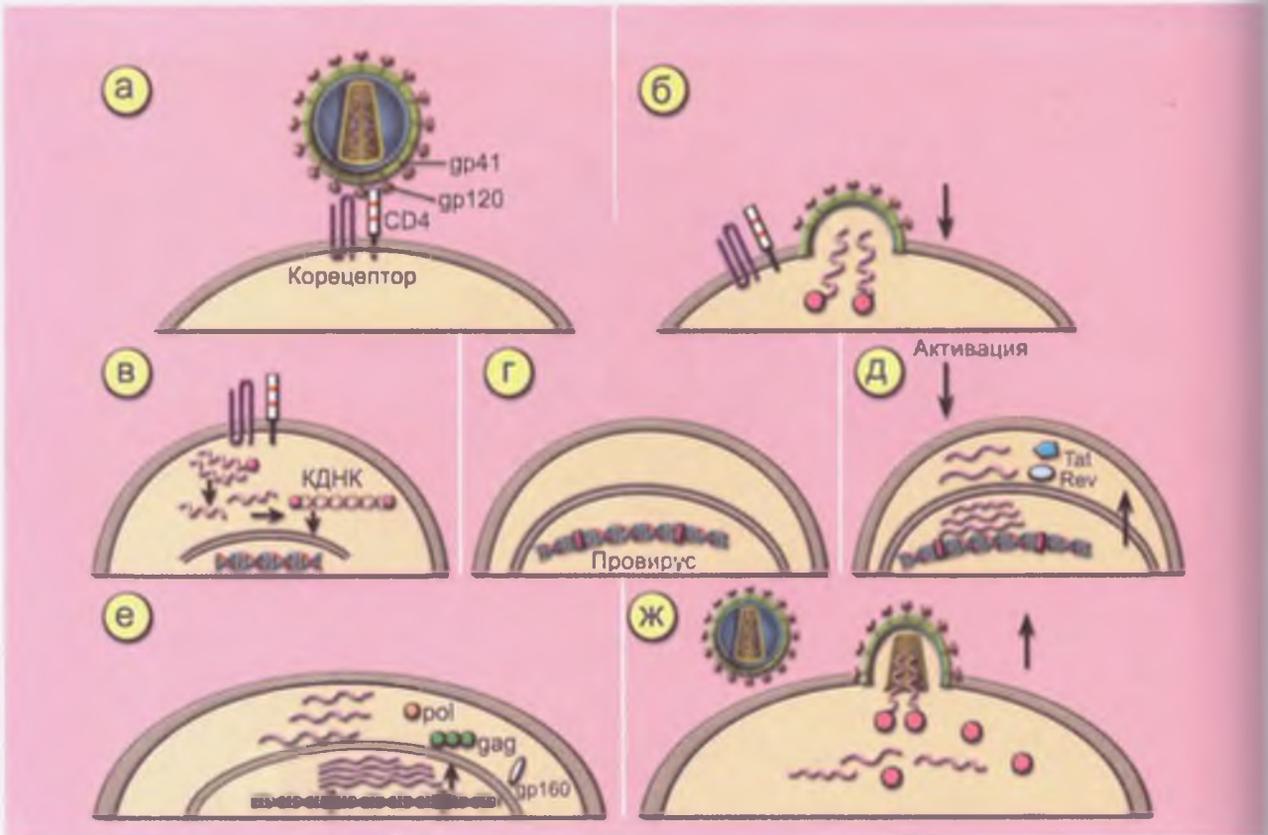


Рис. 521. Инфекция вирусом иммунодефицита человека CD4⁺ Т-клетки

- а. Гликопротеин gp120 ВИЧ взаимодействует с молекулой CD4 и корецептором. При этом активируется гликолипид gp41, который осуществляет слияние клетки с оболочкой вируса.
- б. Вирусная геномная РНК вместе с обратной транскриптазой и другими ферментами поступают в клетку.
- в. Обратная транскриптаза синтезирует на матрице вирусной РНК комплементарную ДНК (кДНК).
- г. С помощью вирусного фермента интегразы кДНК интегрируется в ДНК клетки, образуя провирус. Устанавливается латентная инфекция. Это обычно происходит в Т-клетках памяти и «дремлющих» МФ, которые являются резервуарами инфекции.
- д. При активации CD4⁺ Т-клетки клеточная РНК-полимераза транскрибирует вирусную РНК. Первыми транскрибируются гены *Tat* и *Rev*, продукты которых участвуют в вирусной репликации. *Tat* — это белок, который, взаимодействуя с длинными терминальными повторами (LTR), фланкирующими геном вируса, резко повышает скорость вирусной транскрипции. *Rev* — белок, который способствует выходу из ядра вирусных мРНК-транскриптов, как сплайсированных, так и несплайсированных.
- е. Вирусная мРНК, вышедшая из ядра, служит матрицей для синтеза как структурных белков (*gag* — белки ядра и матрикса, *env* — белки оболочки gp120 и gp41), так и ферментов (*pol* — обратная транскриптаза), а также ряда регуляторных белков (*vid*, *vif*, *vpr*, *md*).
- ж. Поздние белки *gag*, *env*, *pol* складываются в вирусную частицу, которая отпочковывается от клетки.

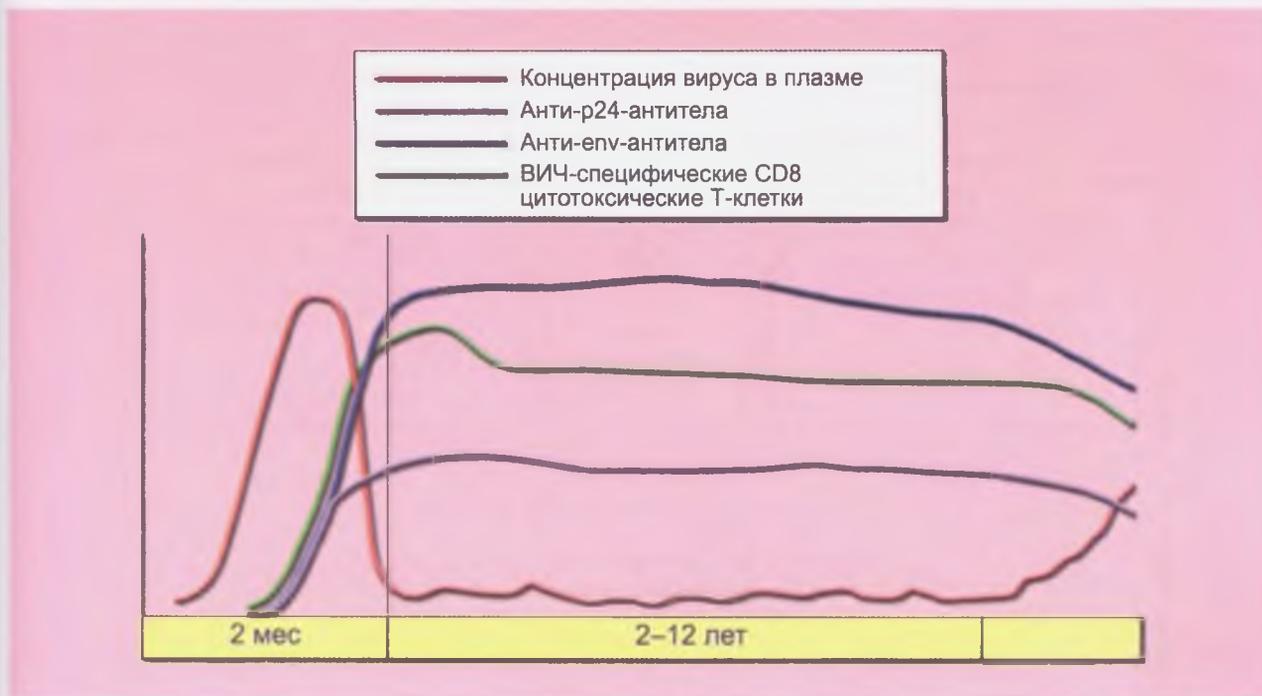


Рис. 522. Иммунный ответ к вирусу иммунодефицита человека

Иммунный ответ к ВИЧ состоит из гуморального и клеточного компонентов. Гуморальный ответ складывается из синтеза АТ к белкам оболочки: gp120 и gp41, белкам нуклеокапсида p24 и др. Выявление АТ к ВИЧ в ИФА и в вестерн-блоте — главные методы лабораторной диагностики ВИЧ-инфекции. АТ к ВИЧ не играют существенной роли в элиминации вируса, но, пассивно введенные, могут предохранить от заражения.

Клеточный ответ складывается из образования антигенспецифических $CD4^+$ Т-хелперов и антигенспецифических $CD8^+$ Т-киллеров. С их появлением связано резкое падение титра вируса в плазме. $CD8^+$ Т-киллеры убивают зараженные клетки до выхода вируса из клетки, прерывая тем самым ре-

пликацию вируса. Имеется четкая обратная зависимость между титром вируса в плазме и количеством $CD8^+$ Т-киллеров. Больные с высоким количеством $CD8^+$ Т-киллеров характеризуются медленным прогрессированием заболевания. $CD4^+$ Т-клетки также играют важную роль в элиминации вируса: имеется зависимость между пролиферативным ответом $CD4^+$ Т-клеток на ВИЧ и уровнем вируса в плазме. Вместе с тем клеточный иммунный ответ не способен полностью элиминировать вирус из организма.

Одной из причин такой неспособности является высокая мутабельность ВИЧ с образованием новых эпителиев, которые не распознаются цитотоксическими Т-клетками.

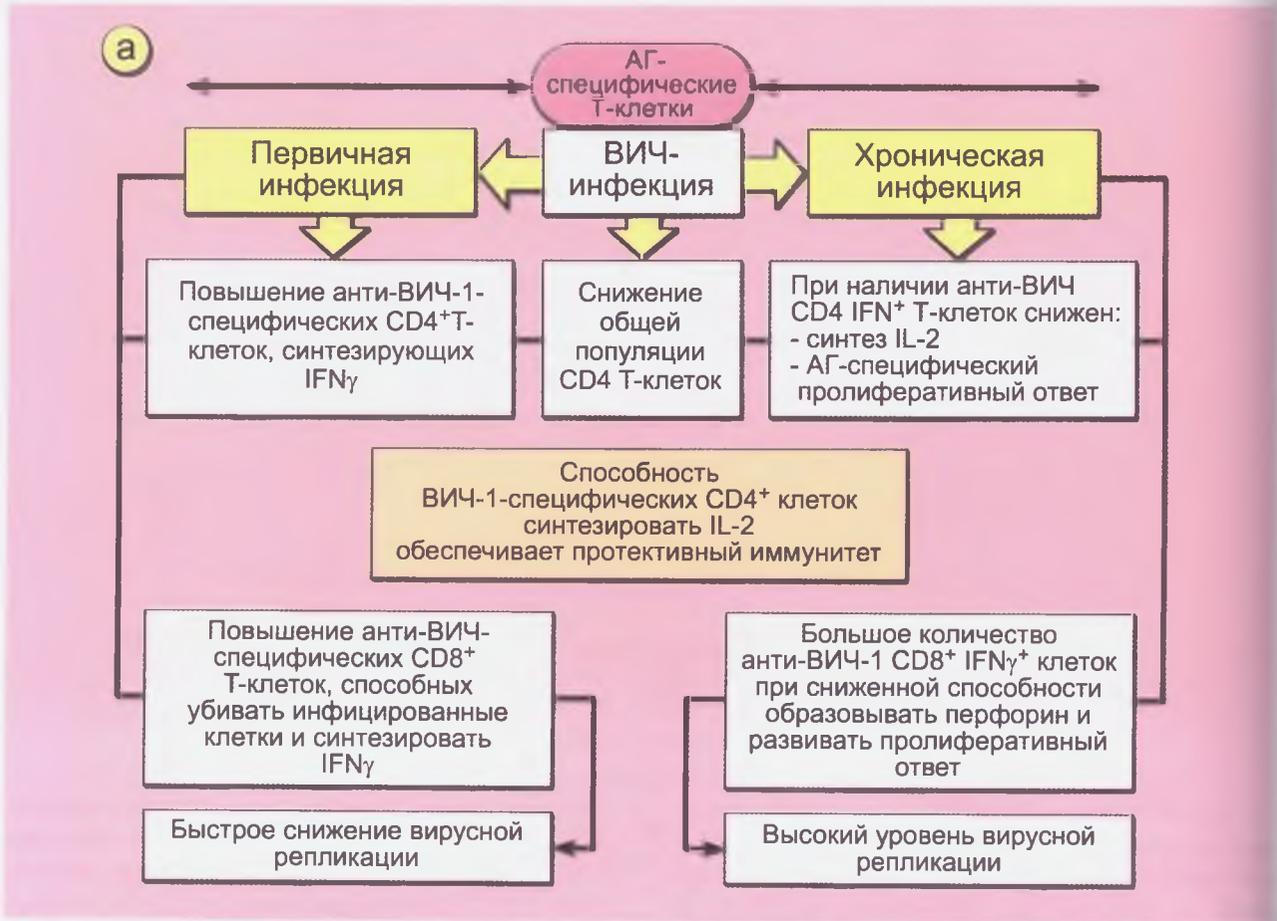


Рис. 523, а. Особенности T-клеточного ответа при ВИЧ-инфекции

Острая фаза ВИЧ-инфекции характеризуется сравнительно быстрым образованием антигенспецифических CD4⁺ и CD8⁺ T-клеток, синтезирующих IFN γ . Это ведёт к быстрому падению, но не исчезновению вируса в крови. В хроническую фазу ВИЧ-инфекции в количественном отношении эти клетки сохраняются, но они изменяются функционально. Снижается способность CD4⁺ T-клеток синтезировать IL-2; понижается образование цитотоксических молекул у CD8⁺ T-клеток. Проллиферативная активность CD8⁺ T-клеток, как полагают, выражена меньше в результате урежения продукции IL-2 CD4⁺ T-хелперами. Несмотря на присутствие антигенспецифических CD4⁺ и CD8⁺ T-клеток, происходит интенсивная репликация вируса. Повышение пролиферативной активности антигенспецифических CD4⁺ и CD8⁺ T-клеток коррелирует с замедлением прогрессирования заболевания (Vasnet S. et al., 2007).

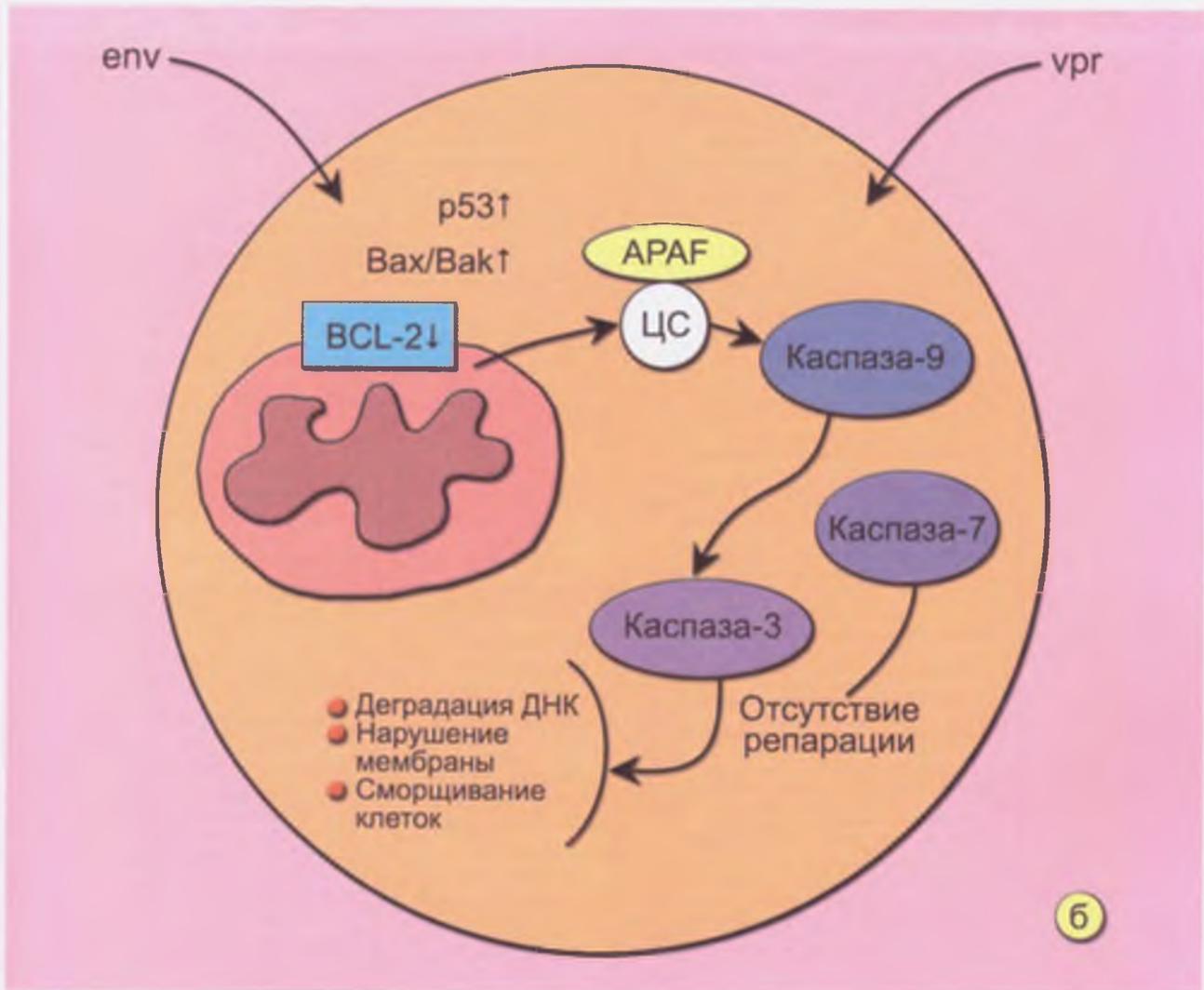


Рис. 523, б. Апоптоз Т-клеток при ВИЧ-инфекции

Драматическое понижение количества $CD4^{+}$ Т-клеток при ВИЧ-инфекции нельзя объяснить цитотоксическим действием вируса. Одной из причин этого снижения является апоптоз неинфицированных ВИЧ-специфических $CD4^{+}$ Т-клеток. Оказалось, что индукторами апоптоза является не сам вирус, а белки оболочки (env), в частности gp120, и регуляторный белок vpr. ВИЧ-специфические $CD4^{+}$ Т-клетки мигрируют в участки размножения вируса, где и встречаются со свободными белками env и vpr. Оболочечный белок gp120 понижает уровень антиапоптотического белка BCL-2, поддерживающего целостность митохондриальной мембраны, и повышает уровень проапоптотических белков p53, Bax/Bak. Белок vpr непосредственно нарушает целостность митохондриальной мембраны, вытесняя BCL-2. Происходит выход цитохрома С (ЦС) из митохондрии и активация каспазного пути, приводящего к апоптозу $CD4^{+}$ Т-клетки. Эти события могут быть причиной снижения функциональной активности ВИЧ-специфических $CD4^{+}$ Т-клеток, описанных в предыдущем рисунке.

3.1.24. ВТОРИЧНЫЕ ИММУНОДЕФИЦИТЫ

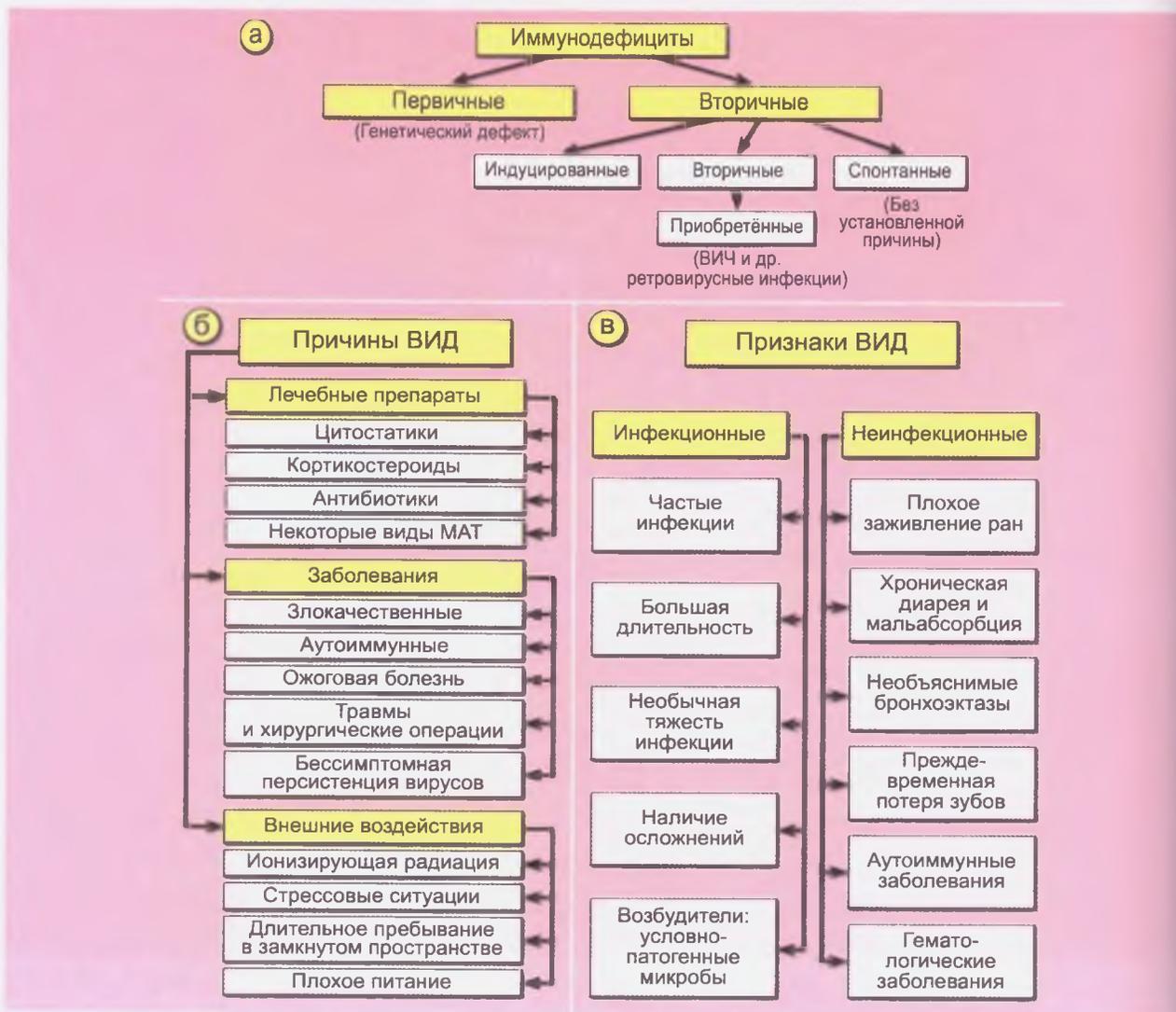


Рис. 524. Вторичные иммунодефициты

а. Условно вторичные иммунодефициты (ВИД) подразделяют на три группы: приобретённые, индуцированные и без установленной причины развития (спонтанные). Основным представителем приобретённых иммунодефицитов является СПИД, или ВИЧ-инфекция. Индуцированные иммунодефициты развиваются в результате действия конкретных причинных факторов, представленных в разделе.

б. Включение в этот раздел антибиотиков требует пояснения. Антибиотики, без сомнения, не являются иммунодепрессантами. Однако бесконтрольное их применение может вызвать нарушение колонизационной резистентности слизистых оболочек и повышенную чувствительность к инфекциям. То же самое можно сказать о МАТ, направленных против клеток иммунной системы и цитокинов и используемых в трансплантологии и при лечении аутоиммунных заболеваний. Так, при длительном применении препарата инфликсимаб, являющегося МАТ против TNF α , с повышенной частотой развиваются атипичные микобактериальные инфекции.

в. Клинические признаки ВИД можно разделить на инфекционные и неинфекционные. Главным клиническим проявлением ВИД являются частые, длительно текущие, трудно поддающиеся адекватному этиотропному лечению хронические инфекционно-воспалительные заболевания любой этиологии и любой локализации.

3.2. АУТОИММУННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

3.2.1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

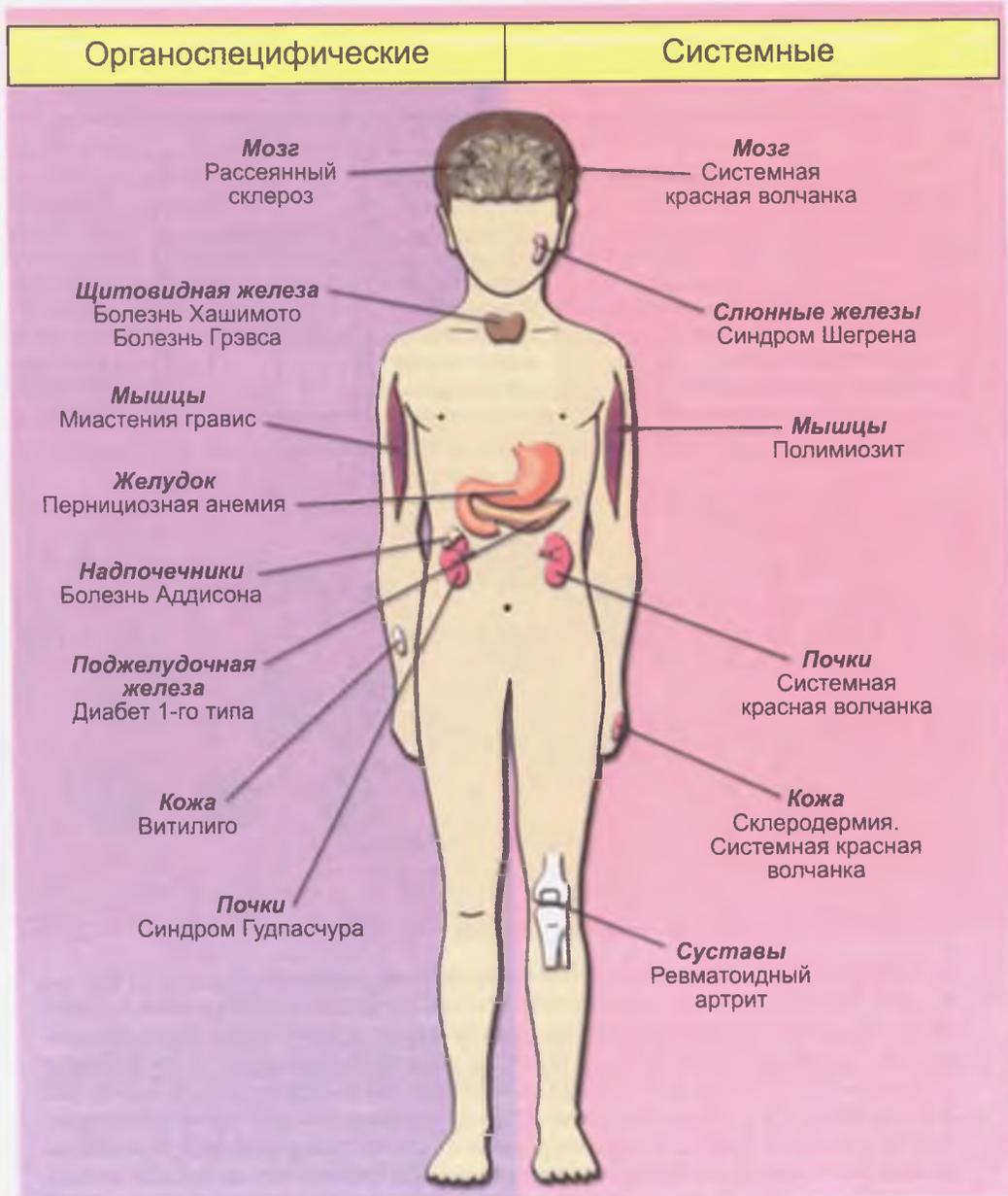


Рис. 525. Примеры основных типов аутоиммунных заболеваний

Различают два типа аутоиммунных заболеваний: органоспецифические и системные. В первом случае патологический процесс ограничен определённым органом или тканью (мозг, щитовидная железа, поджелудочная железа и др.). Во втором —

поражает многие органы и ткани. Например, при системной красной волчанке в процесс вовлечены кожа, мозг, почки и др. К системным процессам, вероятно, можно отнести и васкулиты, например гранулёматоз Вегенера.

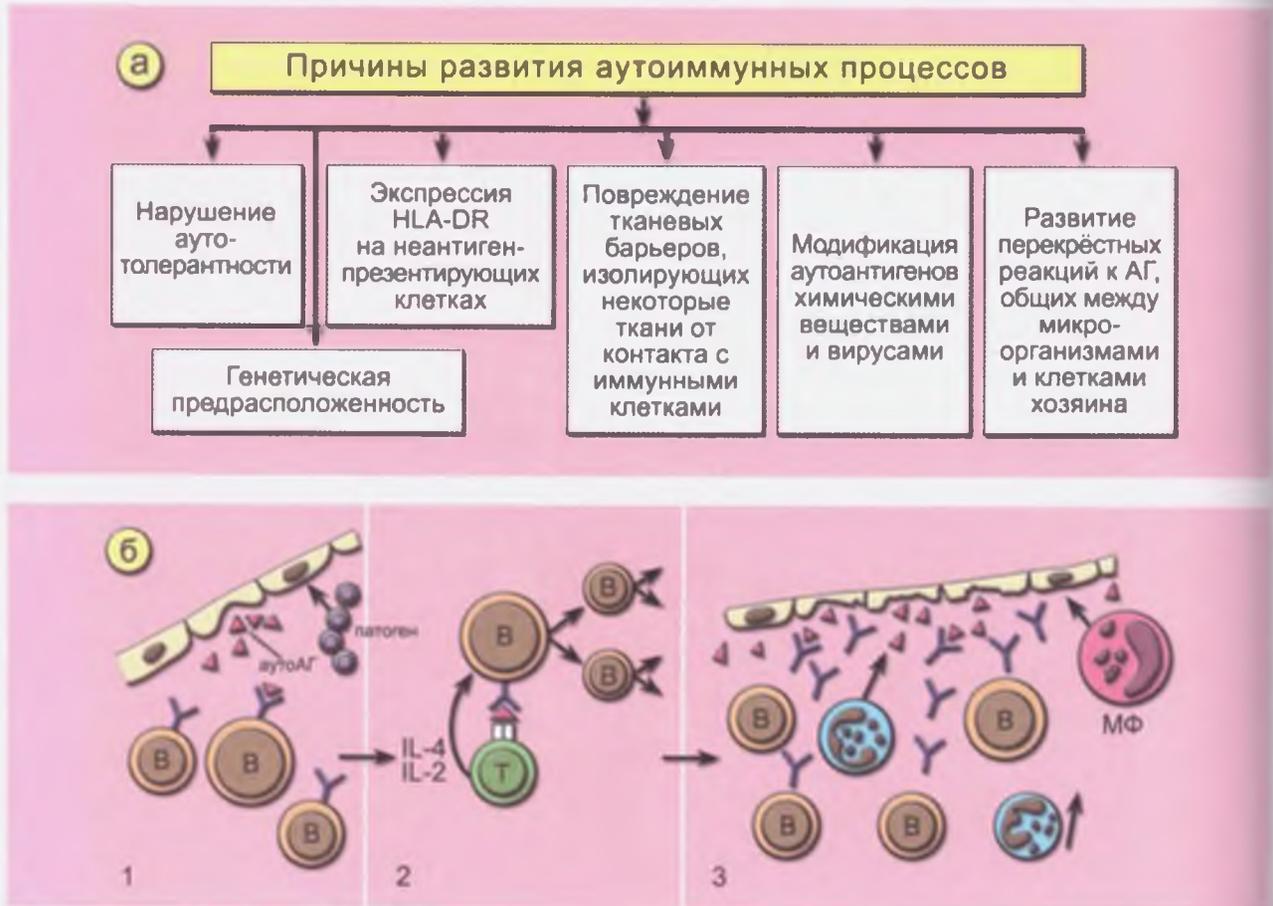


Рис. 526. Патогенез аутоиммунных заболеваний

а. Некоторые общие причины развития аутоиммунных процессов.

б. (1) В течение инфекционного процесса, особенно хронического воспалительного, может происходить разрушение клеток и освобождение аутоантигенов. Последние распознаются аутореактивными В-клетками, которые их процессируют и представляют Т-клеткам. (2) Т-клетки дают помощь аутореактивным В-клеткам, которые начинают пролиферировать. (3) Возрастает количество аутоантител, которые с помощью различных эффекторных путей ещё сильнее разрушают клетки, ткани и органы, содержащие исходные аутоантигены. В результате их разрушения существенно возрастает количество этиологически значимого АГ. Таким образом, развивается замкнутый порочный круг, приводящий к аутоиммунному разрушению органов и тканей. Он усиливается вовлечением в процесс активированных МФ и НФ, которые неспецифически стимулируют процессы повреждения.

Ауто толерантность		
Тип толерантности	Механизм	Место действия
Центральная толерантность	Делеция Обучение	Тимус Костный мозг
Сегрегация антигенов	Физический барьер	Иммунологически привилегированные органы
Периферическая анергия	Отсутствие ответа вследствие слабого сигнала и отсутствия костимуляции	Периферические лимфоидные органы
Регуляторные Т-клетки CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ^{hi} (FOXP3 ⁺)	Супрессия	Очаги воспаления, периферические лимфоидные органы
Регуляция цитокинами	Преобладание противовоспалительных цитокинов (IL-10, TGFβ)	Очаги воспаления, периферические лимфоидные органы
Клональное истощение	Повышенный апоптоз	Очаги воспаления, периферические лимфоидные органы

Рис. 527. Основные типы ауто толерантности

Указанные типы толерантности не действуют изолированно, а часто представляют собой согласованный концерт нескольких действующих механизмов.

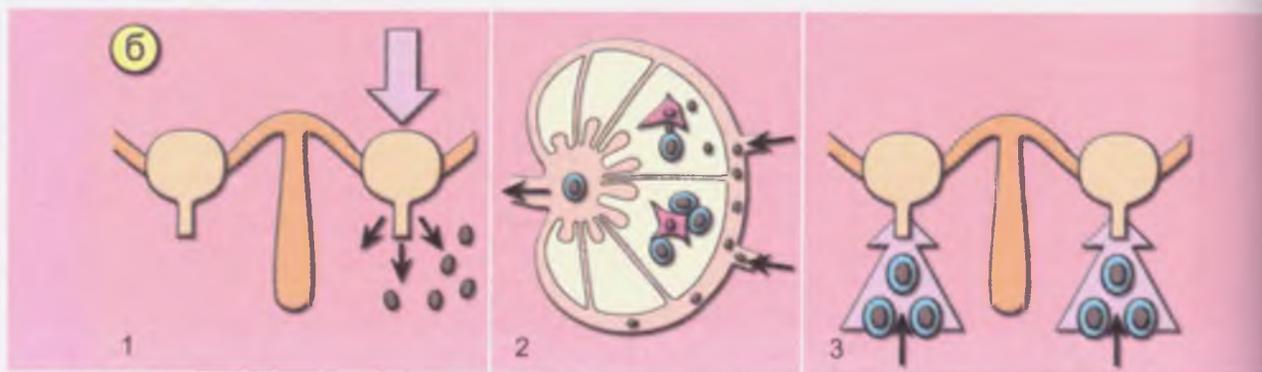
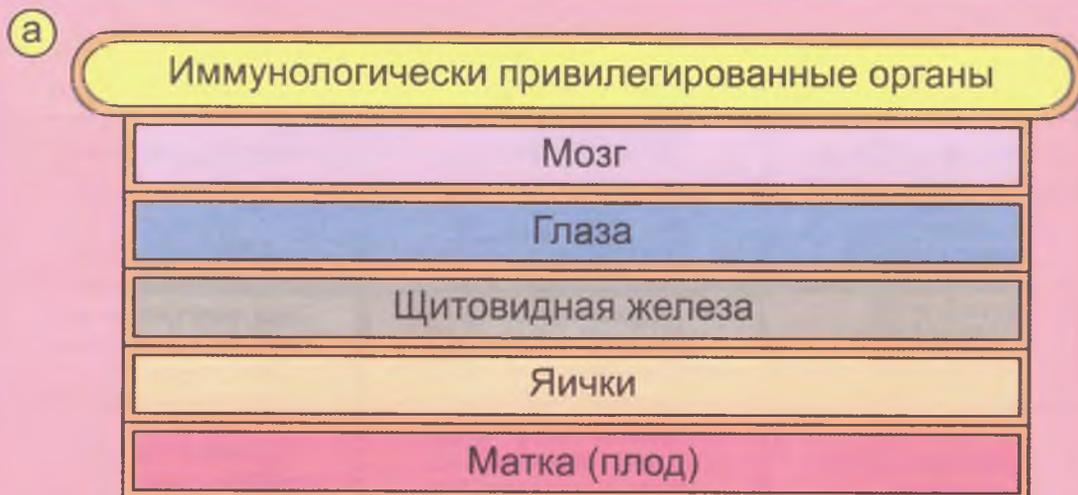


Рис. 528. Аутоиммунные процессы в иммунологически привилегированных органах

а. Иммунологически привилегированные органы (ИПО) изолированы от иммунной системы преградами, например мозг — гематоэнцефалическим барьером. Эти органы богаты Fas-лигандами, поэтому лимфоциты, поступающие в орган при нарушении барьера, быстро подвергаются апоптозу.

б. Аутоантигены ИПО в норме всегда в небольших количествах могут поступать в кровоток, не вызывая аутоиммунного процесса. Однако при инфекционном процессе или травме аутоантигены поступают в избытке в афферентные лимфатические сосуды (2) и активируют Т-клетки. На рисунке представлена модель развития аутоиммунного процесса при травме одного глаза. Однако аутореактивные Т-клетки поражают в конечном итоге оба глаза.

а) Связь HLA-аллелей с развитием аутоиммунных процессов			
Заболевание	HLA-аллель	Относительный риск	Соотношение жен./муж.
Анкилозирующий спондилит	B27	87,4	0,3
Синдром Гудпасчура	DR2	15,9	~1
Рассеянный склероз	DR2	4,8	10
Системная красная волчанка	DR3	5,8	10–20
Диабет 1-го типа	Гетерозиготы DR3/DR4	25	~1
Ревматоидный артрит	DR4	4,2	3
Пемфигус вульгарис	DR4	14,4	~1

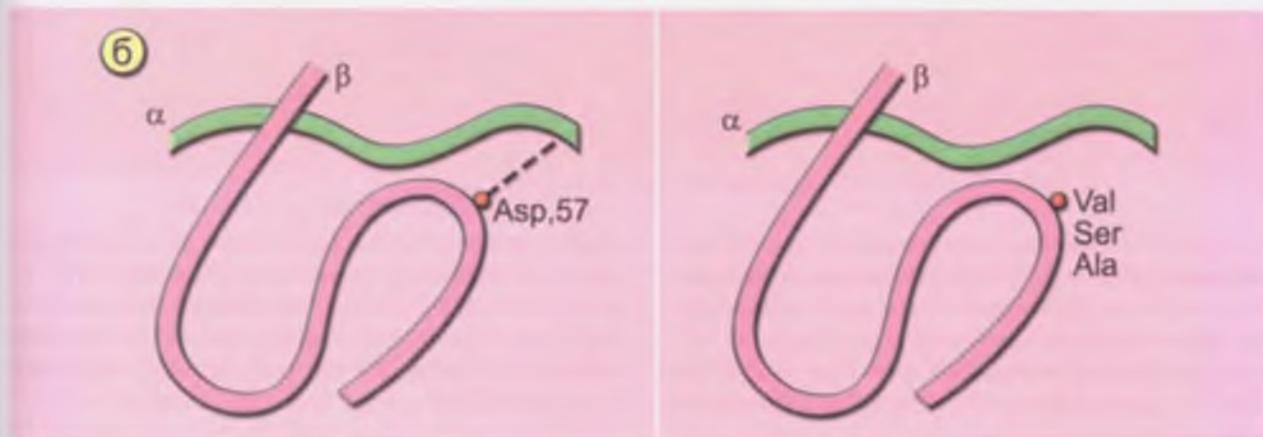


Рис. 529. HLA и аутоиммунные заболевания

а. Для многих аутоиммунных заболеваний присутствует чёткая связь с аллелями МНС II класса, но при некоторых заболеваниях наблюдается связь с аллелями МНС I класса. Эта связь обусловлена тем, что данные заболевания являются результатом иммунного ответа Т-клеток на аутопептиды, представляемые молекулами МНС I и II класса.

б. Ассоциация сахарного диабета 1-го типа с аллелями DR3 и DR4 является результатом их тесной связи с аллелем DQ β , который в конечном итоге и определяет чувствительность к этому заболеванию. У большинства людей в позиции 57 β -цепи находится аспарагиновая кислота, образующая нековалентную связь с пептидсвязывающим участком α -цепи молекулы DQ. У больных сахарным диабетом в позиции 57 находятся валин, серин или аланин, что ведёт к отсутствию связи β -цепи с α . Интересно, что у мышей линии NOD со спонтанно развивающимся сахарным диабетом, в положении 57 вместо аспарагиновой кислоты находится серин (Janaway C.A. et al., 2005).

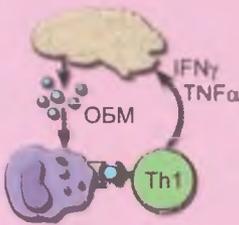
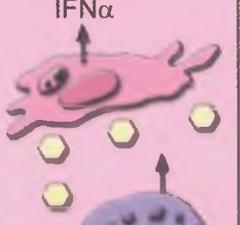
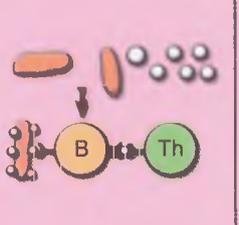
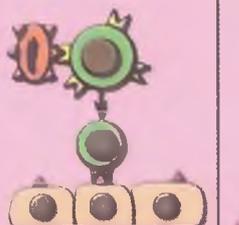
Нарушение тканевого обмена	Инфекции антигенпрезентирующих клеток	Связывание патогена с аутоантигеном	Молекулярная мимикрия	Суперантиген
Освобождение тканевых АГ и их взаимодействия с Т-клетками	Синтез провоспалительных цитокинов, особенно $IFN\alpha$	Патоген действует как носитель, индуцируя аутоиммунный ответ	Образование кросс-реагирующих АГ или Т-клеток	Поликлональная активация аутореактивных Т-клеток
 <p>1</p>	 <p>2</p>	 <p>3</p>	 <p>4</p>	 <p>5</p>
Аутоиммунные процессы мозга и периферической нервной системы	СКВ (?)	СКВ (?)	Ревматизм, сахарный диабет (?), рассеянный склероз (?)	Ревматоидный артрит (?)

Рис. 530. Роль инфекции в развитии аутоиммунных процессов

Острые и хронические инфекционные процессы совместно с генетической предрасположенностью играют ведущую роль в индукции аутоиммунных заболеваний (Janaway С.А. et al., 2005).

1. Нарушение барьерных функций иммунологически привилегированных органов в результате инфекционного процесса ведёт к попаданию в лимфатический проток секвестрированных аутоантигенов, к которым Т-клетки не прошли отрицательной селекции в тимусе и, следовательно, имеются Т-клетки с высокоаффинным рецептором. В случае мозга аутоАГ, ответственным за развитие ряда нейродегенеративных процессов, является основной белок миелина (ОБМ). Этот белок индуцирует образование аутореактивных Th1-клеток.

2. Индукторами в развитии аутоиммунных процессов могут быть цитокины, образующиеся при активации патогенами МФ и ДК. Повышенная выработка таких цитокинов, как $IFN\gamma$, $TNF\alpha$, и других

может существенно усиливать воспалительный процесс и активировать дремлющие аутореактивные Т- и В-клетки. Есть данные, что повышенная продукция $IFN\alpha$ играет важную роль в этиопатогенезе СКВ. Плазмацитоподобные ДК синтезируют под влиянием вирусов большие количества этого интерферона.

3. АГ микроорганизмов могут связываться с аутоантигенами и выступать в качестве носителя. В этом случае иммунный ответ развивается как на носитель, так и на аутоантиген.

4. Некоторые белки и полисахариды имеют сходство с аутоантигенами, в этом случае антитела и Т-клетки, образующиеся против патогена, взаимодействуют с органами и тканями, несущими этот АГ (феномен мимикрии).

5. Суперантигены, вызывая поликлональную активацию Т-клеток, преодолевают анергическое состояние, инициируя развитие аутоиммунной реакции.

3.2.2. РОЛЬ ЦИТОКИНОВ СЕМЬИ TNF В АУТОИММУННЫХ ПРОЦЕССАХ

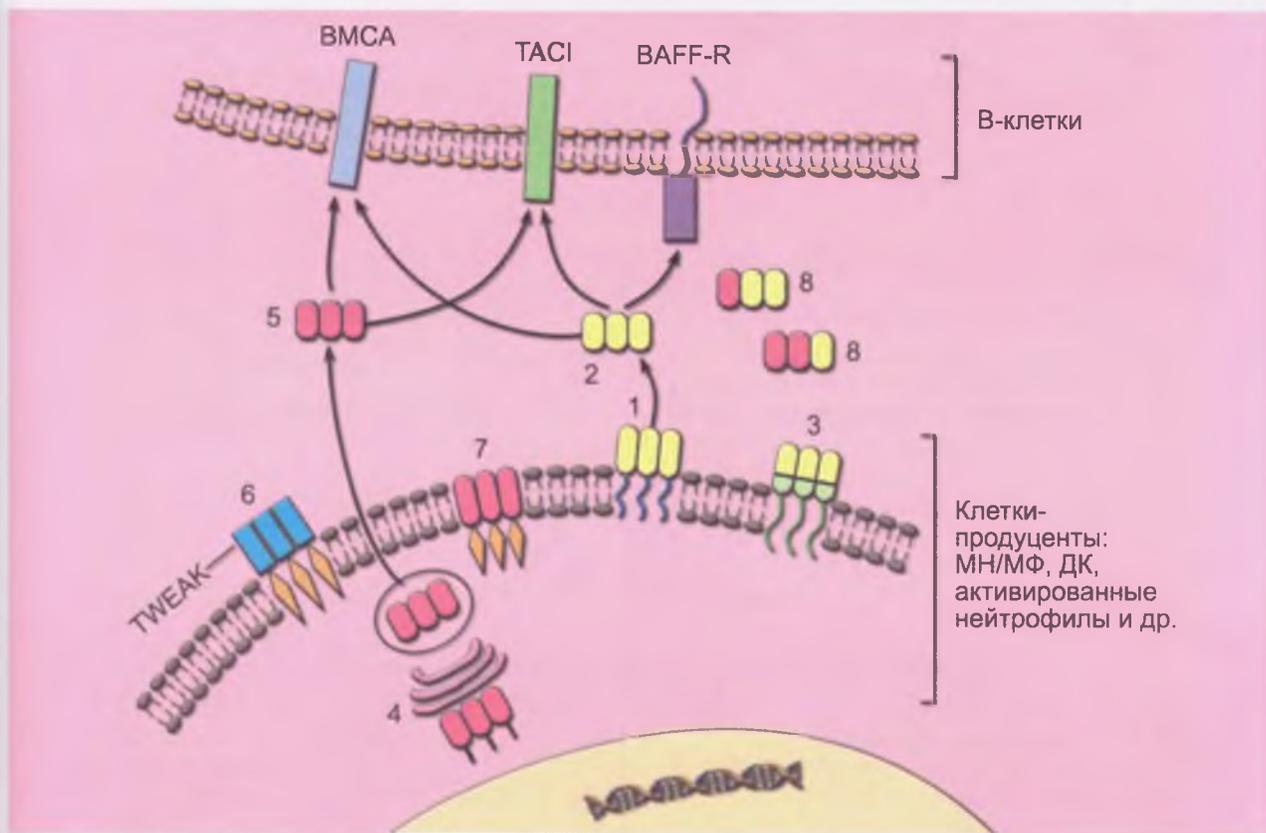


Рис. 531. Основные свойства BAFF и APRIL

МН/МФ, ДК, активированные НФ, стромальные клетки и многие другие синтезируют цитокины из семьи TNF, которые активируют рост и пролиферацию В-клеток. К ним относится BAFF(2) (синоним BLYS) и APRIL (5), а также эктодисплазин А (EDA, на рис. не показан) и TWEAK (*TNF-like weak inducer of apoptosis*) (6). Уровень BAFF и APRIL существенно повышен у больных с системной красной волчанкой, ревматоидным артритом, синдромом Шегрена и др. BAFF синтезируется как трансмембранный белок II типа (1), состоящий из 285 аминокислот, который в мембране расщепляется фуриин-конвертазой с образованием растворимой формы sBAFF (2) (Daridon C. et al., 2008). Как и все лиганды TNF-семьи, BAFF образует с помощью своих консервативных гидрофобных поверхностей гомотриммерные (2) структуры, которые необходимы для эффективного связывания с рецепторами В-клеток. sBAFF взаимодействует с рецепторами BAFF-R, TACI и BMCA В-клеток. В клетках-продуцентах этого цитокина также синтезируется

небольшой пептид Δ BAFF (3), который, вероятно, существует только в мембранной форме. Поскольку Δ BAFF не взаимодействует с рецепторами BAFF-R и TACI, по всей видимости, этот рецептор осуществляет негативное регулирование лиганда BAFF. APRIL синтезируется как трансмембранный белок II типа, состоящий из 250 аминокислот. В отличие от BAFF APRIL не существует в виде мембранной формы, так как фуриин-конвертазой в аппарате Гольджи (4) у него перед секрецией отщепляется мембранный и цитоплазматический участки. Как и BAFF, APRIL образует гомотриммерные структуры (5) и взаимодействует с двумя рецепторами В-клеток BMCA и TACI. Мембранная форма APRIL образуется в результате альтернативного сплайсинга локуса APRIL/TWEAK, в результате чего образуется гибридная молекула Twe-Pril (7). Рецепторами для этой молекулы, как и для APRIL, являются TACI и BMCA. Растворимые формы BAFF и APRIL могут образовывать гетеротриммеры (8), которые встречаются у больных с аутоиммунными заболеваниями.

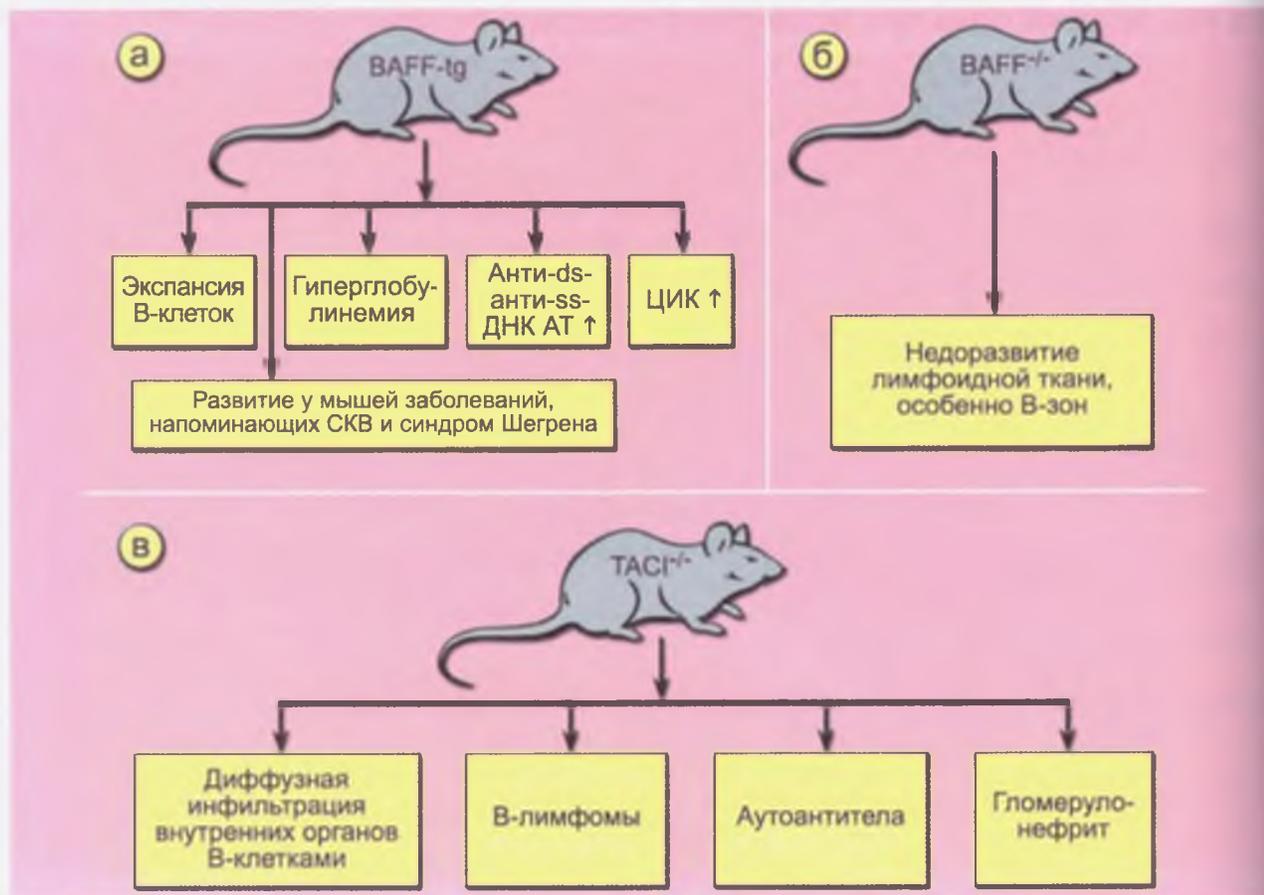


Рис. 532. Влияние BAFF и TAC1 на рост и размножение В-клеток (в эксперименте)

- а. Гиперпродукция гена *BAFF* у трансгенных мышей вызывает гиперактивацию В-клеток с развитием аутоиммунных заболеваний.
- б. Отсутствие продукции гена *BAFF* у мышей с нокаутом, поэтому происходит недоразвитие В-зон лимфоидной ткани.
- в. У мышей с нокаутом по *TAC1* развивается гиперактивация В-клеток, что даёт основание предполагать о роли этого рецептора как негативного регулятора иммунной системы.

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

Некоторые препараты для лечения аутоиммунных заболеваний (Tincani A. et al. 2007). Инфликсимаб (*Infliximab*) — химерная IgG1-молекула, состоящая из АГ-связывающей области мышиных анти-TNF α МАТ и человеческого Fc-фрагмента. Адалимумаб (*Adalimumab*) — рекомбинантные человеческие анти-TNF α IgG1-МАТ. Этанерцепт (*Etanercept*) — фьюжен-белок (*fusion protein*), состоящий из TNF α -рецептора 2-го типа (p75) и человеческого IgG1. Анакинра (*Anakinra*) — рекомбинантная негликозилированная форма антагониста человеческого IL-1R. Тоцилизумаб (*Tocilizumab*) — МАТ против IL-6R. Все эти препараты, находящиеся в растворимой форме, препятствуют взаимодействию провоспалительных цитокинов с клетками-мишенями. Такая же функция у препарата белимумаб (*Belimumab*), являющегося анти-BAFF МАТ. Препарат абатацепт (*Abatacept*) является фьюжен-белком, состоящим из экстрацеллюлярной области CTLA-4 и IgG1, и блокирует взаимодействие CD28-B7. Созданы два препарата для подавления функций В-клеток — главного источника аутоантител: ритуксимаб (*Rituximab*) — анти-CD20 МАТ и эпратузумаб (*Epratuzumab*) — анти-CD22 МАТ. Для ингибции участия компонента в воспалительных процессах создан препарат экулизумаб (*Eculizumab*) — анти-C5 МАТ.

Таблица 1. Основные принципы медикаментозной терапии аутоиммунных ревматических заболеваний (проф. Р.М. Балабанова)

Препараты		Диагноз	Показания
Нестероидные противовоспалительные препараты		РА, СКВ, ПМ/ДМ, БШ	Артрит, артралгии
Глюкокортикоиды:	Системно	РА	Высокая активность, васкулит, серозит, синдром Фелти, синдром Стилла взрослых
		СКВ, ПМ/ДМ, БШ	Нефрит, васкулит, серозит, цитопения
	Пульс-терапия	РА, СКВ, ПМ/ДМ	Недостаточная эффективность системного приёма глюкокортикоидов
Базисные противовоспалительные препараты (БПВП)	Аминохинолиновые	РА, СКВ	Умеренная активность
	Сульфасалазин	РА	Умеренная активность
	Метотрексат, лефлюномид	РА	Высокая активность, быстро прогрессирующее течение
	Циклофосфамид	РА, СКВ, ПМ/ДМ	Высокая активность, системные проявления (васкулит, нефрит, серозит, миозит)
	Микофенолата мофетил	СКВ	Нефрит, васкулит, серозит
Биологические препараты	Ингибиторы TNF α	РА	Неэффективность БПВП
	Антитела к CD20	СКВ, РА	Неэффективность БПВП
		БШ	Криоглобулинемический васкулит
Иммуноглобулины		РА, СКВ, ПМ/ДМ	Инфекция на фоне БПВП

Условные обозначения: РА — ревматоидный артрит; СКВ — системная красная волчанка; ПМ/ДМ — полимиозит/дерматомиозит; БШ — болезнь Шегрена.

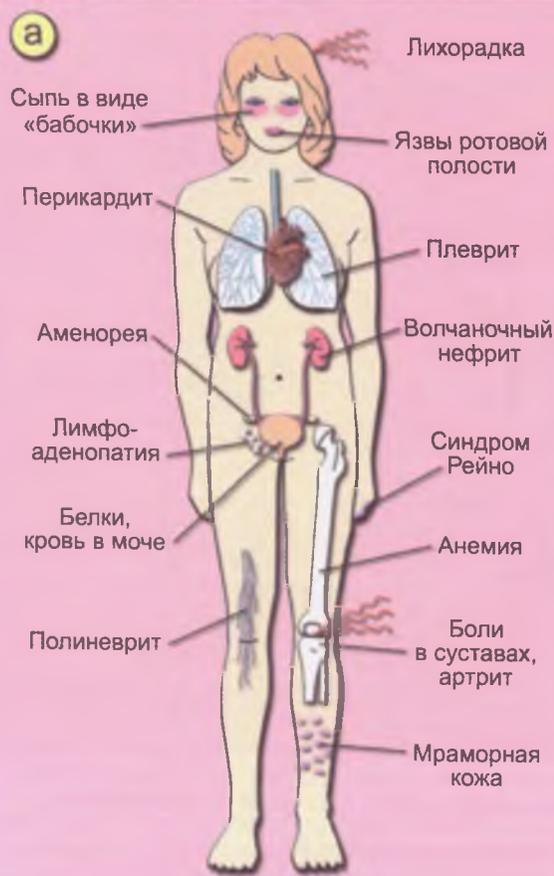
3.2.3. СИСТЕМНАЯ КРАСНАЯ ВОЛЧАНКА

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Системная красная волчанка (СКВ) — это тяжёлое аутоиммунное системное заболевание с необычайно разнообразными и варьируемыми клиническими симптомами. При этом заболевании наблюдаются поражения кожи и слизистых, суставов, лёгких, печени, почек, селезёнки и лимфатических узлов, сердечно-сосудистой системы, желудочно-кишечного тракта, плевры, крови и центральной нервной системы. Большинство из описанных поражений может быть вызвано аутоантителами, постоянно синтезируемыми В-клетками больных СКВ. Эти АТ чрезвычайно разнообразны по своей специфичности, но наибольшую патогенетическую значимость имеют АТ к компонентам ядра: хроматину, небольшим (*small*) ядерным рибонуклеопротеинам (snRNPs), ДНК, РНК, гистонам, негистонным белкам ядра и др. Патогенетически значимыми также являются аутоантитела к сывороточным белкам и АГ гематопозитических органов. Аутоантитела сами или в составе иммунных комплексов откладываются на эндотелии, эпителии и других клетках практически всех тканей и органов, вызывая хронический воспалительный процесс. Поражение почек — волчаночный нефрит — является одной из главных причин смерти при СКВ. Этиопатогенез заболевания остаётся недостаточно изученным. Ясно одно: генетическая предрасположенность и факторы окружающей среды играют решающую роль в развитии этого заболевания.



Рис. 533. Эритема в виде бабочки у больной системной красной волчанкой (фото предоставлено проф. Р.М. Балабановой)



б

Факторы риска
Гормональные факторы (заболеваемость у женщин в возрасте 20–40 лет в 10 раз чаще, чем у мужчин)
Аллели HLA-DR3, HLA-DR2 и др.
Интенсивное солнечное облучение
Вирусные инфекции, бактериальные токсины
Лекарственные средства (изониазид)
Наследственное снижение C1q-компонента комплемента, а также C2 и C4
Эмоциональный стресс
Гиперкалорийная диета

Рис. 534. Поражения органов и тканей при системной красной волчанке

а. Основные клинические проявления СКВ.

б. Возможные факторы риска и индуцирующие факторы.

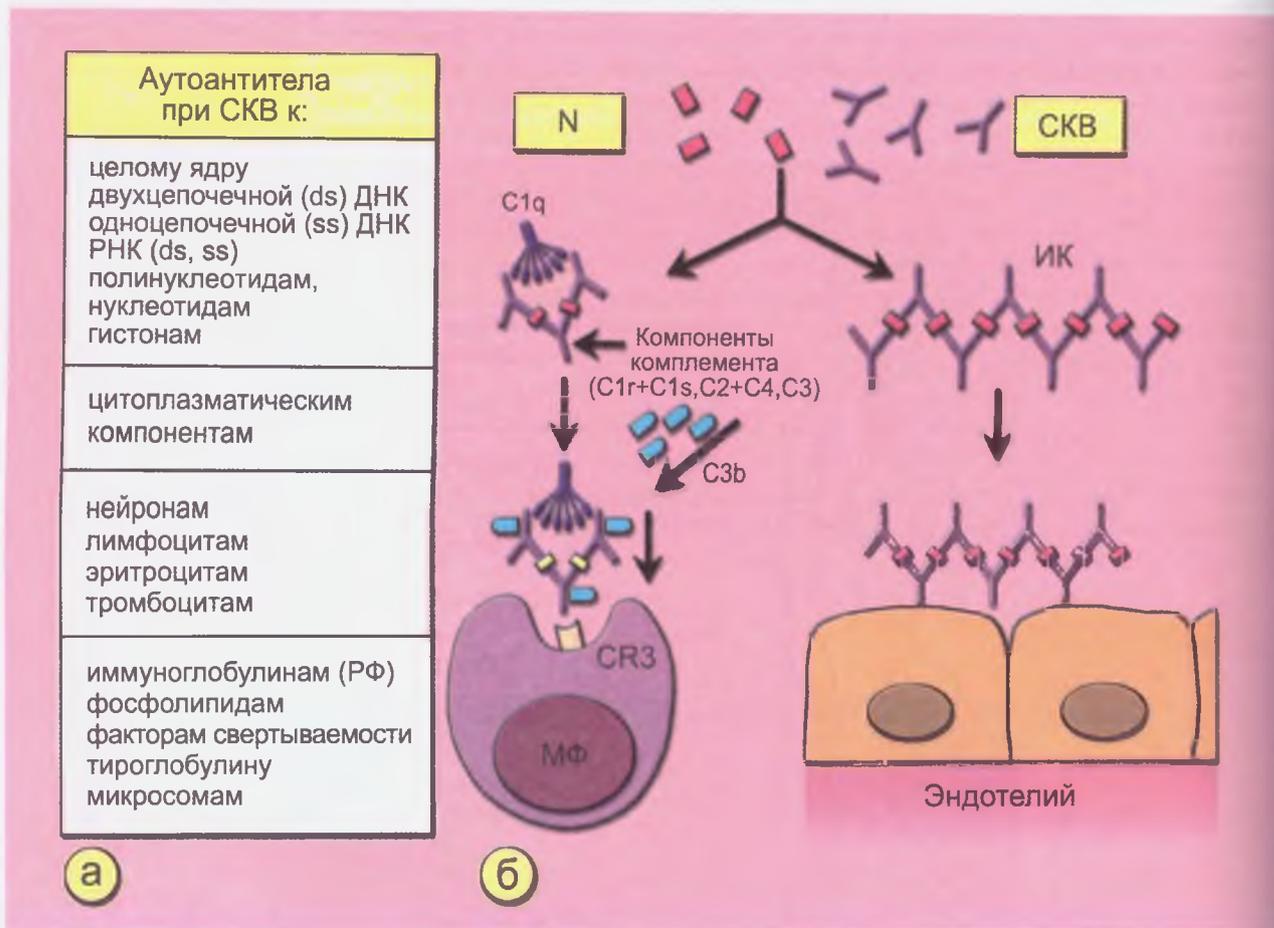


Рис. 535. Аутоиммунный гуморальный иммунный ответ при системной красной волчанке

а. Основные аутоантигены, к которым образуются антитела при СКВ.

б. Судьба ИК у здоровых людей (N) и у больных СКВ. У здоровых людей компонент комплемента C1q взаимодействует с Fc-фрагментом IgG в составе иммунных комплексов (ИК) и активирует классический путь активации комплемента. Следствием этого является присоединение к ИК C3b-компонента комплемента, его взаимодействие с интегриновым рецептором МФ CR3 (CD11b/CD18) и поглощение этого комплекса, т.е. элиминация его из кровотока. У больных СКВ уровень C1q-компонента исходно понижен. Именно поэтому в отсутствие C1q образуются крупные ИК, которые откладываются на клетках эндотелия, вызывая их повреждение. Главная роль в деструкции тканей аутоантигенами принадлежит Fc-фрагменту IgG, отличающимся от нормальных IgG по строению их олигосахаридных цепей.

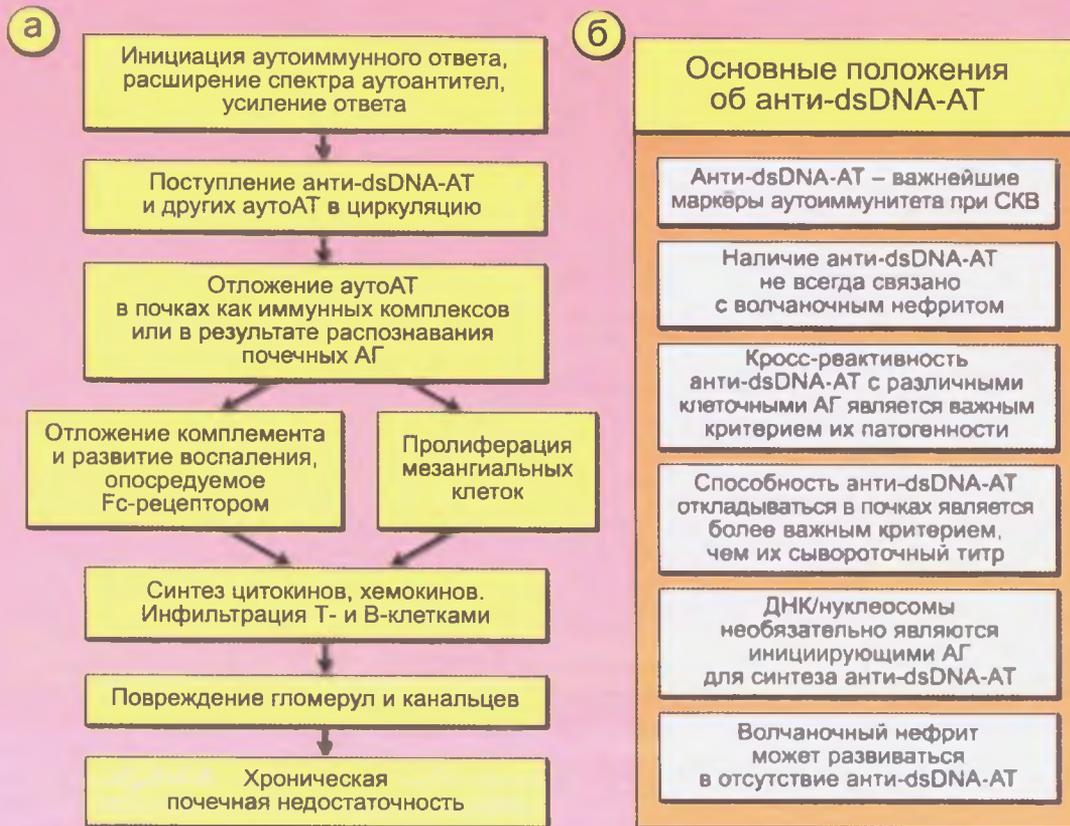


Рис. 536. Роль анти-ДНК-антител в патогенезе волчаночного нефрита

а. Антиядерные антитела и антитела к двухспиральной ДНК (dsDNA) обнаруживаются у 95% больных СКВ. Они играют ведущую роль в патогенезе СКВ, и особенно в поражении почек. После инициации аутоиммунного ответа происходит расширение набора антител к различным аутоантигенам. Эти антитела осаждаются в почках либо как иммунные комплексы за счёт FcR-взаимодействия, либо путём перекрёстного распознавания анти-dsDNA-антител аутоантигенами почек. Это ведёт к пролиферации мезангиальных клеток, инфильтрации почек Т- и В-клетками, синтезу хемокинов, цитокинов и развитию хронического воспаления, что в конечном итоге заканчивается почечной недостаточностью.

б. Возможная роль анти-dsDNA-антител в развитии волчаночного нефрита (Deshmukh U.S. et al., 2006).

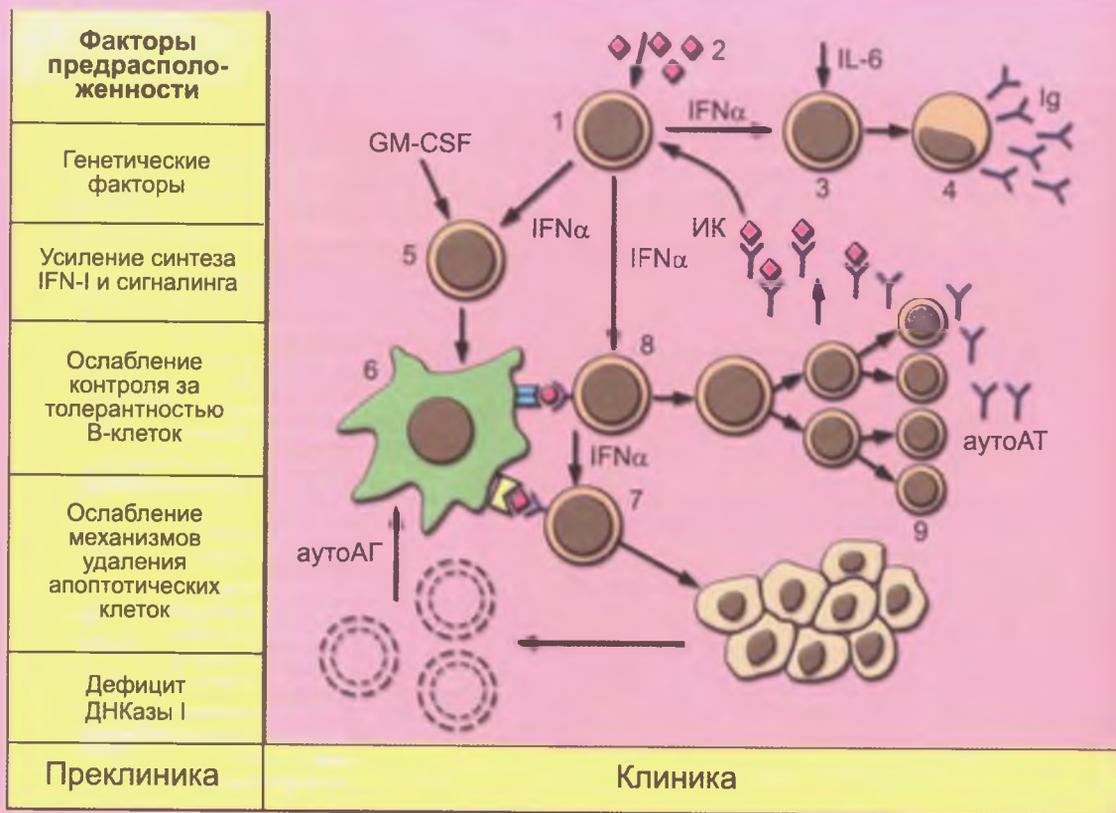


Рис. 537. Роль IFN I типа в индукции системной красной волчанки (по Pascual V. et al., 2006)

Больные СКВ имеют в сыворотке высокий уровень IFN α . Одним из главных источников IFN α являются плазматоидные ДК (1), а вирусы (2) являются мощными индукторами его синтеза. IFN α совместно с IL-6 индуцирует превращение покоящихся В-клеток (3) в плазмоциты (4), секретирующие большие количества иммуноглобулинов, что часто наблюдается при СКВ. Далее IFN α совместно с GM-CSF индуцирует превращения моноцитов (5) в миелоидные ДК (6). IFN α является сильным активатором Т- и В-клеток. Показано, что в присутствии сыворотки крови больного СКВ ДК индуцируют образование CD8 Т-киллеров, которые убивают клетки-мишени с появлением нуклеосом и СКВ-аутоантигенов. Аутореактивные CD8 Т-киллеры (7), индуцированные миелоидными ДК, убивают нормальные клетки с образованием большого количества аутоантигенов апоптотических кле-

ток, которые захватываются миелоидными ДК и представляются аутореактивными CD8 и CD4 Т-клетками. Происходит усиление цитотоксического эффекта. Аутореактивные CD4 Т-клетки (8) индуцируют аутореактивные В-клетки (9) синтезировать аутоантитела. Происходит образование ИК, содержащих в своём составе фрагменты хроматина, одно- и двухспиральные ДНК. Эти комплексы захватываются плазматоидными ДК, распознаются внутриклеточными TLR9 и усиливают синтез IFN α . Тремя важными предрасполагающими моментами в данной схеме являются снижение контроля (*check points*) за толерантностью В-клеток, снижение процессов удаления апоптотических клеток и снижение активности ДНКазы I, ответственной за расщепление ДНК апоптотических и некротических клеток. Последний дефект, как правило, выявляется у больных СКВ.

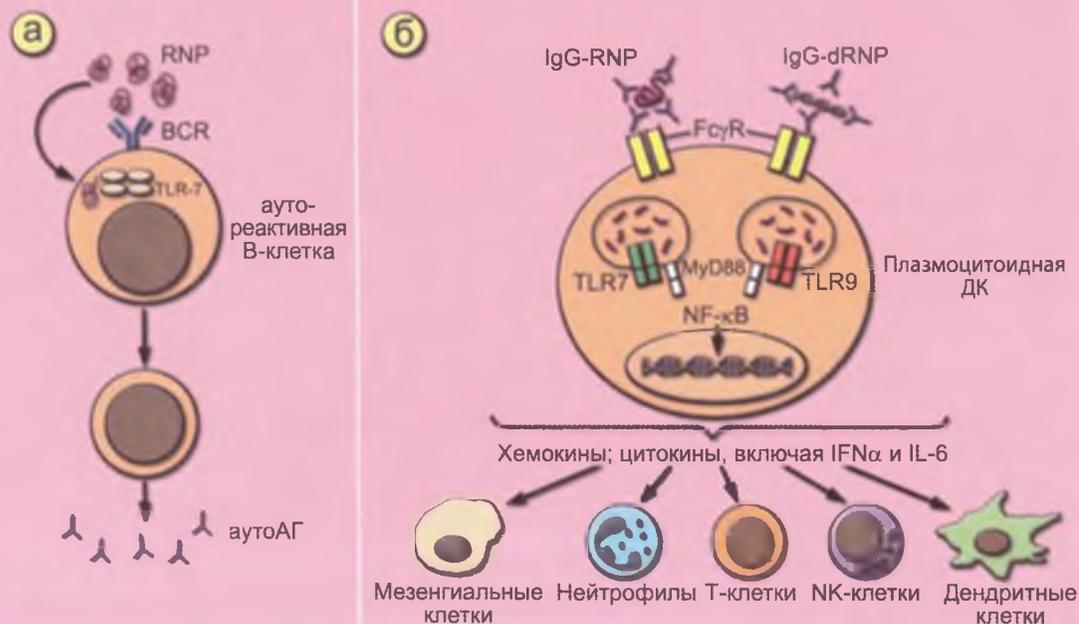


Рис. 538. Роль TLR в развитии системной красной волчанки

а. Индукция аутореактивных В-клеток ядерными АГ (RNP) осуществляется через два сигнала: через BCR и TLR. В В-клетках человека экспрессируют высокий уровень TLR9 и средний уровень TLR7. В результате эндоцитоза, опосредуемого через BCR, RNP и dRNP попадают в раннюю эндосому, которая сливается с мембраной ЭР, содержащей TLR9 и TLR7. Происходит образование поздней эндосомы, её ацидификация и расщепление нуклеопротеина, который активирует соответствующий TLR. RNP активируют TLR7, dRNP — TLR9 (на рисунке не показано).

б. Активированные В-клетки синтезируют ауто-IgG-антитела, которые образуют ИК двух видов: IgG-RNP и IgG-dRNP. Эти ИК взаимодействуют с FcγR ДК и подвергаются эндоцитозу и тем же путём поступают в эндосомы, содержащие TLR7 или TLR9. Показано, что РНК млекопитающих может активировать TLR7 и TLR9, содержащиеся в В-клетках. Особенно эффективна в активации TLR одноцепочечная РНК, содержащая большое количество уридина. Возникает вопрос об активации TLR9 ДНК высших животных, содержащих пониженное количество CpG-мотивов. Оказалось, что наибольшее количество неметилированных CpG-мотивов находится у 5'-области кодируемых генов. Стало известно, что при апоптозе происходит избирательное расщепление ДНК с 5'-конца и фрагменты ДНК, обнаруженные в ИК сыворотки больных СКВ, содержат неметилированных CpG-мотивов в 5 раз больше, чем основная ДНК. Создаются условия для активации ДК через TLR9. Активированная ДК синтезирует большие количества цитокинов и хемокинов, включая IL-6 и IFNα. IFNα повышает экспрессию костимуляторных молекул, индуцирует синтез провоспалительных цитокинов, осуществляет переключение классов Ig, кооперирует с TLR7 в индукции IFNα. Важную роль в патогенезе СКВ играет IL-6, который отменяет супрессию Treg аутореактивных В-клеток. IL-6 стимулирует пролиферацию мезенгиальных клеток, одного из ведущих признаков волчаночного нефрита — очаг воспаления (Rahman A.H., Eisenberg R.A., 2006).

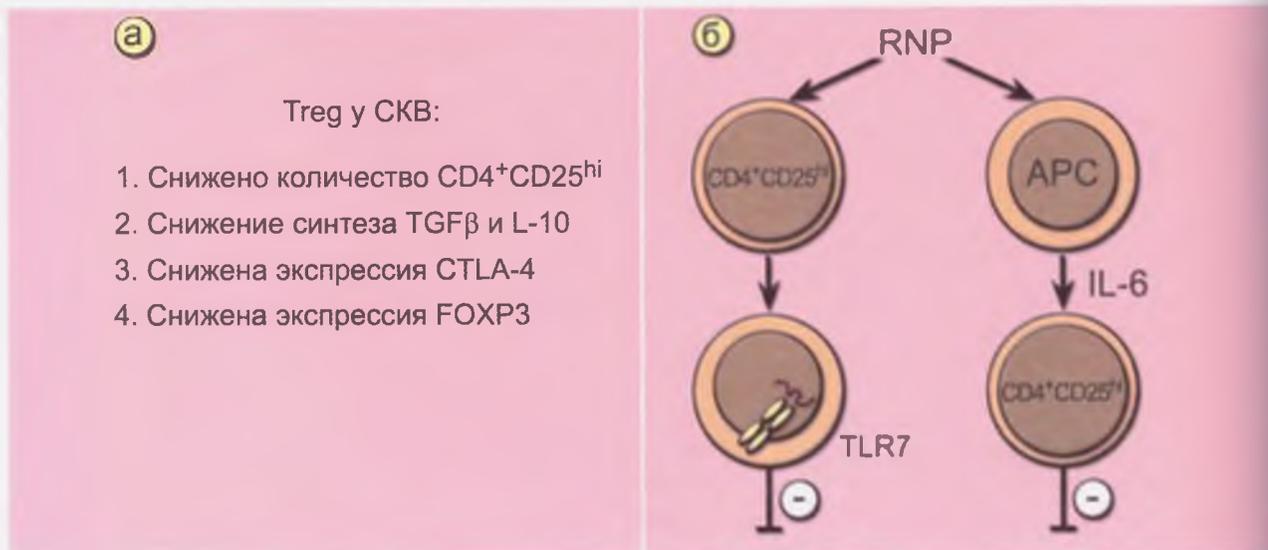


Рис. 539. Роль Treg в развитии системной красной волчанки

а. Для больных СКВ характерно, но не всегда, снижение Treg и супрессорных цитокинов и CTLA-4.
 б. Предполагаемая схема участия Treg в регуляции иммунного ответа больных СКВ. Вероятно, с помощью пиноцитоза Treg поглощают рибонуклеопротеиды и в цитоплазме взаимодействуют с TLR7/8. Доказано, что активация TLR7/8 отменяет супрессорный эффект Treg и снижает существенно порог чувствительности CD4⁺CD25⁻ Т-клеток к их действию. Возможен и другой вариант. Сверхактивация АПК RNP через TLR7/8 ведёт к сильной продукции IL-6, которая отменяет супрессорный эффект Treg.

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

Факторы, способствующие развитию СКВ (Shirai T., Hirose S., 2006). Дефекты в апоптозе могут быть одной из причин, ведущих к развитию СКВ. В эксперименте показано, что у мышей, трансгенных по антиапоптотическому фактору Bcl-2, спонтанно возникает СКВ. У мышей линии MRL/lpr, модель спонтанной СКВ, в возрасте 5–6 мес начинается интенсивная пролиферация аутореактивных В-лимфоцитов, несущих аутосомальный рецессивный лимфопролиферативный ген *lpr*. В последующем было доказано, что эта мутация локализуется в *Fas*-гене. У детей эта мутация вызывает аутоиммунный лимфопролиферативный синдром. При мутации *Fas*-гена характер аутоиммунных проявлений, вероятно, зависит от всего генетического фона организма. Другим важным фактором, определяющим развитие СКВ, является баланс в экспрессии костимуляторных и коингибиторных молекул. У больных СКВ имеется дефект в экспрессии ингибиторных молекул CTLA4 и PD-1, что, как считают некоторые авторы, является решающим фактором в развитии этого заболевания. Среди рецепторных молекул в развитии СКВ играют роль FcγRs, разные представители которых несут стимулирующие ITAM- и ингибирующие ITIM-домены (см. рис. 10). Дисбаланс между этими рецепторами может явиться причиной срыва ауто толерантности и пролиферации аутореактивных В-клеток. Активация стимулирующих FcγRs способствует более тяжёлому развитию воспалительных процессов, опосредованных иммунными комплексами. Главными патогенетическими факторами при СКВ являются аутоантитела и иммунные комплексы. Фактором, способствующим развитию СКВ или осложняющим её течение, могут быть соматические мутации в иммуноглобулиновых V-генах, в результате которых возникают высокоаффинные аутореактивные аутоантитела. При СКВ у человека и мышей в результате полиморфизма гена *C1q* снижен уровень сывороточного C1q. В результате этого уменьшается скорость удаления иммунных комплексов фагоцитирующими клетками и повышается повреждающий эффект иммунных комплексов на органы и ткани. Полное отсутствие C1q – чрезвычайно редкое событие. Всего описан 41 случай таких дефектов. Из них в 38 случаях развилась СКВ. Повышенная частота развития СКВ может наблюдаться и при дефицитах других компонентов (C2 и C4) системы комплемента.

3.2.4. РЕВМАТОИДНЫЙ АРТРИТ

Ревматоидный артрит (РА) — хроническое аутоиммунное заболевание нескольких суставов, характеризующееся воспалением синовиальной оболочки, ведущее к разрушению хряща и кости. Заболевание поражает 1% населения Земли; женщины болеют в 2–3 раза чаще, чем мужчины. Повышенный риск развития РА сцеплен с присутствием *HLA-DRB1*-гена. Кроме того, развитие РА может быть связано с геном *PTPN22*, кодирующим внутриклеточную протеинтирозинфосфата-

зу, участвующую в активации Т-клеток, с геном *MHC2TA (CITA)*, детерминирующим экспрессию молекул МНС-II, и геном *PADI4*, кодирующим пептидиларгининдеиминазу-4, осуществляющим посттранскрипционную модификацию белков путём замены аргинина на цитруллин. В основе патогенеза РА лежат аутоиммунные процессы клеточного и гуморального типа. Индуктор этих процессов неизвестен. Им могут быть бактерии, вирусы, суперантигены и т.д.

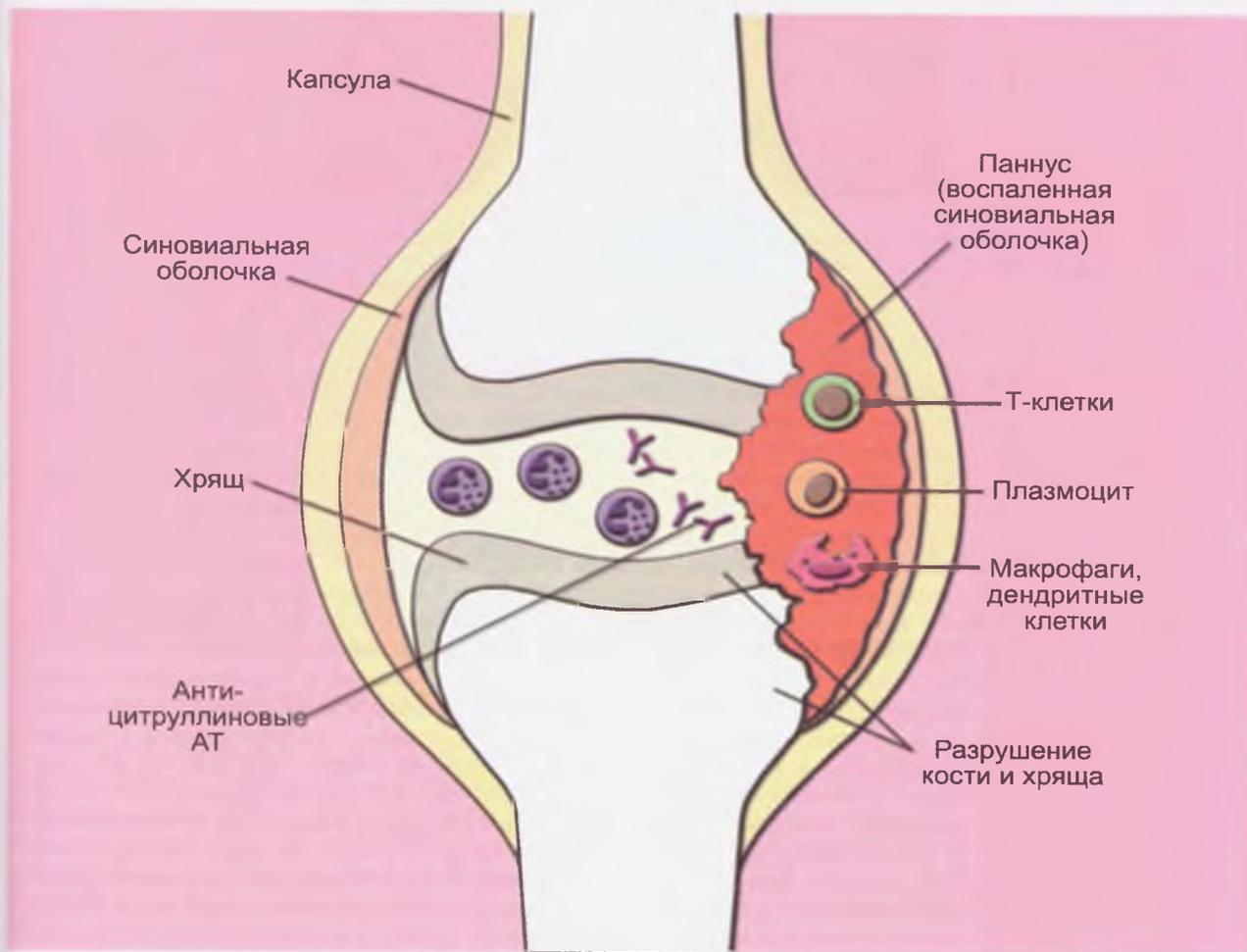


Рис. 540. Поражения суставов при ревматоидном артрите

Ведущий морфологический признак ревматоидного воспаления — это гиперплазия синовиальной оболочки, интенсивный рост которой (паннус) при-

водит к разрушению кости и хряща. В синовиальной ткани выявляются Т-клетки, МФ и ДК, плазматические клетки, большое количество НФ, а также ИК.



Рис. 541. Кисти рук больного ревматоидным артритом (фото предоставлено проф. Р.М. Балабановой)

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Гипотеза развития РА (Rosenstein E.D. et al., 2004). В 1982 г. Snyderman и McCarty впервые обратили внимание на общность воспалительных процессов при РА и периодонтите (ПО). Оба заболевания характеризуются хроническим воспалением в расположенной рядом с костью полости, содержащей жидкость (*fluid-filled compartment*), в которой воспалительные клетки и воспалительные медиаторы ведут к одинаковой клинической картине (боль, опухание, хрупкость) и вызывают эрозию соседней кости. Больные РА характеризуются повышенной частотой и тяжестью заболеваний периодонта. Для них характерна склонность к образованию камней, кровотечениям из дёсен, потере зубов и др. У больных ПО в 4 раза чаще встречается РА. Клеточный и гуморальный иммунные ответы участвуют в патогенезе этих заболеваний. При РА и ПО местное воспаление многократно усиливается за счёт миграции из кровотока воспалительных клеток соответственно в синовиальную оболочку или в слизистую десны. Активированные Т-клетки стимулируют в МН/МФ и ДК синтез больших количеств $TNF\alpha$ и $IL-1\beta$, которые далее стимулируют экспрессию молекул адгезии, других провоспалительных цитокинов, эйкозаноидов, активных форм кислорода и азота, металлопротеиназ и прочих факторов, вызывающих разрушение окружающей ткани. Возбудителем ПО считается грамотрицательная бактерия *Porphyromonas gingivalis*, являющаяся единственным прокариотом, синтезирующим пептидиларгинин деиминазу (PAD). Этот фермент ответствен за превращение аргинина в аминокислоту цитруллин, который посттрансляционно может вставляться в белки. Такие белки являются аутоантигенами, к которым развивается аутоиммунный ответ. 98% больных РА содержат антицитруллиновые IgG-антитела. Возможно, при РА фермент PAD является главным фактором, ответственным за развитие аутоиммунных процессов.

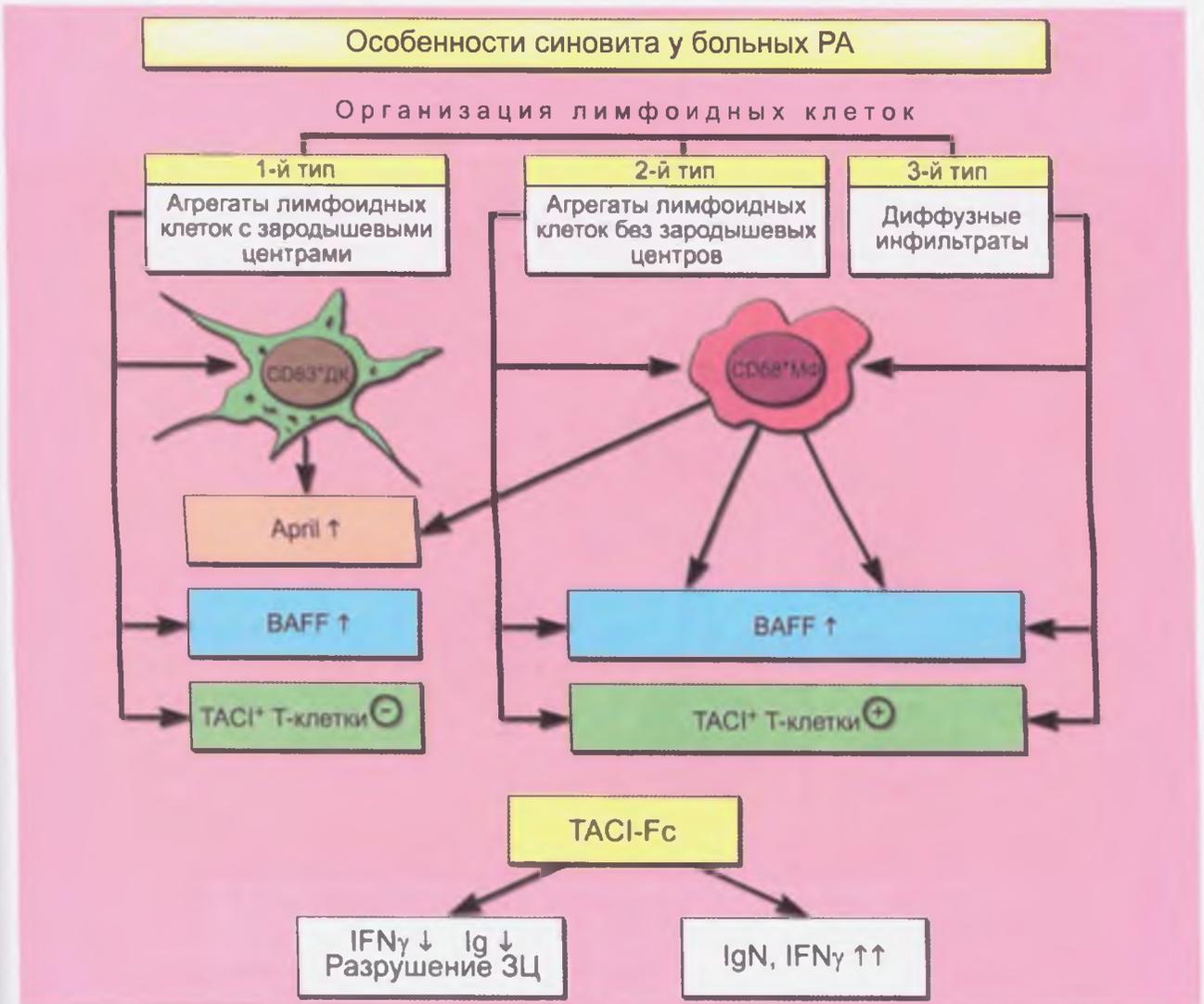


Рис. 542. Роль цитокинов BAFF (BLyS) и April в развитии синовита

В воспалённой синовиальной оболочке больных РА могут выявляться три типа агрегатов лимфоидных клеток: первый тип — агрегаты с зародышевыми центрами, второй тип — агрегаты без зародышевых центров и третий тип — диффузные инфильтраты. Во всех трёх типах агрегатов CD68⁺ МФ синтезируют повышенные количества цитокина BAFF. В агрегатах первого типа помимо BAFF синтезируется CD83⁺ ДК цитокин April. Особенностью агрегатов этого типа, отличающей их от двух других, является отсутствие у них TACI⁺ Т-клеток. При введении мышам с экспериментальным синовитом рекомбинантного белка TACI:Fc, являющегося ловушкой для цитокинов BAFF и

April, в агрегатах первого типа происходит разрушение зародышевых центров, подавление синтеза Ig и IFN γ . В двух других случаях происходит усиление патологического процесса и синтеза IFN γ (Seyler T.M. et al., 2005). Это различие, вероятно, связано с наличием у TACI⁺ Т-клеток ингибиторных функций, которые отменяются при введении белка TACI:Fc. TACI⁺ Т-клетки содержатся в скоплениях второго и третьего типов, и отмена их ингибиторной функции белком TACI:Fc ведёт к активации воспалительного процесса. Таким образом, BAFF и April регулируют не только функции В-, но и Т-клеток и обладают как про-, так и противовоспалительными свойствами.

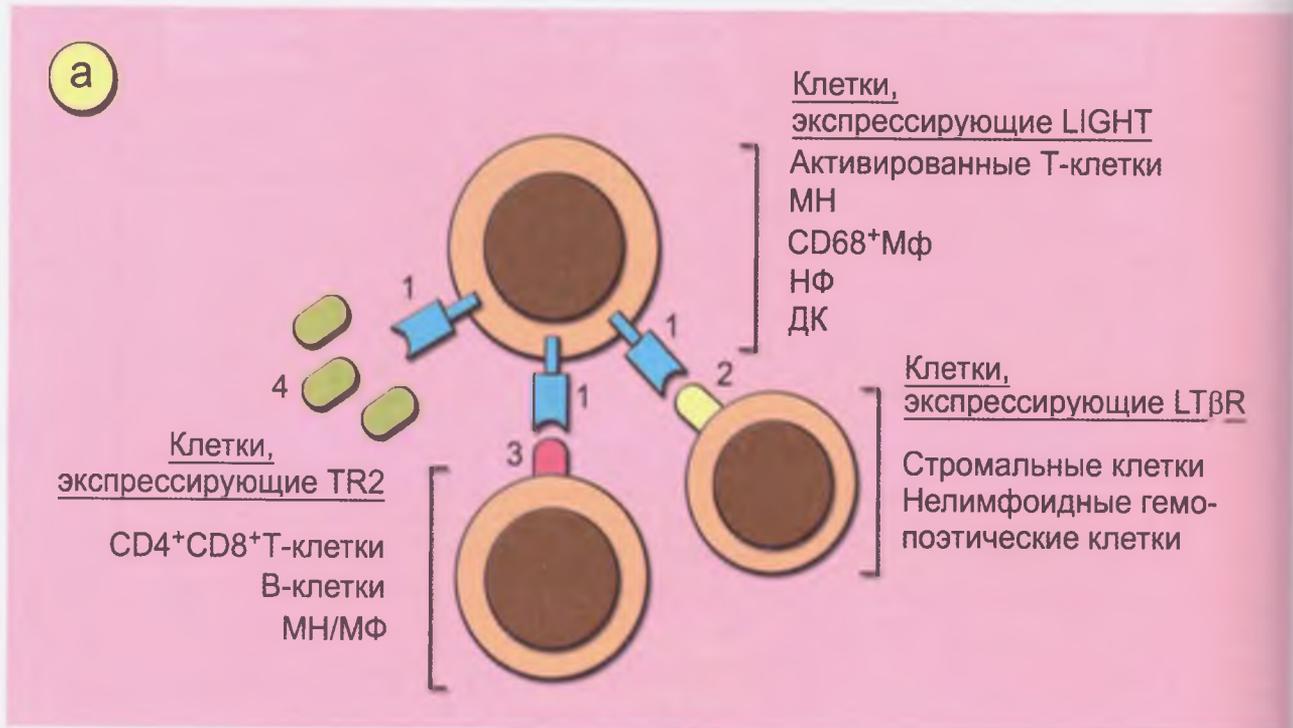


Рис. 543, а. Роль лиганда LIGHT в патогенезе ревматоидного артрита

LIGHT (1) — новый член суперсемьи TNF (TNFSF14), является трансмембранным белком II типа, экспрессируемым на ряде клеток. Он связывается с двумя мембранными сигнальными белками из суперсемьи TNF (TNFSF): рецептором для лимфотоксина-β (2) и TR2 (3), являющимся корецептором для герпетического вируса — HVEM. LIGHT также соединяется с растворимым несигнальным рецептором-ловушкой DcR3 (4), который модулирует его активность *in vivo*.

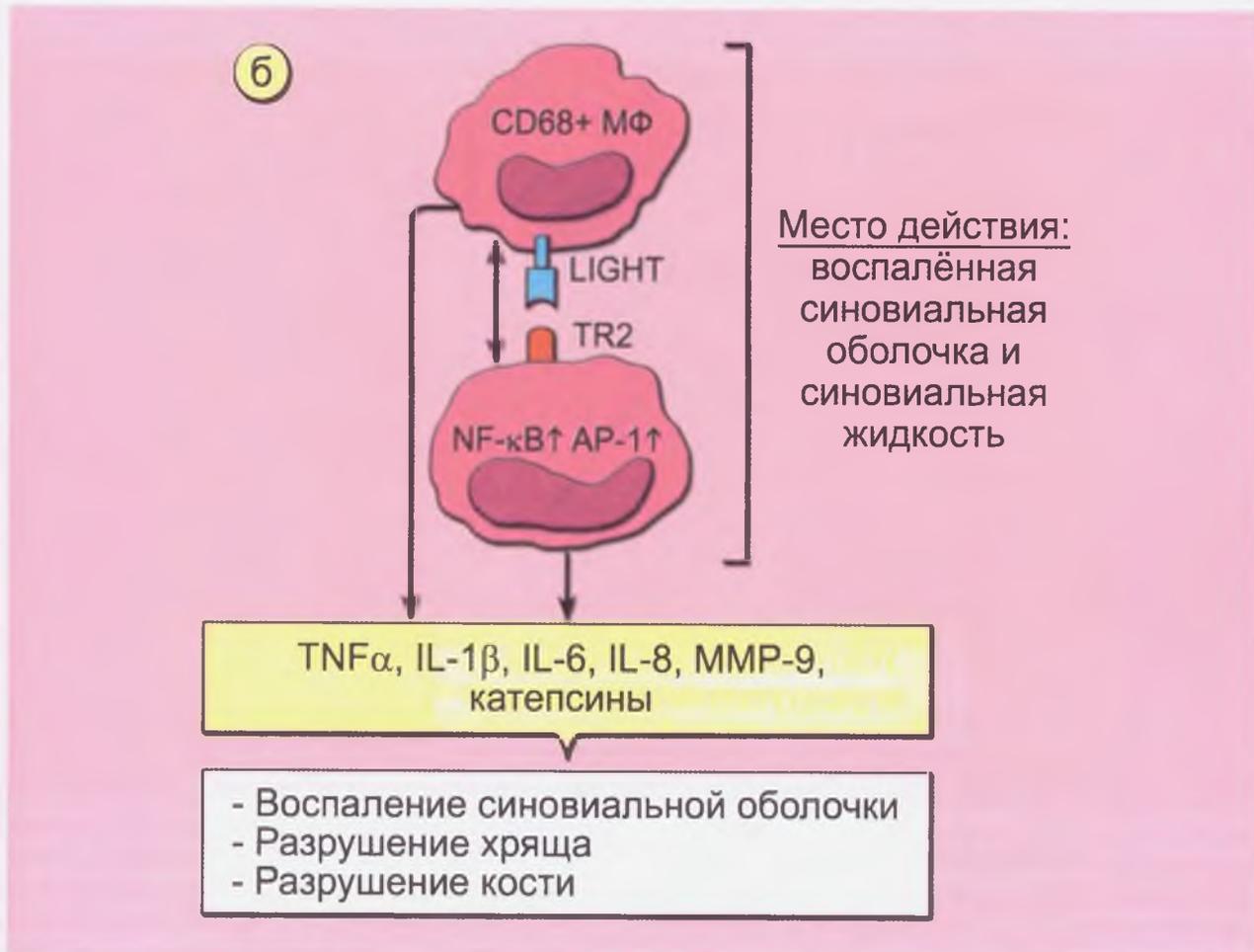


Рис. 543, б. Роль лиганда LIGHT в патогенезе ревматоидного артрита

В поражённом суставе CD68⁺ МФ инфильтрируют синовиальную оболочку. Они также выявляются в синовиальной жидкости. Эти МФ экспрессируют как LIGHT, так и TR2. Под влиянием LIGHT в TR2 CD68⁺ МФ активируются транскрипционные факторы NF-κB и AP-1, следствием чего является синтез TNF α , IL-1, IL-6, IL-8, MMP-9 (Kim W.-J. et al., 2005). Вероятно, МФ могут активировать друг друга при контактном взаимодействии. Синтезируемые цитокины, а также металлопротеиназы и катепсины принимают непосредственное участие в развитии воспаления и разрушении сустава.

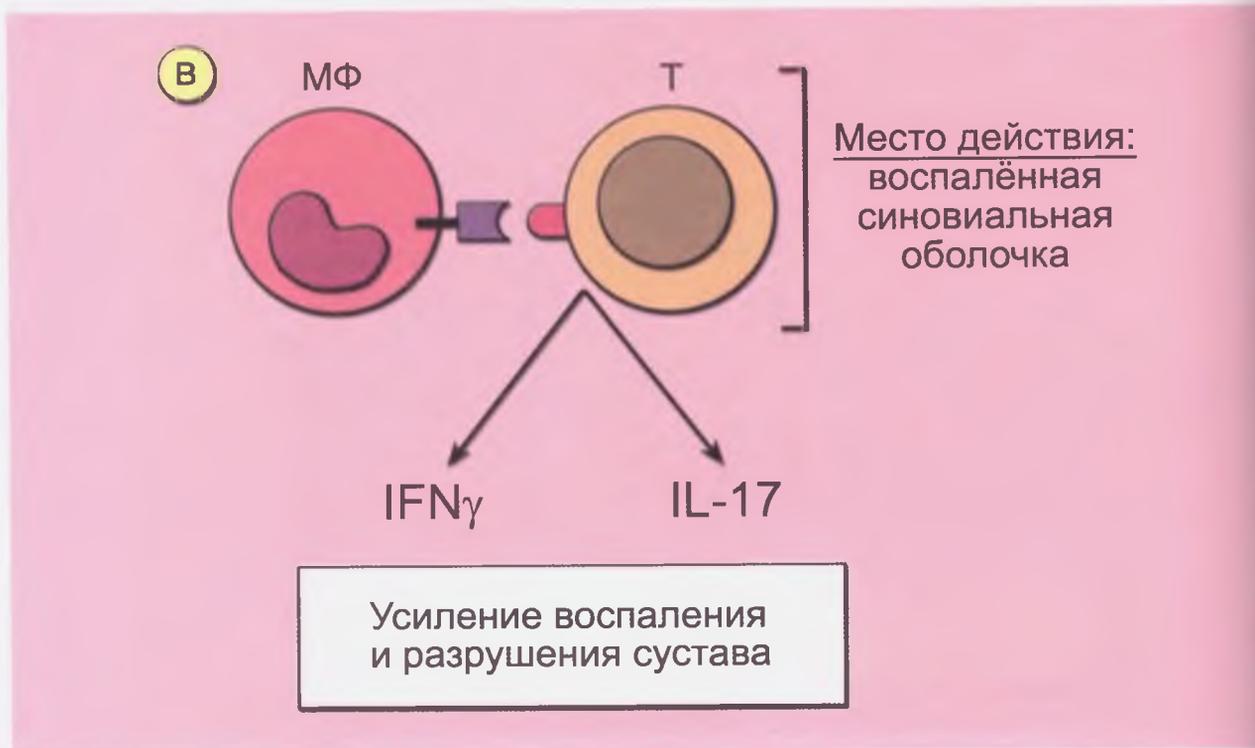


Рис. 543, в. Роль лиганда LIGHT в патогенезе ревматоидного артрита

С помощью LIGHT и TR2 в синовиальной оболочке активированные Т-клетки взаимодействуют с CD68⁺ МФ, следствием чего является усиление синтеза IFN γ и IL-17.

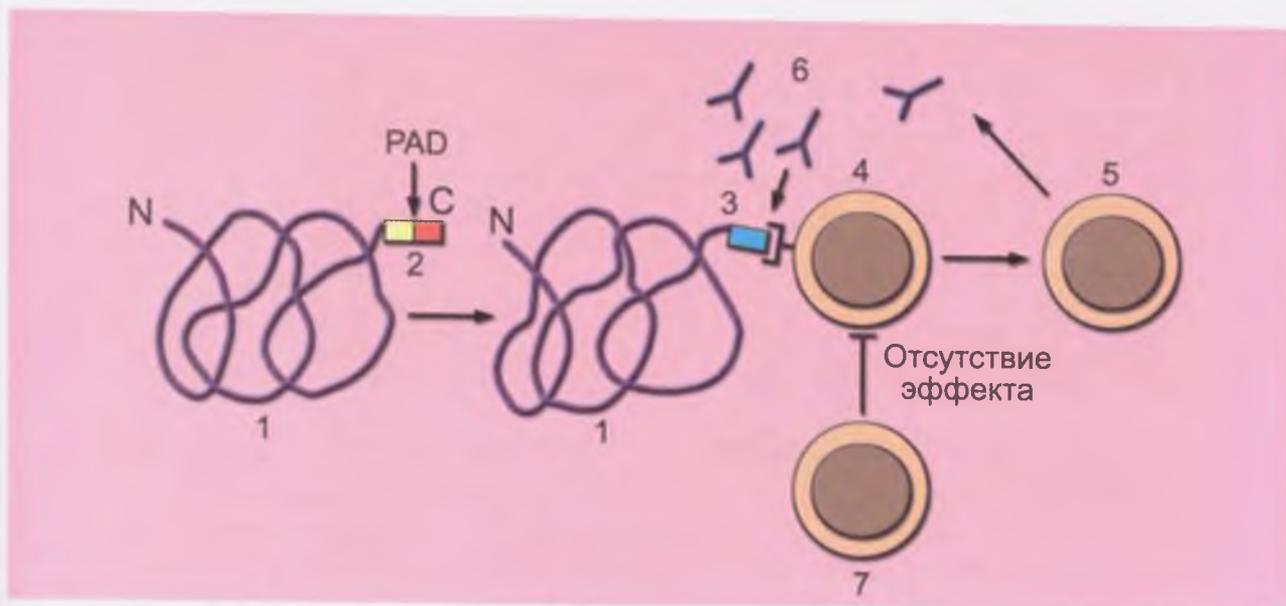


Рис. 544. Цитруллиновые белки как индукторы ревматоидного артрита

Цитруллиновые белки (ССР) возникают в результате посттранскрипционного удаления у ряда белков (1) (виментина, кератина, филагрина, коллагена, фибрина и др.) гуанидиновой группы у С-терминального аргинина (2) ферментом пептидиларгининдеиминаза 4 (PAD), в результате чего образуется аминокислота цитруллин (3). Цитруллиновые белки распознаются аутореактивными Т-клетками (4), которые инициируют образование аутореактивными В-клетками (5) антицитруллиновых анти-

тел (6). Наиболее частой причиной инициации ответа является белок филагрин (филамент агрегационный белок), образующийся на поздней стадии дифференцировки эпителиальных клеток. Антитела к филагрину обнаруживаются у 98% больных РА. Эти антитела синтезируются плазмочитами паннуса и обнаруживаются в синовиальной жидкости. Развитию аутоиммунного ответа способствует снижение у больных РА иммунорегуляторных Т-клеток (Treg) с фенотипом $CD4^+CD25^{high}$ (7).

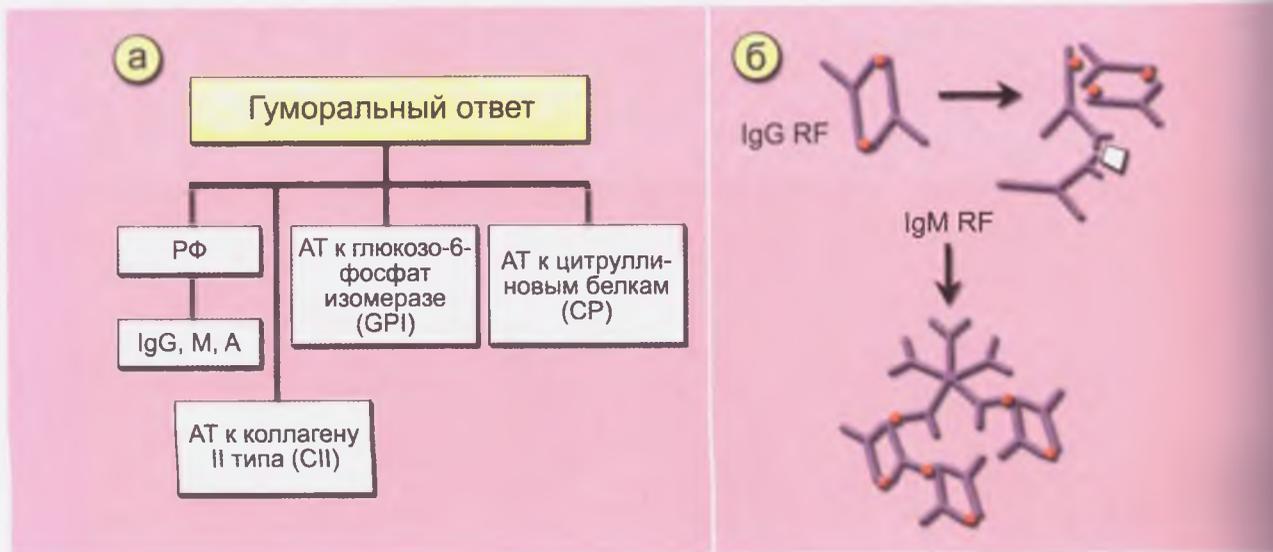


Рис. 545. Гуморальный аутоиммунный ответ при ревматоидном артрите

а. Аутоиммунный гуморальный ответ при РА складывается из синтеза ревматоидного фактора (РФ), антитела к GPI, CP и CII. Анти- γ -глобулины, или РФ, были открыты в 40-е гг. прошлого столетия и обнаруживаются у 70–80% больных РА. Их обнаружение является важным диагностическим признаком РА, но далеко не абсолютным, так как РФ выявляется при многих инфекционных заболеваниях и даже у здоровых. С помощью РФ никогда не удавалось воспроизвести РА у экспериментальных животных. Антиколлагеновые антитела и анти-GPI-антитела индуцируют явления артрита у грызунов. Однако у людей эти антитела обнаруживаются реже, чем РФ, и в более низких титрах. В последнее время большое значение придается антителам к белкам, у которых произошла посттранскрипционная замена аргинина на цитруллин (анти-CP). Эти антитела обнаруживаются у большинства больных РА и не обнаруживаются у здоровых или при других заболеваниях. Цитруллиновые белки являются значительно более активными в индукции артрита, чем коллаген II.

б. Существует несколько вариантов РФ. IgM-РФ, специфические к Fc-фрагменту IgG, являются низкоаффинными и реагируют с другими аутоантигенами. Этот РФ синтезируется $CD5^+ B1$ -клетками, и они кодируются зародышевыми генами. IgM-РФ образуют большие плохо растворимые ИК, которые быстро элиминируются фагоцитарной системой. Бактериальные АГ (PAMP) являются индукторами IgM-РФ. Наряду с IgM-РФ вырабатываются IgM-IgA и саморегулирующие IgG. Они синтезируются В-клетками, индуцированными АГ, и кодируются генами, возникающими в результате соматических рекомбинаций. Небольшие по размерам димеры IgG-РФ поступают в сустав и локализуются в синовиальной ткани, могут образовывать большие ИК, которые активируют систему комплемента и индуцируют образование цитокинов мононуклеарными клетками, находящимися в синовиальной ткани. Хотя РФ и не играет существенной роли в инициации РА, но есть четкие данные, что этот фактор может существенно усиливать поражение суставов.

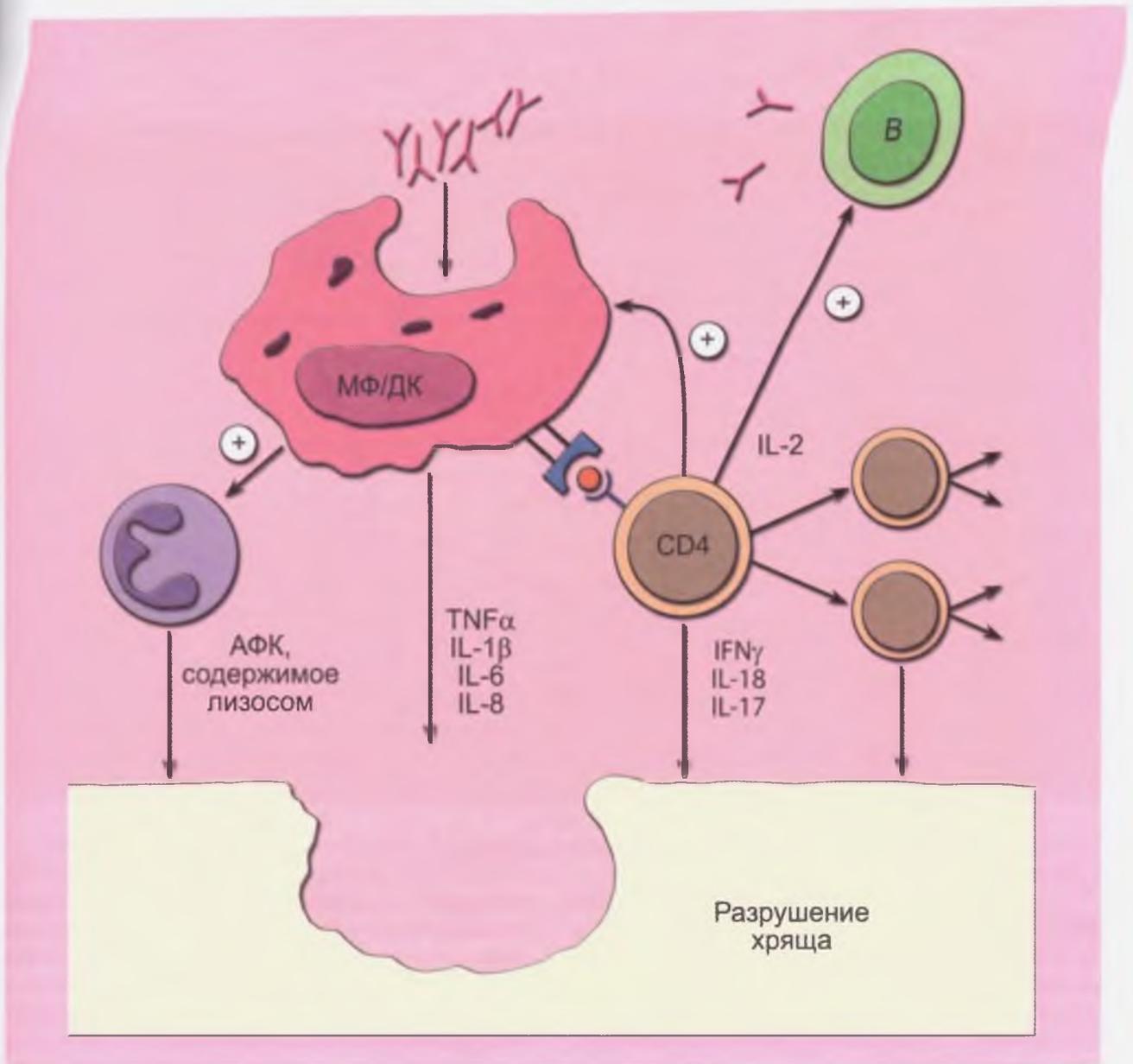


Рис. 546. Клеточный иммунный ответ при ревматоидном артрите

Аутоиммунный ответ при РА протекает по Th1-типу. Антигенпрезентирующие клетки (МФ и ДК) презентруют антиген аутореактивным CD4⁺ Т-клеткам, которые синтезируют IL-2, IL-18, IFN γ , TNF α и др. Эти цитокины активируют МФ и В-клетки, а также прямо или опосредованно через МФ, НФ. Активация МФ/ДК осуществляется

также иммунными комплексами. Главная роль в разрушении сустава принадлежит провоспалительным цитокинам, выделяемым МФ: TNF α , IL-1 β , IFN γ и др. Существенный вклад в разрушение сустава вносят АФК и ферменты лизосом, выделяемые как НФ, так и МФ.

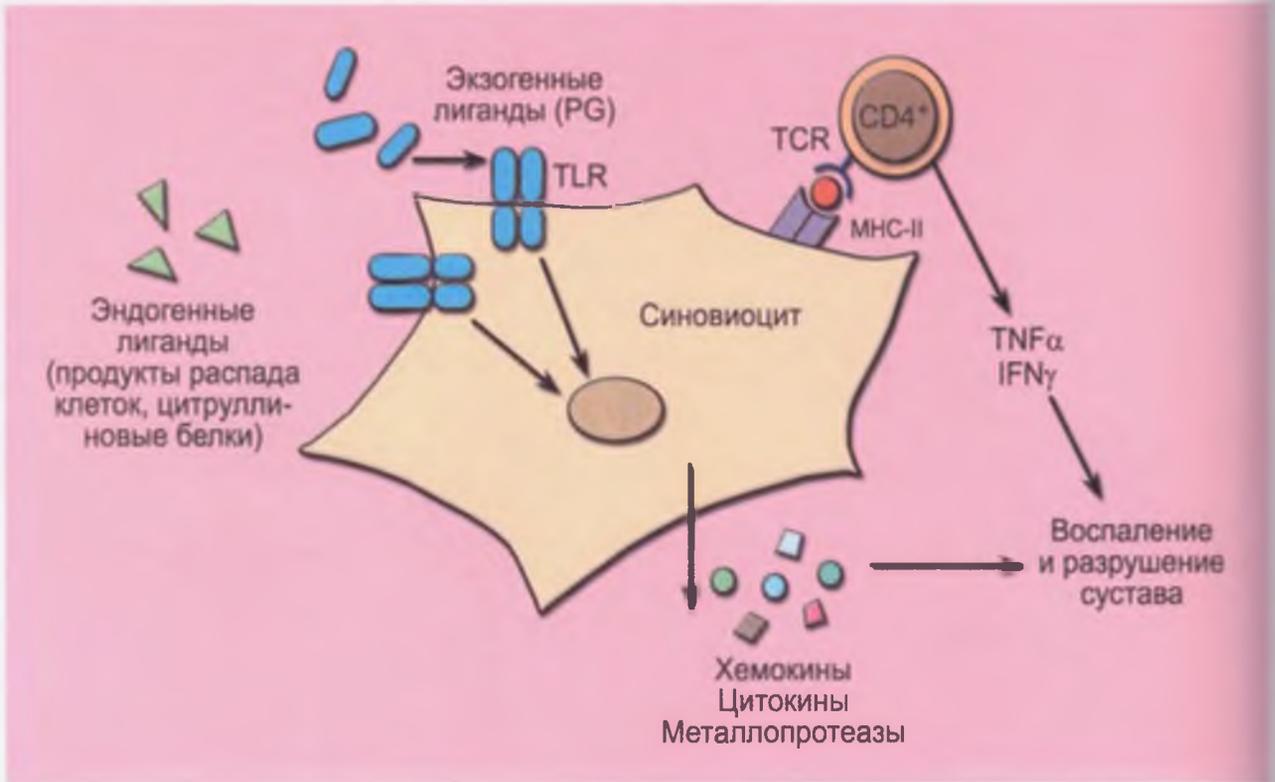


Рис. 547. Роль TLR в развитии ревматоидного артрита

Синовиоциты могут быть активированы через TLR-рецепторы экзогенными (пептидогликан и др.) и эндогенными (продукты распада клеток, белки теплового шока, цитруллиновые (?) белки и др.)

лигандами с образованием хемокинов, цитокинов, металлопротеаз, а также презентацией предполагаемых индукторов CD4⁺ Т-клеток с развитием деструктивного Th1-аутоиммунного ответа.

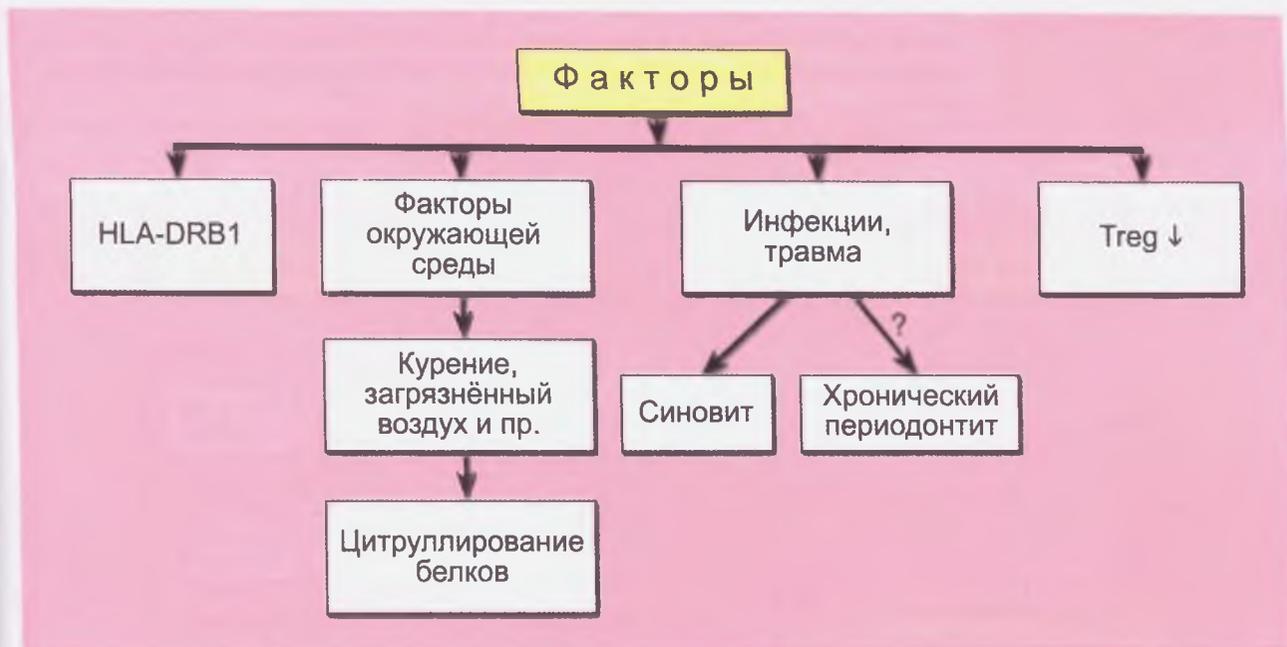


Рис. 548. Факторы, определяющие возможность развития ревматоидного артрита

Повышенная возможность развития РА наблюдается у людей, имеющих генотип HLA-DRB1. Курение, различные поллютанты и другие факторы являются активаторами фермента PAD и, следовательно, увеличивают возможность цитруллирования белков. Развитие аутоиммунного процесса реализуется быстрее после травмы или инфекционного процесса, вызвавших развитие неспецифического синовита. Придаётся значение хроническому пе-

риодонтиту, вызываемому грамотрицательной бактерией *Porphyromonas gingivalis*, единственным прокариотом, экспрессирующим фермент PAD.

Число Treg у больных РА существенно не отличалось от здоровых доноров, но их функциональная активность была значительно ниже. В частности, в синовиальной жидкости существенно повышена концентрация IL-6 и IL-15, снижающих функцию Treg.

3.2.5. СИНДРОМ ШЕГРЕНА

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Первичный синдром Шегрена (СШ) — хроническое, аутоиммунное заболевание, поражающее слёзные, слюнные и околоушные железы. В патологический процесс в дальнейшем вовлекаются также мышечная ткань, кровь, сосуды, почки, нервная система. Болеют чаще женщины (соотношение 9:1). СШ может развиваться самостоятельно и в комплексе с системной красной волчанкой, склеродермией, ревматоидным артритом. Этиология данного заболевания до конца не изучена.

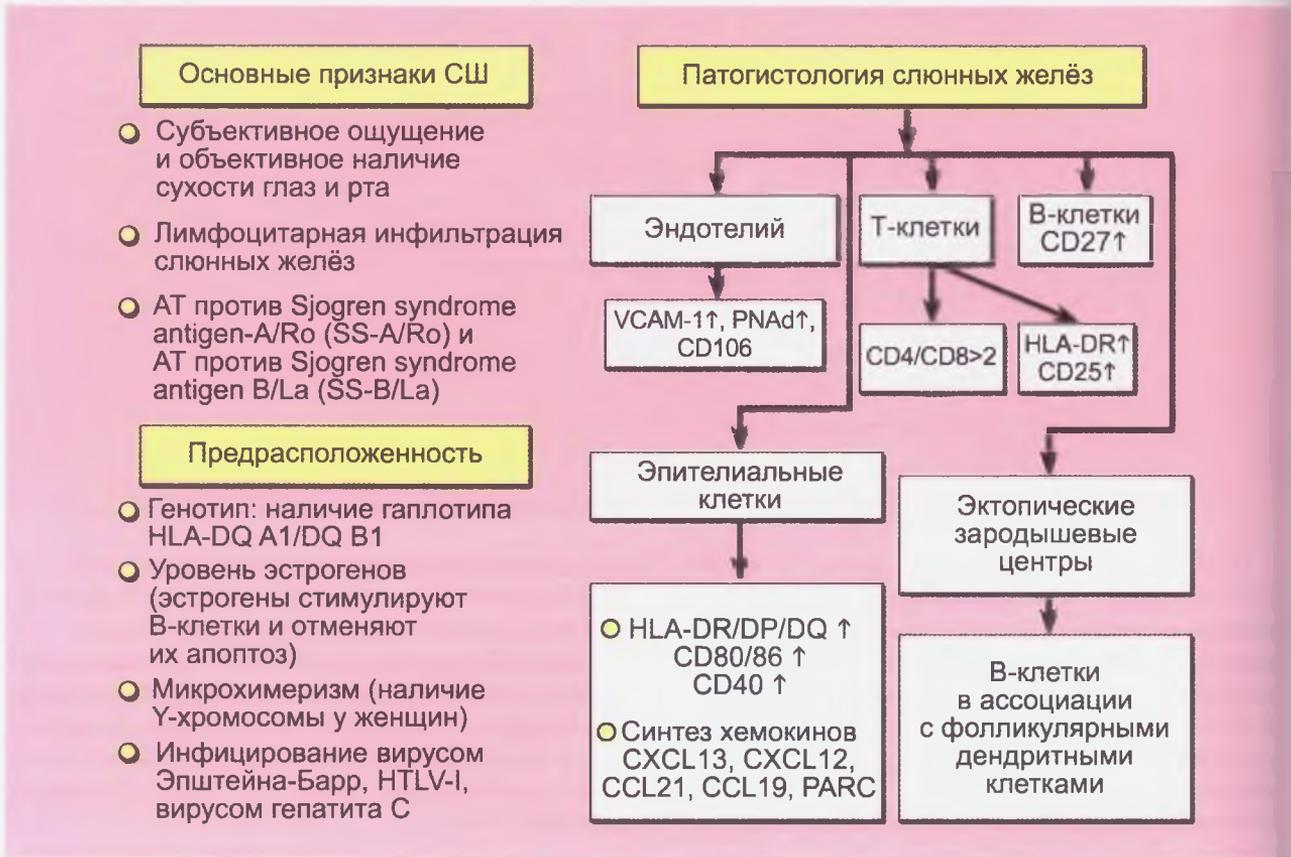


Рис. 549. Общая характеристика синдрома Шегрена

Главным патогенетическим проявлением этого заболевания является постоянная инфильтрация лимфоцитами экзокринных желёз: Т- и В-клетками, несущими маркёры активации, а также эпителиальными клетками.

Несмотря на выраженную поликлональную активацию В-системы иммунитета и синтез ряда антител, главную роль в дисфункции экзокринных желёз, вероятно, играют инфильтрирующие аутореактивные CD4⁺ Т-клетки.



Рис. 550. Паротит у больной синдромом Шегрена
(фото предоставлено проф. В.И. Васильевым)

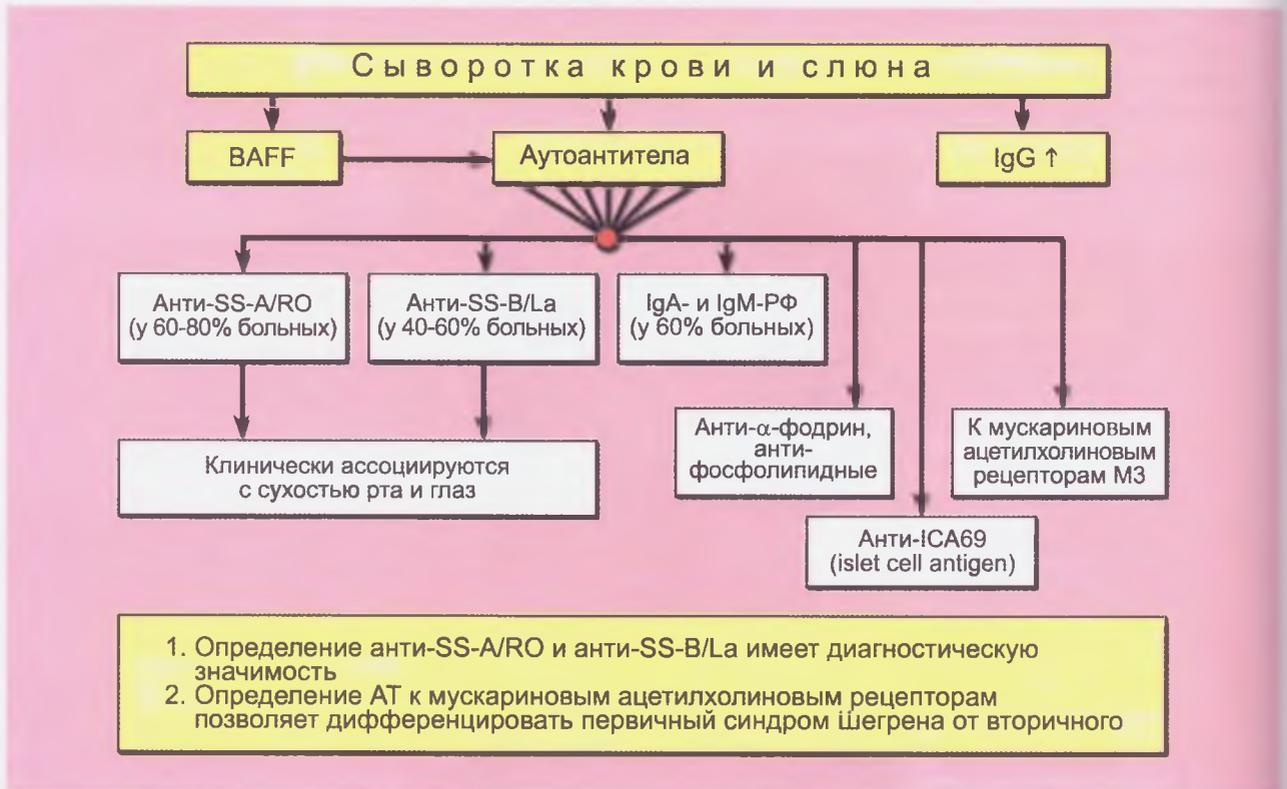


Рис. 551. Аутоантитела у больных синдромом Шегрена

У больных СШ выявляются аутоантитела против специфических АГ, характерных для данного заболевания: SS-A/RO и SS-B/La. Кандидатом на ведущую роль в иммунопатогенезе синдрома является АГ клеток островков поджелудочной железы ICA69, который, как полагают, способствует прогрессированию заболевания. В поликлональной

активации В-клеток важную роль играет цитокин BAFF, член суперсемьи TNF, синтезируемый МФ и ДК. BAFF участвует в созревании В-клеток и замедляет их апоптоз. Активация В-системы иммунитета, гипергаммаглобулинемия и синтез ряда аутоантител является неотъемлемой составной частью синдрома Шегрена.

3.2.6. СКЛЕРОДЕРМИЯ

Склеродермия (СД) — мультисистемное, аутоиммунное заболевание, характеризующееся фиброзом, пролиферативно-облитерирующими микроангиопатиями, поражением кожи и внутренних органов (лёгкие, сердце, почки, желудочно-

кишечный тракт) и серьёзными аутоиммунными нарушениями. Чаще болеют женщины. Важной чертой СД является аккумуляция избыточного количества коллагена и экстрацеллюлярного матрикса, сопровождающаяся активацией фибробластов.

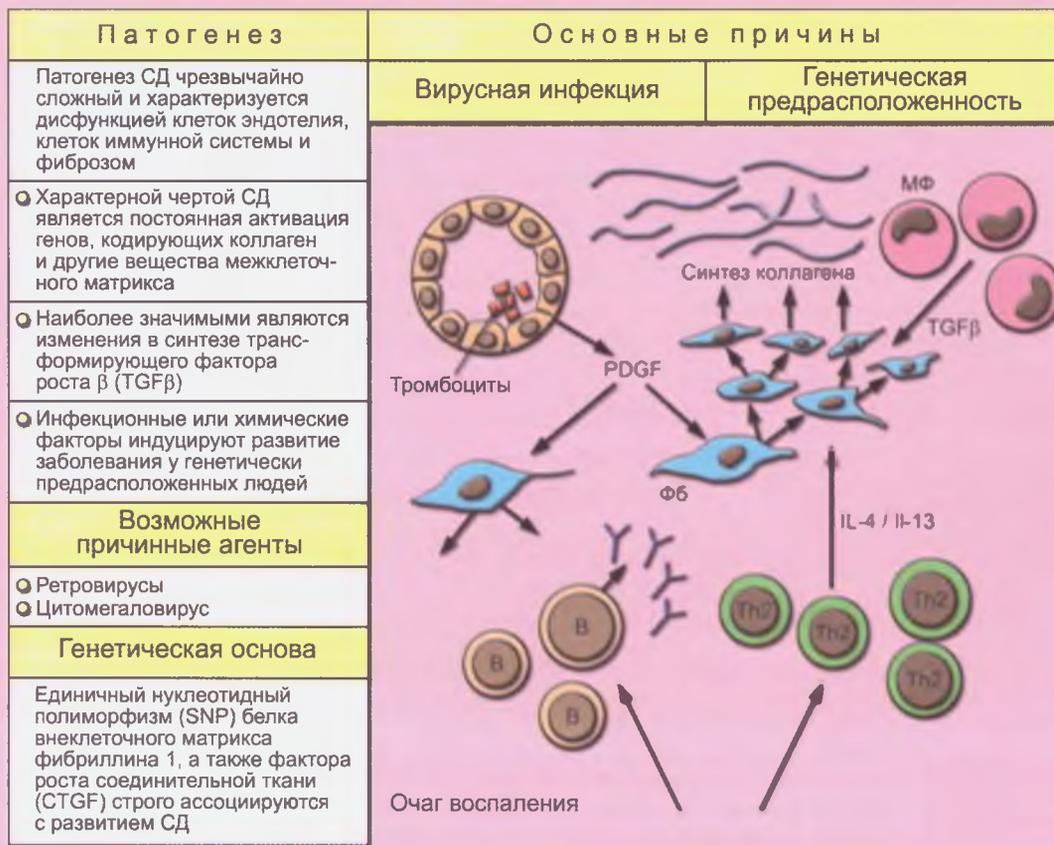


Рис. 552. Патогенез склеродермии

Первым этапом в развитии СД является агрегация и активация тромбоцитов, возникающая в результате нарушения соотношения между вазоконстрикторами и вазодилататорами, развития ишемии и повреждения эндотелия. Активированные тромбоциты выделяют мощный медиатор PDGF (*platelet-derived growth factor*), который вызывает пролиферацию и дифференцировку фибробластов. Прибывшие в очаг воспаления Th2-клетки синтезируют IL-4 и IL-13, которые усили-

вают коллагенообразование. Активированные МФ синтезируют TGF β , который повышает синтез коллагена фибробластами. Это ведёт к склерозу соединительной ткани, облитерации сосудов. Как отмечалось выше, эти поражения захватывают кожу и практически все внутренние органы. Прибывшие в очаг воспаления В-клетки синтезируют аутоантитела. Более 90% больных СД имеют антинуклеарные антитела и антитела к белкам соединительной ткани.

Антиген	Клинические проявления
Топоизомераза I	Лёгочный фиброз, поражение сердца
Центромеры	Тяжёлая дигитальная ишемия, кальциноз, Sicca синдром, лёгочная артериальная гипертензия
РНК полимеразы III	Тяжёлые кожные поражения Поражение почек (<i>renal crisis</i>)
Фибрилларин (И3-рибонуклеопротеин)	Лёгочная артериальная гипертензия, поражения пищевода, сердца, почек, мышц
Th/T0	Лёгочный фиброз, поражения почек (<i>renal crisis</i>)
B23	Лёгочная артериальная гипертензия, поражения лёгких
Кардиолипид	Лёгочная артериальная гипертензия
Pm/Scl	Миозит, лёгочный фиброз
И1-рибонуклеопротеин	Системная красная волчанка, лёгочный фиброз, артрит
Лабораторная диагностика	Определение АТК к топоизомеразе и центромерам

Рис. 553. Связь аутоантител с клиническими проявлениями

Установлено, что имеется связь между специфичностью антител и клиническими проявлениями заболевания (Boin F., Rosen A., 2007).

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

Так как при склеродермии поражается не только кожа, но и внутренние органы, ряд авторов считают, что предпочтительным названием заболевания является системный склероз (*systemic sclerosis*). Клиническая картина заболевания существенно варьирует от лёгких форм с небольшими кожными поражениями до тяжёлых форм с диффузными поражениями кожи, почек и лёгких. У таких больных значительно ухудшено качество жизни, и они в большинстве случаев погибают через несколько лет после постановки диагноза. Как ранее отмечалось, в основе патогенеза склеродермии лежит накопление избыточного количества коллагена и внеклеточного матрикса (ВКМ) в поражённых тканях, что является следствием активации фибробластов. В норме постоянно происходят сбалансированные процессы синтеза и деградации ВКМ, осуществляемые фибробластами. Важная роль в этих процессах принадлежит матриксным металлопротеиназам. При склеродермии процессы синтеза существенно преобладают над процессами деградации. Фундаментальным вопросом патогенеза склеродермии является вопрос о регуляции активности фибробластов, а именно: почему не включаются механизмы ингибиции их активности, когда синтез начинает превалировать над деградацией? Важен также вопрос: является ли повышенная активация фибробластов следствием их внутренних дефектов или она возникает только под влиянием внешних стимулов?

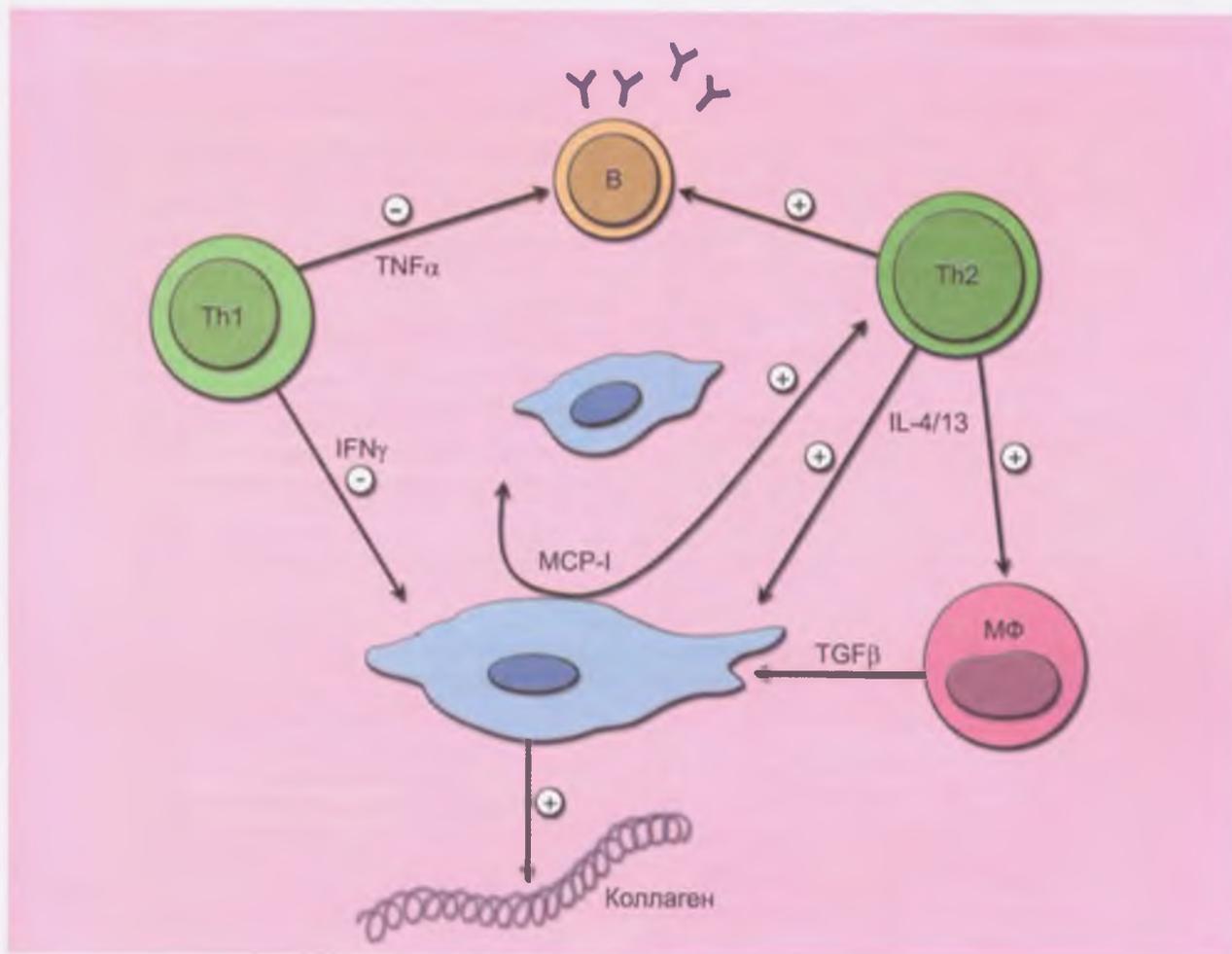


Рис. 554. Роль цитокинов в патогенезе склеродермии

Фибробласты, активированные IL-4/L-13 и TGFβ, являются мощными продуцентами хемоаттрактанта MCP-1, который привлекает в очаг воспаления новые МФ. Кроме того, MCP-1 действует на Т-клетки, направляя их развитие по Th2-пути. Эти клетки синтезируют IL-4/IL-13, которые способствуют образованию фибробластами коллагена и стимулируют формирование МФ TGFβ. Th1-клетки продуцируют IFNγ, который подавляет синтез коллагена. Таким же эффектом обладает TNFα, подавляя как экспрессию рецептора для TGFβ, так и мРНК для коллагенов. Таким образом, СД — это заболевание с преобладанием Th2-клеток, которые дают положительный сигнал

для аутореактивных В-клеток к синтезу аутоантител. TGFβ играет ведущую роль в пролиферации фибробластов, их хемотаксиса, продукции матрикса, образовании гранулярной ткани и сокращении коллагена. Связывание TGFβ с гетеродимерным рецептором ведёт к инициации ряда сигнальных путей. Синтезируется ряд профибробластических цитокинов: CTGF7 (*connective tissue growth factor*), PDGF, EGF (*epithelial growth factor*), bFGF (*basic fibroblastic growth factor*), IL-1α. TGFβ усиливает синтез коллагена I и III типа, ингибитора металлопротеаз (TIMP-1) и подавляет синтез металлопротеаз, разрушающих коллаген (Chizzolini C., 2007).

3.2.7. БОЛЕЗНЬ АДДИСОНА

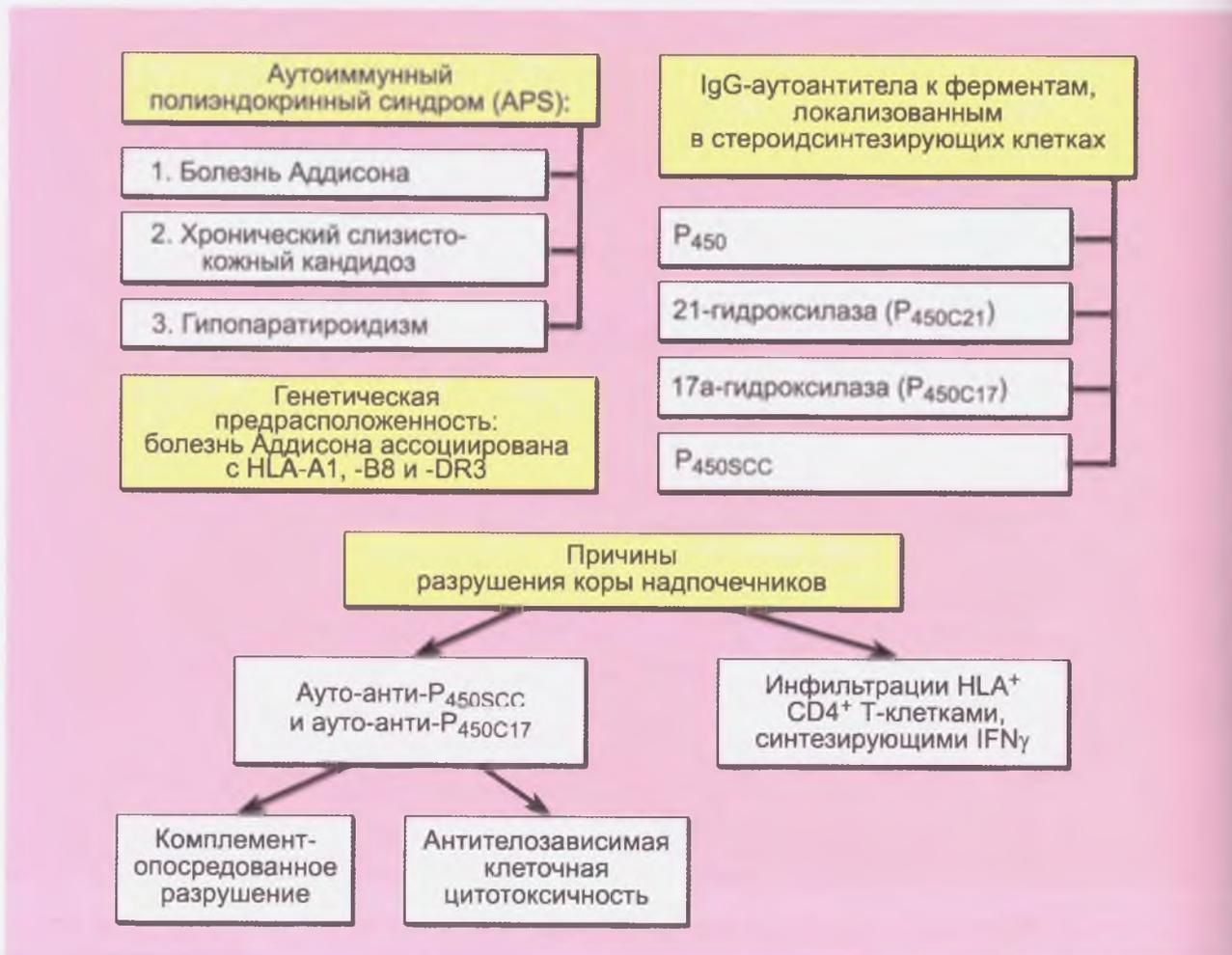


Рис. 555. Аутоиммунное заболевание — болезнь Аддисона

Болезнь Аддисона — это аутоиммунный процесс, ведущий к разрушению коры надпочечников, недостаточной продукции глюкокортикоидов, минералокортикоидов и половых гормонов. Частота заболевания 30–60 случаев на 10⁶. До эры антибиотиков туберкулёз был главной причиной недостаточности надпочечников. Болезнь Аддисона часто

ассоциируется с другими аутоиммунными заболеваниями: пернициозной анемией, тиреоидитом, сахарным диабетом 1-го типа. При аутоиммунном полиэндокринном синдроме (известном еще как болезнь Близзарда) болезнь Аддисона сочетается с гипопаратиреоидизмом и хроническим слизисто-кожным кандидозом.

3.2.8. ПСОРИАЗ

Псориаз — заболевание, опосредованное Т-клетками, характеризующимися эпидермальной гиперплазией. Встречается примерно у 2% людей.

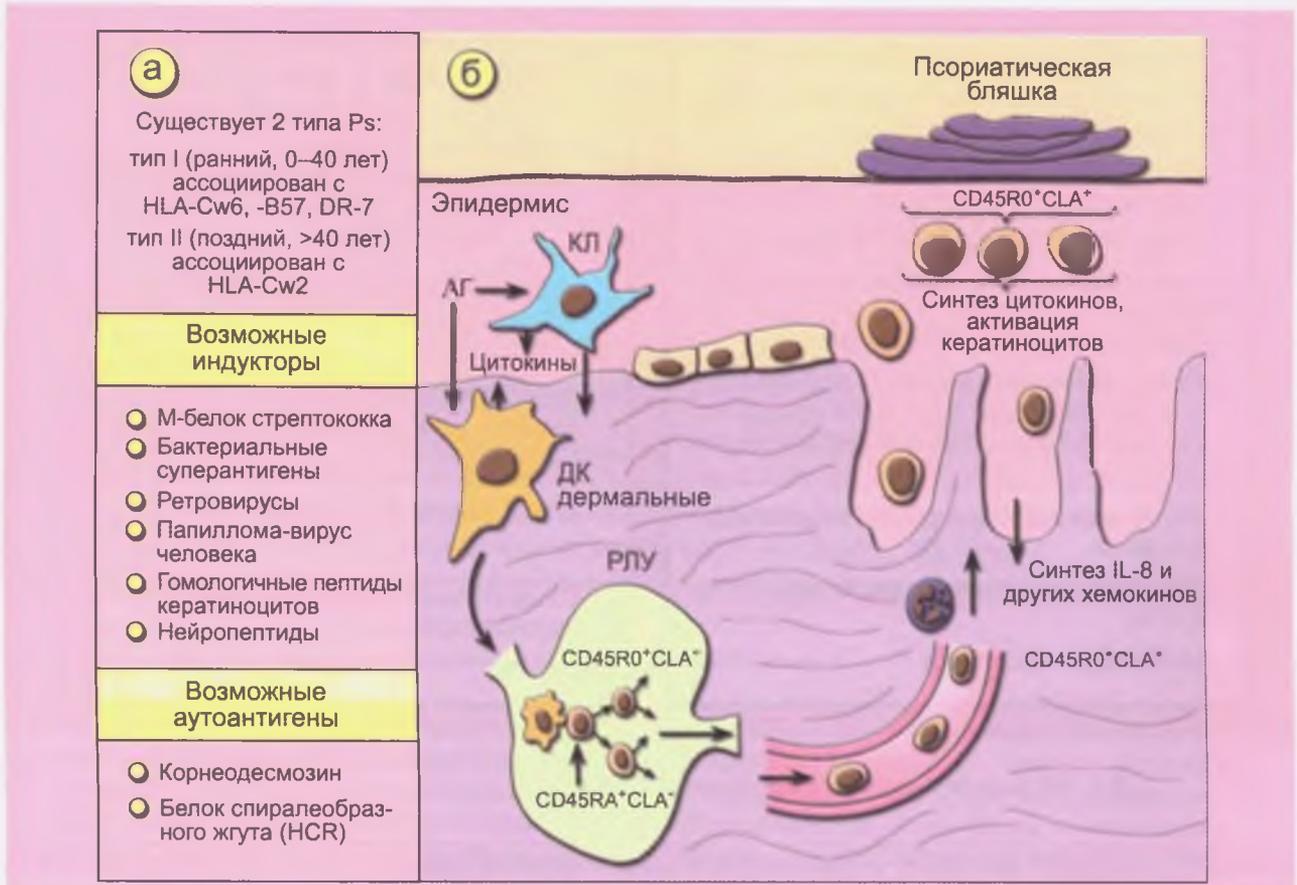


Рис. 556. Иммунопатогенез псориаза

а. Типы псориаза и возможные индукторы аутоиммунных процессов.

б. Индукция аутоиммунного процесса. Возможные индукторы, в частности пептиды кератиноцитов, захватываются клетками Лангерганса (КЛ) в эпидермисе или ДК, мигрируют в регионарный лимфатический узел (РЛУ). Там антигенпрезентирующие клетки встречаются с наивными $CD45RA^+ CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетками. Эти клетки активируются, что проявляется в повышении экспрессии ими молекул LFA-I, CD2, CD40L, VLA-4, а также в продукции цитокинов Th1-типа. В лимфатическом узле активированные лимфоциты размножаются, трансформируются в клетки памяти $CD45RO^+$, приобретают кожный лимфоцитарный АГ (CLA) и ряд рецепторов хемокинов. Это уже активированные антигенспецифические $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетки Th1-типа. Эти клетки мигрируют через кровоток в кожу. Гликопротеин CLA имеет аффинитет к E- и P-селектинам, интенсивно экспрессирующимся на микрососудах кожи во время воспаления. Этому также способствует интенсивная продукция хемокинов кератиноцитами, эндотелием, МФ и ДК.

$CD4^+$ Т-клетки преимущественно мигрируют в дерму, а $CD8^+$ Т-клетки — в эпидермис. Там встречаются с ДК и КЛ, соответственно, и синтезируют $TNF\alpha$ и $IFN\gamma$, от которых в значительной степени зависит иммунопатологическая картина поражения кожи. Миграция лимфоцитов в эпидермис разрушает базальную мембрану и десмосомы между кератиноцитами. Деструкция усиливается НФ, привлекаемыми в очаг воспаления IL-8, синтезируемым активированными кератиноцитами. Дефект ткани ведёт к восстановительному ответу, что усиливает синтез митогенных цитокинов кератиноцитами и повышает у них экспрессию рецепторов. Создаётся своеобразный порочный круг (Lee M.R., Cooper A.J., 2006).

TNF α	IFN γ
<p>Индукция созревания клеток Лангерганса и появление на Т-клетках коstimуляторных молекул</p> <p>Стимуляция синтеза простагландинов и лейкотриенов</p> <p>Индукция ICAM-1 на кератиноцитах и E-селектина на клетках эндотелия</p> <p>Индукция синтеза БОФ печенью</p> <p>Индукция синтеза провоспалительных цитокинов: IL-1, -6, -8, TGFα, CSF и фактора ингибиции лейкемии</p> <p>Понижение экспрессии E-кадгерина, что способствует миграции клеток Лангерганса из кожи в лимфатический узел</p> <p>Индукция фактора роста эндотелия сосудов</p> <p>Повышение пролиферации кератиноцитов</p> <p>Ингибиция апоптоза</p>	<p>Стимуляция АГ-презентирующей активности</p> <p>Повышение ICAM на кератиноцитах и на клетках эндотелия</p> <p>Индукция совместно с TNFα синтеза IL-8 кератиноцитами</p> <p>Повышение экспрессии рецепторов для TNFα</p> <p>Стимуляция IL-1</p> <p>Стимуляция пролиферации кератиноцитов</p>

Рис. 557. Роль IFN γ и TNF α в патогенезе псориаза

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

До 1980 г. считалось, что в основе псориаза первично лежит гиперпролиферация эпидермальных кератиноцитов, что является результатом потери контроля над их дифференцировкой. Вторично к этому поражению присоединяется воспаление. Сейчас стало ясно, что в основе эпидермальной гиперплазии лежит гиперактивация Т-клеток. Развитие псориаза связано с генами главного комплекса гистосовместимости I и II класса. Однако конкретных генов или их ассоциаций, ответственных за развитие заболевания, не выявлено. Скорее всего, ими является комплекс различных генов, при котором снижается порог чувствительности иммунной системы и прежде всего врождённого иммунитета к стимулирующему действию как экзогенных, так и эндогенных факторов. Среди экзогенных факторов помимо факторов, представленных в рис. 556, значение в развитии заболевания придаётся пептидогликану клеточной стенки грамположительных бактерий (Baker B.S. et al., 2006). Как известно, пептидогликаны — одни из самых сильных индукторов врождённого иммунитета и синтеза провоспалительных цитокинов. Установлено, что в поражённой коже больных псориазом присутствуют Th1-клетки, специфические к пептидогликану стрептококка и стафилококка. Выявлена ассоциация между полиморфизмом генов рецепторов, распознающих пептидогликан, и развитием псориаза. Изменённое распознавание клетками врождённого иммунитета пептидогликана ведёт к повышенному Т-клеточному ответу на этот АГ, что и является, по мнению B.S. Baker и соавт., причиной развития псориаза.

3.2.9. ВИТИЛИГО

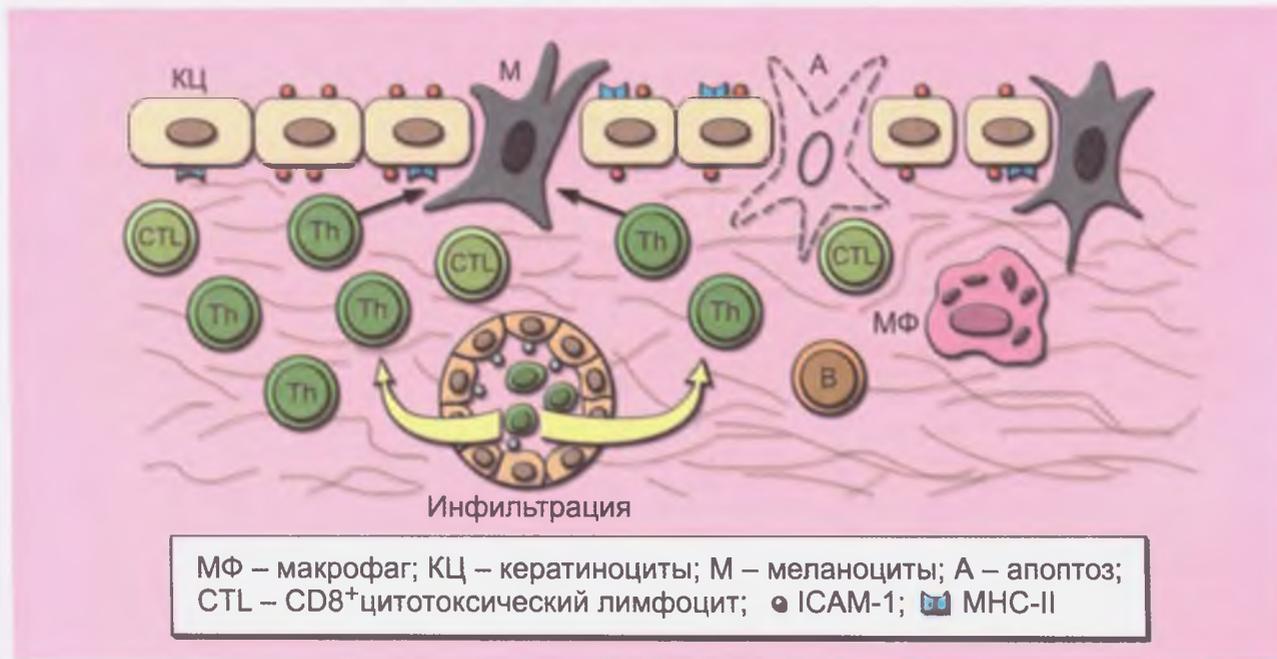


Рис. 558. Клеточный аутоиммунный ответ у больных витилиго

Характерной чертой участков поражения (депигментации) является инфильтрация дермы CD4⁺ Th1-клетками и CD8 ЦТЛ с преобладанием CD8⁺ Т-клеток. Это в значительной степени происходит в результате миграции клеток из кровеносных сосудов, эндотелиоциты которых активированы и экспрессируют большие количества ICAM-1. Мигрирующие Т-клетки активированы: они экспрессируют HLA-DR и CD25⁺ и синтезируют IFN γ . Кератиноциты также активированы: они экспрессируют повышенное количество молекул MHC-I, ICAM-1. Характерной чертой инфильтрирующих Т-клеток является наличие кожного лимфоцитарного АГ (CLA), определяющего их мигра-

цию в кожу. CLA⁺ ЦТЛ обнаруживаются в зоне повреждения кожи, в местах исчезновения меланоцитов. CD8⁺ Т-клетки, специфические к АГ меланоцитов, обнаружены практически у всех больных с генерализованным витилиго. Эти клетки *in vitro* разрушают меланоциты. АГ меланоцитов: gp100, тирозиназа, TRP-I и Melan-A/MART1 распознаются Т-клетками, и эти клетки выявляются в коже больных витилиго. Именно поэтому главной причиной депигментации кожи является распознавание и гранзим-перфориновый киллинг меланоцитов антигенспецифическими CD8 Т-киллерами. Главным кандидатом в индукции этих клеток является аутоантиген Melan-A/MART1.



Рис. 559. Гуморальный аутоиммунный ответ у больных витилиго

У больных витилиго выявляются аутоантитела к аутоантигенам меланоцитов и ферментам, участвующим в синтезе меланина. Наличие антител и их уровень коррелирует с активностью процесса, степенью депигментации и присутствием других

аутоиммунных процессов. Их патогенетическая роль при витилиго: *in vitro* аутоантитела могут вызывать комплемент-опосредованный лизис меланоцитов и участвовать в антителозависимой клеточной цитотоксичности.

3.2.10. АУТОИММУННЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

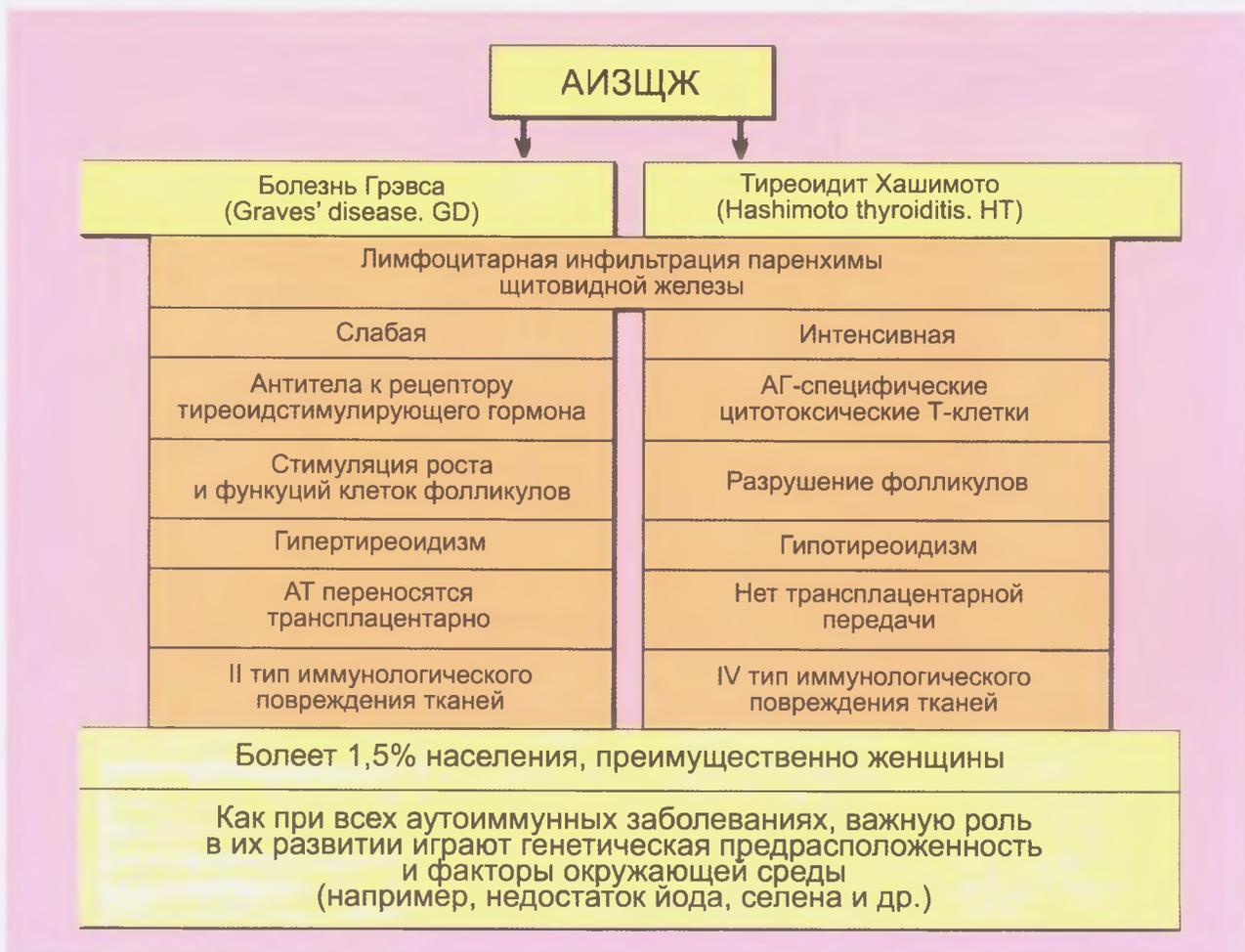


Рис. 560. Общая характеристика



Рис. 561. Генетическая предрасположенность к аутоиммунным заболеваниям щитовидной железы (АИЗЩЖ)

1. CD40, гликопротеин из семьи TNF-рецепторов, является рецептором для молекулы CD40L (CD154), взаимодействие с которой ведёт к активации клетки, в частности В-клетки. С-аллель в последовательности Kozak (определённая протяжённость нуклеотидов, фланкируемая стартовым кодоном ATG) ведёт к повышенной экспрессии рецептора CD40 и большей активации В-клеток. Это активирует В-лимфоциты и способствует развитию аутоиммунных процессов.

2. Рецептор CTLA-4 является негативным регулятором Т-клеток: конститутивно экспрессируется на CD4⁺CD25^{hi} клетках. Ген *CTLA-4* очень полиморфен, и этот полиморфизм ассоциируется с развитием аутоиммунных процессов. Единичная нуклеотидная замена A/G49 снижает экспрессию CTLA-4 и, следовательно, уменьшает ингибиторные свойства Т-клеток. Несколько авторов сообщили, что аллель G ассоциирован с более тяжёлой формой болезни Грэвса, а также с тиреодитом Хашимото.

3. Тиреоглобулин (Tg), гомодимерный белок с молекулярной массой 660 kDa, составляет 80% белков щитовидной железы. Единичный нуклеотидный полиморфизм (SNP) является важной причиной развития аутоиммунных заболеваний щитовидной железы. Показано, что SNP в экзоне 33 гена Tg и наличие Arg74 в β-цепи молекулы HLA-Dg ассоциируется с высоким риском развития болезни Грэвса. Вероятно, наличие Arg74 создаёт такую конфигурацию пептидсвязывающего центра, которая оптимальна для расположения иммунизирующего пептида.

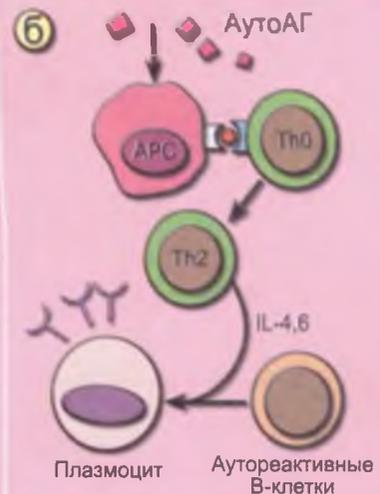
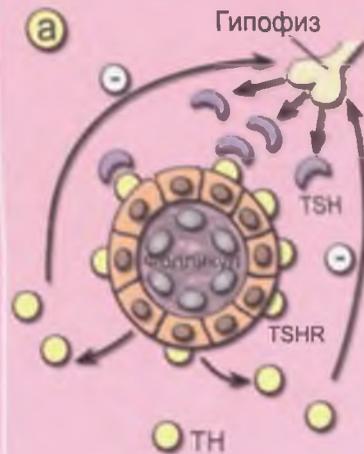
4. Ген *PTPN22* кодирует протеинфосфатазу-22, 110 kDa, являющуюся мощным ингибитором Т-клеточных функций. SNP в этом гене ассоциирован с болезнью Грэвса, тиреодитом Хашимото и сахарным диабетом 1-го типа.

5. Ген *TSHR* кодирует рецептор для тиреостимулирующего гормона (TSH), антитела против которого являются главной причиной болезни Грэвса. SNP в интроне 1 этого гена ассоциированы с болезнью Грэвса (Jacobson E.M., Tomer Y., 2007).

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Болезнь Грэвса (диффузный токсический зоб, базедова болезнь) является хроническим аутоиммунным заболеванием, характеризующимся гиперкортицизмом вследствие избыточного образования тиреоидных гормонов. Заболевание часто протекает с экзофтальмом. Чаще болеют женщины, 5:1. Заболевание связано с образованием к рецепторам тиреоидных гормонов аутоантител, обладающих свойствами агонистов, что и является причиной развития патологии с гиперкортицизмом, тиреотоксикозом, экзофтальмом.

Болезнь Грэвса ассоциирована с аллелями DR B1, DQ B1 и DQ A1



Антигены вирусов или бактерии, имеющие перекрёстное строение с рецептором тиреоидстимулирующих рецепторов, неизвестны

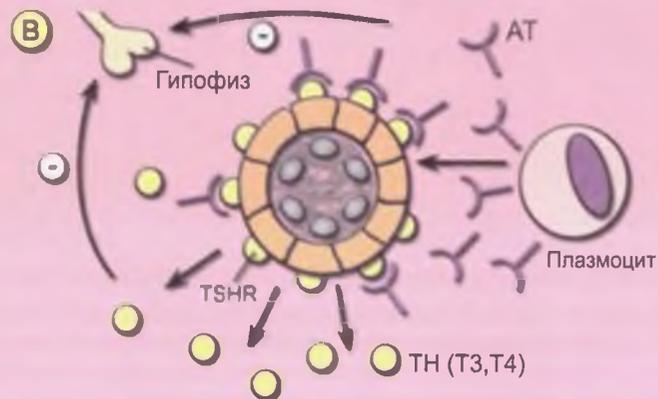


Рис. 562. Возможный иммунопатогенез болезни Грэвса

а. Гипофиз синтезирует тиреоидстимулирующий гормон (TSH), который взаимодействует с рецептором этого гормона (TSHR) на эпителиальных клетках тиреоидных фолликулов и стимулирует синтез тиреоидных гормонов. Эти гормоны взаимодействуют с гипофизом и выключают его функцию. Таким способом осуществляется регуляция избыточной продукции тиреоидных гормонов.

б. При наличии генетической предрасположенности и инфекционного процесса, вызванного микроорганизмом, имеющим общие антигенные детерминанты с TSHR (аутоантигена), развивается аутоиммунный ответ Th2-типа с преобладанием IL-4 и IL-5. При наличии аутоантигена эти цитокины вызывают дифференцировку незрелых ауто-В-клеток в плазмоциты, которые синтезируют аутоантитела.

в. Анти-TSHR-антитела вызывают постоянную продукцию тиреоидных гормонов (TH). Развивается гиперкортицизм. В этом случае гипофиз не регулирует избыточную продукцию тиреоидных гормонов, индуцированную аутоантителами.

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Болезнь Хашимото является типичным представителем иммунного повреждения тканей IV типа, обусловленного Т-клетками. Аутоантитела к тиреоглобулину или тиропероксидазе большого значения в иммунопатогенезе заболевания не имеют, но играют определённую роль в иммунодиагностике.

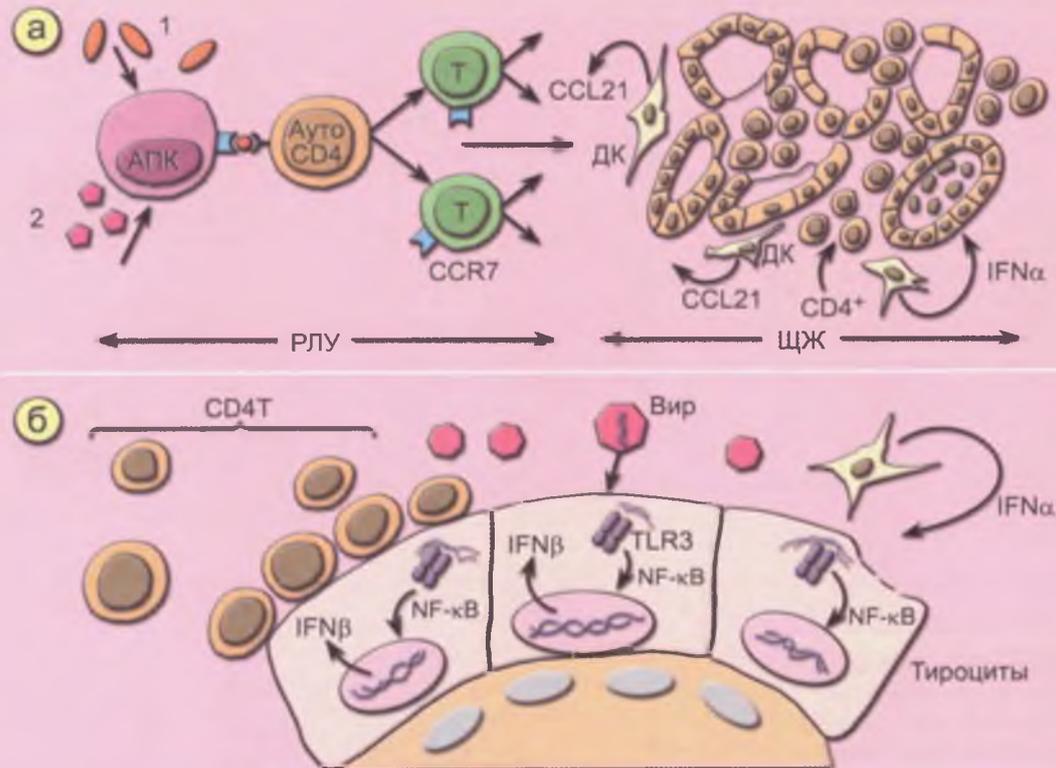


Рис. 563. Возможные варианты иммунопатогенеза тиреоидита Хашимото (НТ)

а. Индуктором (аутоантигеном) тиреоидита Хашимото (НТ) может быть мутантный тиреоглобулин (1), возникающий в результате единичной нуклеотидной замены, или вирус (2), имеющий перекрёстные антигенные детерминанты с белками щитовидной железы. Возможны и другие индукторы. В регионарном лимфатическом узле эти индукторы вызывают активацию аутореактивных $CD4^+$ Т-клеток, характеризующихся наличием рецепторов CCR7. ДК щитовидной железы синтезируют хемокины CCL21, являющиеся лигандами для рецепторов CCR7. Эти хемокины вызывают миграцию аутореактивных $CD4^+$ Т-клеток в паренхиму щитовидной железы и образование там вместе с В-клетками лимфоидных фолликулов. Главными причинами разрушения тироидных фолликулов, снижения уровня тироксина и трийодтиронина и развития гипотиреоза являются лимфоидная инфильтрация аутореактивными $CD4^+$ Т-клетками и продукция $IFN\alpha$ активированными ДК.

б. Установлено, что тироциты экспрессируют внутриклеточный TLR3, распознающий двухцепочечную вирусную РНК. При проникновении вируса в клетку это распознавание ведёт к транслокации транскрипционных факторов IRF3 и NF-κB в ядро клетки и индукции синтеза $IFN\beta$. Тироциты, синтезирующие этот цитокин, окружаются $CD4^+$ Т-клетками, оказывающими на них разрушающее действие. Инфильтрация щитовидной железы наблюдается практически у всех больных тиреоидитом Хашимото и никогда не выявляется у больных болезнью Грэвса. Кроме того, активированные МФ и ДК синтезируют повышенные количества $IFN\alpha$, оказывающего прямое деструктивное действие на тироциты.

3.2.11. ДИАБЕТ 1 ТИПА

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Диабет 1-го типа является хроническим органоспецифическим аутоиммунным заболеванием, характеризующимся дефицитом инсулина, возникающим в результате разрушения β -клеток островков поджелудочной железы, продуцирующих инсулин. Заболевание часто возникает у молодых и охватывает 5–10% популяции населения.

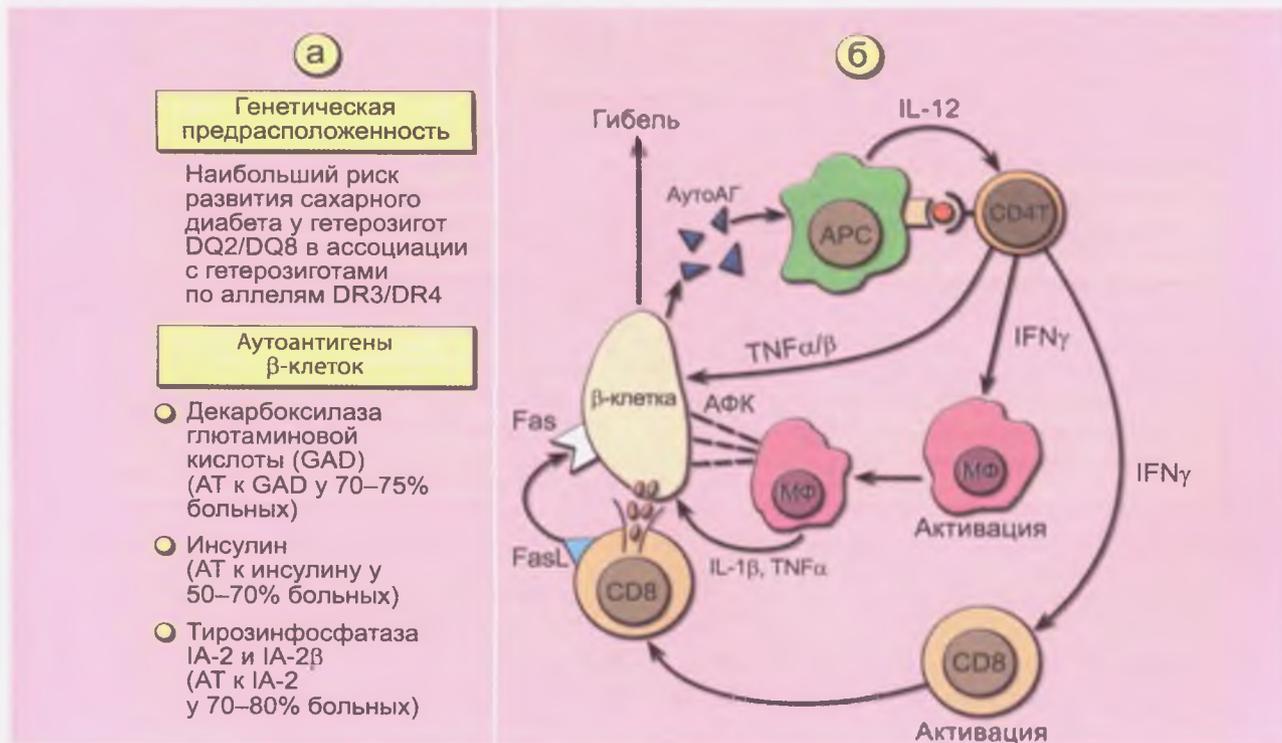


Рис. 564. Иммунопатогенез диабета 1-го типа

а. В развитии заболевания большую роль играет генетическая предрасположенность и, вероятно, инфекционные факторы (вирусы, токсины). β -клетки островков поджелудочной железы содержат большое количество аутоантигенов, к которым у больных выявляются аутоантитела, но точная патогенетическая роль их в развитии не установлена.

б. Развитие заболевания. Аутоантигены, освобождающиеся из β -клеток, захватываются антигенпрезентирующими клетками (APC), которые процессируют АГ и мигрируют в регионарный лимфатический узел, где представляют АГ CD4⁺ T-клетками. Под влиянием IL-12, синтезируемого APC, CD4⁺ T-клетки приобретают Th1-профиль. CD4⁺ Th1-клетки активно синтезируют IFN γ , который активирует МФ и CD8⁺ клетки. Этим клеткам принадлежит главная роль в разрушении поджелудочной железы. Активированные МФ образуют АФК азота (O², H₂O₂, NO), цитотоксические для клеток. Они также синтезируют IL-1 β , который является селективным цитотоксическим агентом для β -клеток. На β -клетках имеются рецепторы для этого цитокина. TNF α и TNF β , синтезируемые CD4⁺ клетками и МФ, усиливают эффект IL-1 β . В отсутствие МФ разрушение β -клеток T-лимфоцитами не происходит. CD8⁺ T-клетки разрушают β -клетки двумя путями. Первый путь происходит с помощью образования иммунологического синاپса с β -клеткой и внедрением в неё перфорина и гранзима. Второй путь происходит посредством взаимодействия апоптозиндуцирующих рецепторов Fas-лиганд/Fas-рецептор. CD4 T1-хелперы гибели β -клеток не вызывают. Их главная функция — синтез цитокинов, которые активируют эффекторные клетки (Yoon J.-W., Jun H.-S., 2005).

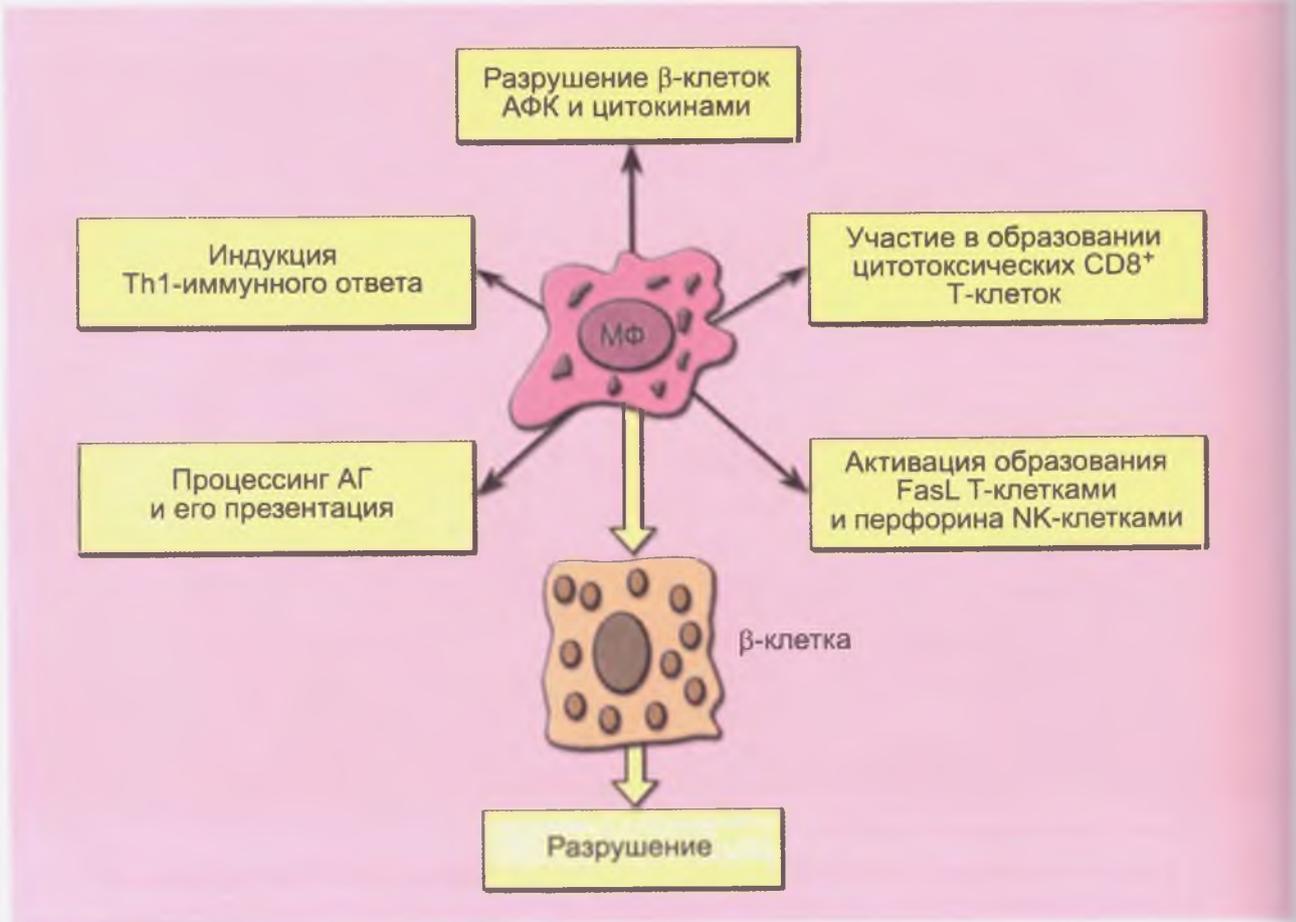


Рис. 565. Роль МФ в развитии диабета 1-го типа

МФ участвуют в процессинге аутоантигенов, презентации и индукции Th1-ответа, в образовании CD8-цитотоксических клеток и цитотоксинов, а также в прямом разрушении β-клеток АФК и азота.

3.2.12. РАССЕЯННЫЙ СКЛЕРОЗ

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Приоритет выделения рассеянного склероза (РС) в отдельную нозологическую форму принадлежит выдающемуся французскому учёному Ж.М. Шарко (J.M. Charcot, 1825–1893), который в середине XIX в. дал подробное описание клинических проявлений этого заболевания. Им выделены главные черты РС: хроническое ремиттирующее течение, наличие клинически стёртых форм, избирательная демиелинизация нервного волокна при некоторой сохранности осевого цилиндра, диссеминация типичных очагов поражения — бляшек — в различных отделах нервной системы и др. В англоязычной литературе для обозначения этого заболевания используется термин «множественный склероз» (*multiple sclerosis*). В России преимущественно используется термин «рассеянный склероз». Существовало много гипотез патогенеза РС. В настоящее время аутоиммунная концепция является общепризнанной: РС рассматривается как органоспецифическое аутоиммунное Th1-опосредованное заболевание, возникающее в результате сочетанного действия на нервную ткань МФ, CD4⁺ и CD8⁺ Т-клеток. Причём основными эффекторными молекулами являются активные формы азота, TNF α и IFN γ . Однако основные пусковые механизмы развития заболевания, как и при большинстве аутоиммунных процессов, остаются неизвестными. Можно только сказать, что внешние факторы (в основном — инфекционные агенты) и генетическая предрасположенность играют главную роль в развитии заболевания. Следует отметить, что аутоиммунные и воспалительные процессы в той или иной степени являются причиной нейродегенерации при таких тяжёлых заболеваниях нервной системы, как болезнь Альцгеймера, боковой амиотрофический склероз, болезнь Паркинсона и др.

Возможные этиологические факторы	Патогенез
<ol style="list-style-type: none"> 1. Инфекции 2. Наследственная предрасположенность 3. Факторы окружающей среды 	Аутоиммунное повреждение миелиновой оболочки аксонов, опосредованное аутореактивными Th1-клетками, активированными макрофагами и аутоантителами
Возможные аутоантигены	Патоморфология
<ul style="list-style-type: none"> ● Основной белок миелина (ОБМ) ● Протеолипидный протеин (ПЛП) ● Миелиновый олигодендроцитарный гликопротеин (МОГ) ● Миелин-ассоциированный гликопротеин (МАГ) ● αВ-кристаллин 	Множественные очаги мононуклеарной инфильтрации и демиелинизации в белом очаге головного и спинного мозга (образование бляшек)

Рис. 566. Общая характеристика рассеянного склероза

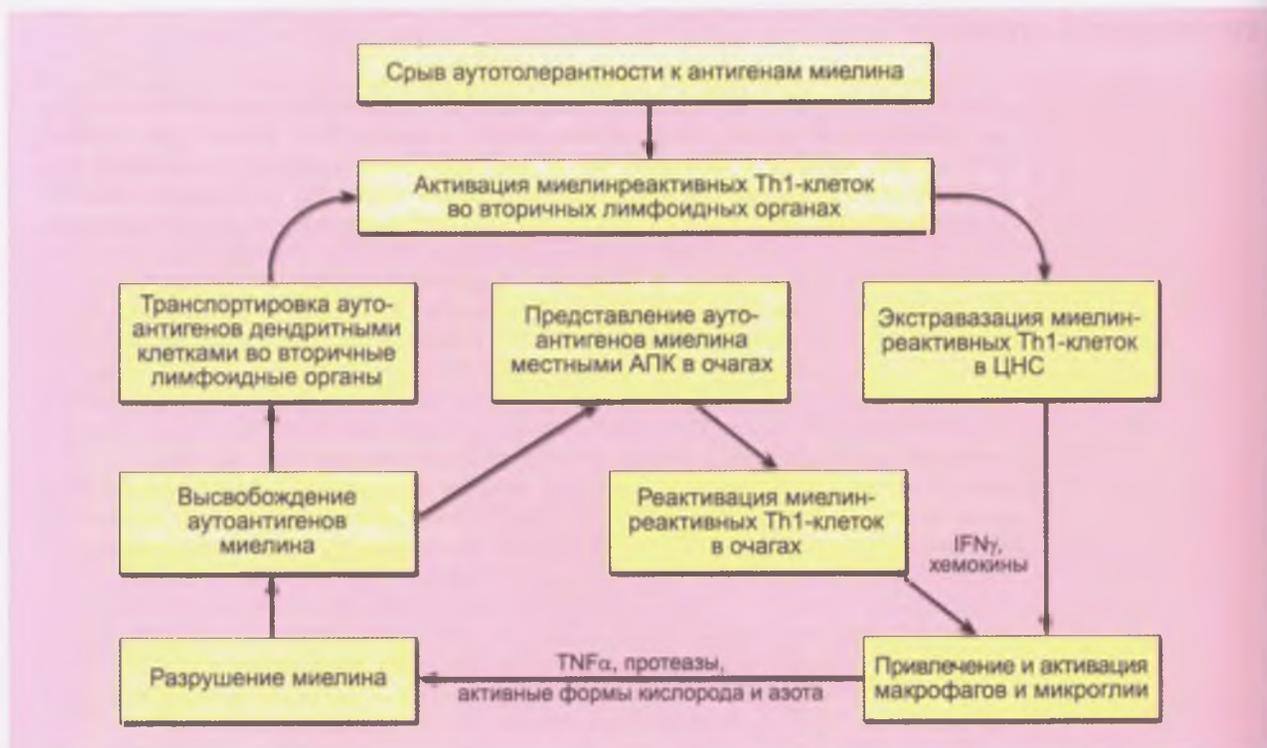


Рис. 567. Иммунопатогенез рассеянного склероза

Аутоиммунная теория патогенеза РС является на сегодня доминирующей. Согласно этой теории исходным событием в патогенезе РС является срыв ауто толерантности к антигенам миелина и активация аутореактивных Т-клеток, распознающих АГ миелина. Миелинреактивные Т-клетки присутствуют и у здоровых лиц, но являются наивными. Причины их активации на ранних этапах РС малоизучены. Одним из возможных механизмов является молекулярная мимикрия между вирусными АГ и АГ миелина, что ведёт к перекрёстной реакции вирусспецифических Т-клеток на аутоантигены. Перекрёстной реактивности способствует «вырожденность» репертуара Т-клеточных рецепторов. Второй возможный механизм — недостаточность регуляторных Т-клеток (Treg-клеток) и других контрольных механизмов.

Активация миелинреактивных наивных Т-хелперов при РС происходит по Th1-типу. Кроме того, в патогенезе РС играют роль и $CD8^+$ Т-клетки. Активированные аутореактивные Т-клетки проникают через посткапиллярные вены в периваскулярные пространства ЦНС. Цитокины, вырабаты-

ваемые аутореактивными Th1-клетками ($TNF\alpha$, $TNF\beta$, $IFN\gamma$), активируют эндотелий и резидентные периваскулярные МФ. Хемокины, продуцируемые аутореактивными Th1-клетками, активированным эндотелием и периваскулярными МФ, способствуют привлечению из кровотока ДК, моноцитов/макрофагов, Т-клеток и В-клеток. $IFN\gamma$, вырабатываемый Th1-клетками, активирует МФ и микроглию, которые вырабатывают широкий спектр миелинотоксических субстанций. Всё это приводит к развитию воспаления, демиелинизации и аксонального повреждения. В ходе дальнейшего развития РС возможно формирование двух «порочных кругов» поддержания аутоиммунного ответа: «внешнего» круга, в котором аутоантигены миелина транспортируются в регионарные (глубокие шейные, парааортальные) лимфатические узлы, где происходит активация новых аутореактивных Т-клеток, и «внутреннего» круга, в котором представление аутоантигенов Т-клеткам происходит непосредственно в воспалительных очагах. В роли местных антигенпрезентирующих клеток могут выступать ДК, активированные МФ и активированные астроциты.

Рассматриваются и другие теории патогенеза РС. Согласно нейродегенеративной теории в основе РС лежат первичные дегенеративные изменения олигодендроцитов и аксонов, вызванные, например, персистирующей вирусной инфекцией ЦНС, а аутоиммунный компонент присоединяется на относительно поздних стадиях болезни. Возможно, что изначально Т-клеточный ответ направлен только против персистирующего в ЦНС инфекционного возбудителя. Поскольку такой ответ неизбежно со-

провождается разрушением миелина в условиях воспаления, это ведёт к аутосенсibilизации и развитию истинного аутоиммунного процесса. Воспаление может играть не только отрицательную, но и положительную роль, так как может сдерживать персистирующую вирусную инфекцию или полностью её элиминировать. Кроме того, часть миелинреактивных Т-клеток продуцирует нейротрофические факторы, такие как BDNF (*brain-derived neurotrophic factor*), что способствует ремиелинизации.

	Тип I	Тип II	Тип III	Тип IV
Т-клетки	++	++	++	++
Макрофаги	++	+	+	++
В-клетки	+	++	+	+
Депозиты IgG	-	+	-	-
Депозиты активированного C9	-	+	-	-
Демиелинизация	+	+	+	+
Тип демиелинизации	Периваскулярный	Периваскулярный	Крупные очаги, не связанные с сосудами	Периваскулярный
Гибель олигодендроцитов	-	-	+ (апоптоз)	+ (некроз ?)
Ремиелинизация	+	+	-	-

Рис. 568. Патоморфологические типы активных очагов

Lucchinetti и соавт. (2000) по данным биопсии и аутопсии выделили четыре типа активных очагов РС, что позволяет говорить о гетерогенности патогенетических механизмов заболевания. Интересно, что все активные бляшки у данного больного в данный момент времени принадлежат одному типу, хотя не исключены переходы между типами с течением времени.

Все типы очагов характеризуются лимфоцитарно-макрофагальной инфильтрацией и также демиелинизацией. Очаги I типа не имеют каких-либо дополнительных признаков. Очаги II типа, кроме того, содержат повышенное количество В-клеток, а также депозиты IgG и активированно-

го литического комплекса комплемента, что указывает на антителоопосредованный характер демиелинизации. В очагах III и IV типов, помимо демиелинизации, происходит гибель самих источников миелина — олигодендроцитов. В очагах III типа олигодендроциты погибают путём апоптоза. Эти очаги имеют нетипичную морфологию, поскольку не связаны с посткапиллярными венулами. Не исключён прямой вирусный генез таких очагов. В очагах IV типа гибель олигодендроцитов происходит по механизму, отличному от апоптоза. В связи с уменьшением количества олигодендроцитов ремиелинизация в очагах III и IV типов отсутствует.

3.2.13. МИАСТЕНИЯ ГРАВИС

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Главным клиническим признаком миастении гравис — МГ (*myasthenia gravis*) является слабость, нарастающая при нагрузке. Это состояние колеблется от одного дня к другому и даже от одного часа к другому, усиливаясь при работе и ослабевая при отдыхе. Больные имеют различные степени птоза, диплопии, дизартрии, дисфагии, одышку, слабости в конечностях и др. Прогрессирование заболевания, заключающееся в нарастающей общей слабости, возникает обычно через два года после начала заболевания. Птоз и диплопия — главные начальные признаки МГ. Ранними признаками также является слабость лицевой мускулатуры: у многих больных она проявляется в трудности закрытия век. Слабость дыхательной мускулатуры может быть причиной гибели больных. Больных с МГ можно разделить на группу больных с ранним началом (до 40 лет) и на группу больных с поздним началом (после 40 лет). В 1-й группе преобладают женщины. У них выявляют анти-AChR-антитела и ряд других органоспецифических аутоантител. Больные имеют увеличенный гиперплазированный тимус. Во 2-й группе преобладают мужчины. Тимус у больных этой группы нормален или атрофирован. Помимо анти-AChR-антител у них выявляют аутоантитела к мышечному белку титин и к рецептору гуанодина. У таких больных наблюдается более тяжёлое течение заболевания. У 10–15% больных МГ выявляют тимома. Удаление тимомы не препятствует прогрессированию заболевания. У 15% больных анти-AChR-антитела отсутствуют. У 40–50% этих больных выявляют АТ к ферменту MUSK. Клиническая картина у этих больных в целом идентична таковой у больных с анти-AChR-антителами, хотя далеко не все симптомы МГ у них могут быть представлены. У таких больных более часто возникают угрожающие жизни ситуации, связанные со слабостью дыхательной мускулатуры.

Этиологические факторы	П а т о м о р ф о л о г и я
<ul style="list-style-type: none"> ● Тимома ● Гиперплазия тимуса ● Наследственная предрасположенность 	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; margin-bottom: 10px;">Поперечно-полосатые мышцы</div> <ul style="list-style-type: none"> ● Отложение Ig и комплемента в синаптической щели нервно-мышечных синапсов ● Уменьшение длины постсинаптических мембран, содержащих AChR ● Мышечные волокна не изменены
<ul style="list-style-type: none"> ● Лекарства (пеницилламин) ● Инфекции 	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center; margin-bottom: 10px;">Тимус</div> <ul style="list-style-type: none"> ● Тимома ● Гиперплазия тимуса, множественные зародышевые центры, содержащие аутореактивные Т- и В-клетки

Рис. 569. Общая характеристика миастении гравис

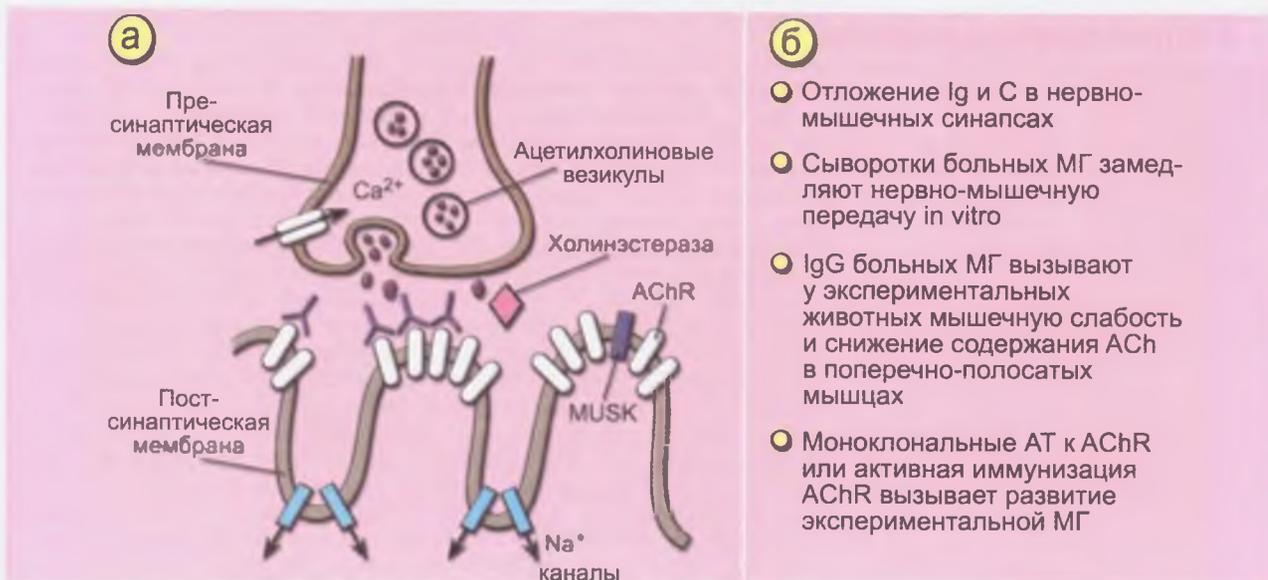


Рис. 570. Центральную роль в патогенезе миастении гравис играют аутоантитела к н-ацетилхолинорецепторам (AChR) нервно-мышечных синапсов

а. Передача импульса в нервно-мышечном синапсе. б. Роль АТ в развитии миастении гравис

Потенциал импульса, поступающий по терминали двигательного мотонейрона, вызывает деполяризацию пресинаптической мембраны и открытие её потенциалзависимых кальциевых каналов. Вход кальция в клетку приводит к выбросу нейромедиатора ацетилхолина из ацетилхолинсодержащих везикул в синаптическую щель. AChR у взрослых состоит из пяти субъединиц и находится в верхушках складок постсинаптической мембраны. Связывание ацетилхолина с AChR приводит к открытию рецептор-ассоциированных натриевых каналов и входу натрия в клетки. Возникающая в результате частичная деполяризация постсинаптической мембраны приводит к открытию постсинаптических потенциалзависимых натриевых каналов. Это ведёт к возникновению и распространению потенциала действия по мышечному волокну, результатом чего является сокращение мышечного волокна.

После того как деполяризация пресинаптической мембраны прекратилась, ацетилхолин, выделившийся в синаптическую щель, расщепляется ферментом ацетилхолинэстеразой. Это прекращает активацию AChR, возбуждение постсинаптической мембраны и способствует расслаблению мышечного волокна.

Полагают, что аутоантитела к AChR блокируют работу нервно-мышечного синапса тремя способами:

- связывают и активируют комплемент на поверхности постсинаптической мембраны, что ведёт к лизису последней;

- вызывают перекрёстные сшивки между молекулами AChR, ускоряя интернализацию рецептора;
- непосредственно блокируют связывание ацетилхолина с AChR.

Ингибирование ацетилхолинэстеразы приводит к повышению синаптической концентрации ацетилхолина, что способствует его более эффективной конкуренции с аутоантителами и более эффективной активации рецепторов. Этот механизм используется в лечении МГ.

Аутоантительный ответ при МГ может быть направлен также против MUSK-киназы, которая экспрессируется на постсинаптической мембране и участвует в кластеризации AChR.

У больных МГ в крови выявляются повышенные уровни Т-хелперов, специфичных к AChR. Возможным фактором в индукции аутоиммунного ответа является недостаточная делеция AChR-реактивных Т-клеток в тимусе.

У многих больных МГ, особенно при её ранней форме, выявляется гиперплазия тимуса и формирование в тимусе герминативных центров, которые в норме присутствуют только во вторичных лимфоидных органах. Такие герминативные центры содержат В-клетки, секретирующие аутоантитела к AChR, а также Т-клетки, специфичные к эпитопам AChR.

3.2.14. АНТИФОСФОЛИПИДНЫЙ СИНДРОМ

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

В конце XIX в., используя в реакции связывания комплемента в качестве АГ фосфолипиды из сердца быка, Wasserman обнаружил у больных сифилисом антифосфолипидные антитела. Эти АТ были в основном направлены против кардиолипина (aCL). В дальнейшем было установлено, что aCL выявляются не только у больных сифилисом, но и при многих аутоиммунных заболеваниях, особенно соединительной ткани. Была обнаружена статистически значимая ассоциация aCL с тромбозом вен и артерий, спонтанным абортom и тромбоцитопенией. Эти наблюдения дали основание G.R. Hughes и соавт. выделить в 1986 г. в качестве самостоятельной нозологической единицы антикардиолипиновый синдром. В 1987 г. это заболевание получило название антифосфолипидный синдром — АФС (*antiphospholipid syndrome*), так как помимо aCL у этих больных выявляются другие антифосфолипидные АТ и волчаночный антикоагулянт с антипротромбиновой активностью. В целом АФС можно определить как комплексное приобретенное, аутоиммунное заболевание, характерными клиническими признаками которого является тромбоз, невынашивание плода и тромбоцитопения. Невынашивание плода заключается в однократной или многократной неожиданной гибели плода на 10-й нед беременности. При другом варианте происходят однократные или многократные преждевременные роды нормального плода, до 34 нед беременности, вследствие эклампсии или предэклампсического состояния. Помимо указанных клинических признаков при АФС часто наблюдаются поражения сердечных клапанов, почек, кожи, нервные расстройства. Лабораторными признаками являются антикардиолипиновые АТ, анти- β 2-гликопротеин I (анти- β 2GPI) и волчаночный антикоагулянт (LA). Различают первичный АФС без заболеваний соединительной ткани и вторичный АФС — как следствие заболеваний соединительной ткани. Описан внезапный фосфолипидный синдром (CAPS) с агрессивным началом и множественной органной недостаточностью. Помимо сифилиса и заболеваний соединительной ткани антифосфолипидные АТ обнаруживаются при многих бактериальных и вирусных инфекциях, паразитарных заболеваниях, заболеваниях крови, солидных опухолях, при старении. Но в этих случаях наличие антифосфолипидных АТ не всегда ассоциируется с тромбозом. Как показано на рис. 572, для того, чтобы анти- β 2GPI-антитела стали патогенными и вызывали развитие тромбоза, необходимо наличие свободного кофактора — β 2-гликопротеина I.

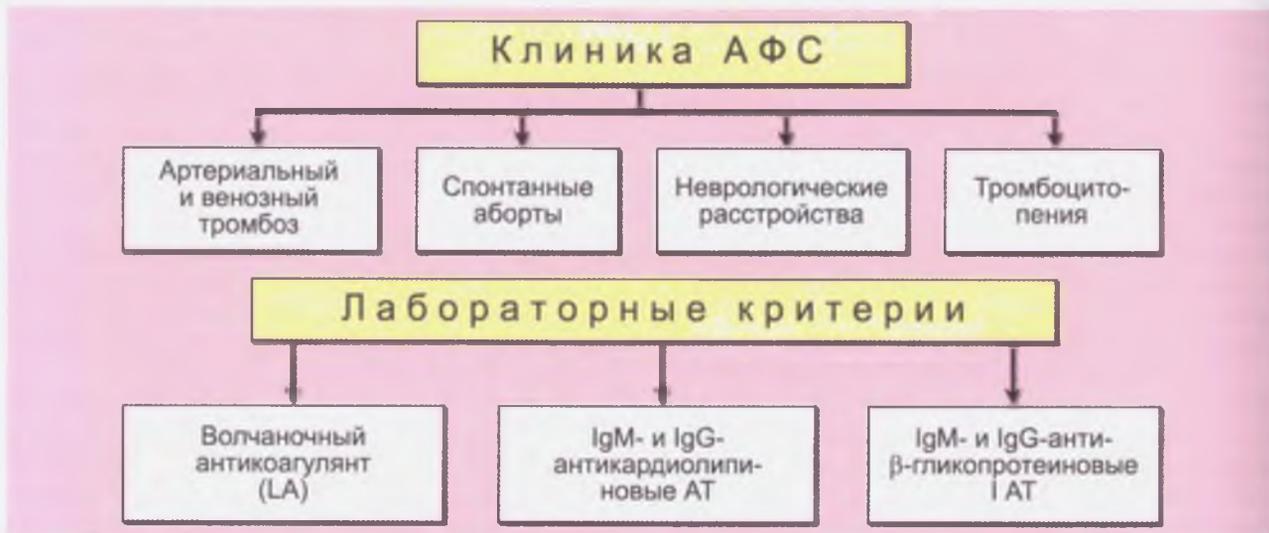


Рис. 571. Клиника и лабораторные критерии

Считается, что антифосфолипидные аутоантитела, особенно к β 2-гликопротеину (анти- β 2GPI), являются ответственными за развитие клинических симптомов, характерных для антифосфолипидного синдрома (АФС).

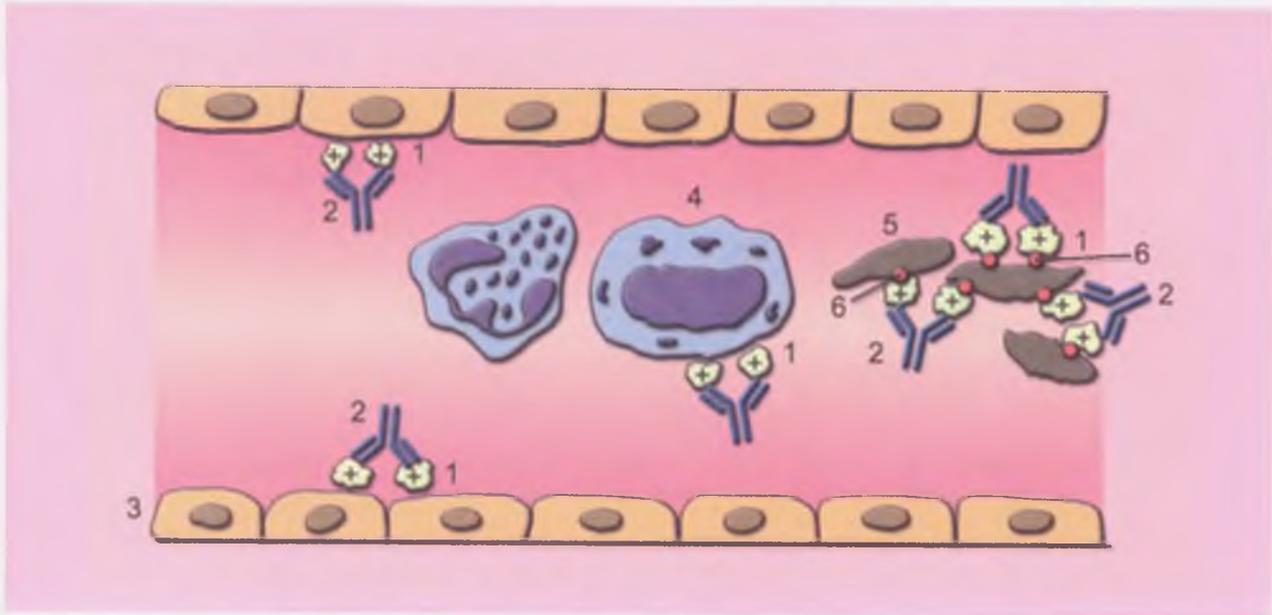


Рис. 572. Анти-β2GPI-антитела и клеточная активация

Гликопротеин GPIIb/IIIa (1) является белком плазмы, обладающим аффинитетом к анионным фосфолипидам. При наличии анти-β2GPI-АТ происходит образование димера β2GPI, кросс-связанного этими АТ (2). Этот димер приобретает высокий аффинитет не только к анионным фосфолипидам, но и также к клеточной поверхности. β2GPI-димеры связываются с клетками эндотелия (3), МН (4) и тромбоцитами (5) и вызывают их активацию. Прямое связывание фосфолипидных АТ с клетка-

ми не вызывает их активации, что свидетельствует о лиганд-рецепторном взаимодействии димера с мишенями. Вероятно, у тромбоцитов рецептор LRP-8 (6) из семьи рецепторных белков LDL (липиды низкой плотности) является ответственным за взаимодействие с β2GPI-димером, следствием чего является индукция синтеза тромбоксана А₂. Применение растворимых форм этого рецептора полностью препятствует развитию тромбоза, индуцированного антифосфолипидными АТ.

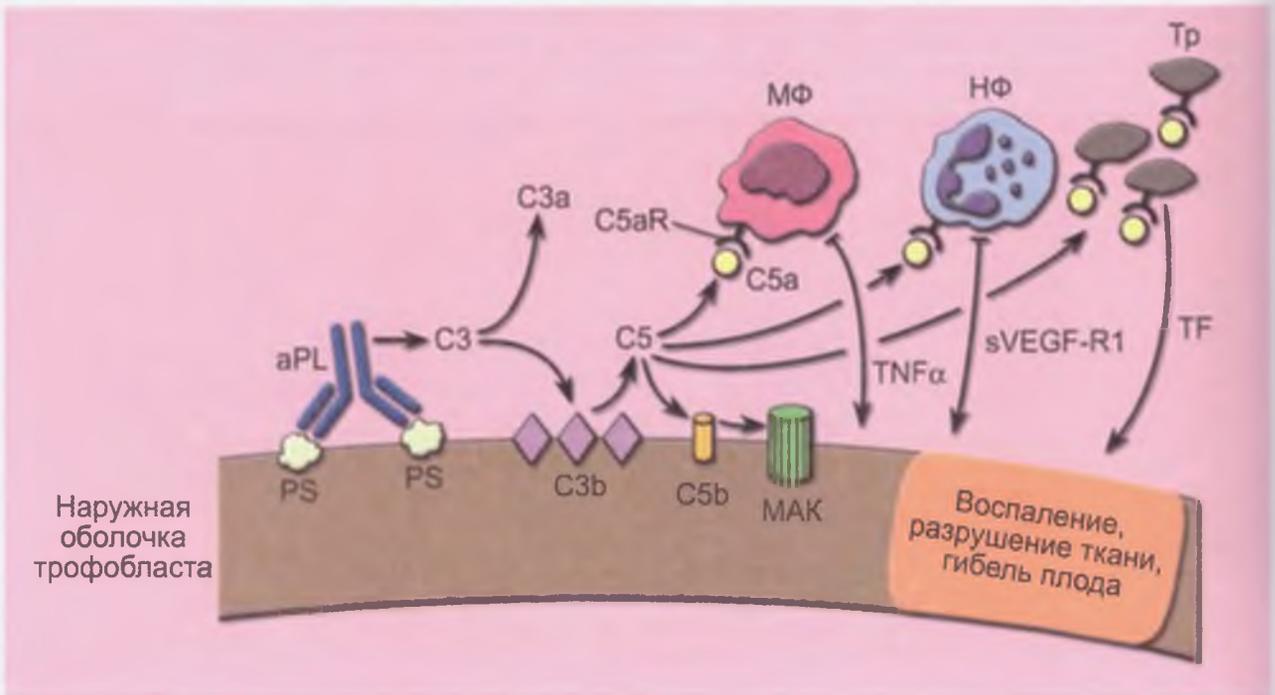


Рис. 573. Роль комплемента в отторжении плода

В процессе дифференцировки трофобласта фосфатидилсерин (PS) внедряется в наружную оболочку трофобласта, создавая эпитоп для взаимодействия с антифосфолипидными АТ (aPL). Это ведёт к развитию классического пути комплемента. В результате образования и внедрения в мембрану трофобласта фрагментов комплемента C3b и C5b происходит образование мембраноатакующего комплекса (МАК) и разрушение мембраны. Кроме того, фрагмент C5a вызывает активацию МФ, НФ и тромбоцитов, имеющих рецептор к этому фрагменту. Эти клетки выделяют ряд медиаторов (TNF, sVEGF-R1, TF), вызывающих воспаление, повреждение тканей плода и его гибель. Так, например, C5a-C5aR-взаимодействие инду-

цирует выделение растворимой формы рецептора sVEGF-R1, ингибирующего активность ангиогенного ростового фактора VEGF (*vascular endothelial growth factor*), способствующего росту и инвазии трофобласта в слизистую оболочку матки. Далее C5a-C5aR-взаимодействие увеличивает экспрессию тканевого фактора TF (*tissue factor*), повышающего образование нейтрофилами АФК, токсичных для развивающегося плода. Таким образом, представленные данные показывают, что фрагмент C5a играет главную роль в разрушении плода, так как АТ к этому фрагменту полностью предотвращает разрушение плода, индуцированное антифосфолипидными АТ (Salmon J.E., de Groot P.G., 2008).

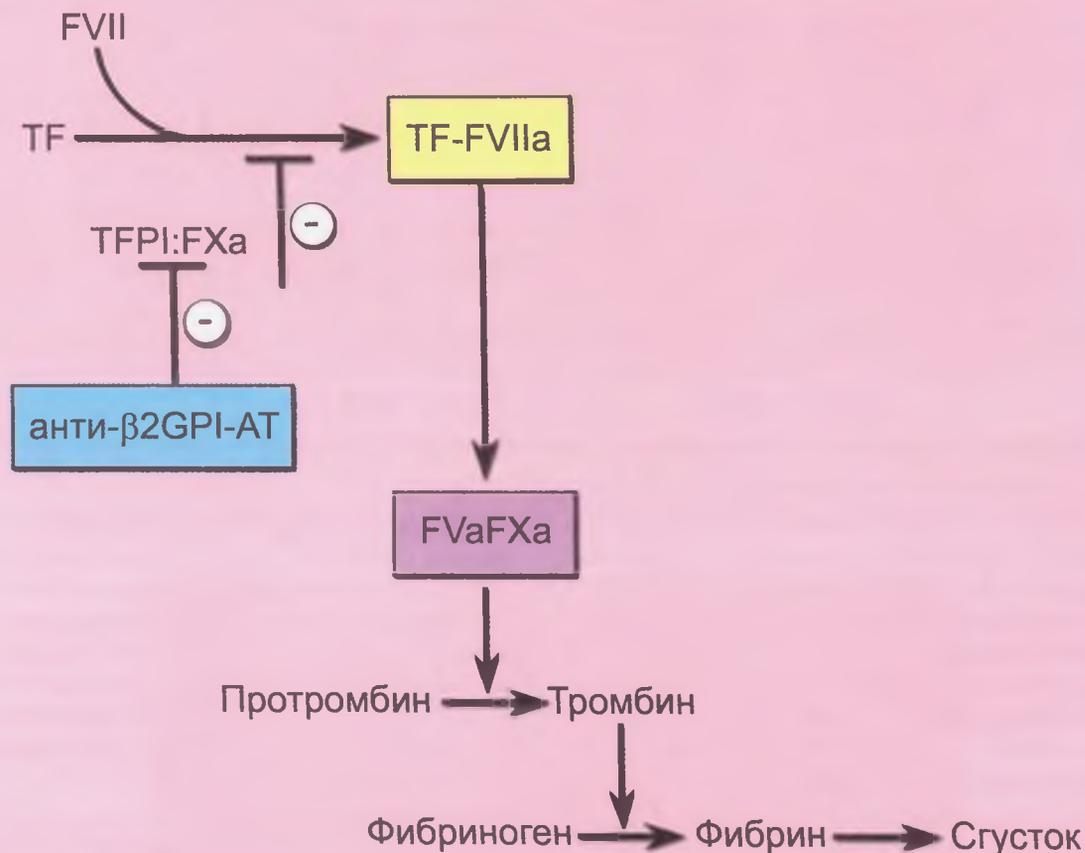


Рис. 574. Роль тканевого фактора в тромбообразовании

TF является мембранным белком с молекулярной массой 45 kDa. Он выделяется в кровяное русло при повреждении сосуда и образует инициирующий комплекс TF-FVIIa. Этот комплекс при участии ряда коагуляционных факторов вызывает образование комплекса FVa FXa, который индуцирует переход протромбина в тромбин и в конечном итоге образование сгустка. Главным регулятором пути TF является белок с молекулярной массой

42 kDa TFPI (*tissue factor pathway inhibitor*), конститутивно синтезируемый эндотелием микрососудов. Этот белок ингибирует образование комплекса TF-FVIIa на фосфолипидной поверхности сосудов. Установлено, что анти-β2GPI-AT ингибируют активность фактора TFPI, возможно, за счёт конкуренции за одни и те же фосфолипидные участки на поверхности сосудов, способствуя тем самым тромбообразованию (Adams M., 2008).

3.2.15. ВАСКУЛИТЫ, АССОЦИИРОВАННЫЕ С АНТИНЕЙТРОФИЛЬНЫМИ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИМИ АНТИТЕЛАМИ

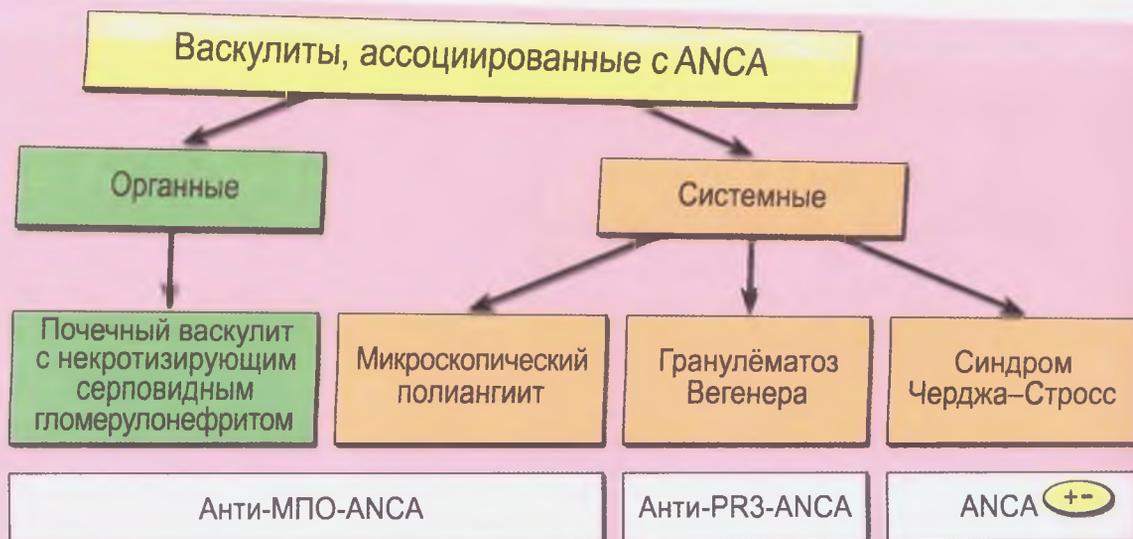


Рис. 575. Виды васкулитов

Васкулиты, ассоциированные с антинейтрофильными цитоплазматическими антителами (*antineutrophil cytoplasmic autoantibodies, ANCA*), — это некротизирующие васкулиты малых сосудов, характеризующиеся небольшими отложениями иммуноглобулинов в стенке сосудов (*a paucity of immunoglobulin deposits*). Эти васкулиты подразделяются на органые и системные. У 90% больных с почечным васкулитом и микроскопическим поли-

ангиитом чаще образуются АТ против миелопероксидазы (МПО-ANCA), у больных гранулёматозом Вегенера — против протеинкиназы 3 (PR3-ANCA), являющихся ферментами азурофильных гранул НФ. У больных с синдромом Черджа-Стросса ANCA выявляются реже, чем у больных с гранулёматозом Вегенера (от 25 до 75%), причём эта частота повышается при развитии у этих больных гломерулонефрита.

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Гранулёматоз Вегенера (*Wegener's granulomatosis*) был описан J. Fahey и соавт. в 1954 г. В то время средняя продолжительность жизни больных после постановки диагноза составляла около года. Применение кортикостероидов и цитостатических препаратов (циклофосфамида) значительно облегчило состояние многих больных с этим диагнозом. В последнее время используют для лечения гранулёматоза Вегенера антагонисты TNF (этанарцепт). Результаты их применения пока не дали однозначных результатов. В целом, несмотря на значительные успехи, современная терапия не даёт полного излечения. Заболевание принимает ремитирующее течение с периодами обострений и ремиссий. Причина развития заболевания неизвестна. Описаны два случая гранулёматоза Вегенера, ассоциированные с инфекцией в одном случае с парвовирусом, в другом — с ЦМВ. Однако полагают, что в этих случаях имело место случайное совпадение. В последнее время за иницирующий агент принимают суперантиген *St. aureus*, который запускает поликлональную активацию иммунной системы, переходящую в последующем в специфический иммунный ответ. При гранулёматозе Вегенера развиваются гломерулонефрит, поражения сердечно-сосудистой системы, тромбоэмболическая болезнь. Эти больные имеют повышенный уровень развития опухолей. Одна из главных причин гибели больных с гранулёматозом Вегенера — почечная недостаточность, вызванная аутоиммунным почечным васкулитом. Помимо васкулитов, связанных с ANCA, к васкулитам, имеющим аутоиммунную природу, относятся артериит Takayasu's, болезнь Kawasaki, синдром Cogan's, болезнь Behcet's, пурпура Henoch-Schonlein, васкулиты центральной нервной системы. В большинстве случаев удаётся проследить связь этих заболеваний с инфекционным началом.

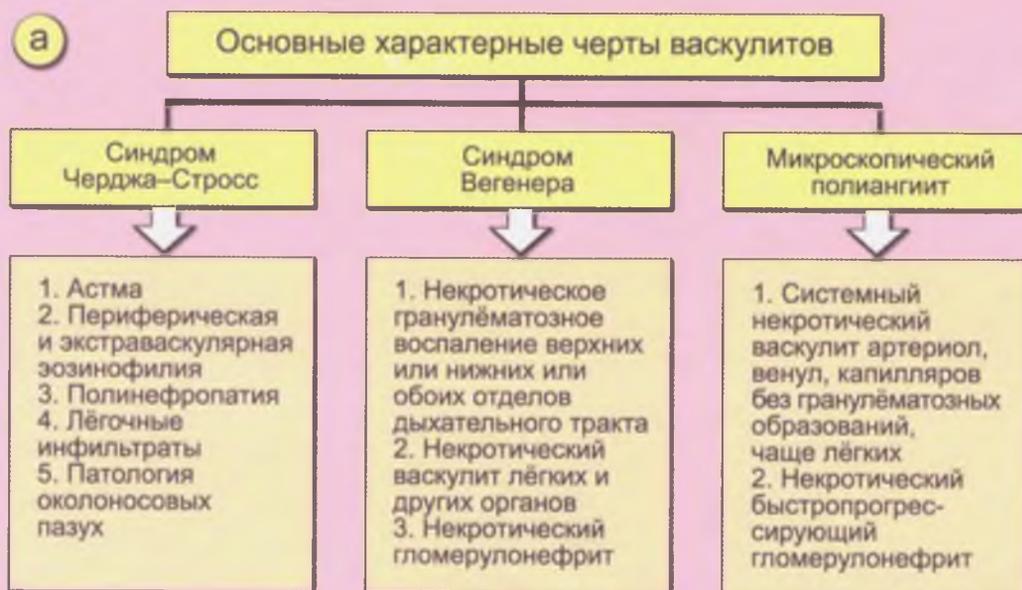


Рис. 576. Васкулиты

- а. Основные характерные черты васкулитов (Alberts W.M., 2007).
б. Больной с гранулёматозом Вегенера (фото предоставлено В.В. Солнцевым).

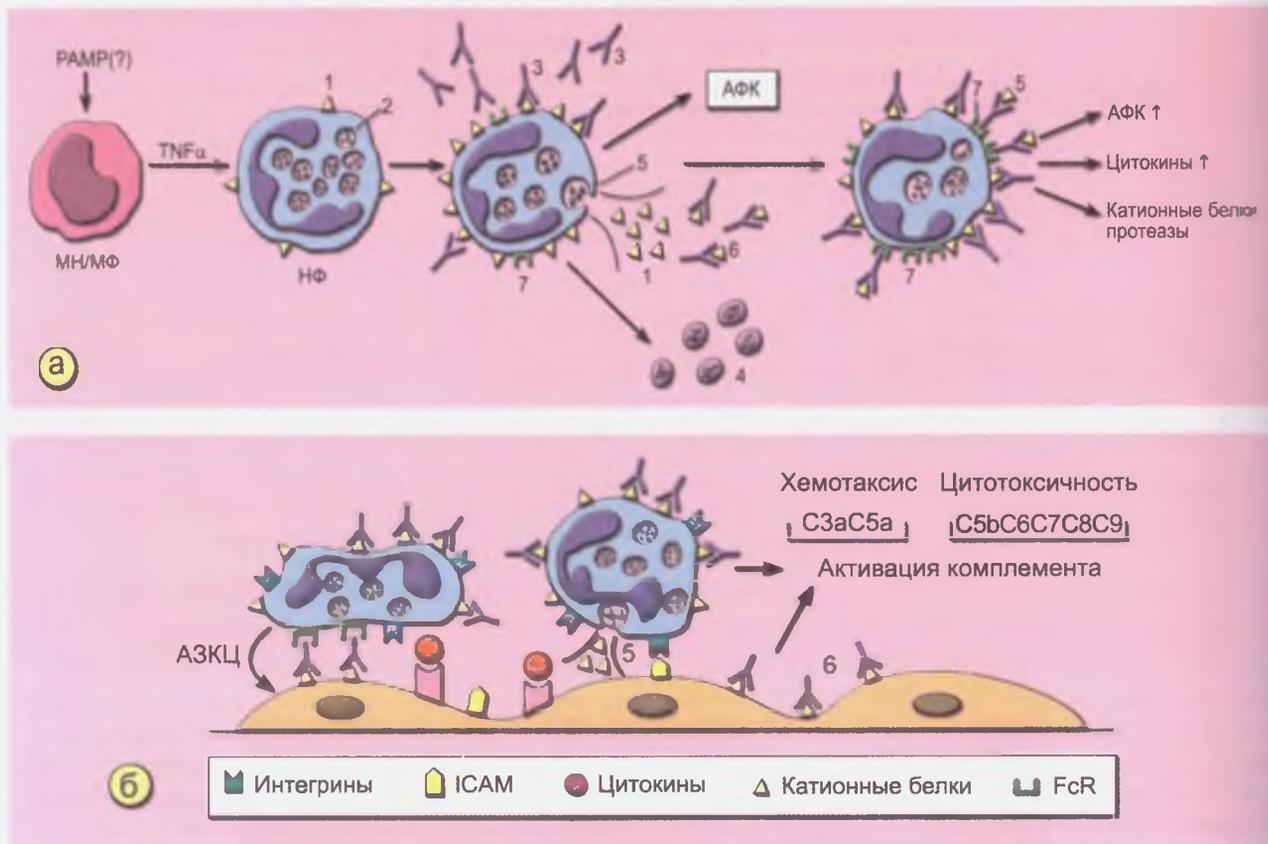


Рис. 577. Иммунопатогенез васкулитов

а. На поверхности НФ всегда экспрессируется некоторое количество АГ (1) азурофильных гранул (2). При действии TNF α , синтезированного моноцитами/макрофагами, возможно, под влиянием РAMP, НФ активируются и у них существенно увеличивается экспрессия АГ (МРО и PR3) азурофильных гранул. При наличии в организме ANCA (3) эти АТ взаимодействуют с АГ на поверхности активированных НФ, вызывают их дальнейшую активацию: образование токсических АФК, синтез цитокинов (4) и дегрануляцию (5) с выделением нейтральных протеаз и дефензинов (1), токсических для окружающих тканей. Образуются ИК (6), которые взаимодействуют с Fc-рецепторами (7) НФ и вызывают их дальнейшую активацию.

б. ИК, образующиеся между АГ и ANCA, откладываются не только на поверхности НФ, но и на поверхности эндотелия, вызывая активацию альтернативного пути комплемента. Это приводит к образованию хемоаттрактантов C3a и C5a, привлекающих в очаг воспаления новые НФ, и мембраноатакующего комплекса C5b, C6, C7, C8, C9, разрушающего клетки эндотелия. Элиминация комплемента, особенно фактора В, полностью отменяет развитие экспериментального васкулита и гломерулонефрита. Провоспалительные цитокины, синтезируемые НФ, активируют клетки эндотелия, повышая экспрессию молекул ICAM. Интегриновые молекулы НФ взаимодействуют с этими молекулами. Освобождаются токсические катионные белки МРО, дефензины и другие, которые связываются с клетками эндотелия. ANCA могут разрушать эндотелий с помощью антителозависимой клеточной цитотоксичности (АЗКЦ), опосредованной через Fc-рецептор (FcR) НФ. ANCA взаимодействуют не только с НФ, но и с МН, вызывая образование воспалительных молекул (на рисунке не показано). Кроме того, ANCA активируют МРО к образованию гипохлорной кислоты, высокотоксичной для клеток эндотелия. Приведённые экспериментальные данные показывают ведущую роль ANCA в патогенезе васкулитов, ассоциированных с этими АТ (Jennette J.C., Falk R.J., 2008).

3.2.16. БОЛЕЗНЬ КРОНА

**ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ**

Болезнь Крона (БК, *Crohn's disease*) — это тяжёлое аутоиммунное заболевание тонкого кишечника, встречающееся с частотой 10–15 случаев на 100 000 населения. Характеризуется трансмуральным воспалением с лимфоидными агрегатами и гранулёмами из синцития и эпителиоподобных клеток.

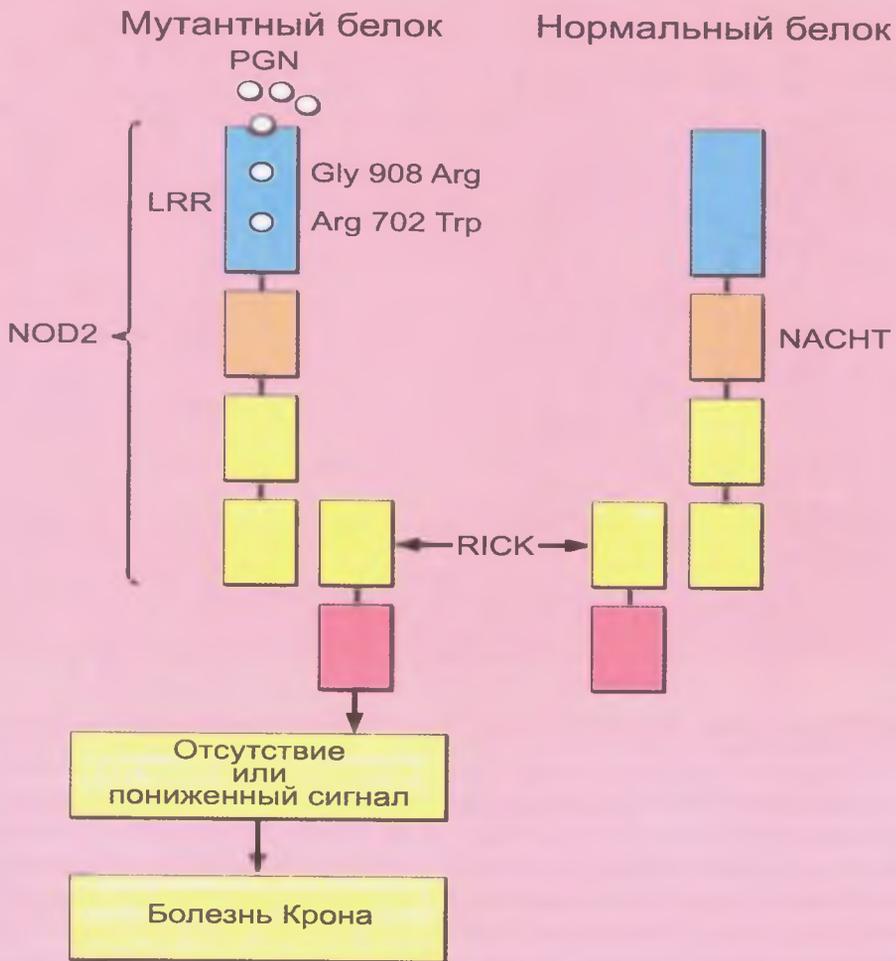


Рис. 578. Мутации в белке NLR, ведущие к развитию болезни Крона

У определённой части больных выявляются точечные мутации в LRR-домене NOD2, следствием чего является отсутствие сигнала, передаваемого с этого рецептора.

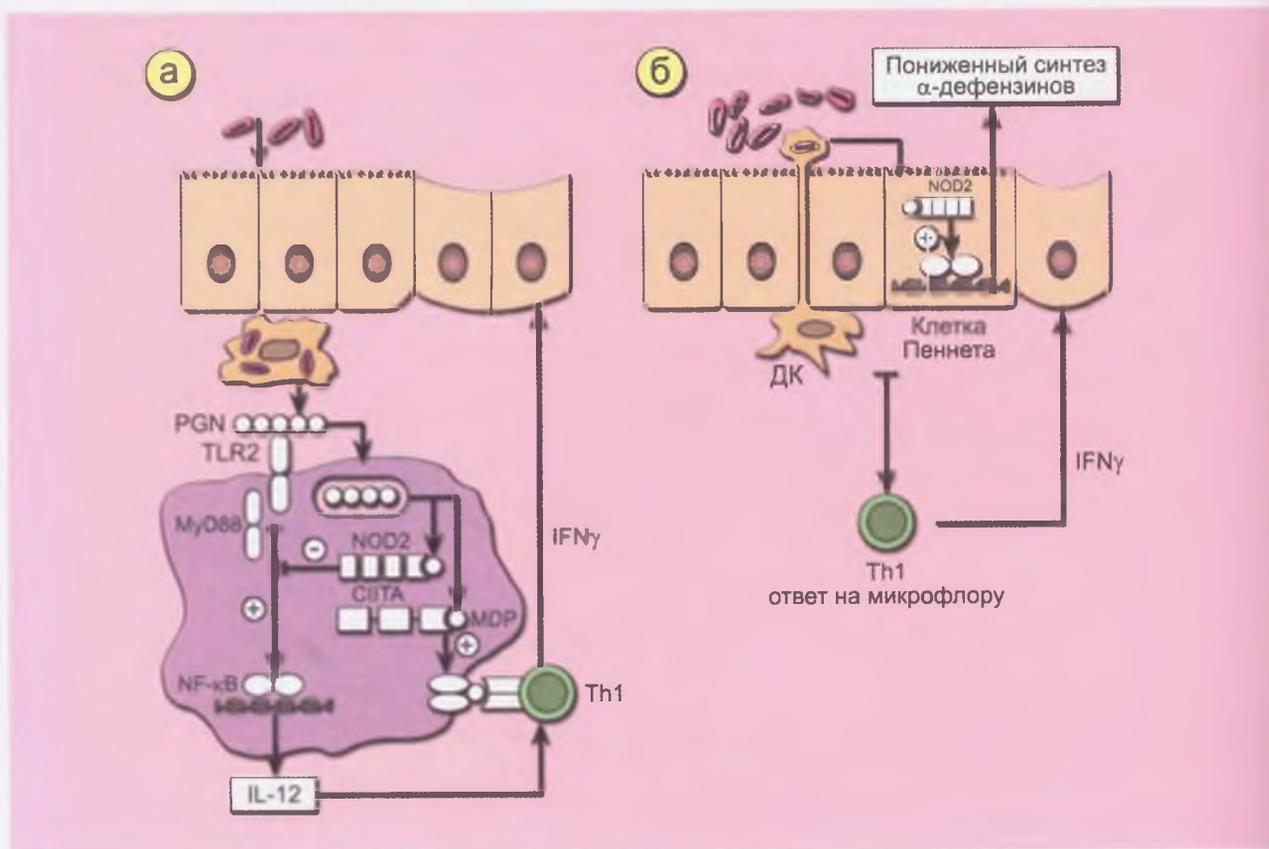


Рис. 579. Возможные механизмы развития болезни Крона

а. Пептидогликан кишечных бактерий (PGN) активирует TLR2. После его расщепления и образования MDP происходит активация NOD2. В нормальных клетках функция TLR2 негативно контролируется рецептором NOD2 и подавляется избыточная продукция IL-12, TNFα и IFNγ. При наличии мутации в LRR-домене рецептора NOD2 избыточная функция TLR2 не подавляется и происходит разрушение слизистой оболочки тонкого кишечника провоспалительными цитокинами, и в частности IFNγ (Strober et al., 2006).

б. MDP является одним из активаторов рецептора NOD2 в эпителиальных клетках кишечника и клетках Пеннета, которые являются мощными продуцентами антимикробных пептидов β- и α-дефензинов. Мутации в LRR-домене рецептора NOD2 ведут к понижению синтеза дефензинов этими клетками, неконтролируемому размножению бактерий и разрушению слизистой оболочки кишечника. В соответствии с другой точкой зрения понижение дефензинов не связано с NOD-мутацией, а является понижением функциональной активности клеток эпителия. Иными словами, понижение дефензинов — следствие, а не причина заболевания.

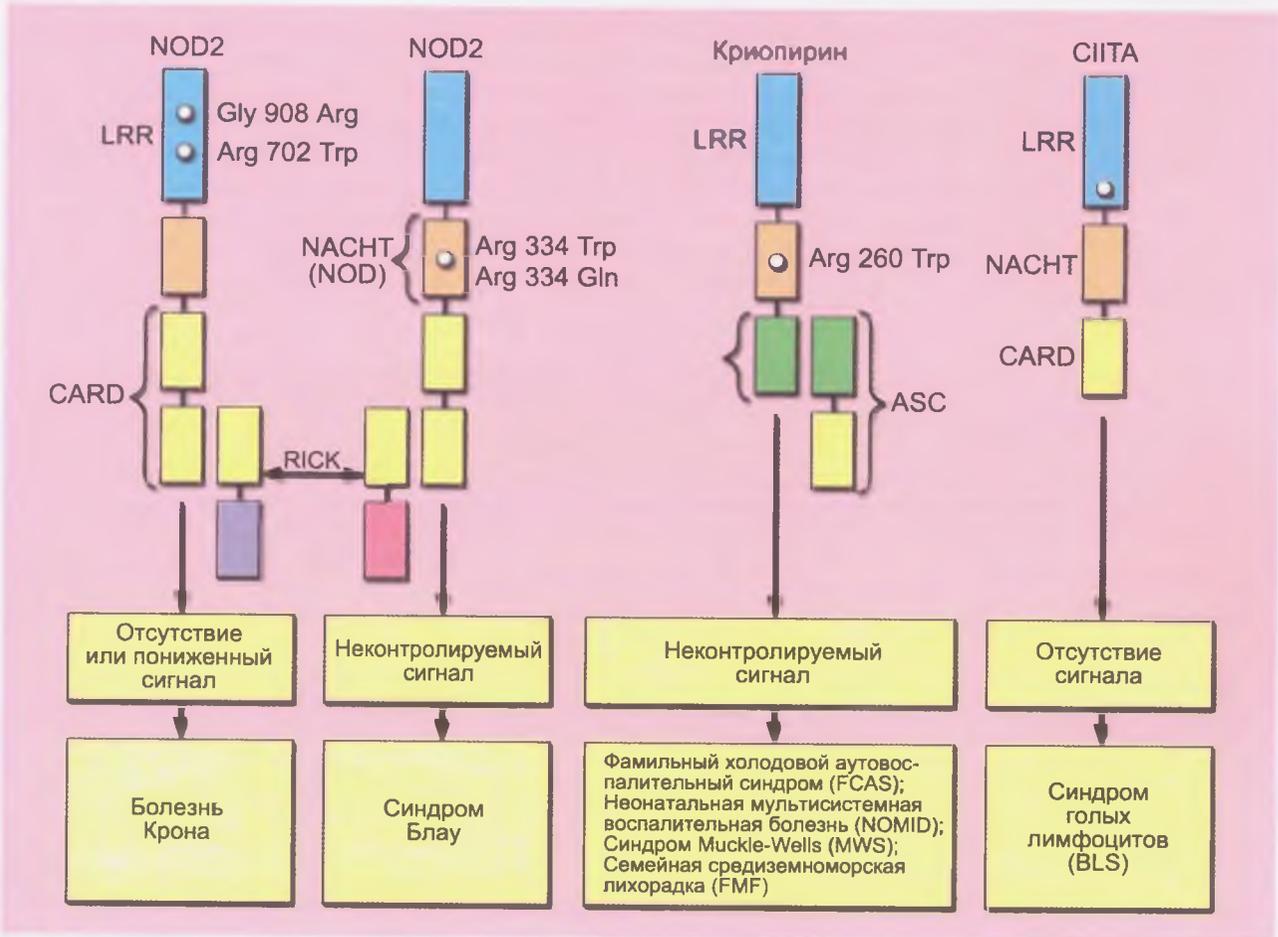


Рис. 580. Мутации в белках NLR и болезни, связанные с ними

Мутации в LRR-домене NOD2 ведут к развитию болезни Крона, мутации в NACHT-домене этого рецептора — развитию синдрома Блау, редкого аутосомально-доминантного заболевания, характеризующегося развитием артрита, увеита и кожной сыпи,

мутации в NACHT-домене рецептора криопирин — редких аутосомально-доминантных заболеваний, мутации в рецепторе CIITA — синдрома голых лимфоцитов, при котором отсутствует экспрессия молекул HLA-II (Inohara N., Nunez G., 2003).

3.2.17. ЦЕЛИАКИЯ

ЗАТЕКСТОВОЕ
ПРИМЕЧАНИЕ

Целиакия (*celiac disease*) — это хроническое воспалительное заболевание тонкого кишечника, в основе которого лежит иммунный ответ на смесь глютенных (глиадин, глютеин, секалин) и других белков злаковых растений. Болеют генетически предрасположенные люди с маркерами HLA-DQ2 и HLA-DQ8. Частота заболевания в Европе и США составляет 1/100–1/150. Чаще болеют женщины: соотношение женщины/мужчины 2,5/1, причём заболевание чаще встречается у больных селективным IgA-дефицитом. Главными симптомами целиакии являются диарея, боли в животе, потеря в весе, слабость, потеря аппетита и др. Дети болеют целиакией значительно тяжелее, чем взрослые. Основной метод лечения — диета, свободная от глютена.



Рис. 581. Формы целиакии (Gasbarrini G., 2008)

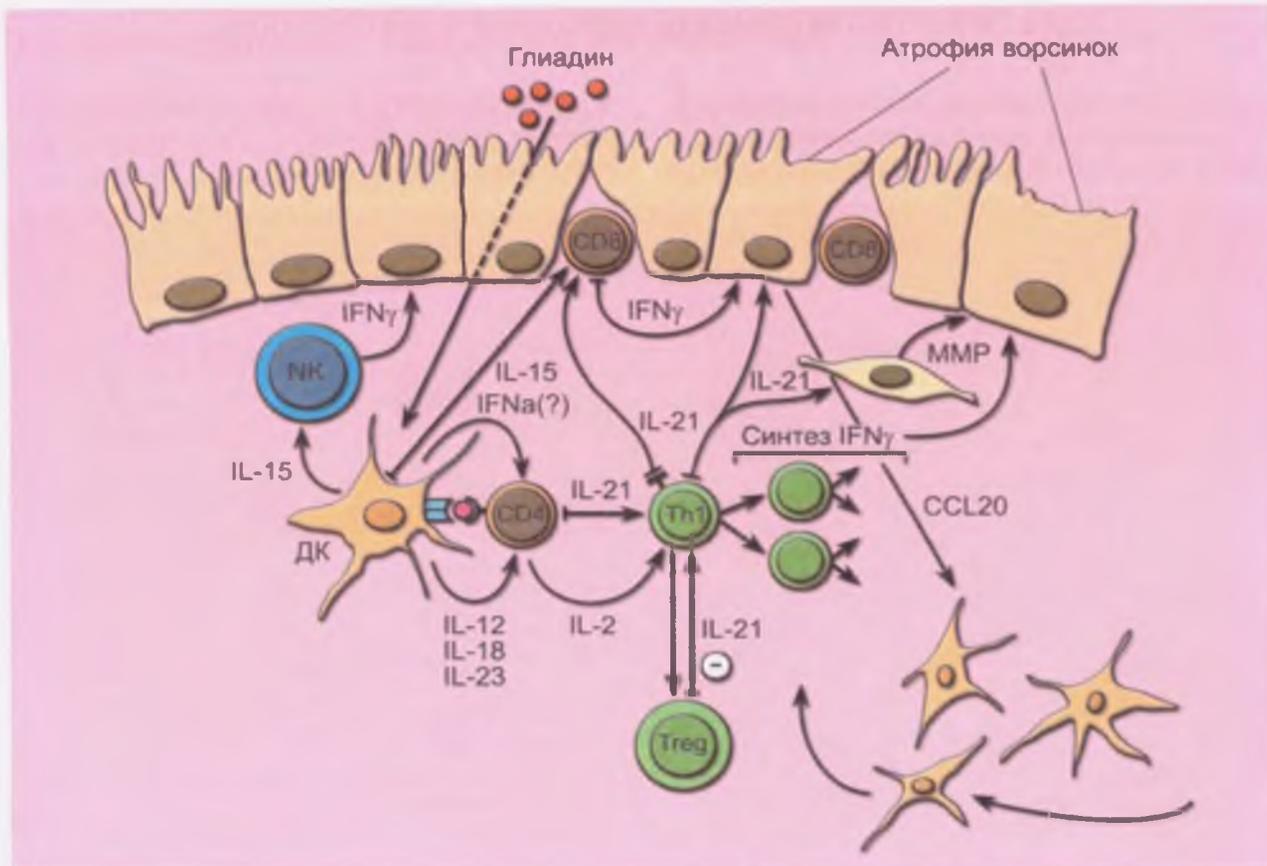


Рис. 582. Иммунопатогенез целиакии

При проникновении в *Lamina propria* тонкого кишечника глиадин захватывается ДК и представляется комплексом HLA-DQ8 CD4⁺T-клеткам. Одновременно с этим ДК синтезируют IL-12, IL-18, IL-23, активирующие и направляющие развитие CD4⁺T-клеток по Th1-пути. Возможно, в направлении дифференцировки по Th1-пути принимает участие IFN α , синтезируемый плазмоцитоподобными ДК. В условиях *L. propria* тонкого кишечника CD4⁺T-клетки начинают синтезировать IL-21, оказывающий плейотропный эффект на организм. Прежде всего этот цитокин аутокринно стимулирует избыточный синтез CD4⁺T-клетками IFN γ , оказывающего деструктивный эффект на эпителий. В эксперименте показано, что анти-IL-21-АТ существенно подавляют продукцию IFN γ . Далее IL-21 ингибирует функциональную активность Т-регуляторных клеток (Treg). Стимулирует синтез фибробластами металлопротеиназ (MMP), оказывающих деструктивный эффект на слизистую обо-

лочку, индуцирует синтез энтероцитами хемокинов CCL20, вызывающих приток ДК в воспалительный очаг. Цитокин IL-2, синтезируемый активированными CD4⁺-клетками, стимулирует пролиферацию и инфильтрацию этими клетками *L. propria*. Таким образом, IL-21 играет важную роль в патогенезе целиакии. Другим цитокином, принимающим участие в развитии патологического процесса, является IL-15. Этот цитокин оказывает сильное влияние на иммуномодуляторный эффект IL-21. IL-15 стимулирует активированные ДК и энтероциты. Совместно с IL-21 IL-15 повышает цитотоксическую активность NK-клеток и внутриэпителиальных CD8⁺T-лимфоцитов и продукцию ими IFN γ . Всё это усиливает деструктивное действие клеток иммунной системы на слизистую оболочку тонкого кишечника. В целом, патологические изменения в тонком кишечнике при целиакии, скорее всего, являются результатом совместного эффекта IL-21 и IL-15 (Meresse B. et al., 2008).

3.3. ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И СВЯЗАННАЯ С НЕЙ ПАТОЛОГИЯ

До настоящего времени остаётся востребованной классификация гиперчувствительности, предложенная Р. Gell и R. Coombs в 1969 г., несмотря на

её ограниченность и неполное соответствие современным представлениям об иммунопатологических механизмах.

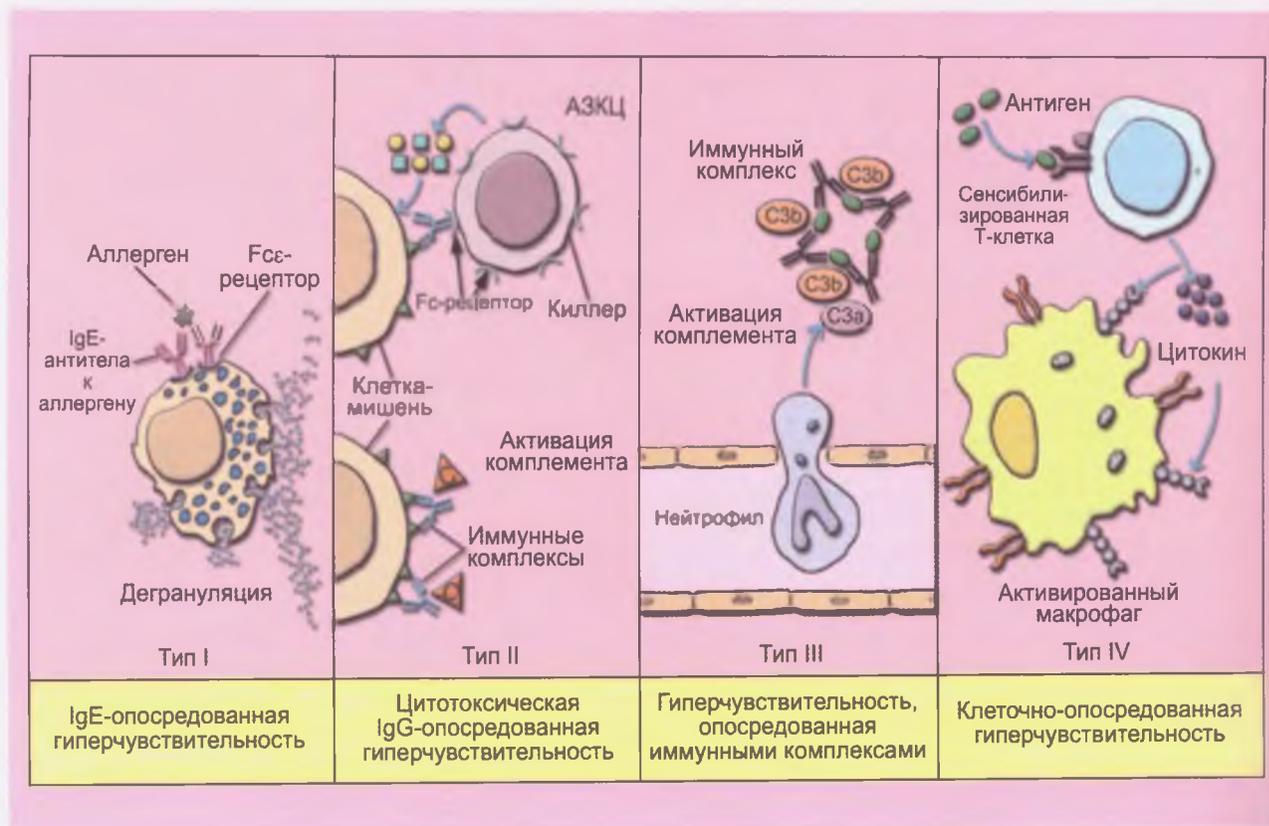


Рис. 583. Основные типы гиперчувствительности

Выделяют четыре основных типа реакций гиперчувствительности.

- Тип I — гиперчувствительность немедленного типа, обусловлена освобождением при связывании аллергена активных субстанций из ТК, сенсибилизированных IgE-антителами к аллергенам.

- Тип II — цитотоксическая реакция, вызывается связыванием антител с поверхностью клеток-мишеней и привлечением к ИК комплемента или эффекторных клеток, обеспечивающих раз-

витие антителозависимой клеточной цитотоксичности.

- Тип III — иммунокомплексная реакция, обусловлена провоспалительным действием растворимых ИК.

- Тип IV — гиперчувствительность замедленного типа, связана с активацией макрофагов Т-клетками, стимулированными АГ, или с эффекторной функцией активированных Т-лимфоцитов

Условное обозначение: АЗКЦ — антителозависимая клеточная цитотоксичность.

3.3.1. ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ I ТИПА. АЛЛЕРГИЯ НЕМЕДЛЕННОГО ТИПА

Аллергия немедленного типа занимает в патологии человека несопоставимо более важное место, чем другие проявления гиперчувствительности. В настоящее время раскрыты основные принципиальные механизмы аллергии и успешно реализуются различные патогенетически обоснованные подходы

к лечению аллергических заболеваний, за исключением иммунологических методов, которые могли бы стать наиболее радикальным средством предотвращения и лечения аллергии. В связи с этим усилия исследователей в этой области (пока не очень успешные) направлены на создание алерговакцин.

Тип гиперчувствительности	Факторы
Гиперчувствительность немедленного типа	<ol style="list-style-type: none"> 1. Растительные аллергены Пыльца тимopheевки, клещевины, березы, пшеницы 2. Аллергены насекомых Яды пчел, ос, муравьев, фрагменты клещей (составная часть пыли) 3. Аллергены животных Перхоть домашних животных 4. Микробные аллергены 5. Пищевые аллергены Яйца, арахис, горох, фасоль, молоко, морепродукты 6. Лекарства Антибиотики (особенно пенициллин), сульфаниламиды, местные анестетики, салицилаты 7. Белковые препараты Сыворотки, вакцины
Гиперчувствительность замедленного типа	<ol style="list-style-type: none"> 1. Внутриклеточные патогены Бактерии (<i>Mycobacterium tuberculosis</i>, <i>M. leprae</i>, <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Brucella abortus</i>), грибки (<i>Pneumocystis carinii</i>, <i>Candida albicans</i>, <i>Histoplasma capsulatum</i>, <i>Cryptococcus neoformans</i>), паразиты (<i>Leishmania</i>), вирусы (герпеса, кори, коревой оспы) 2. Контактные антигены Пикрилхлорид, пентадекакатехол, соли никеля, хрома, яды, красители для волос 3. Яды насекомых (пчел, ос) 4. Пищевые аллергены Глиадин (в случае глютеновой энтеропатии)

Рис. 584. Факторы, вызывающие состояние гиперчувствительности немедленного и замедленного типов

Реакции гиперчувствительности I и IV типов обозначают как аллергию, соответственно, немедленного и замедленного типов; развитие этих реакций вызывают факторы различной природы.

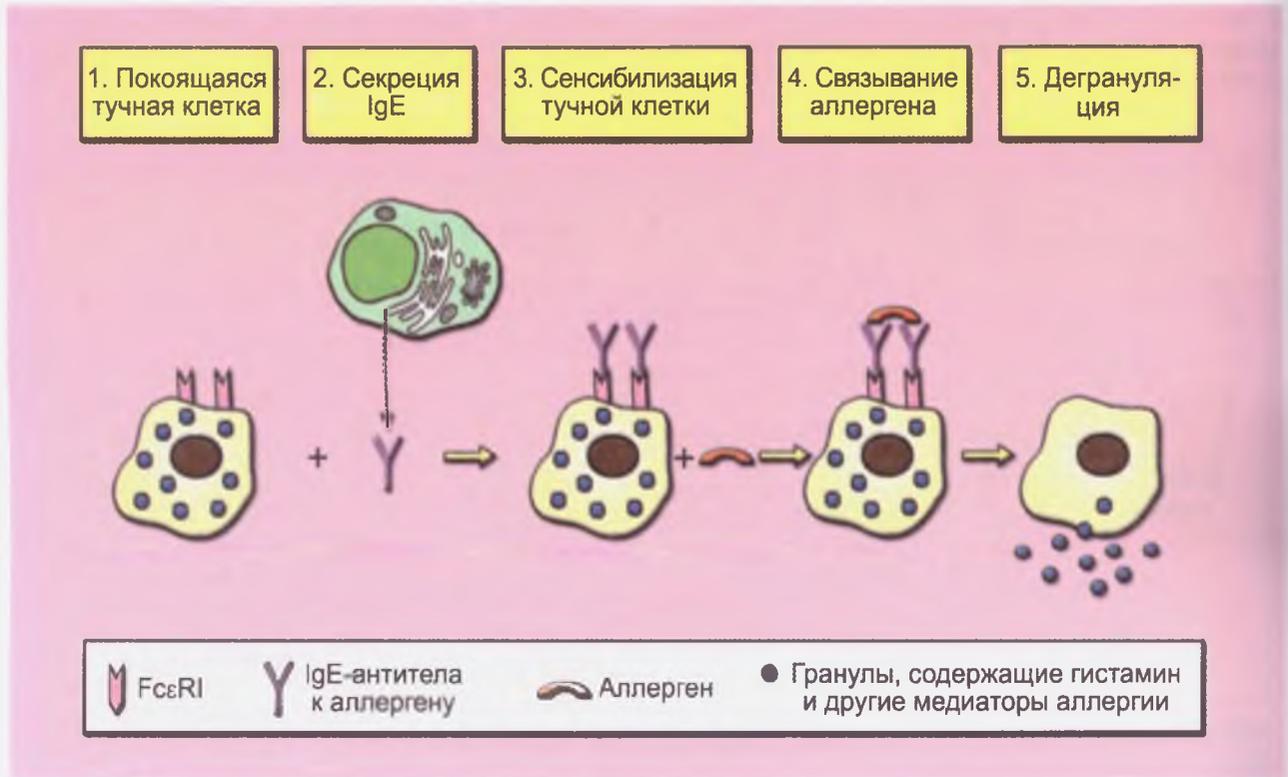


Рис. 585. Гиперчувствительность типа I. Основные этапы развития аллергии немедленного типа

Основными предпосылками развития гиперчувствительности немедленного типа является наличие на поверхности ТК FcεRI высокоаффинных Fcε-рецепторов типа I (1) и выработка IgE-антител в ответ на поступление в организм аллергена (2). IgE-антитела фиксируются на рецепторах FcεRI ТК, что

служит основой состояния сенсibilизации (3). При повторном поступлении аллергена происходит его связывание с IgE-антителами, фиксированными на поверхности ТК, и их перекрёстное сшивание (4), что обуславливает выброс гранул (дегрануляцию), содержащих активные субстанции (5).

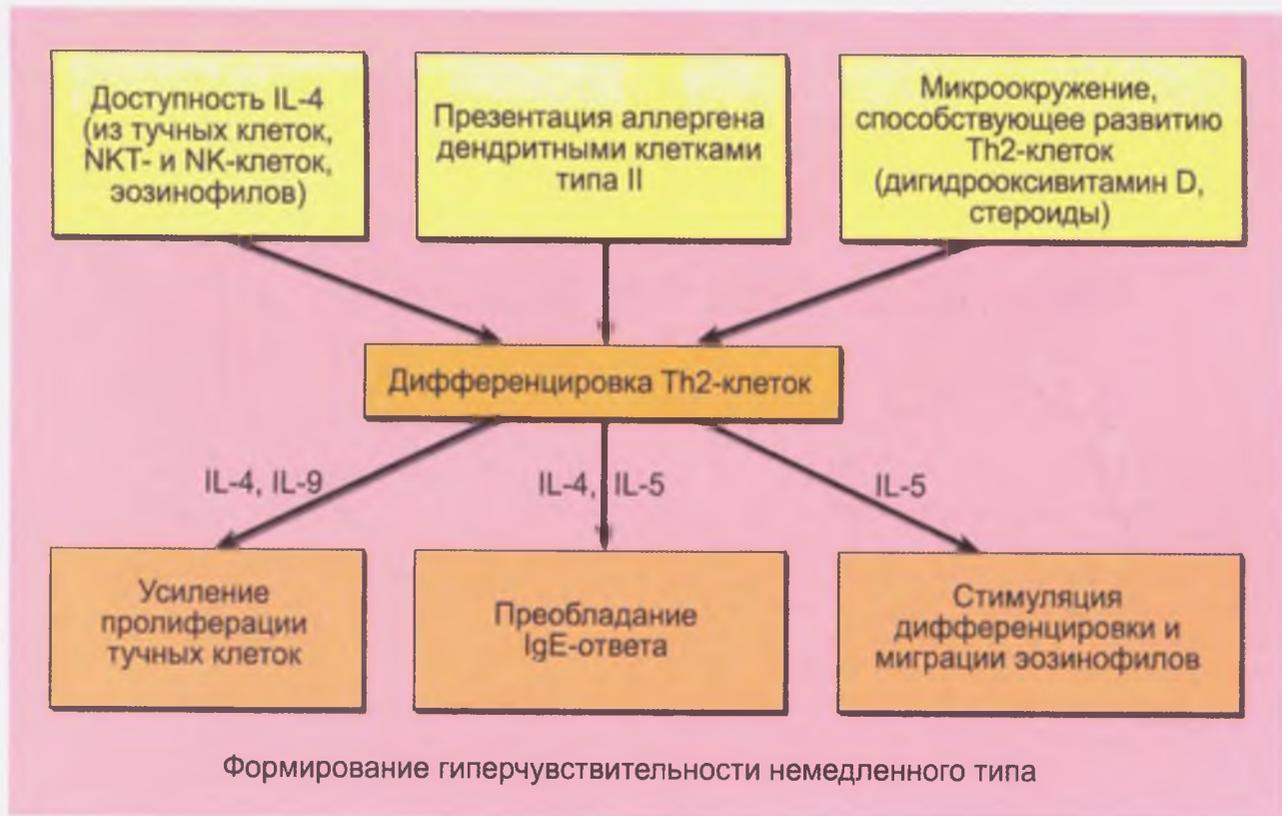


Рис. 586. Th2-контроль развития аллергии немедленного типа

T-клеточный контроль аллергического ответа характеризуется преобладающим влиянием Th2-клеток на его развитие. Доминирование обусловлено генетически детерминируемыми особенностями микроокружения: наличием источников IL-4 (цитокина, который служит основным индуктором Th2-ответа), функциональными особенностями ДК, представляющих аллерген (DC2, которые про-

дуцируют IL-4, но не IL-12), присутствием стероидов, благоприятствующих дифференцировке Th2-клеток, и т.д. Роль Th2-клеток в развитии аллергии немедленного типа реализуется через секрецию ими цитокинов, которые обуславливают переключение изотипов Ig на IgE, поддерживают развитие ТК и ЭО, т.е. обеспечивают присутствие основных факторов аллергии.

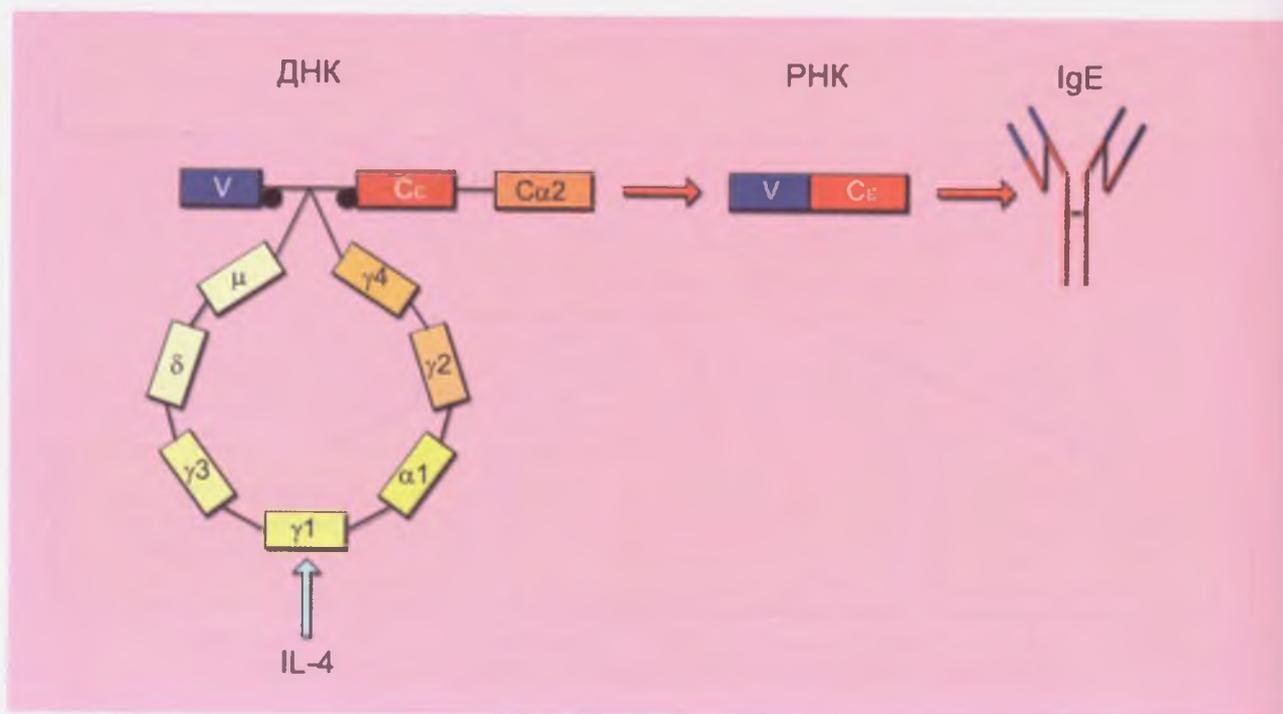


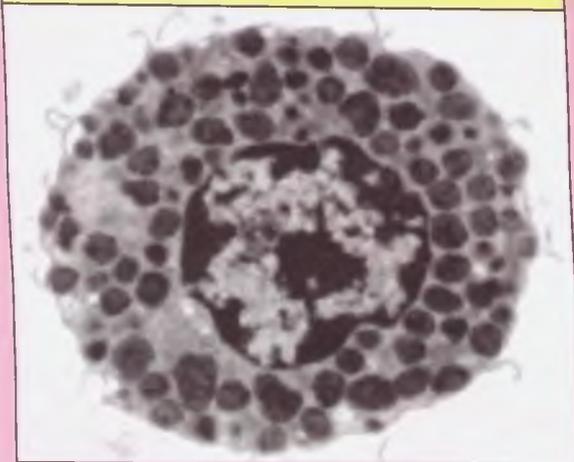
Рис. 587. Переключение изотипов иммуноглобулинов на IgE

Переключение С-генов иммуноглобулинов на ген С_ε, кодирующий изотип IgE, осуществляется по обычному механизму (см. рис. 195). Выбор гена С_ε обусловлен действием IL-4. Происходит сближение V- и С_ε-генов путём формирования петли ДНК, в которую попадают все С-гены, локализуемые между V- и С_ε-генами, с последующим вы-

резанием этой петли. Тандем генов V и С_ε транскрибируется с образованием мРНК состава VС_ε с последующей трансляцией Н-цепи IgE.

Условные обозначения: V, а также С с индексами (греческие буквы) — переменный и константный гены иммуноглобулинов, а также их РНК-транскриптов.

Покоящаяся тучная клетка



Активированная тучная клетка
(после дегрануляции)

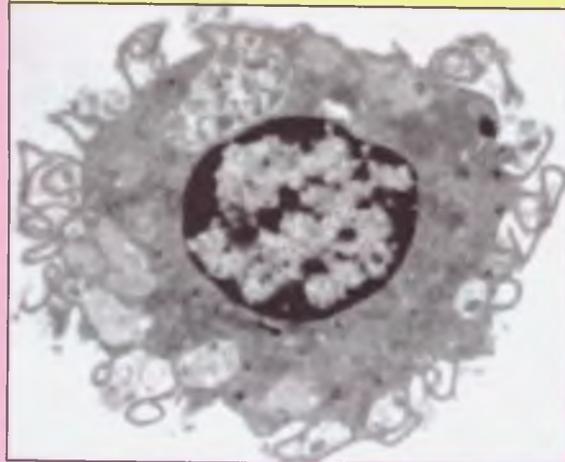


Рис. 588. Морфология тучной клетки

Отличительной особенностью покоящейся тучной клетки является содержание в цитоплазме большого числа гранул. Активированная тучная клетка уже не содержит гранул (следствие дегрануляции). Для неё характерна неровная поверхность с наличием выростов; эти признаки особенно характерны для активированной тучной клетки, что также является следствием активного экзоцитоза.

Свойство	Мукозальные тучные клетки	Соединительно-тканые тучные клетки
Локализация	Кишечник, лёгкие	Везде
Срок жизни	< 40 сут	> 40 сут
Зависимость от тимуса	+	-
Содержание гистамина	+	++
Протеогликан	Хондроитин сульфат	Гепарин
LTC ₄ /PGD ₂	25 : 1	1 : 40
Цитоплазматический IgE	+	-
Число Fcε-рецепторов	Ок. $2,5 \cdot 10^6$	Ок. $0,03 \cdot 10^6$
Основные протеазы	Триптаза	Триптаза, химаза

Рис. 589. Характеристика основных субпопуляций тучных клеток

Условные обозначения: LTC₄ — лейкотриен C₄; PGD₂ — простагландин D₂ (основные эйкозаноиды, вырабатываемые тучными клетками).

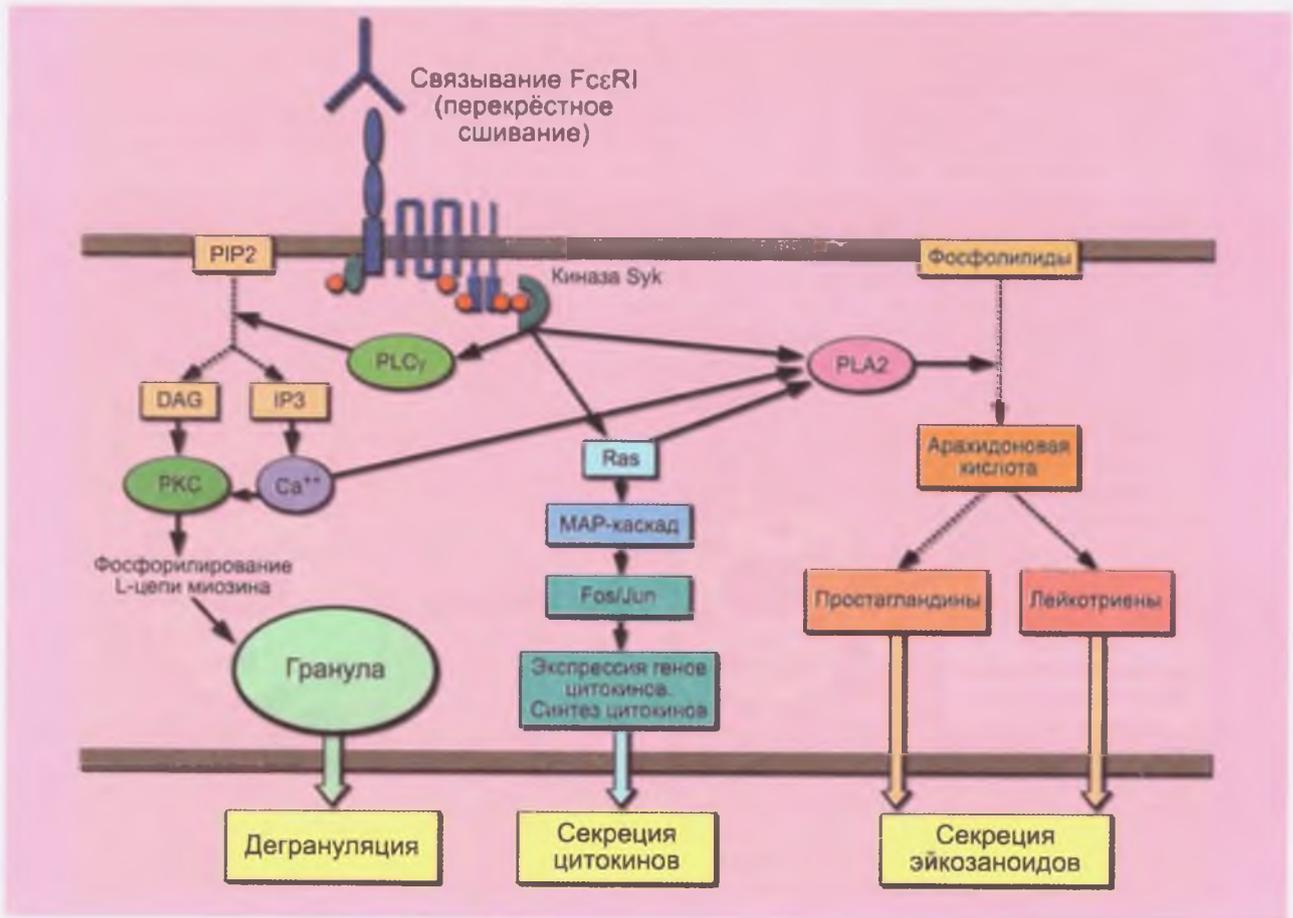


Рис. 590. Сигнальные пути и процессы, ответственные за осуществление реакций гиперчувствительности немедленного типа

Связывание аллергена с IgE, фиксированными на FcεRI (см. рис. 180) ТК, запускает (при участии рецепторных киназ) три сигнальных пути. Один из них включается благодаря активации фосфолипазы C, приводит к активации протеинкиназы C и накоплению в цитозоле ионов Ca²⁺. Основной мишенью сигнала становятся белки цитоскелета. Сокращение нитей миозина вследствие фосфорилирования его L-цепей обуславливает дегрануляцию. Этот сигнальный путь срабатывает очень быстро (минуты).

Активация фосфолипазы A обуславливает включение второго сигнального пути, главный результат которого состоит в синтезе арахидоновой кислоты, которая затем метаболизируется с участием липоксигеназ и циклоксигеназ с образованием соответственно лейкотриенов и простагландинов. Эти про-

дукты, называемые эйкозаноидами (см. рис. 595), освобождаются из клетки через десятки минут.

Третий сигнальный путь — вариант MAP-каскада (см. рис. 307) — включается через фактор Ras и приводит к образованию транскрипционного фактора AP-1 (димера Fos/Jun). Этот путь способствует активации генов цитокинов, синтез которых реализуется через 1–3 сут и обуславливает развитие отложенной фазы аллергической реакции.

Условные обозначения: FcεRI — Fcε-рецептор 1-го типа; PLA — фосфолипаза A; PLCγ — фосфолипаза C, изоформа γ; PKC — протеинкиназа C; PIP2 — фосфатидилинозитол дифосфат; DAG — диацилглицерин; IP3 — инозитол-3-фосфат; MAP — митогенактивируемая протеинкиназа; Syk, Ras, Fos, Jun — обозначения продуктов протоонкогенов.

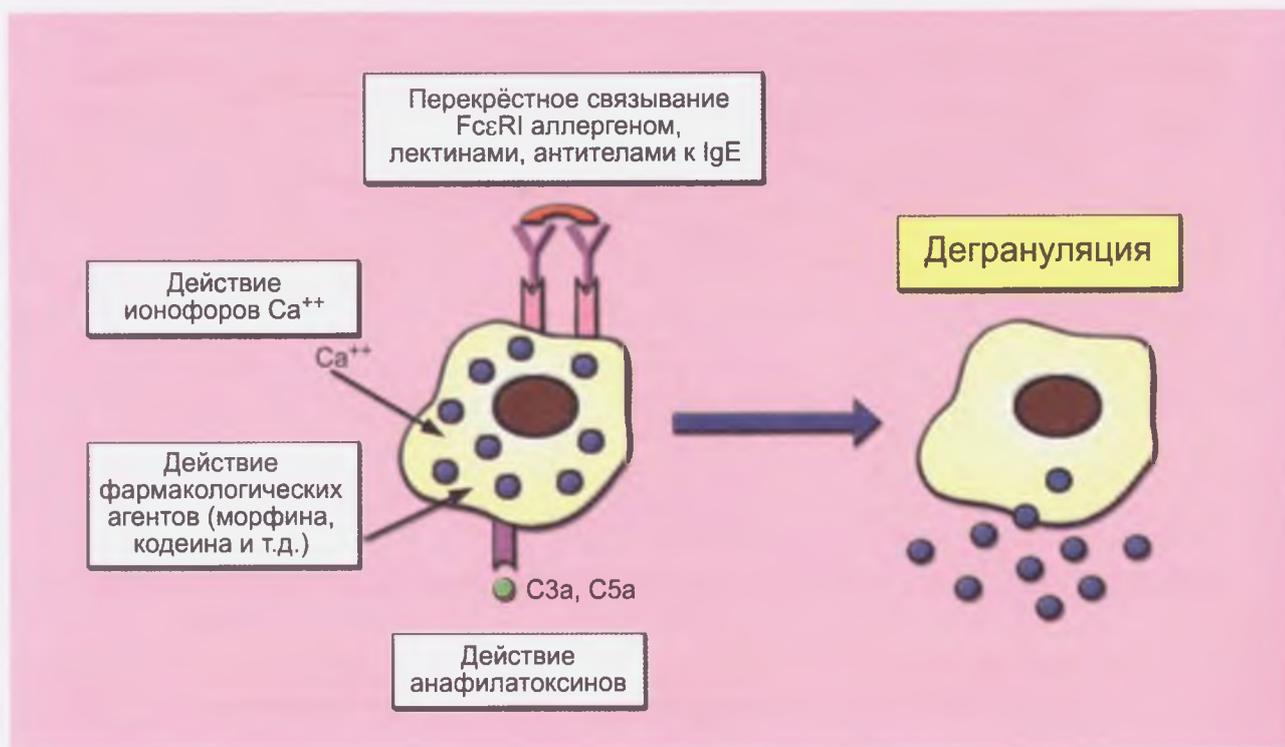


Рис. 591. Дегрануляция может быть вызвана различными воздействиями, приводящими к повышению уровня внутриклеточного Ca^{2+}

Дегрануляция является типовой реакцией ТК, их ответом на стимуляцию. В связи с этим причиной дегрануляции могут быть не только связывание аллергена с комплексом IgE/FcεRI, но и другие воздействия, приводящие к росту внутриклеточной концентрации Ca^{2+} (см. рис. 312 и 590). К ним от-

носится связывание анафилатоксинов (C5a и др.) с рецепторами ТК, влияние кальциевых ионофоров и фармакологических агентов (например, холинергических), повышающих уровень Ca^{2+} в цитозоле.

Условное обозначение: FcεRI — высокоаффинный рецептор для IgE-типа.

3.3. Гиперчувствительность и связанная с ней патология

Группа факторов	Тучные клетки	Эозинофилы
Предобразованные факторы из гранул	Гистамин, гепарин, хондроитинсульфат, серотонин, протеазы	МБР (главный основной белок), ЕСР (катионный белок эозинофилов) и т.д.
Быстро синтезируемые факторы (в пределах часа)	Эйкозаноиды – лейкотриены (LTC ₄ , LTD ₄), простагландины (PGD ₂), тромбоксаны, фактор, активирующий тромбоциты (PAF)	Лейкотриены (LTC ₄ , LTD ₄), простагландины (PGE), фактор, активирующий тромбоциты (PAF)
Медленно синтезируемые факторы (часы)	Цитокины (IL-5, GM-CSF, TNF α , IL-8)	Цитокины (IL-3, IL-5, GM-CSF, TGF β)

Рис. 592. Эффекторные клетки аллергии немедленного типа и продуцируемые ими медиаторы

Охарактеризовано происхождение из основных эффекторных клеток аллергии — ТК и ЭО, трёх групп эффекторных факторов, отличающихся вре-

менем образования и сроком выделения, предобразованных (выделяемых в процессе дегрануляции), продуцируемых быстро и медленно.

Фактор	Химическая природа	Эффекты
Гистамин	Амин, метаболит гистина	Расширение и повышение проницаемости сосудов, спазм гладкой мускулатуры, усиление секреции слизи, раздражение нервных окончаний (зуд)
Гепарин	Пептидогликан	Расширение и повышение проницаемости сосудов, спазм гладкой мускулатуры
Серотонин	Амин, метаболит триптофана	Расширение и повышение проницаемости сосудов, спазм гладкой мускулатуры
Химаза, триптаза	Белки	Протеолиз, усиление секреции слизи, ремоделирование эпителия
Хемотаксический фактор эозинофилов	Белок	Хемотаксис эозинофилов
Хемотаксический фактор нейтрофилов	Белок	Хемотаксис нейтрофилов

Рис. 593. Факторы, содержащиеся в гранулах тучных клеток (первичные медиаторы аллергии), и их характеристика

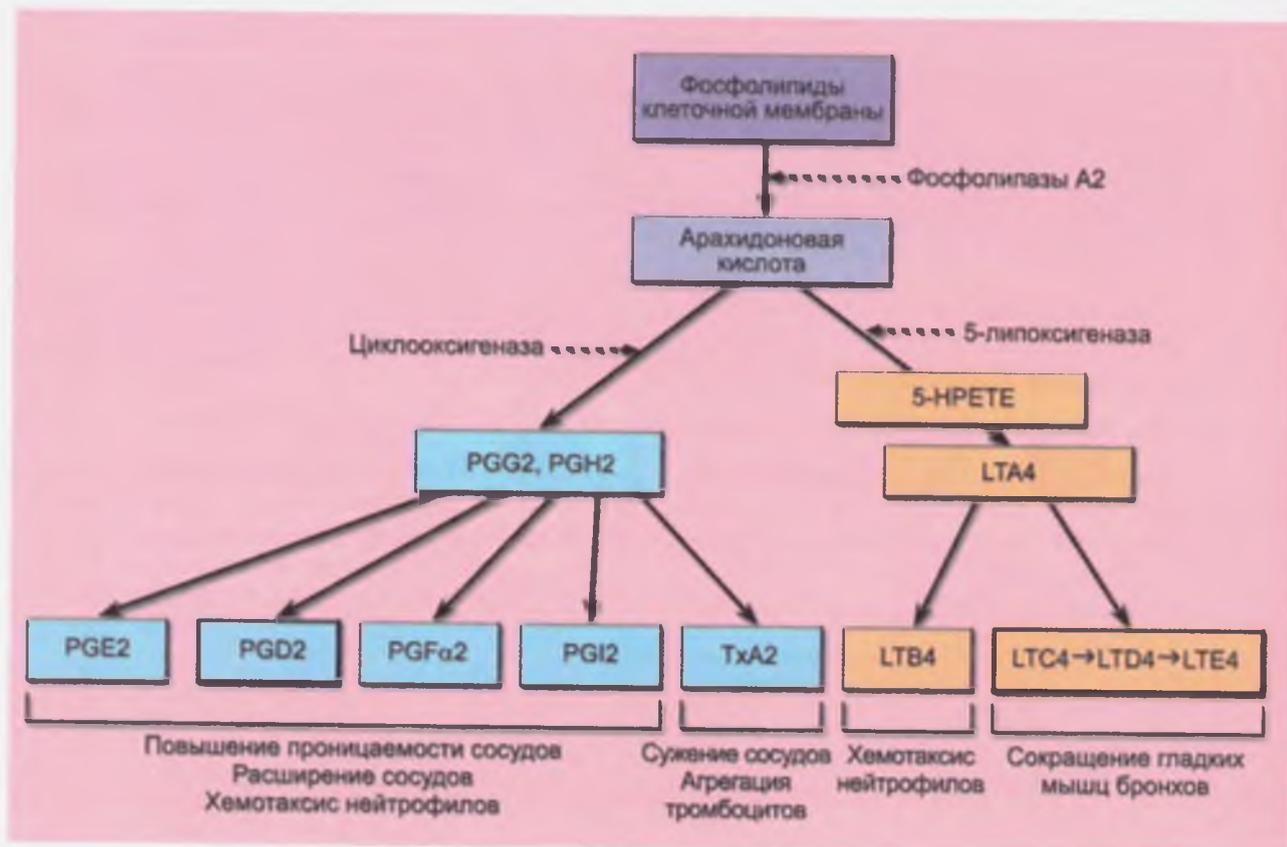


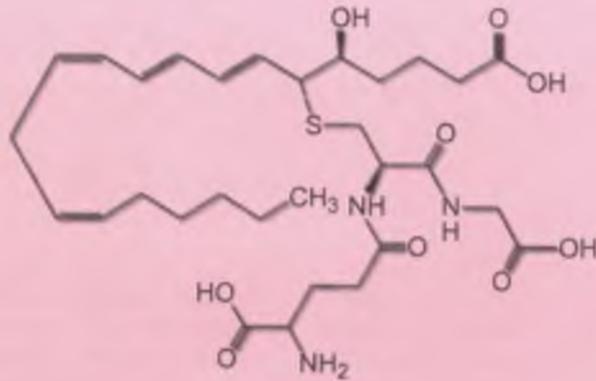
Рис. 594. Пути образования и эффекты эйкозаноидов

Эйкозаноиды — липидные метаболиты, производные арахидоновой кислоты, служащие медиаторами аллергических реакций.

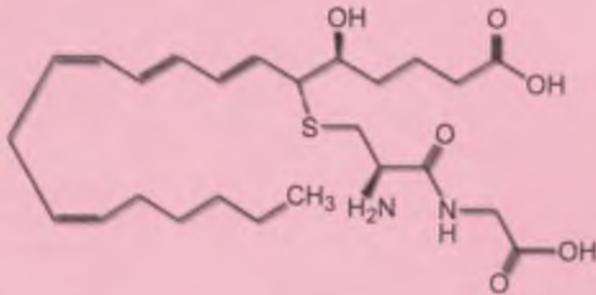
Жирными линиями отграничены обозначения эйкозаноидов, которым принадлежит наиболее важная роль в патогенезе аллергических реакций немедленного типа.

Условные обозначения: PGD2, PGE2, PGF 2α , PGG2, PGH2, PGI2 — разновидности простагландинов; 5-HPETE — 5-гидроперокси-эйкозотетраеновая кислота; LTA4, LTB4, LTC4, LTD4, LTE4 — разновидности лейкотриенов; TxA2 — тромбоксан A2. Цифры означают число ненасыщенных связей в молекуле.

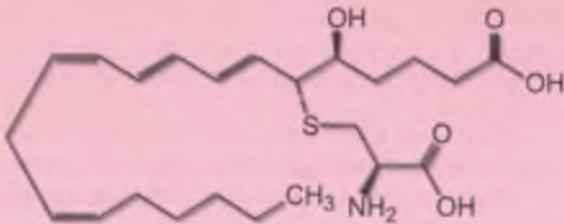
Лейкотриен С4



Лейкотриен D4



Лейкотриен E4



Простагландин D4

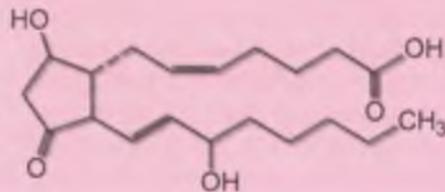


Рис. 595. Структура эйкозаноидов, участвующих в развитии аллергических реакций

Представлена структура наиболее стабильных и функционально важных эйкозаноидов.

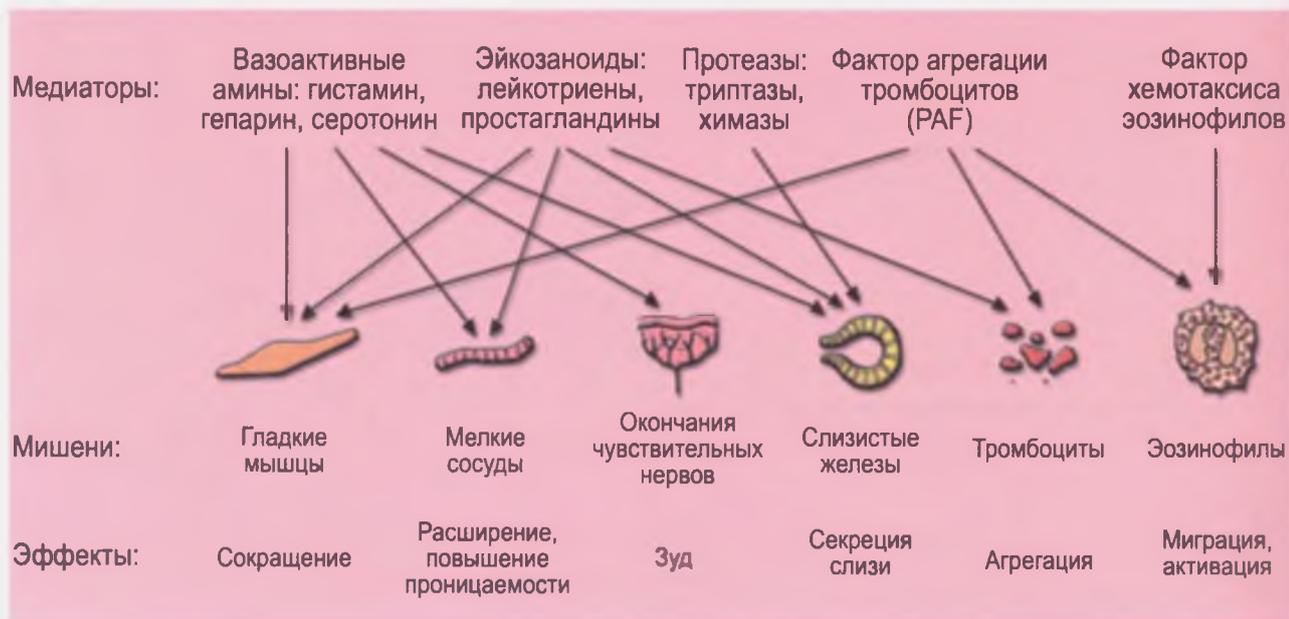


Рис. 596. Основные мишени медиаторов аллергии

Показаны клетки-мишени основных медиаторов аллергии немедленного типа с указанием биологических эффектов, реализуемых через эти мишени.

Условное обозначение: PAF (*Platelet aggregation factor*) — фактор агрегации тромбоцитов.

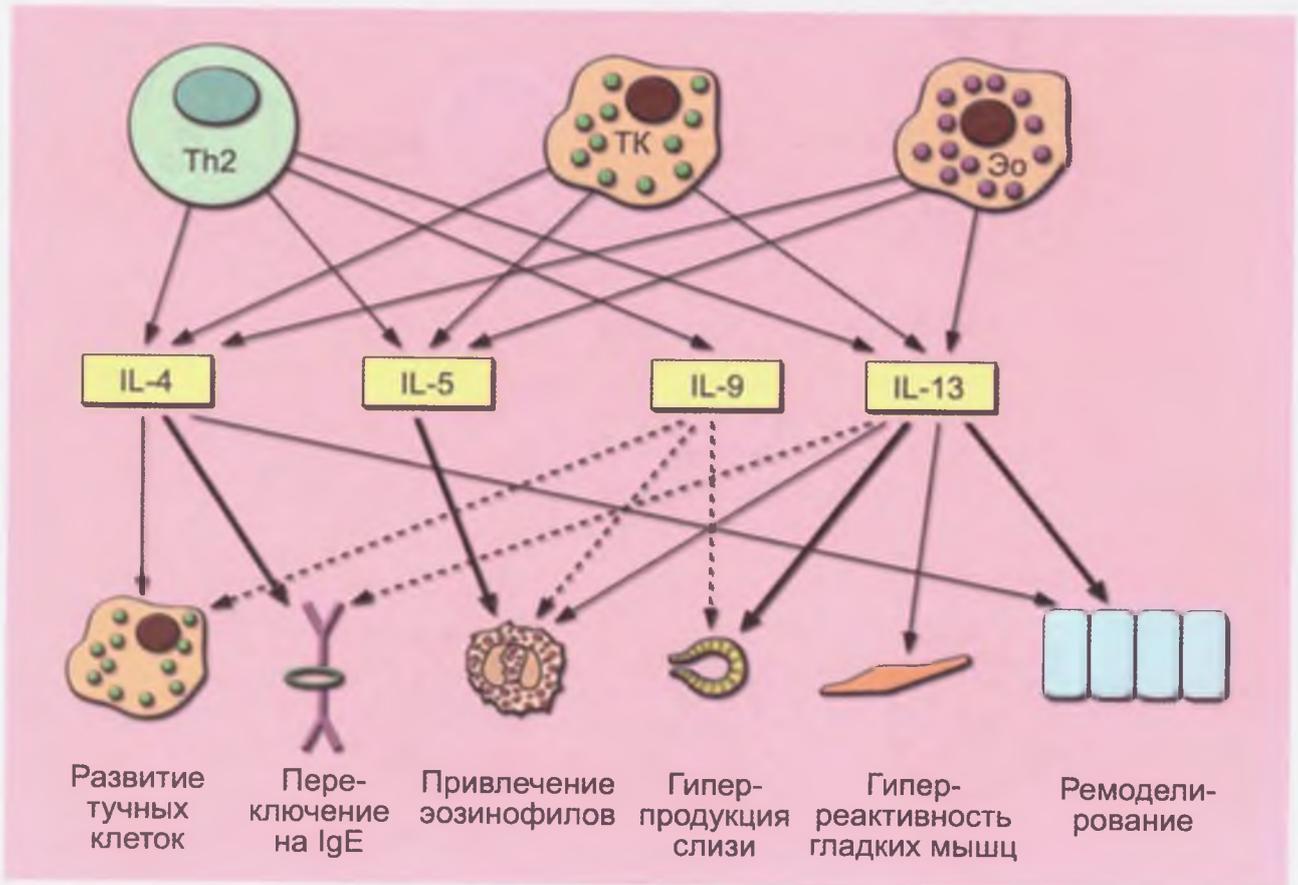


Рис. 597. Участие цитокинов, секретируемых Th2-клетками, эозинофилами и тучными клетками, в реализации аллергических процессов

Цитокины, секретируемые Th2 (IL-4, IL-5, IL-9, IL-13), определяют основные проявления аллергических процессов на стадиях их индукции и ранних проявлений: образование ТК, переключение изотипов Ig на синтез и секрецию IgE. Кроме того, IL-5 обуславливает привлечение ЭО и подготовку отложенной фазы аллергических реакций, а также такое позднее проявление хронических ал-

лергических процессов, как ремоделирование слизистых оболочек. Связывание аллергена с IgE ТК включает синтез цитокинов этими клетками. Дополнительным источником цитокинов в очаге аллергической реакции становятся ЭО, мигрирующие из крови. Спектр цитокинов, вырабатываемых тучными клетками и эозинофилами, сильно перекрывается со спектром Th2-цитокинов.

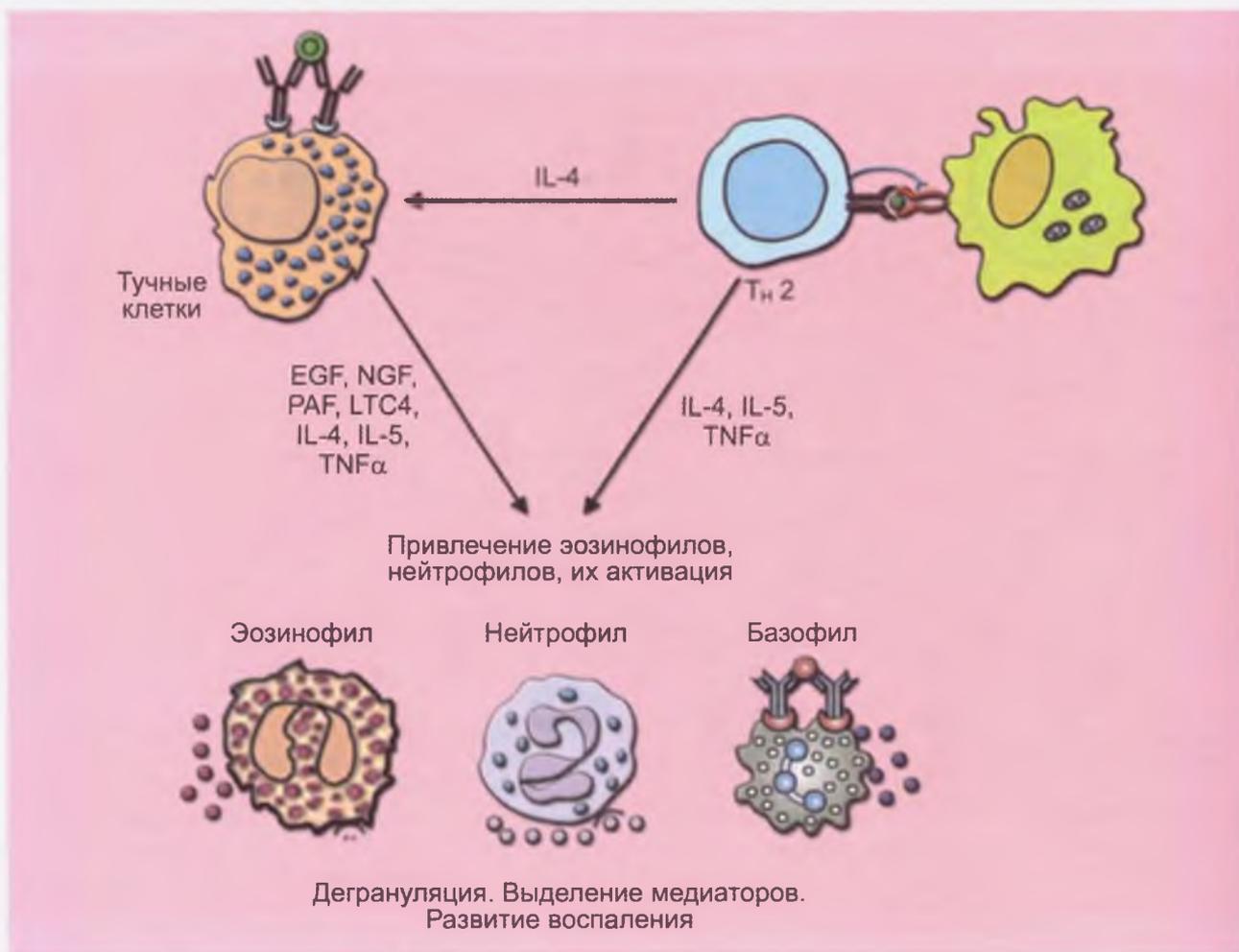


Рис. 598. Механизмы отложенной фазы гиперчувствительности немедленного типа

И Th2-клетки, и ТК, вовлекаемые в процесс активации при аллергии, выделяют цитокины и ростовые факторы, которые привлекают в очаг аллергической реакции лейкоциты крови, прежде всего ЭО, базофилы и НФ. Активация мигрирующих клеток в очаге поражения провоспалительными цитокинами, хемокинами, анафилотоксинами и другими факторами, присутствующими в очаге аллергического поражения, приводит к их дегрануляции с выделением ферментов и вазоактивных факторов, а также к секреции цитокинов. Эти факторы индуци-

руют развитие местной IL-4/IL-5-зависимой воспалительной реакции — «эозинофильного» воспаления, патогенетически отличающегося от классического «макрофагального» воспаления. Общим индуцирующим фактором для обоих типов воспаления является TNF, который при аллергии секретируется Th2-клетками, а также тучными клетками.

Условные обозначения: EGF — эпидермальный фактор роста; NGF — фактор роста нервов; PAF — фактор агрегации тромбоцитов; LTC₄ — лейкотриен С₄.

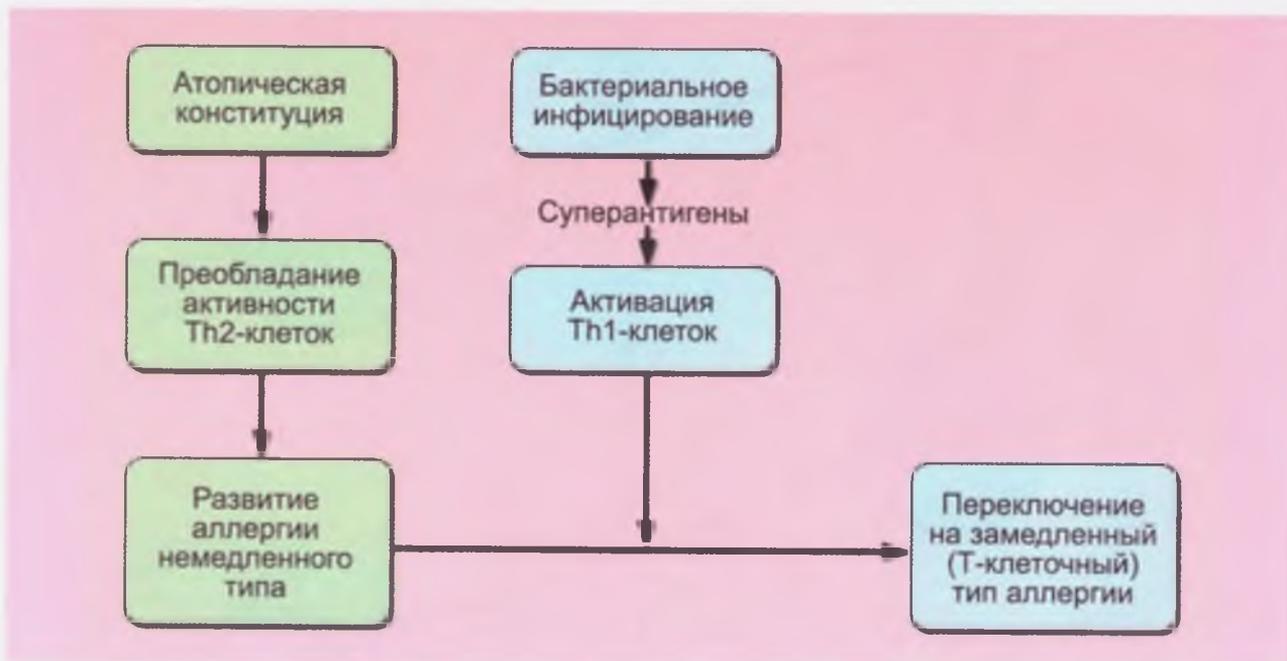


Рис. 599. Смена Т-клеточного контроля аллергических процессов в динамике их прогрессирования

Предпосылкой развития аллергических процессов является преобладание функциональной активности Th2-клеток и их влияния на иммунологические процессы при сниженной активности Th1-клеток. Однако прогрессирование аллергических заболеваний, особенно на фоне присоединения бактериальной инфекции, часто сопровожда-

ется повышением активности Th1-клеток и даже их превалированием над активностью Th2-клеток. Чаще всего этот сдвиг обусловлен действием бактериальных суперантигенов, главной мишенью которых являются Th1-клетки. Такие изменения реализуются в процессе прогрессирования атопического дерматита и бронхиальной астмы.

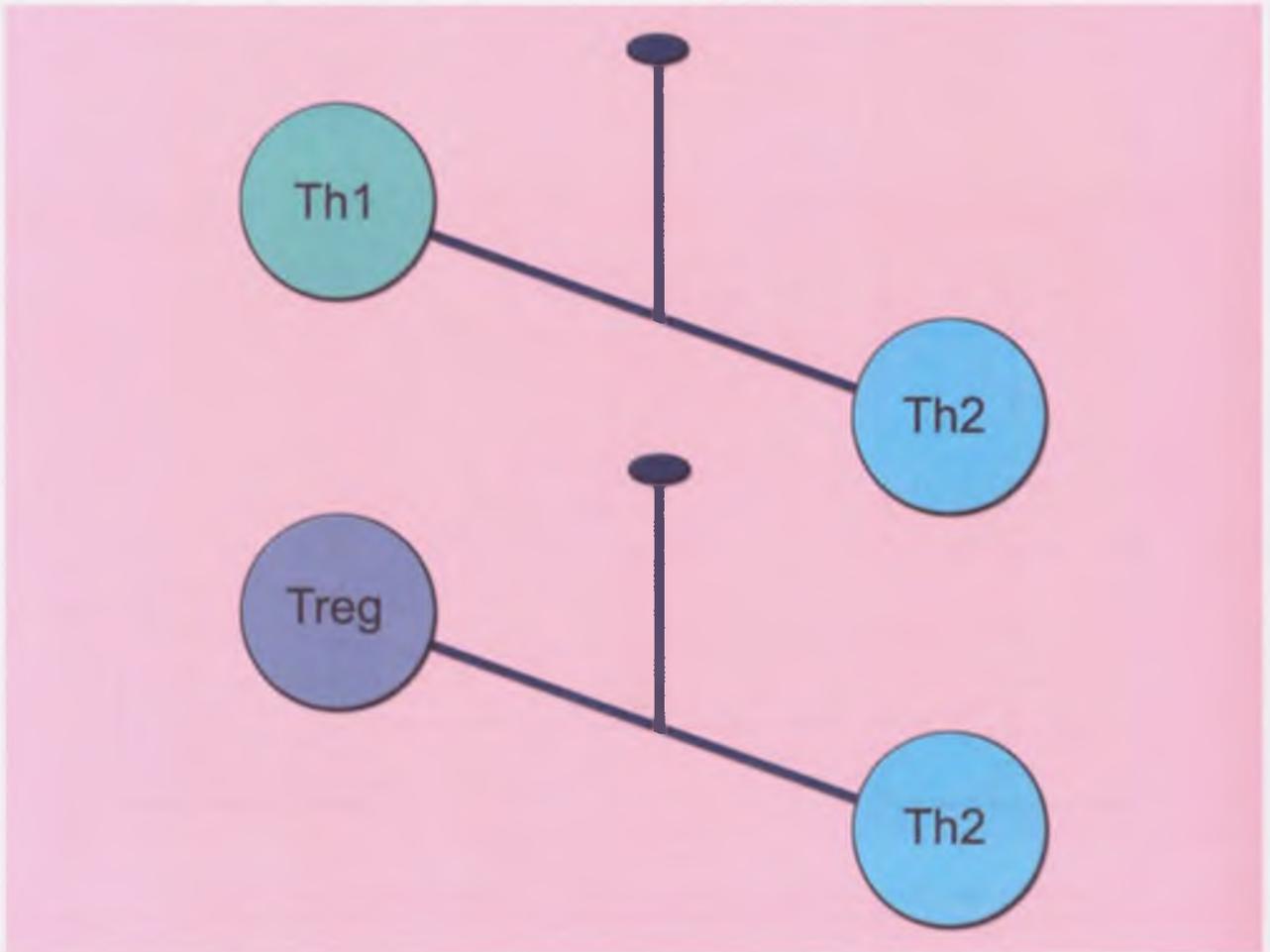


Рис. 600. Дисбаланс субпопуляций Т-клеток при аллергии

Открытие Th1/Th2-дивергенции Т-хелперов и установление преобладания Th2-контроля иммунных процессов при аллергии породило концепцию о дисбалансе Th1/Th2 как патогенетической основе аллергических заболеваний (см. рис. 343). Однако при аллергии активность Th1-клеток может быть достаточно высокой. Было обнаружено, что развитию аллергических реакций благоприятствует ослабление

функциональной активности FOXP3⁺ естественных регуляторных Т-клеток (Treg) (см. рис. 413), что послужило основанием для вывода о ведущей роли дисбаланса не столько Th1/Th2, сколько Th2/Treg в иммунопатогенезе аллергии (см. рис. 428).

Примечание. В кружки вписаны названия субпопуляций CD4⁺ Т-клеток с опущенным словом «клетка».

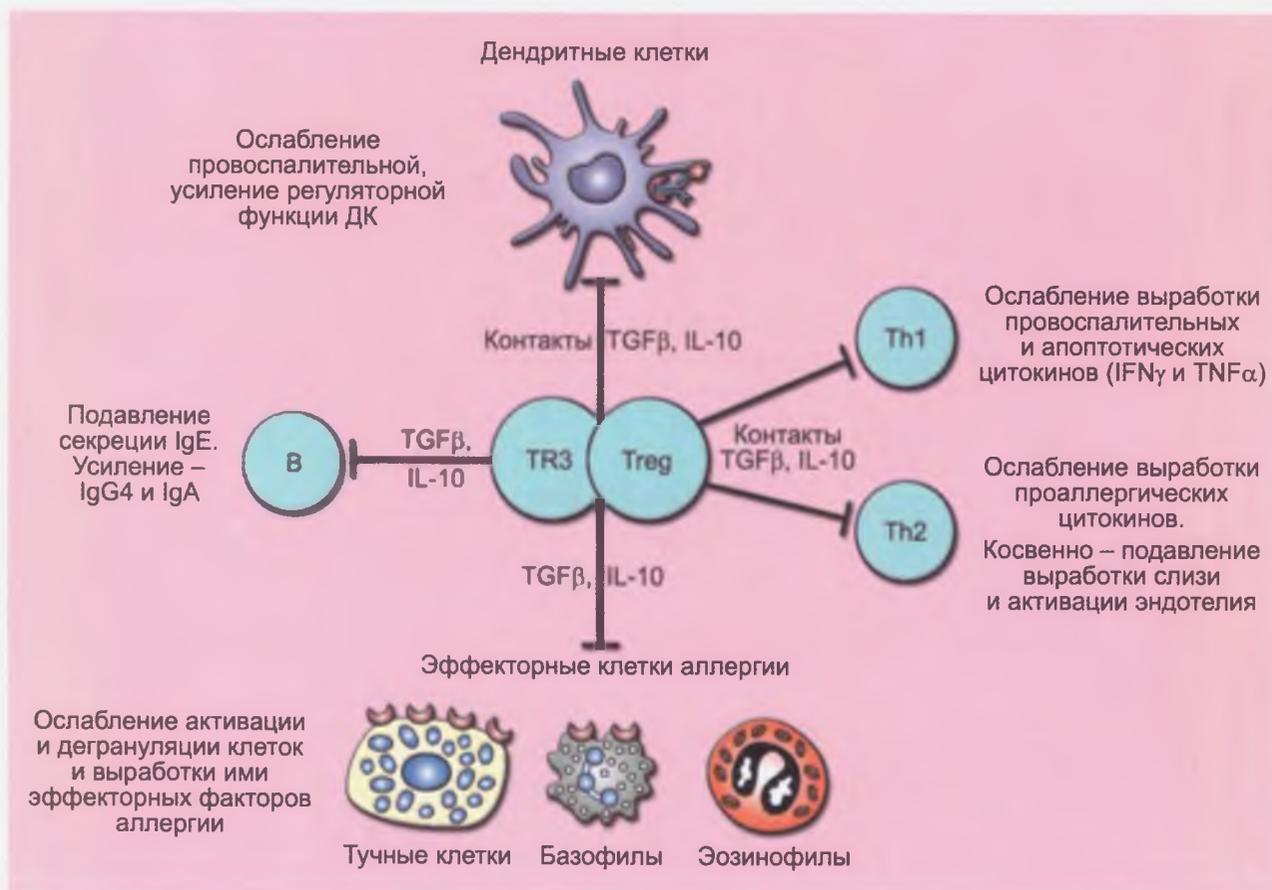


Рис. 601. Регуляторные Т-клетки подавляют аллергические процессы в результате ингибирующего действия на различные эффекторные клетки

В контроле аллергических процессов участвуют два типа регуляторных Т-клеток — естественные FOXP3⁺ Treg- и адаптивные T_h1-клетки. Первые реализуют супрессорный эффект (по крайней мере на Т- и ДК) путём контактных взаимодействий и, в меньшей степени, секреции супрессорных цитокинов (TGF-β и IL-10), для T_h1-клеток основным действующим фактором является секретируемый IL-10 и, возможно, TGF-β. Прямыми или косвенными мишенями регуляторных Т-клеток являются все участники аллергических процессов: ДК, Т-хелперы, В-лимфоциты и клетки-продуценты IgE, ТК, базо-

филы и НФ. Результатом регуляторных воздействий теоретически должно быть снижение функции всех упомянутых клеток и ослабление аллергической симптоматики. Однако в силу функциональной недостаточности регуляторных Т-клеток при аллергии сдерживающее действие регуляторных Т-клеток оказывается недостаточным для того, чтобы предотвратить аллергический процесс. Это послужило основанием для обсуждения возможности применения адаптивной цитотерапии регуляторными Т-клетками при тяжёлых формах аллергии.

Условные обозначения: см. рис. 289 и 384.

Заболевания и синдромы	Аллерген	Путь введения	Вторичные клетки-мишени	Проявления
Системные				
Анафилактический шок	Сыворотка, лекарства, яды насекомых	Парентеральный (особенно в/в)	Эндотелий сосудов, клетки крови	Расширение сосудов, повышение их проницаемости, выпот жидкой части крови в ткани, гипотония
Крапивница	Пищевые продукты, яды насекомых	Подкожный, per os	Эндотелий сосудов, клетки крови	Гиперемия, волдыри, кожная сыпь, эритема, зуд
Преимущественно местные				
Аллергический ринит/конъюнктивит	Пыльца	Ингаляционный	Эндотелий сосудов, эпителий слизистых	Гиперемия слизистых, гиперпродукция слизи и др. секретов, насморк
Бронхиальная астма	Пыльца, пыль и т.д.	Ингаляционный	Гладкие мышцы и эпителий бронхов, эндотелий сосудов	Бронхоспазм, усиление продукции слизи, хроническое воспаление бронхов
Атопический дерматит	Лекарства	Накожный, per os	Эпидермис, эндотелий сосудов	Хроническое воспаление кожи
Пищевая аллергия	Пищевые продукты	Per os	Энтероциты, гладкие мышцы, эндотелий сосудов	Диарея, тошнота, рвота, крапивница, возможен анафилактический шок
Отек Квинке	Лекарства, яды насекомых	Парентеральный, per os	Эндотелий сосудов	Отек лица и шеи

Рис. 602. Клинические проявления (системные и местные) аллергии

Группы препаратов	Принцип действия	Препараты
Антигистаминовые	Блокируют H1-рецепторы гладких мышц. Расслабляют гладкие мышцы бронхов	1-е поколение (обладают седативным эффектом, ингибируют вегетативную н.с.) — diphenhydramine, clorpyramine, lemartine, dimetindene, quifenadin. 2-е поколение (лишены указанных выше эффектов) — fexophenadine, loratadine, cetirisine, ebastine, levocetizine
Агонисты β_2 -адренорецепторов	Связывают β_2 -рецепторы. Расслабляют гладкие мышцы бронхов	Короткодействующие (для снятия спазма) — salbutamol, fenoterol. Пролонгированного действия (для профилактики) — salmeterol, formoterol
Антагонисты мускарина	Блокируют мускариновые холинергические рецепторы	Ipratropium bromide
Антагонисты лейкотриенов	Подавляют синтез LT и их действие на рецепторы. Расслабляют гладкие мышцы бронхов	Ингибиторы 5-липоксигеназы — zileuton. Блокаторы LT-рецепторов — zafirlukast, montelukast
Метилксантины	Повышают уровень цАМФ за счёт ингибиции фосфодиэстеразы. Бронходилатация	Theophilline
Стероиды	Подавляют образование гистамина, усиливают образование цАМФ. Подавляют воспаление	Beclomethasone, budesonide, dexamethasone, flunisolide, fluticasone, mometasone
Блокаторы освобождения медиаторов	Блокируют выход медиаторов из тучных клеток	Cromolyn (disidium cromoglycate), nedocromil

Рис. 603. Принципы лекарственной терапии аллергических заболеваний и применяемые препараты

Группы препаратов	Ожидаемый эффект	Принцип действия
Аллергены	Десенсибилизация. Нормализация синтеза IgE	Специфическая десенсибилизация. Подавление синтеза IgE
Аллерговакцины (конъюгаты аллергенов с иммуномодуляторами)	Нормализация баланса Th1/Th2	Специфическая десенсибилизация. Нормализация баланса Th1/Th2
МонАТ к IL-4, IL-13, CD154, растворимые рецепторы, регуляторные клетки и их продукты (IL-10, TGF β)	Подавление активности Th2-клеток	Ингибирование Th2-клеток и проаллергических цитокинов
МонАТ к TNF α	Подавление воспаления, бронхоспазма	Связывание TNF α , секретируемого аллергическими Th2-клетками
Антитела к IgE	Снижение концентрации IgE-антител	Связывание свободного IgE. Подавление его синтеза
МонАТ к IgE-рецепторам	Подавление активности тучных клеток	Блокада IgE-рецепторов
МонАТ к IL-5, IL-5R, CCR3	Подавление активности эозинофилов	Блокада эозинофилов и их продуктов

Рис. 604. Принципы биотерапии аллергических заболеваний

Условное обозначение: МонАТ — моноклональные антитела.

ИММУННАЯ СИСТЕМА	КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА
<p>Подавляющие эффекты</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Ослабление аллергенспецифической пролиферации Т-клеток 2. Снижение содержания Th1- и Th2-цитокинов в крови 3. Снижение содержания Th2-цитокинов в тканях 4. Снижение содержания тучных клеток в тканях 5. Снижение уровня аллергенспецифических IgE 6. Ослабление сезонного подъема уровня IgE 7. Снижение освобождения медиаторов аллергии <p>Стимулирующие эффекты</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Повышение содержания Th1-цитокинов в тканях 2. Повышение уровня IL-10 3. Повышение концентрации блокирующих антител IgG1, IgG4, IgA 4. Повышение содержания регуляторных Т-клеток 	<p>КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Снижение аллергической симптоматики 2. Улучшение качества жизни 3. Ослабление последующей сенсибилизации <p>ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Ослабление реакции в кожном прик-тесте 2. Ослабление аллерген-специфических реакций 3. Снижение числа клеток в инфильтрате поздней фазы

Рис. 605. Эффекты аллергенспецифической иммунотерапии

Представлены последствия успешной аллергенспецифической терапии, состоящей в парентеральном введении причинного аллергена по эмпирически разработанной схеме.

Они могут быть сведены к ослаблению иммунологических и патофизиологических механиз-

мов гиперчувствительности немедленного типа и усилению проявлений нормального иммунного ответа, что находит отражение в нормализации лабораторных показателей и ослаблении или полном устранении клинических проявлений аллергии.

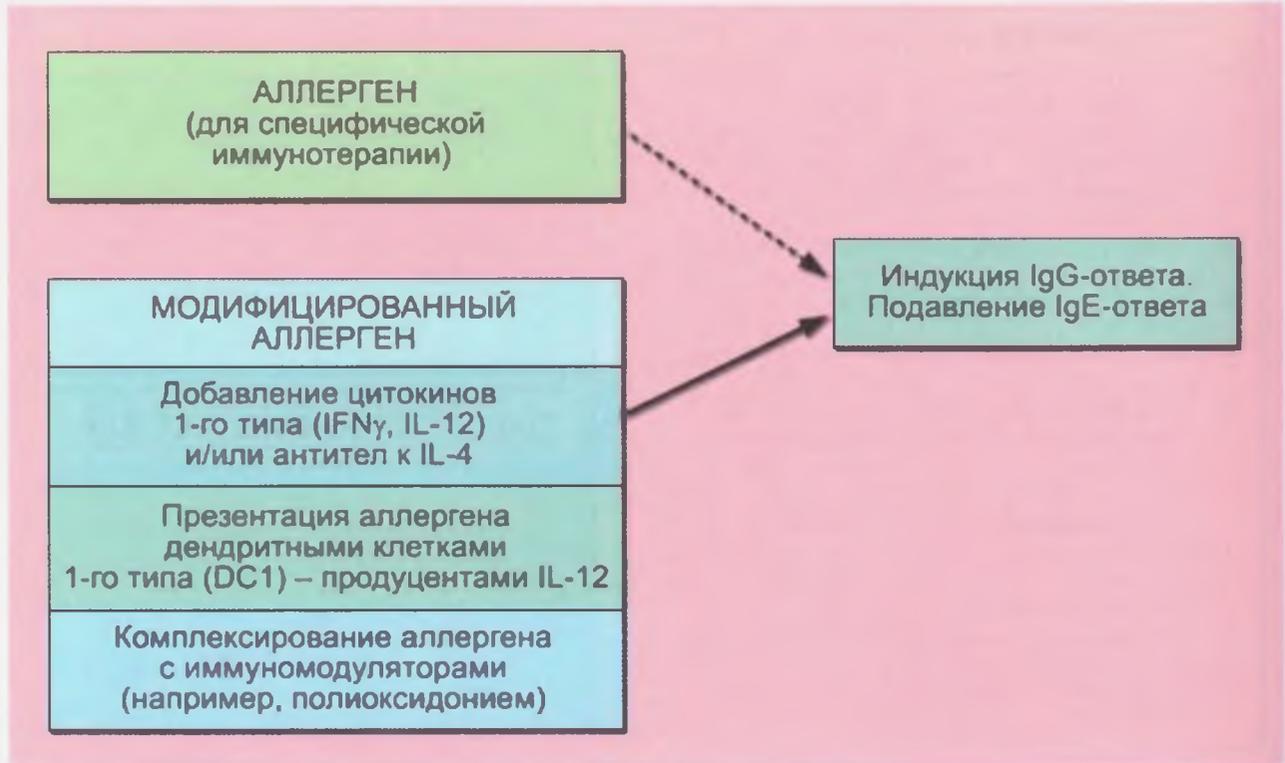


Рис. 606. Подходы к созданию аллерговакцин

Аллерговакцины представляют собой препараты аллергенов, модифицированных с целью ориентации иммунного ответа на Th2-путь. С этой целью аллергены конъюгируют или к ним добавляют цитокины, обуславливающие дифференцировку Th1-клеток, антитела к IL-4 — фактору дифференцировки Th2-клеток или иммуномодулирующие субстанции, оказывающие аналогичный эффект.

Аллерговакцина может конструироваться также на основе DC1 — ДК, продуцирующих IL-12, необходимым для развития Th1-ответа. Конечная цель применения аллерговакцин состоит, как правило, в переориентации изотипического спектра антител, синтезируемых в ответ на поступление в организм аллергена: ослаблении синтеза и секреции IgE-антител и в усилении синтеза IgG-антител.

3.3.2. ДРУГИЕ ТИПЫ ГИПЕРЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ

Три остальные типа гиперчувствительности охватывают цитотоксическую, иммунокомплексную патологию и гиперчувствительность замедленного типа. Иммуные цитотоксические механизмы лежат в основе очень многих патологических процессов, в частности аутоиммунных, которые рассматриваются вне контекста гиперчувствительности.

Это же относится, хотя и в меньшей степени, к иммунокомплексной патологии. Гиперчувствительность типа IV может рассматриваться как альтернативный тип аллергии, имеющий в своей основе реакцию сенсibilизированных Т-лимфоцитов и макрофагов. Фактически он представляет собой патологический (повреждающий) вариант воспалительного иммунного ответа.

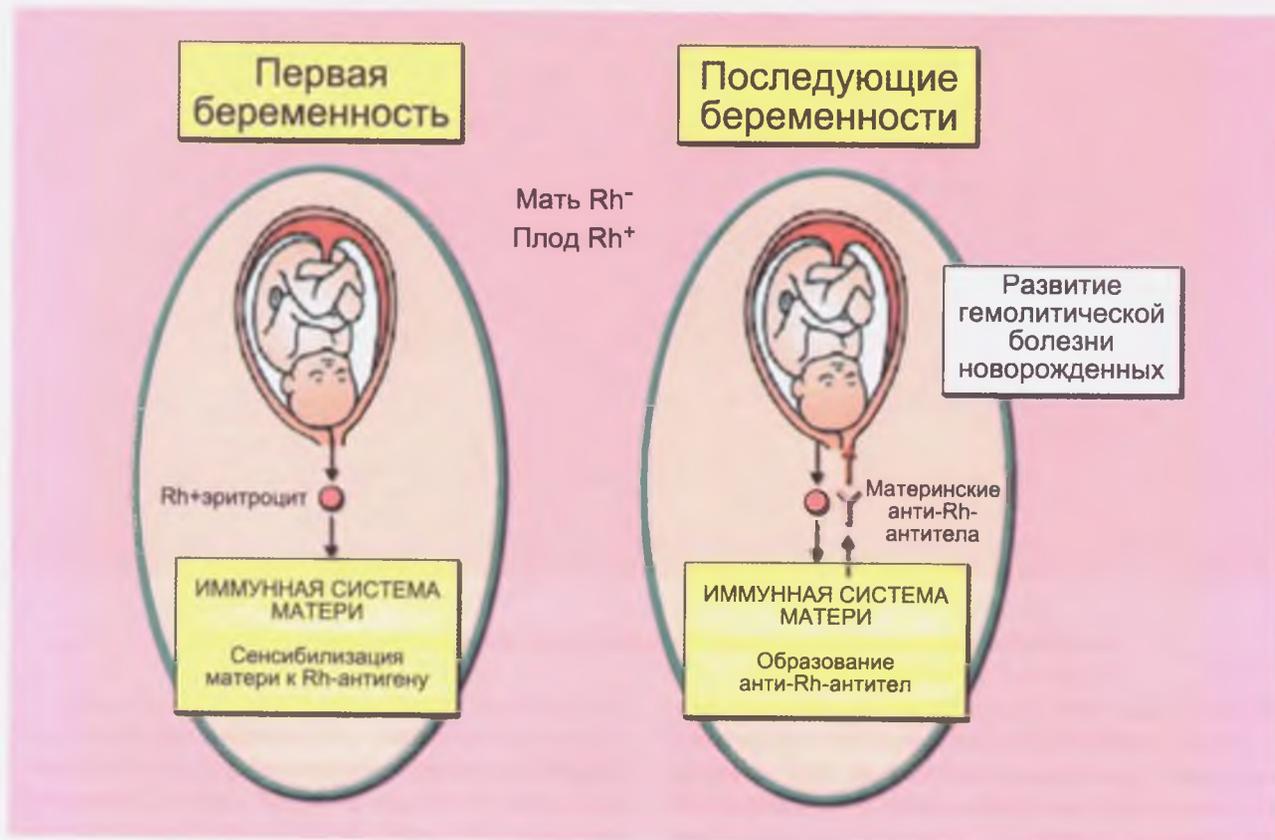


Рис. 607. Развитие гемолитической болезни новорождённых на основе резус-конфликта как проявление реакции гиперчувствительности типа II

При первой беременности Rh-отрицательной матери Rh-положительным плодом Rh⁺-эритроциты плода, проникая в организм матери, сенсибилизируют его. При повторных беременностях

Rh-положительным плодом происходит реиммунизация, и IgG-антитела, проникая в организм плода, вызывают лизис эритроцитов. Развивается гемолитическая анемия с желтухой.

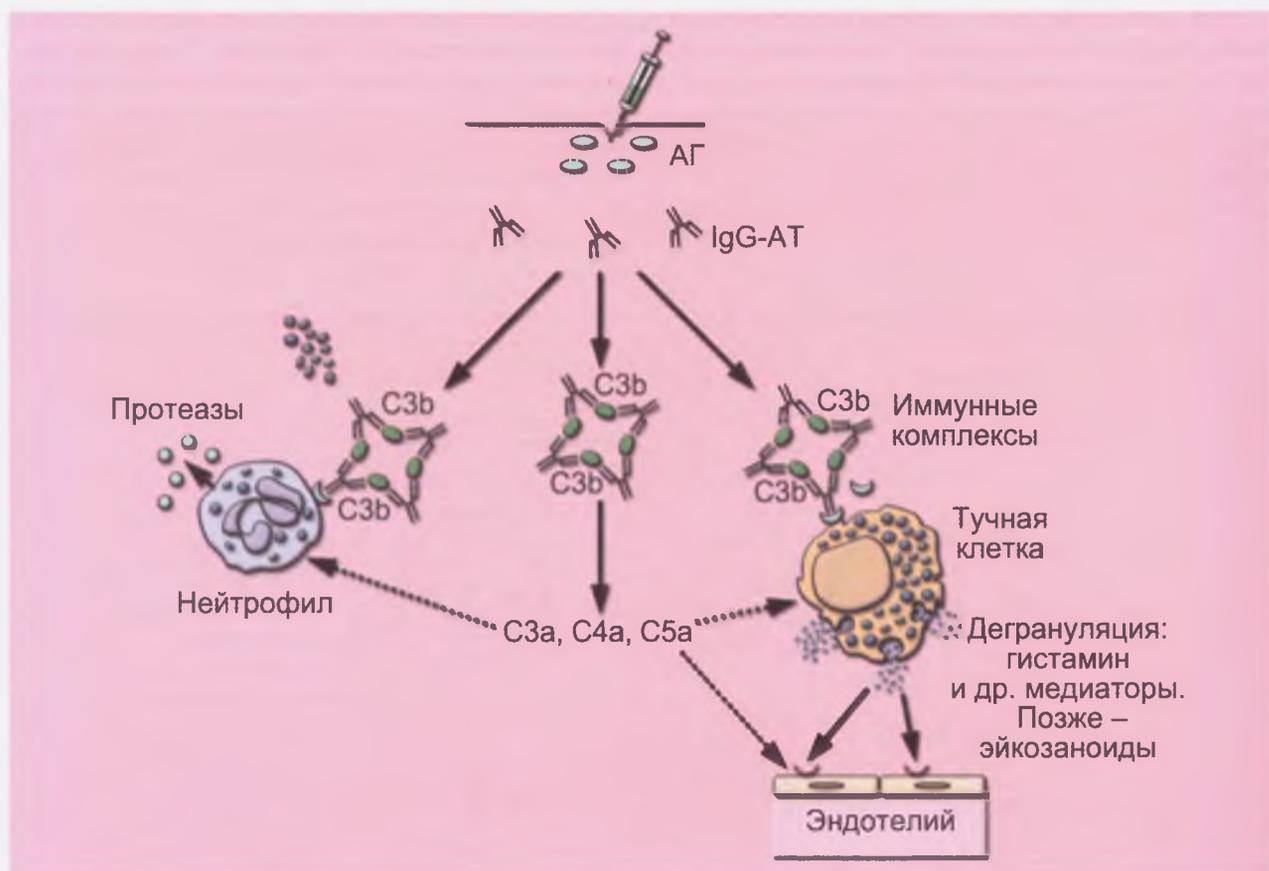


Рис. 608. Гиперчувствительность типа III. Схема развития иммунокомплексной патологии на примере феномена Артюса

Реакция (феномен) Артюса развивается в ответ на одно из повторных введений АГ при условии, что предыдущие введения привели к накоплению IgG-антител к этому АГ. Основой патогенеза при этом служат ИК, формирующиеся при связывании АГ с IgG-антителами и вызывающие активацию комплемента по классическому пути. В результате к ИК присоединяются компоненты комплемента, в частности C3b, являющийся большим фрагментом молекулы C3. Такие ИК связываются с лейкоцитами и тучными клетками через C3-рецепторы и вызывают активацию клеток. Малые фрагменты, формирующиеся при расщеплении компонентов комплемента (анафилаксины C3a, C5a), привлекают

и активируют лейкоциты, вызывают расширение и повышение проницаемости сосудов. Наиболее важными для развития реакции Артюса клетками-мишенями ИК и анафилаксинов являются НФ, базофилы, тучные и эндотелиальные клетки. Вклад ТК и базофилов в развитие реакции состоит в освобождении активных субстанций в результате дегрануляции (реакция на связывание ИК и действие анафилактогенов) и синтеза эйкозаноидов. Активация НФ ИК и анафилактогенами приводит к дегрануляции с выбросом ферментов, бактерицидных и провоспалительных субстанций. Реакция клеток эндотелия обуславливает повышение проницаемости сосудов и эмиграцию лейкоцитов.

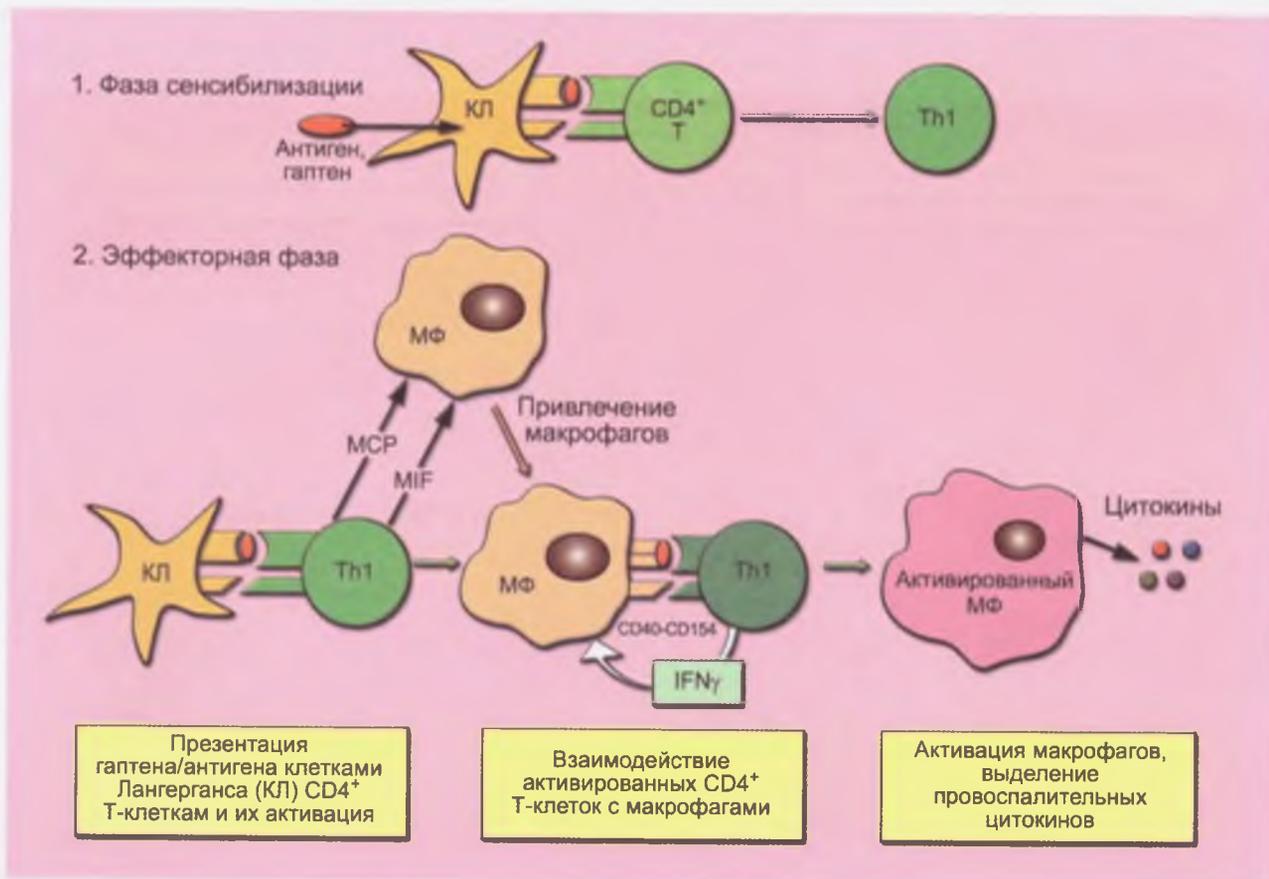


Рис. 609. Реакция замедленной гиперчувствительности (тип IV) и стадии её развития

Реакция гиперчувствительности замедленного типа развивается в два этапа.

Первый этап реакции заключается в сенсibilизации организма. Поступающий антиген или гаптен, связавшийся с аутологичными белками, обрабатывается ДК (в коже — клетками Лангерганса) и презентуется CD4⁺ Т-лимфоцитам, которые дифференцируются в воспалительные Т-хелперы Th1-типа.

Второй этап реакции (эффекторная фаза) развивается при повторном поступлении антигена/гаптена. Его последующее представление (не обязательно ДК) Т-хелперам сопровождается выработ-

кой хемокинов, привлекающих МФ, и IFN- γ , активирующего их. Контактные взаимодействия Th1-клеток с МФ дополнительно активируют их через молекулу CD40. Активированные МФ выделяют цитокины, которые обуславливают развитие воспалительной реакции.

Условные обозначения: CD4⁺ Т — CD4⁺ Т-клетки; Th1 — Th1-клетки; КЛ — клетка Лангерганса; МФ — макрофаг; MCP (*Macrophage chemotactic protein*) — хемотаксический фактор макрофагов; MIF (*Migration inhibiting factor*) — фактор, ингибирующий миграцию макрофагов.

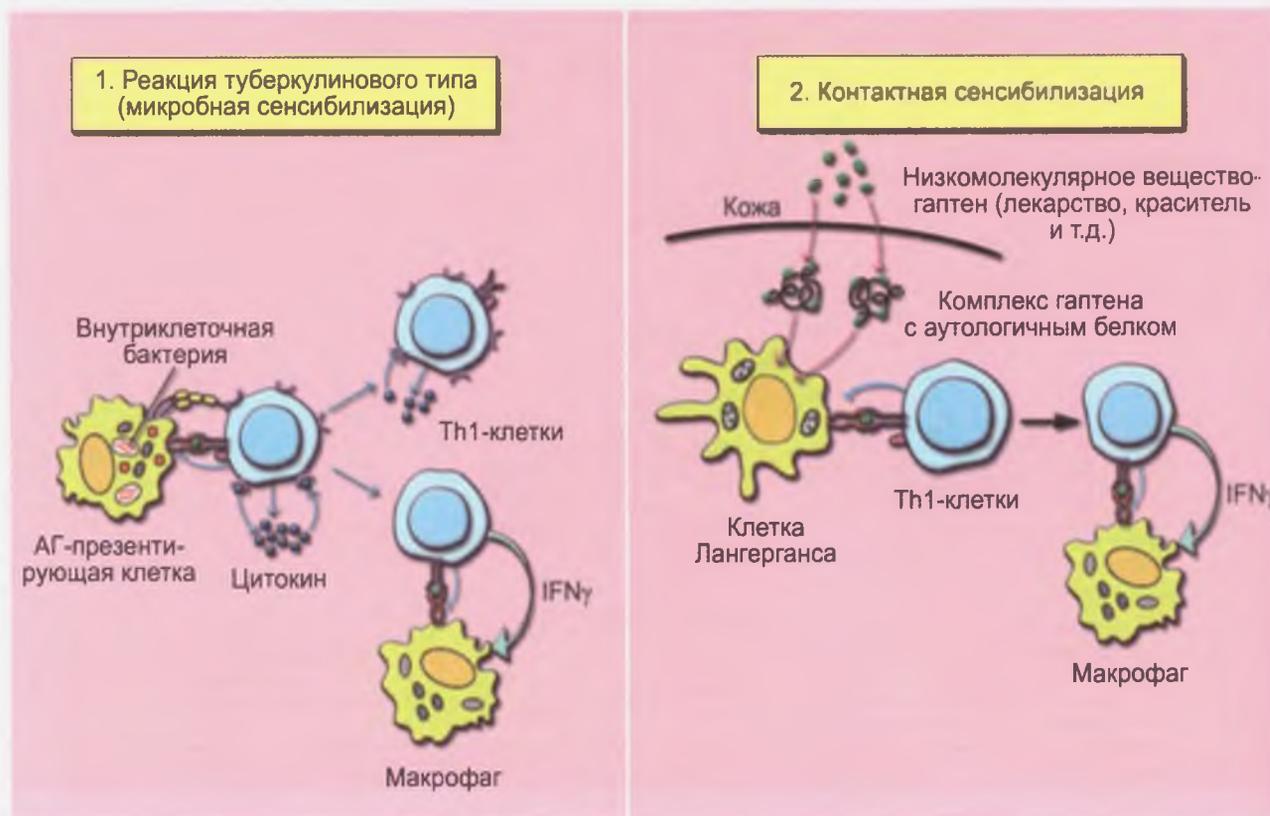


Рис. 610. Особенности фазы сенсibilизации при двух разновидностях гиперчувствительности замедленного типа

Различия в развитии вариантов гиперчувствительности замедленного типа, вызываемой бактериальными белками и гаптенами, относятся в основном к фазе сенсibilизации. Бактериальный белок перерабатывается антигенпрезентирующими клетками по обычному механизму. Сенсibilизация гаптенем происходит в результате его предвари-

тельного комплексования с аутологичными белками. В таком виде гаптен эндоцитируется и затем подвергается переработке клетками Лангерганса — основной разновидностью эпидермальных ДК. Эффекторная фаза реакции в обоих случаях протекает практически одинаково.

Условные обозначения: см. рис. 562.

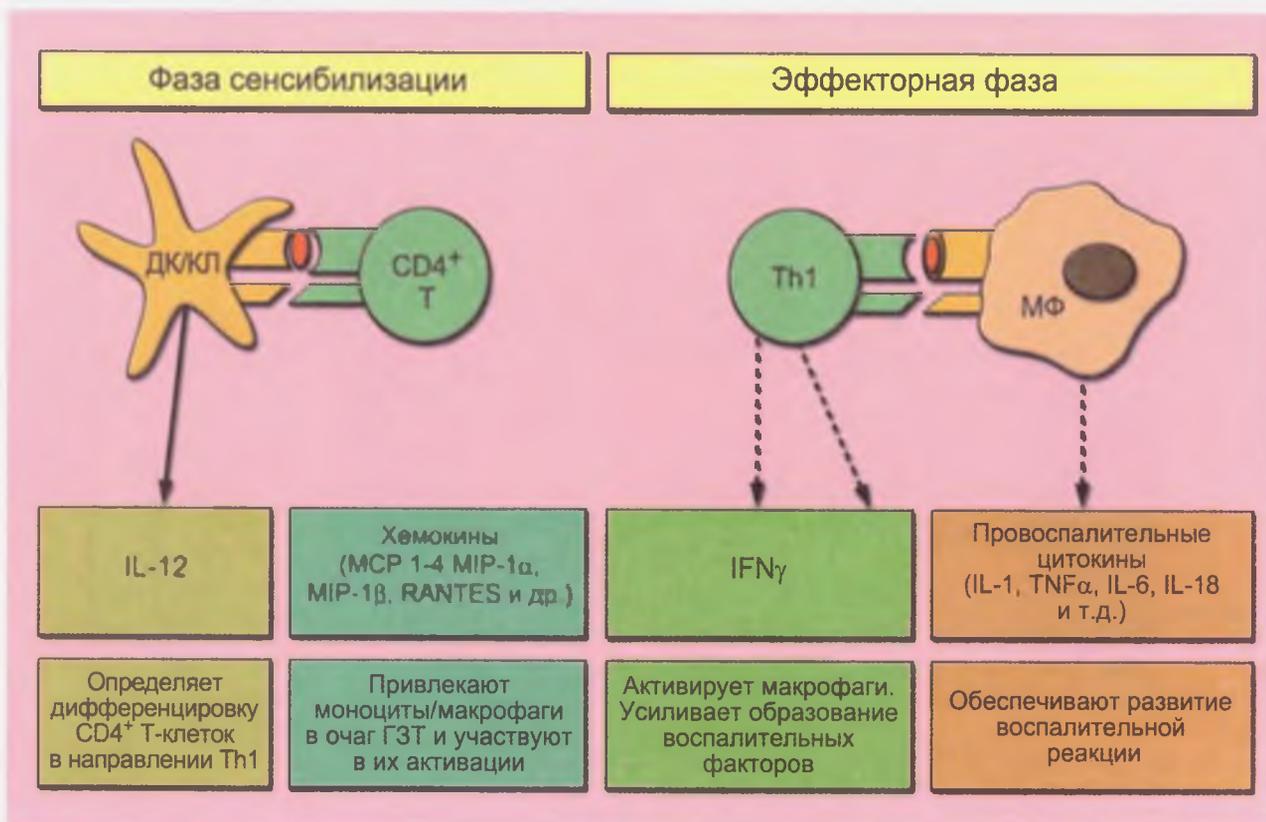


Рис. 611. Роль цитокинов в развитии гиперчувствительности замедленного типа

Источниками цитокинов, определяющих развитие гиперчувствительности замедленного типа, в фазу сенсibilизации служат ДК/КЛ. Они секретируют IL-12, который направляет дифференцировку Th1-клеток. В эффекторную фазу реакции

Th1-клетки выделяют хемокины, привлекающие МФ, и IFN, активирующий их. Активированные МФ, выделяя провоспалительные цитокины, обеспечивают развитие локальной воспалительной реакции.

3.4. ЛИМФОПРОЛИФЕРАТИВНЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ

Лимфопролиферативные заболевания традиционно рассматриваются в рамках онкологии (онкогематологии). В связи с этим мы затронули здесь лишь те аспекты этой группы опухолевых заболеваний,

которые имеют прямое отношение к иммунологии, прежде всего связь лимфопролиферативных процессов в своём происхождении с различными стадиями и ветвями дифференцировки лимфоцитов.

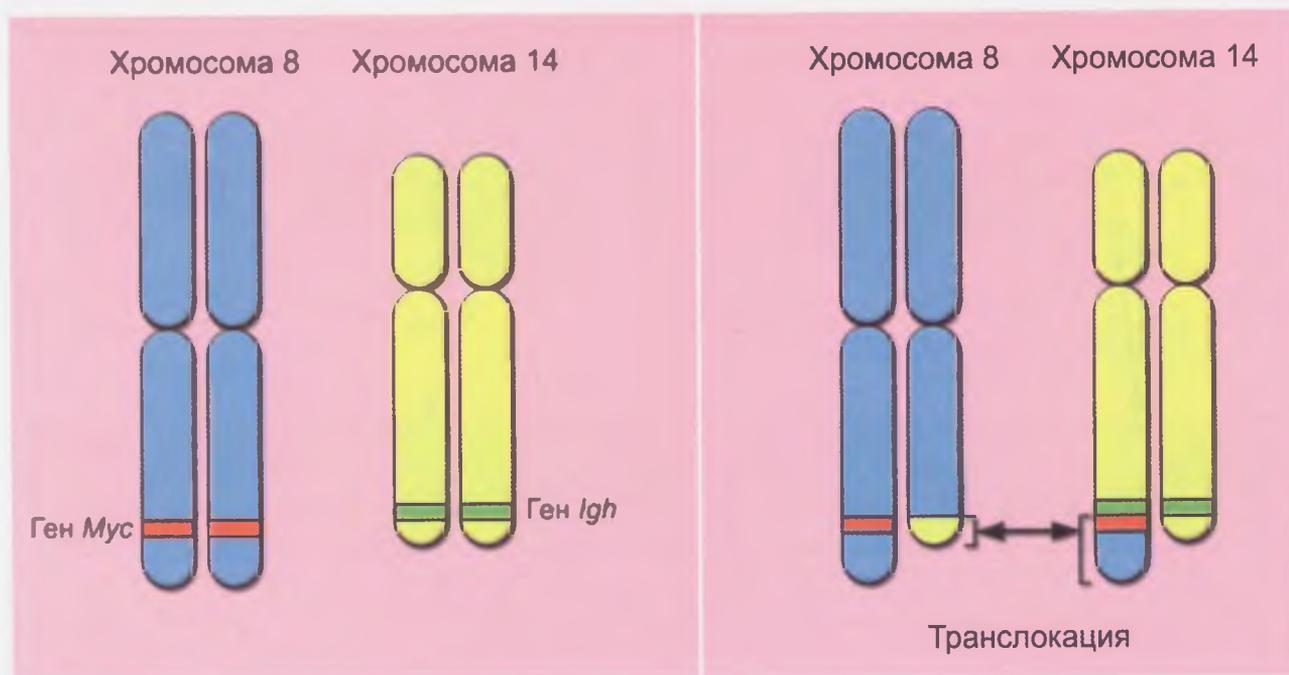


Рис. 612. Хромосомная перестройка, ассоциированная с лимфомой Беркита

В трансформированных В-лимфоцитах при лимфоме Беркита часто обнаруживается транслокация: происходит обмен дистальных участков длинного плеча хромосомы 8, содержащего ген *Muc* (кодирует ранний активационный фактор с-*Muc*), и длинного плеча хромосомы 14, прилежащего к гену *Igh* (кодирует Н-цепи иммуноглобули-

нов). В результате хромосома 8 лишается гена *Muc*, а на хромосоме 14 рядом с геном *Igh* (дистальнее) оказывается ген *Muc*.

Нарушение регуляции генов, вызванное данной транслокацией, рассматривается как патогенетический фактор развития лимфопролиферативного процесса.

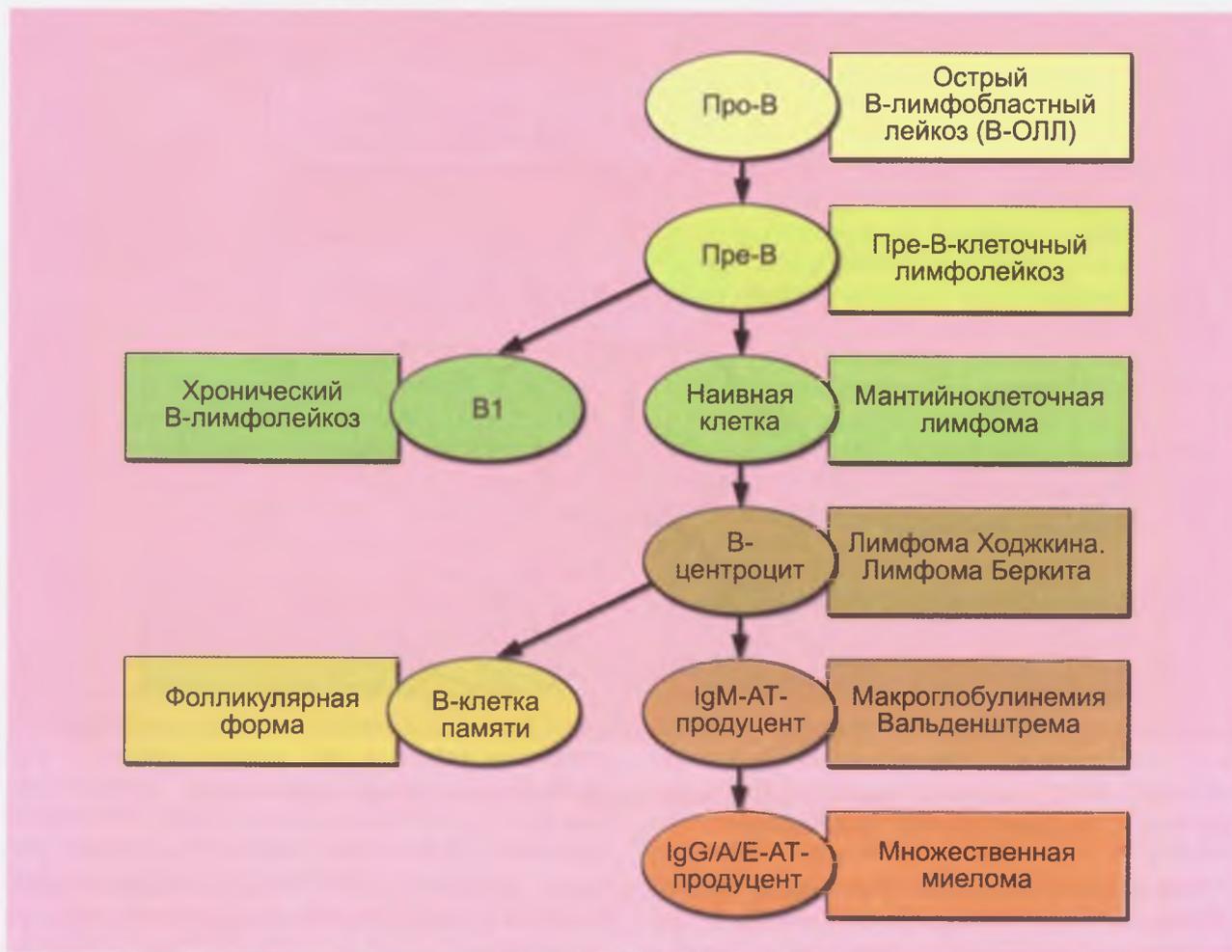


Рис. 613. Клетки лимфопролиферативных заболеваний (лимфолейкозы, лимфомы) соответствуют определённым стадиям развития В-лимфоцитов

Лимфопролиферативные процессы являются результатом неконтролируемой моноклональной пролиферации лимфоцитов. На основе определения морфологических признаков, молекулярных маркёров и гуморальных продуктов клеток, вовлекаемых в лимфопролиферативный процесс, можно соотнести эти клетки с определёнными стадиями и линиями развития лимфоцитов. В соотношении злокачественных лимфоцитов с нормальными аналогами есть

определённая доля условности, однако такое сопоставление представляется допустимым. В лимфопролиферативный процесс чаще вовлекаются В-, чем Т-лимфоциты. При этом трансформированная клетка может соответствовать практически любой стадии развития В-клеток — от про-В-лимфоцита до плазматической клетки и затрагивать различные субпопуляции В-клеток, а также В-клетки памяти.

Условное обозначение: АТ — антитела.

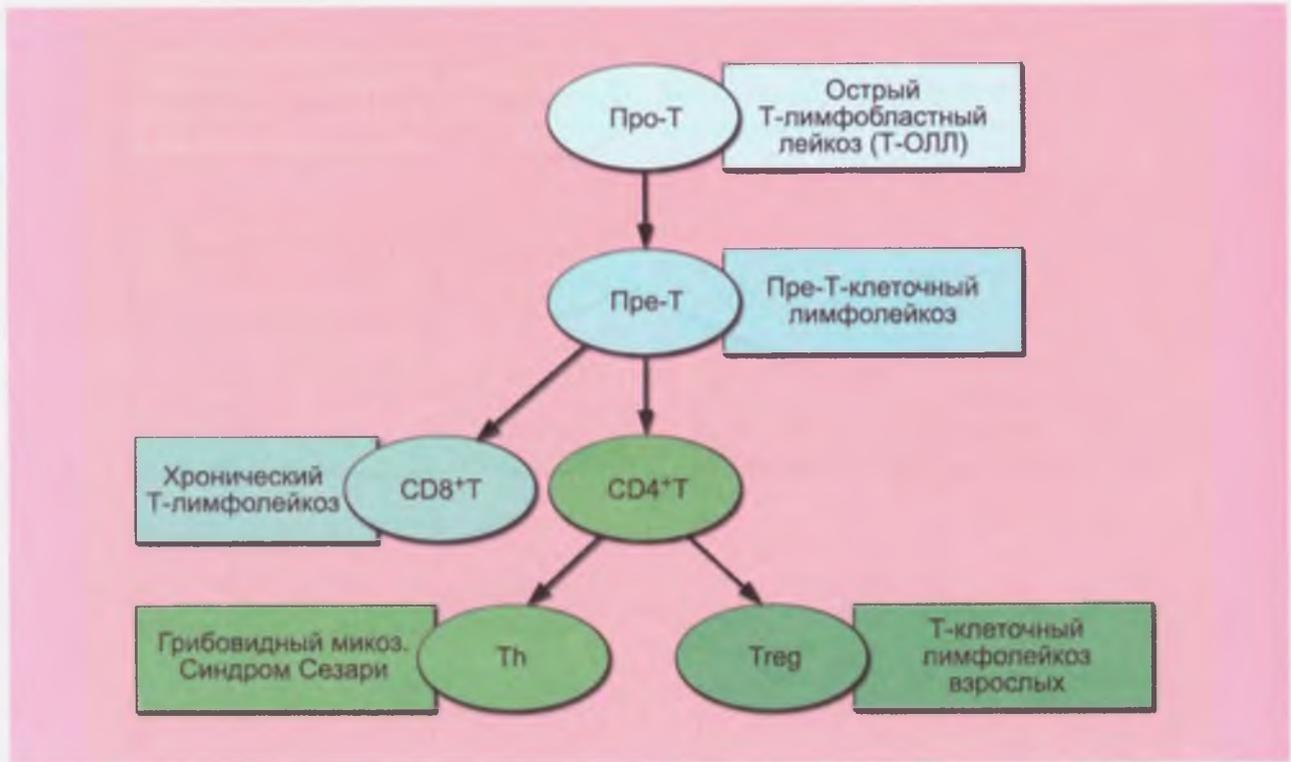


Рис. 614. Клетки лимфопролиферативных заболеваний соответствуют определённым стадиям развития Т-лимфоцитов

Сказанное относительно В-клеточных лимфопролиферативных процессов справедливо и для Т-клеточных процессов. Закономерным является, что CD8⁺ Т-клетки чаще служат основой для раз-

вития лейкозов, а CD4⁺ Т-клетки — для развития лимфом, которые у человека чаще всего локализуются в коже.

ПОСЛЕСЛОВИЕ

Старинная русская поговорка, сформулированная Козьмой Прутковым, гласит: «Нельзя объять необъятное». Её суть понимают все авторы, которые ставят своей целью написать книгу, посвящённую не какому-то отдельному вопросу в данной области, а дисциплине в целом.

Авторами Атласа сделана попытка в рисунках, графиках и фотографиях осветить основные положения современной иммунологии. Однако необходимо привести некоторые пояснения. Изложение любой дисциплины состоит из основных незыблемых частей: история развития, основные устоявшиеся положения, составляющие основу дисциплины, её последние достижения и перспективы развития. Поскольку исторические аспекты и фундаментальные положения иммунологической науки читатель может найти в монографиях и учебниках, авторы Атласа сосредоточили основное внимание на последних достижениях в области иммуногенетики, молекулярной и клеточной иммунологии. Возможно, в Атласе представлены не вполне устоявшиеся положения, которые в последующем претерпят существенные изменения, но, без сомнения, сегодня они являются предметом углублённых исследований, споров и дискуссий. Именно поэтому главной задачей Атласа было ввести читателя в проблему современной иммунологии и заинтересовать этой областью науки.

Мы надеемся, что знакомство читателей с Атласом поможет им понять и полюбить иммунологию. Имунная система является второй после нервной интегральной системой в организме человека и высших животных и выполняет важнейшие функции по охране постоянства внутренней среды многоклеточного организма. Иммунология привлекательна ещё и тем, что она регулярно, почти каждое десятилетие, пополняется новыми фактами. В недрах этой науки всегда идут споры. Достаточно вспомнить дискуссии между сторонниками гуморальной и клеточной теорий иммунитета, шедшие в начале XX в. С момента появления учения об антителах неоднократно обсуждалась природа специфичности антител между сторонниками инструктивных и селективных теорий. Эти споры продолжались до тех пор, пока F.M. Burnet не создал в 50-е гг. XX в. клонально-селекционную теорию ан-

тителообразования — незыблемый фундамент современной иммунологии. Советским иммунологам того времени, воспитанным на идеях ламаркизма, трудно было представить, каким образом все варианты специфичности антител предсуществуют в организме человека. Однако проведённые в 70–80-е гг. XX в. исследования S. Tonegawa по молекулярной природе генов иммуноглобулинов полностью раскрыли материальную базу многообразия специфичности антител, став тем самым другой непоколебимой основой современной иммунологии.

В настоящее время мы являемся свидетелями глубочайшего переворота в области знаний о врождённом иммунитете и, следовательно, об иммунитете в целом. Понятие «неспецифический иммунитет» ушло в прошлое. Успехи в этой области оказались ошеломляющими. Открытие в конце XX в. паттернраспознающих рецепторов клеток врождённого иммунитета, предсказанных в 1987 г. C. Janeway, в корне изменило наши представления о защите организма от чужеродных агентов. Особенно удивительным является использование клетками врождённого иммунитета нового типа распознавания, основанного на последовательностях, богатых лейцином (LRR-мотивы). Оказалось, что у некоторых низших беспозвоночных для создания многообразия специфичностей антителоподобных молекул с огромным репертуаром используют LRR-мотивы. Открытия во второй половине XX в. были сделаны и в области адаптивного иммунитета. Оказалось, что одной из главных функций Т-лимфоцитов является распознавание не чужеродных, а своих собственных молекул. Это только одно из многих новых положений. По всей видимости, в ближайшем будущем можно ожидать новых достижений в области иммунологии, которые заставят нас по-другому взглянуть на устоявшиеся и привычные положения.

Г. Спенсер сказал, что наука — как шар, и чем больше радиус, тем больше точек соприкосновения с неизвестным. Часть загадок удаётся разгадать, но на их место приходят новые, иногда даже в большем количестве. Авторы очень надеются, что у них хватит сил и времени осветить все известные и малоизвестные аспекты иммунологии в следующем, втором издании Атласа.

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- Воробьев А.А., Быков С.А., Караулов А.В.* Иммунология и аллергология: цветной атлас. — М.: Практическая медицина, 2006.
- Гущин И.С.* Аллергическое воспаление и его фармакологический контроль. — М.: Фармарус Принт, 1998.
- Карамов Э.В., Сидорович И.Г., Хаитов Р.М.* Новая вакцинология. Вакцины против ВИЧ/СПИДа — М.: МИА, 2008.
- Кокряков В.Н.* Очерки о врожденном иммунитете. — СПб.: Наука, 2006.
- Кондратенко И.В., Бологов А.А.* Первичные иммунодефициты. — М.: Медпрактика-М, 2005.
- Кетлинский С.А., Симбирцев А.С.* Цитокины. — СПб.: Фолиант, 2008.
- Маянский А.Н.* Лекции по иммунологии. — Н. Новгород: НГМА, 2003.
- Пальцев М.А., Кветной И.М.* Руководство по нейроиммуноэндокринологии. — М.: Медицина, 2008.
- Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г.* Иммунология: учебник для медицинских вузов. — М.: Медицина, 2002.
- Хаитов Р.М.* Физиология иммунной системы. — М.: ВИНТИ РАН, 2005.
- Ярилин А.А.* Основы иммунологии. — М.: Медицина, 1999.
- Janaway C.A., Travers P., Walport M., Schlamnik. M.J.* Immunobiology. The immune system in health and disease. 6th ed., 2005. — Garband Science Publishing.
- Fireman P.* Atlas of Allergies and Clinical Immunology. — MOSBY Elsevier — 3d ed. — 2006.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АГ — антиген
АЗКЦ — антителозависимая клеточная цитотоксичность
АИЗШЖ — аутоиммунные заболевания щитовидной железы
АПК — антигенпрезентирующие клетки
АРМ — антигенраспознающие молекулы
АФК — активные формы кислорода
АФС — антифосфолипидный синдром
БК — болезнь Крона
БОФ — белки острой фазы
БТШ — белки теплового шока
ВИД — вторичные иммунодефициты
ВИЧ — вирус иммунодефицита человека
ГЗТ — гиперчувствительность замедленного типа
ГТФ — гуанозинтрифосфатаза
ДК — дендритные клетки
ИЗСД — инсулинзависимый сахарный диабет 1 типа
ИК — иммунные комплексы
ИПО — иммунологически привилегированные органы
КЛ — клетки Лангерганса
ЛПС — липополисахарид
ЛСБ — ЛПС-связывающий белок
ЛТК — липотейховые кислоты
МБ — монобласты
МГ — миастения гравис
МДП — мурамилдипептиды
МН — моноцит
МПО — миелопероксидаза
МФ — макрофаги
НТ — тиреоидит Хасимото
НФ — нейтрофилы
ОВИН — общая вариабельная иммунная недостаточность
ОК — остеокласты
ПМ — предшественники моноцитов
ПМГ — предшественники моноцитов и гранулоцитов
ПМЦ — промоноциты
ПН — предшественники нейтрофилов
РА — ревматоидный артрит
РЛУ — регионарный лимфатический узел
РС — рассеянный склероз
РФ — ревматоидный фактор
СД — склеродермия
СКВ — системная красная волчанка
СОД — супероксидсимутаза
СШ — синдром Шегрена
ТК — тучные клетки
ТКИН — тяжёлая комбинированная иммунная недостаточность
ФБ — фибробласты
ХГБ — хроническая гранулематозная болезнь
ХКСК — хронический кожно-слизистый кандидоз
ЦКС — цистеиновая протеаза катепсина С
ЦПМ — цитоплазматическая мембрана
ЧЗДК — частично зрелые дендритные клетки
ЭНЦ — эндотелиоциты
ЭО — эозинофилы
ЭПЦ — эпителиоциты
ЭР — эндоплазматический ретикулум



Хаитов Рахим Мусаевич

Иммунолог, академик РАН и РАМН, профессор, лауреат Государственной премии РФ, дважды лауреат премии Правительства РФ, лауреат премии Ленинского комсомола, премии им. И.И. Мечникова РАН, директор ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, заведующий кафедрой иммунологии и аллергологии Института повышения квалификации ФМБА России, президент Российской ассоциации аллергологов и иммунологов. Автор более 500 научных трудов, включая 20 монографий, руководств и учебников по иммунологии, опубликованных в России, Англии, США, Германии и в других странах.

Ярилин Александр Александрович

Иммунолог, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки России, заведующий отделом клеточной иммунологии ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, профессор кафедры иммунологии МГУ им. М.В.Ломоносова и кафедры иммунологии и аллергологии Института повышения квалификации ФМБА России. За научные достижения награжден памятными медалями им. Н.В. Тимофеева-Ресовского и В.И. Вернадского, золотой медалью Российского научного общества иммунологов. Автор более 400 научных трудов, включая 12 монографий, учебников, руководств по иммунологии.

Пинегин Борис Владимирович

Иммунолог, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач Российской Федерации, заведующий отделом иммунодиагностики и иммунокоррекции ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России. Лауреат премии Правительства России. Автор более 400 научных трудов, в том числе 5 монографий, учебников, руководств по иммунологии.

В атласе, не имеющем аналогов в отечественной литературе, отражены все современные знания по иммунологии. Содержит 600 цветных схем-иллюстраций с подробным описанием. В трех больших разделах атласа – «Врожденный иммунитет», «Адаптивный иммунитет», «Клиническая иммунология и аллергология» – описаны молекулярные и клеточные основы строения и функционирования иммунной системы, реакции врожденного и адаптивного иммунитета. Рассмотрены механизмы, лежащие в основе патологии иммунной системы, обусловленной как ослаблением (иммунодефициты), так и неадекватным усилением (гиперчувствительность, аутоиммунные процессы) иммунологических процессов.

Атлас адресован широкому кругу читателей – студентам медицинских вузов и биологических факультетов университетов, аспирантам-иммунологам, научным сотрудникам и врачам, которые в своей клинической или лабораторной практике решают задачи, связанные с диагностикой и лечением иммунопатологии и аллергических заболеваний.

ISBN 978-5-9704-1858-1



9 785970 418581 >